

DNA 分子标记技术及其在高粱育种中的应用

平俊爱,张福耀,吕鑫,杜志宏,李慧明,田兆祥,杨婷婷

(山西省农业科学院高粱研究所,山西晋中 030600)

摘要:近年来分子技术的快速发展,使其在高粱上也得到应用。由于分子标记具有诸多优点,因此它的发展和应用于高粱研究提供了一条有效的途径。此文概述了分子标记技术的基本类型,综述了近年来分子标记技术在高粱遗传连锁图谱的构建、基因定位、关联遗传学、突变体等的研究及应用现状。最后,分析了分子标记技术在高粱遗传育种研究中存在的问题及今后发展的方向。

关键词:高粱;分子标记技术;遗传育种

中图分类号:S2

文献标志码:A

论文编号:2010-2065

A Review of DNA Molecular Markers and Its Application in Sorghum Breeding

Ping Jun'ai, Zhang Fuyao, Lv Xin, Du Zhihong, Li Huiming, Tian Zhaoxiang, Yang Tingting

(Sorghum Institute of Shanxi Academy of Agricultural Science, Jinzhong Shanxi 030600)

Abstract: In the recent years, the molecular techniques developed rapidly, and it was used in Sorghum diversity. DNA molecular markers had many advantages compared with the traditional methods, so they were efficient techniques in Sorghum research. This paper briefly introduced six major types of DNA molecular markers, and summarized the present situations of molecular markers in relevant study and application in sorghum breeding in past years, such as the construction of genetic spectrum and gene locating, association of genetics, mutants. Finally, the perspective and the question of molecular marker's application in Sorghum genetic breeding in the future were discussed.

Key words: sorghum; molecular markers; genetic breeding

0 引言

从数千年前的植物驯化到现在的以遗传理论为基础的作物育种,无一不是为了作物产量的提高、品质的改良或抗性的增强。这一直是并且将来仍然是农业生产的重要目标。其过程总是在具有遗传变异的群体中选择理想的个体,或者将优良性状导入到种质中从而创造变异,再行选择。传统的育种主要是根据植株在田间的表现进行评价与选择。由于表型性状不仅取决于遗传组成,也受控于环境条件。有时环境条件的影响可遮盖植株在基因型上的差异。因此,仅从表型选择显然是不理想的。特别是对受多基因控制的数量性状选择,更难做到准确。虽然育种学已建立了一套完

整的选择程序,并在农业生产上培育出了许多高产优质多抗的新品种,然而周期长、工作效率低仍是当今育种中的主要难题。分子遗传学的发展及分子标记技术的建立,使作物遗传育种进入了一个新阶段。新技术与传统方法相结合,有可能解决目前育种中一些重要环节上的主要难题,从而大大加速育种工作进程。分子标记连锁图的构建,利用分子标记进行基因定位、辅助选择、种质评估、基因克隆以及对杂种优势等重大理论问题的研究,已显示出了非常诱人的前景。

高粱(*Sorghum bicolor* L. Moench)是全世界种植第五大禾谷类作物,具有C4植物高光效的特征,遗传多样性丰富,杂种优势强,杂优利用广泛,而且抗旱、

基金项目:现代农业产业技术体系专项基金资助(nycytx-12-01-02);山西省科技攻关项目“高粱育种新技术应用及新品种选育”(20090311004);山西省国际合作项目“饲草高粱BMR和PS基因的分子标记及聚合育种”(2008081010)。

第一作者简介:平俊爱,女,1968年出生,汉族,山西运城人,硕士,副研究员,主要从事高粱遗传育种工作。通信地址:030600 山西省晋中市榆次区蕴华西街238号 山西省农业科学院高粱研究所。E-mail: pingja1029@163.com, pingja1029@hotmail.com。

收稿日期:2010-07-08, **修回日期:**2010-7-29。

耐盐碱和耐瘠薄。因此,作为粮食作物—高粱在干旱和半干旱农业生产中占有极其重要的位置^[1],它也是重要的饲料植物和酿造业原料。但是在高粱育种中由于对高粱许多性状的遗传机制还缺乏了解,阻碍了高粱育种工作的进程。所以,如何提高高粱产量,改善高粱品质和增强高粱抗性,实现高粱生产的高产、优质、广适、多抗已成为育种工作者的主要目标。长期以来,高粱育种工作者大多数是借用易于鉴别的形态学和同工酶等遗传标记来辅助育种,并取得了很大的成功。但由于标记数量有限、不易找到与目标性状密切相关的标记,所以很难应用于高粱育种实践。随着分子生物学的迅速发展,建立在DNA变异基础上的分子标记技术在高粱育种中已得到了广泛的应用。现在涉及到的分子标记的类型主要包括RFLP、AFLP、RAPD、SSR以及正在处于高速发展期的SNP等。在高粱的遗传育种方面,分子标记技术主要用于遗传图谱的构建、基因定位、关联遗传学、突变体等方面。此文综述了分子标记的主要类型及在高粱育种上的应用。

1 常用的分子标记技术

自1980年Botstein等^[2]首次提出DNA限制性片段长度多态性(RFLP)以来,经过十几年的发展,已有近20种DNA分子标记技术相继问世,主要有两大类,一类是基于Southern杂交的分子标记,另一类是基于PCR技术的分子标记。

1.1 基于Southern杂交的分子标记

这类标记利用限制性内切酶酶切不同生物体的DNA分子,然后用特异探针进行Southern杂交,通过放射性自显影或非同位素显色技术揭示DNA的多态性。

1.1.1 限制性片段长度多态性(Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP) RFLP技术是发展最早,应用最广泛的DNA分子标记技术,该技术是利用特定的限制性内切酶识别并切割不同生物个体基因组DNA中的特定位点,产生许多大小不等的酶切片段,经PAGE电泳分离后,与DNA探针进行Southern杂交,只有与探针有高度同源性的酶切片段才能与探针发生杂交而被检测出,再用放射自显影或其他显色技术检测,形成反映个体特异性的RFLP图谱。不同的个体或种群由于碱基的突变、缺失、插入以及染色体的变化,导致原有酶切位点的消失或新的位点的产生而表现为多态性。RFLP标记具有共显性特点,标记位点数量不受限制,通常能检测到的基因座位数为1~4个。在分离群体中可区分纯合基因型与杂合基因型,

提供标记位点完整的遗传信息^[3]。目前多种农作物的RFLP分子遗传图谱已经建成。但其分析所需DNA量较大,步骤较多,周期长,制备探针及检测中要用到放射性同位素,尽管可用非放射性同位素标记方法代替,但成本高、成功率低,且实验检测步骤较多,依然影响其使用、推广。

1.1.2 小卫星DNA(Minisatellite DNA) 又称数目可变串联重复序列(Variable Number of Tandem Repeat, VNTR)是一种重复DNA小序列,为十至几百个核苷酸,拷贝数10~1000不等。多态性由于重复单位之间的不平衡交换,从而产生不同等位基因,可通过杂交检测出。其缺点是多态性分布集中,合成探针困难,应用并不广泛。

1.2 基于PCR技术的分子标记

1.2.1 随机扩增多态性(Random Amplified Polymorphism DNA, RAPD) RAPD技术是在1990年由Williams等^[4]以DNA聚合酶链式反应为基础提出的。RAPD以PCR为基础而又不同于经典的PCR,该技术是用一个随机的寡核苷酸序列(通常为8~10个碱基)作引物,通过PCR对基因组DNA进行随机扩增,产生长度不同的DNA片段,然后凝胶电泳分离扩增片段,经染色来显示扩增片段的多态性。扩增片段的多态性反应了基因组相应区域的DNA多态性。RAPD技术继承了PCR效率高、灵敏度高、易于检测等优点;其引物较短且随机排列,使RAPD技术可以在对物种没有任何分子生物学研究的背景下进行DNA多态性分析;该法所需DNA用量少(10 ng DNA即可完成一次分析),质量要求低。但是RAPD技术因使用的引物比较短,对反应条件极为敏感,稍有改变便影响扩增产物的重现,重复性较差,稳定性不好。另外,RAPD是显性标记,不能区分纯合基因型与杂合基因型,无法直接用于基因型分析。近年来该技术得到了不少改进,因而仍然被广泛应用于基因定位、遗传图谱构建和遗传多样性分析等方面的研究。

1.2.2 特异性扩增子多态性(Specific Amplifcon Polymorphism, SAP) RFLP技术成本高,实验步骤多,周期长;RAPD标记稳定性较差,不利于育种中应用。在用RFLP和RAPD分析找到多态性DNA片段以后,将它们转化为特异性扩增子多态性(Specific Amplifcon Polymorphism, SAP)或称序标位(Sequence Tagged Sites, STS)可以解决这些缺点。主要包括以下两种:(1)酶切扩增多态性序列(Cleaved Amplified Polymorphic Sequence, CAP)将RFLP探针的两端测序,合成22-mer引物进行PCR扩增,扩增产

物往往无多态性,需用内切酶酶解产物,产生多态性。

(2) 序列特异性扩增区 (Sequence-characterized Amplified Region, SCAR) 和位点特异相关引物 (Allele-Specific Associated Primers, ASAP), 对 RAPD、AFLP 片段两端测序, 根据 DNA 序列, 合成 24-mer 双引物进行 PCR 扩增。SCAR、CAP 可以降低成本, 操作简便, 稳定性强, 对仪器要求低, 可实现自动化分析, 适合于大样本的快速分析。

1.2.3 简单重复序列 (Simple Sequence Repeat, SSR) SSR 技术是于 20 世纪 80 年代末、90 年代初发展起来的一种分子标记技术。它是一类短的串连重复序列基序 (1~6 个核苷酸) 组成的简单重复序列, 分布于整个基因组的的不同位置上, 两边有保守的 DNA 序列。由于重复次数的不同及重复程度的不完全造成了每个位点的多态性。根据微卫星 DNA 两端的保守序列设计一对特异性引物, 扩增这个位点的微卫星 DNA 序列, 经 PAGE 电泳即可显示不同基因型个体在这个 SSR 位点的多态性。SSR 技术以孟德尔方式遗传, 为共显性标记, 可以区分纯合基因型与杂合基因型, 具有高度的等位基因多态性, 多态性强, 杂合度高, 分布广泛而均匀, 灵敏度好, 退火温度高, 特异性强, 已广泛应用于遗传图谱的构建、比较基因组研究、遗传多样性分析和系统学研究之中, 是一种比较理想的分子标记技术。只是标记的获得依赖于基因组文库的建立和筛选, 相对较复杂, 且开发和合成新的 SSR 引物投入高、难度大。

1.2.4 扩增片段长度多态性 (Amplified Fragment Length Polymorphism, AFLP) AFLP 技术是 1992 年由荷兰科学家 Zabeau 和 Vos 发展起来的一种检测 DNA 多态性的方法, 具有专利权^[5]。AFLP 也是一种基于 PCR 技术扩增基因组 DNA 来检测其多态性的分子标记技术。该法是将 DNA 先利用限制性内切酶酶切, 在所有片段两端接上带有特定序列的接头 (adapter), 用与接头互补的且 3' 端有几个随机选择的核苷酸的引物对特定的片段进行 PCR 扩增, 只有那些与 3' 端严格配对的片段才能得到扩增, 最后用 PAGE 电泳检测多态性。AFLP 结合了 RFLP 和 RAPD 的优点, 稳定可靠, 重复性好, 方便快捷, 只需极少量的 DNA 样品, 不需要 Southern 杂交, 不需要预先知道 DNA 的序列信息, 而且绝大部分为显性标记, 显示的多态性信息量也很高。因而, 非常适合于品种指纹图谱的绘制, 遗传图谱的构建及遗传多样性的研究。但不足之处是费用比较昂贵, 且方法需经多步操作, 统计分析困难, 对 DNA 的纯度和内切酶的质量要求很高。

2 分子标记在高粱遗传育种中的应用

2.1 高粱遗传连锁图谱的构建

遗传连锁图谱是指通过遗传重组分析得到的基因在染色体上的线形排列图, 基因间的距离通常用遗传重组值来表示。高密度分子标记遗传连锁图谱的构建, 可为基因定位、物理图谱构建和以图谱为基础的基因克隆奠定基础, 还可为分子标记辅助选择创造条件。遗传图谱既是遗传研究的重要内容, 又是作物资源、育种及分子克隆等许多应用研究的理论依据和基础。

20 世纪 80 年代, 分子标记技术的发展促进了遗传连锁图谱的构建, 高粱分子遗传图谱的构建始于 20 世纪 90 年代。Hulbert^[6-7]最早报道用 ShanguiRed × M91051 的 F₂ 群体 55 个单株和来源于玉米基因组克隆的 37 个 RFLP 探针构建了第 1 张含有 36 个 RFLP 标记和 8 个连锁群 (LG) 的遗传连锁图, 连锁图长 283 cM。随后的报道分别用不同的 F₂ 群体构建的高粱遗传连锁图^[8-12], 虽然连锁图的长度有所增加, 标记的位点数也增多, 但还远不够完善, 连锁群的数目与高粱染色体的数目 (n=10) 远不相符。实际上, 最初的所谓高粱遗传连锁图只是一些含有分子标记的遗传连锁片断, 标记数目稀少, 连锁图长度也十分有限。近年来发表的高粱遗传连锁图的标记位点数不断增加, 连锁群趋于完整, 连锁图对全基因组的覆盖率增加, 标记间的平均距离减少。标记位点数的增加, 有利于基因的精细定位。到目前为止, 基于临时性作图群体的高粱遗传图谱至少有 14 个, 基于永久性作图群体的高粱遗传图谱至少有 17 个。构建最完整也最具影响力的有两张高密度的近于饱和的遗传图。Menz^[13]发表了一张含有 2926 个标记位点, 以 AFLP 为主要标记的遗传图谱。该连锁图长度为 1713 cM, 用 BTx623 × IS3620C 的 RIL 群体构建, 含有 2425 个 AFLP 标记、136 个 SSR 标记和 336 RFLP 标记。RFLP 探针主要来自于高粱、玉米、水稻和燕麦, 平均标记间距离为 0.5 cM。Bowers^[14]发表了一张由 2050 个同源和异源 RFLP 探针构成的, 含有 2512 个标记的遗传连锁图, 连锁图长度为 1059 cM, 平均标记间距离为 0.4 cM, 约 300 kb, 最大间隙 7.8 cM, 只有 7 个间隙大于 5 cM。其中有 1189 个探针来源于高粱 gDNA, 464 个探针来源于高粱 cDNA, 其余 86 个探针分别来源于玉米、麦类作物、粟类作物、甘蔗和拟南芥, 这就为禾本科作物间基因组的比较研究提供了便利, 这两张图谱具有一个共同的亲本 BTX623, 同时具有共线性^[15]。这两张由不同实验室构建的遗传图谱对高粱基因组学的深入研究有着重要意义。

2005年以前,高粱遗传图谱一直缺少一个统一的命名系统,因此对不同研究者的遗传图谱进行比对和使用时非常困难和复杂。2005年, Kim^[6]根据有丝分裂中期每条染色体的细胞学特征,制定了一个大家认可的高粱染色体命名系统,方便了研究者们对不同的遗传图谱进行比对和分析。

目前,覆盖高粱全基因组的高密度分子遗传连锁图谱已构建完成,正在进行高粱遗传图谱与物理图谱的整合,把遗传连锁群与相应的染色体对应起来,并确定染色体重要结构在遗传连锁图上的位置,整合后的高粱遗传连锁图谱、物理图谱和细胞分子图谱不仅对高粱基因组,而且对整个禾本科作物基因组的比较研究都十分重要。

2.2 QTL定位

在许多基础研究和应用研究需要的推动下,许多性状已经被定位在高粱的连锁图谱上。种间杂交群体在描述与驯化相关的基因如种子大小、落粒性^[17]、分蘖性和地下茎繁殖^[17]的特征上具有特殊的用途。株高和开花期^[18-19]一直是优先研究的性状。同样,高粱杂交种的重要性也推动了对高粱育性恢复遗传控制的许多研究^[20-22]。高粱病害^[23-30]、害虫^[31-34]和杂草方面^[23,35]的抗性基因已经被定位在染色体上。非生物胁迫相关的基因和QTL包括花后干旱抗性(持绿)^[36-39]、收获前发芽^[40-41]和耐铝害^[42]已经被鉴定出来。其它形态学方面的性状已经被定位在种间和(或)种内杂交的群体上^[10]。随着对能源甜高粱研究的重视,茎秆中糖分含量相关性状的QTL定位也有相关报道^[43-45]。

2.3 关联遗传学

高粱序列的很多价值可以通过更好地认识现存种质资源的多样性水平和模式而得以实现。这些种质资源有助于分析特定基因的功能和改良具有特殊需要的高粱。高粱中度的连锁不平衡^[46]和自花授粉模式非常适合进行关联作图。大量的外源高粱种质资源存在于美国国家植物种质系统ICRISAT中。目前,在3.3 Mb序列上发现的750多个SSR和1402个SNP位点^[47-49]在禾本科植物比较基因组学中心相关数据库中可以免费获得。

2.4 突变体及其特征

目前存放在C. Franks(美国农业部研究中心,得克萨斯州拉伯克)里的约400份高粱突变体,为验证每个基因的假设功能提供了一个开端。但是这些突变体数量还远远不够,仍需要更广泛的收集突变体,最好是收集到每个基因的多个功能缺失突变体,以对其功能进行鉴定。高粱填补了水稻和玉米以外的更广泛的反

向遗传学资源,提供了研究玉米或水稻中难以处理的基因或基因家族的机会。这是因为在玉米和水稻中这些基因已经进行了复制,但是在高粱中却是单拷贝;同时,通过关联遗传学或其他的方法可以对重要性状相关的特殊基因进行功能分析。为了加速鉴定对验证高粱基因功能非常有用的突变体,用EMS对高粱基因型BTX623进行处理,产生1600个M3突变体株系^[50]。现在正在对每个突变体的特征进行描述。到目前为止,每个鉴定的M3都可以和原始的材料区分,而且很多基因都有多个突变体表型。转座子标签是获得高粱突变体的另一个方法。Cs1是第一个从高粱中分离出来的有活性的转座因子。作为插入诱变因子它有自身的优势,Cs1的同源序列在高粱和其他禾本科植物中包括苏丹草,玉米,水稻,墨西哥类蜀黍和甘蔗中是以单拷贝数存在的^[51],低拷贝数和高的转座频率暗示Cs1是一个有效分离基因的工具。对Cs1作为诱变因子的最初研究显示用Cs1作为标签工具是可行的。

2.5 高粱及其相关近缘物种基因组研究结果的交叉利用

高粱从甘蔗亚族的谷类植物起源进化而来,该族还包括栽培甘蔗,约翰逊草和莠。在具有相同染色体数目的密切相关的物种中,这个稀奇的种群表现出6倍的基因组大小变异^[52];在大多数Parasorghums中染色体数目都有一个明显的降低,从祖先的20条减少到10条^[53];自从甘蔗从该族中分离出来,染色体至少进行了两次复制^[54];同时有天然假高粱^[17]和人工栽培甘蔗^[54]产生的多倍体化。对这个特殊族里的植物基因组大小和结构进化机制、水平和模式的了解,将有助于揭示高粱基因组达到目前的状态的途径,同时也为进一步研究甘蔗和该族中其它重要的成员奠定基础。在甘蔗和玉米全基因组复制过程中高粱体现出非常重要的作用。玉米和高粱从共同的祖先分离出来不久,玉米就进行了全基因组复制^[55]。因此,这使得高粱成为推断祖先复制位点的位置、序列、调控和其他特征状态的优良外群。利用甘蔗可以研究多倍体形成后的最初状态,尽管不同的分类和杂交有不同程度的优先配对,但是大部分是以同源多倍体的形式存在^[54,56-57]。与玉米或甘蔗相比,尽管对约翰逊草的研究还不多,但是约翰逊草与多倍体形成的时间更近。这是因为多倍体的形成推迟了双色高粱和拟高粱的分离时间,据粗略估计双色高粱和拟高粱在100~200万年前从共同的祖先分离。在多倍体进化的开始,虽然这三种多倍体化在配对的特异程度上不同是非常可能的,然而复制基因缺失和(或)沉默相对程度的研究将有助于澄清近来的关

于基因组对多倍体状态适应的假说^[58]。

3 分子标记展望

分子标记技术的发展已经有20年的时间,它在遗传连锁图谱的构建、基因定位、关联遗传学、突变体等高粱育种方面发挥了重要的作用,随着分子生物学理论与技术的迅猛发展,必将研发出分析速度更快、成本更低、信息量更大的分子标记技术。

(1)在种质资源有效利用方面,利用分子标记技术合理分类、发现、鉴定和利用与高粱高产、优质、高抗的基因,提高育种效率。

(2)大规模标记目标基因

目前中国收集保存的高粱种质资源中蕴含了大量的有益基因,如何将这些基因有效地利用于育种实践中,发挥它们在优质抗病育种中的作用是一个亟待解决的问题。如果能够大量筛选与目标基因紧密连锁的分子标记,并将这些标记运用于遗传育种的早期辅助选择中,就可以大大提高目标基因的转移选择效率,同时也可为目的基因的分选、克隆奠定基础。

(3)开展数量性状位点(QTL)定位

研究高粱的大多数重要农艺性状均表现为数量性状,如产量、株高、穗长等。分子标记技术的发展使得人们能够将数量性状分解成易为遗传育种者操作的单个位点即QTL进行研究。所以应尽快开展高粱重要农艺性状的QTL定位研究,建立QTL和分子标记之间的连锁关系,以便育种者们能利用分子标记对数量性状进行选择,提高育种选择的效率。

(4)高粱是研究植物适应不同逆境遗传基础的模式种,采用DNA微阵技术等高产基因表达技术,研究高粱在不同胁迫条件下基因表达图谱模式,可为揭示植物与环境间信息交流和破译基因调控网络做出贡献。但就目前而言,分子标记育种技术仍主要局限于基础研究领域,不能脱离常规育种技术而单独使用,与实践结合较少,还有一定的局限性。相信在不久的将来,随着分子标记技术的深入发展,分子标记技术将成为高粱育种的重要途径之一。

参考文献

- [1] 梁小红,仪治本,赵威军.高粱重要抗性性状的基因定位研究综述[J].作物杂志,2005,3:7-9.
- [2] 朱玉贤,李毅.现代分子生物学[M].2版.北京:高等教育出版社,2002.
- [3] 胡丹东,赵久然.DNA分子标记技术及其在玉米育种中的应用[J].甘肃农业大学学报,2007,42(6):92-98.
- [4] Williams J G K, Kubelik A R, Livak K J. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful genetic markers[J]. *Nucleic Acids Res*,1990,18:6531-6537.
- [5] Velappa M N, Sondrass J L, Hakovirta J R. Rapid identification of pathogenic bacteria by single-enzyme amplified fragment length polymorphism analysis[J]. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*,2001,39:77-83.
- [6] Hulbert S H, Richter T E, Axtell J D, et al. Genetic mapping and characterization of sorghum and related crops by means of maize DNA probes[J]. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*,1990,87:4251-4255.
- [7] 王海莲,管延安,张华文,等.高粱基因组学研究进展[J].基因组学与应用生物学,2009,28(3):549-556.
- [8] Binelli G, Gnafranceschi L, Pe M E, et al. Similarity of maize and sorghum genome as revealed by maize RFLP probes[J]. *Theoretical and Applied Genetics*,1992,84:10-16.
- [9] Whitkus R, Doebley J, Lee M. Comparative genomes of sorghum and maize[J]. *Genetics*,1992,132:1119-1130.
- [10] Melake-Berhan A, Hultert S H, Butler L G, et al. Structure and evolution of the genomes of sorghum bicolor and *Zea mays* [J]. *Theoretical and Applied Genetics*,1993,86:598-604.
- [11] Ragab R A, Dronavalli S, Saghai Maroof M A, et al. Construction of a sorghum RFLP linkage map using sorghum and maize DNA probes[J]. *Genome*,1994,37:590-594.
- [12] Xu G W, Magill C W, Shertz K F, et al. A RFLP linkage map of Sorghum bicolor (L.). Moench[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1994,89:139-145.
- [13] Menz M A, Klein R R, Mullet J E, et al. A high-density genetic map of Sorghum bicolor (L.)Moench based on 2926 AFLP, RFLP and SSR markers[J]. *Plant Molecular Biology*,2002,48(5-6):483-499.
- [14] Bowers J E, Abbey C, Anderson S, et al. A high-density genetic recombination map of sequence-tagged sites for sorghum, as a framework for comparative structural and evolutionary genomics of tropical grains and grasses, *Genetics*,2003,165(1):367-386.
- [15] Feltus F A, Hart G E, Schertz K F, et al. Alignment genetic map and QTL correspondence between inter- and intraspecific sorghum populations[J]. *Theor.Appl. Genet.*,2006,112(7):1295-1305.
- [16] Kim J S, Klein P E, Klein R R, et al. Chromosome identification and nomenclature of Sorghum bicolor, *Genetics*,2005,169(2): 1169-1173.
- [17] Paterson A H, Lin Y R, Li Z, et al. Convergent domestication of cereal crops by independent mutations at corresponding genetic loci [J]. *Science*,1995,269(5231):1714-1718.
- [18] Lin Y R, Schertz K F, Paterson A H. Comparative analysis of QTLs affecting plant height and maturity across the poaceae, in reference to an interspecific sorghum population[J]. *Genetics*,1995,141(1): 391-411.
- [19] Ulanich P E, Childs K L, Morgan P W, et al. Molecular markers linked to Ma(1) in sorghum[J]. *Plant Physiology*,1996,111:709.
- [20] Klein R R, Rodriguez-Herrera R, Schlueter J A, et al. Identification of genomic regions that affect grain-mould incidence and other traits of agronomic importance in sorghum[J]. *Theor. Appl. Genet.*, 2001,102:307-319.
- [21] Klein R R, Klein P E, Mullet J E, et al. Fertility restorer locus Rf1 of sorghum(*Sorghum bicolor* L.) encodes a pentatricopeptide repeat

- protein not present in the colinear region of rice chromosome 12[J]. *Theor. Appl. Genet.*,2005,111(6):994-1012.
- [22] Wen L, Tang H V, Chen W, et al. Development and mapping of AFLP markers linked to the sorghum fertility restorer gene rf4[J]. *Theor. Appl. Genet.*,2002,104(4):577-585.
- [23] Mutengwa C S, Tongoona P B, Sithole-Niang I. Genetic studies and a search for molecular markers that are linked to *Striga asiatica* resistance in sorghum[J]. *African Journal of Biotechnology*, 2005,4(12):1355-1361.
- [24] McIntyre C L, Herman S M, Casu R E, et al. Homologues of the maize rust resistance gene Rpl-D are genetically associated with a major rust resistance QTL in sorghum[J]. *Theor. Appl. Genet.*,2004,109(4):875-883.
- [25] McIntyre C L, Casu R E, Drenth J, et al. Resistance gene analogues in sugarcane and sorghum and their association with quantitative trait loci for rust resistance[J]. *Genome*,48(3):2005,391-400.
- [26] Multani D S, Meeley R B, Paterson A H, et al. Plant-pathogen microevolution: molecular basis for the origin of a fungal disease in maize[J]. *Proc.Nat. Acad. Sci., USA*,1998,5(4):1686-1691.
- [27] Totad A S, Fakrudin B, Kuruvinashetti M S. Isolation and characterization of resistance gene analogs (RGAs) from sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench)[J]. *Euphytica*,2005,143(1-2):179-188.
- [28] Singh M, Chaudhary K, Singal H R, et al. Identification and characterization of RAPD and SCAR markers linked to anthracnose resistance gene in sorghum [*Sorghum bicolor* (L.)Moench] [J]. *Euphytica*,2006,149(1-2):179-187.
- [29] Wang M L, Dean, Erpelding J, et al. Molecular genetic evaluation of sorghum germplasm differing in response to fungal diseases: rust (*Puccinia purpurea*) and anthracnose (*Collectotrichum graminicola*) [J]. *Euphytica*,2006,148(3):319-330.
- [30] Tao Y Z, Jordan D R, Henzell R G, et al. Identification of genomic regions for rust resistance in sorghum[J]. *Euphytica*,1998,103(3):287-292.
- [31] Katsar C S, Paterson R H, Teetes G L, et al. Molecular analysis of sorghum resistance to the greenbug(Homoptera: Aphididae) [J]. *Journal of Economic Entomology*,2002,95(2):448-457.
- [32] Agrama H A, Widle G E, Reese J C, et al. Genetic mapping of QTLs associated with greenbug resistance and tolerance in *Sorghum bicolor*[J]. *Theor.Appl. Genet.*,2002,104(8):1373-1378.
- [33] Nagaraj N, Reese J C, Tuinstra M R, et al. Molecular mapping of sorghum genes expressing tolerance to damage by greenbug (Homoptera: Aphididae)[J]. *Journal of Economic Entomology*,2005,98(2):595-602.
- [34] Tao Y Z, Hardy A, Drenth J, et al. Identifications of two different mechanisms for sorghum midge resistance through QTL mapping, *Theor.Appl. Genet.*,2003,107(1):116-122.
- [35] Haussmann B I G, Hess D E, Omany G O, et al. Genomic regions influencing resistance to the parasitic weed *Striga hermonthica* in two recombinant inbred populations of sorghum[J]. *Theor.Appl. Genet.*,2004,109(5):1005-1016.
- [36] Xu W, Subudhi P K, Crasta O R, et al. Molecular mapping of QTLs conferring stay-green in grain sorghum(*Sorghum bicolor* L.Moench) [J]. *Genome*,2000,43(3):461-469.
- [37] Subudhi P K, Rosenow D T, Nguyen H T. Quantitative trait loci for the stay green trait in sorghum (*Sorghum bicolor*(L.) Moench): consistency across genetic backgrounds and environments[J]. *Theor. Appl.Genet.*,2000,101(5-6):733-741.
- [38] Crasta O R, Xu W, Rosenow D T, et al. Mapping of post flowering drought resistance traits in grain sorghum: association between QTLs influencing premature senescence and maturity[J]. *Molecular and General Genetics*,1999,262(3):579-588.
- [39] Haussmann B I G, Mahalakshmi V, Reddy B V S, et al. QTL mapping of stay-green in two sorghum recombinant inbred populations[J]. *Theor. Appl. Genet.*,2002,106(1):133-142.
- [40] Carrari F, Benech-Arnold R, Osuna-Fernandez R, et al. Genetic mapping of the *Sorghum bicolor* vp1 gene and its relationship with preharvest sprouting resistance[J]. *Genome*,2003,46(2):253-258.
- [41] Lijavetzky D, Martinez M C, Carrari F, et al. QTL analysis and mapping of pre-harvest sprouting resistance in sorghum[J]. *Euphytica*,2000,112(2):125-135.
- [42] Magalhaes J V, Garvin D F, Wang Y, et al. Comparative mapping of a major aluminum tolerance gene in sorghum and other species in the Poaceae[J]. *Genetics*,2004,167(4):1905-1914.
- [43] Natoli A, Gorni C, Chegdani F, et al. Identification of QTLs associated with sweet sorghum quality[J]. *Maydica*,2002,47:311-322.
- [44] Bian Y L, Yazaki S J, Inoue M, et al. QTLs for sugar content of stalk in sweet sorghum (*Sorghum bicolor* L.Moench) [J]. *Agricultural Science in China*,2006,5(10):736-744.
- [45] Ritter K B, Jordan D R, Chapman S C, et al. Identification of QTL for sugar-related traits in a sweet×grain sorghum (*Sorghum bicolor* L.Moench) recombinant inbred population[J]. *Molecular Breeding*, 2008,22(3):367-384.
- [46] Hamblin M T, Salas Fernandez M G, Casa A M, et al. Equilibrium processes cannot explain high levels of short- and medium-range linkage disequilibrium in the domesticated grass *Sorghum bicolor* [J]. *Genetics*,2005,171(3):1247-1256.
- [47] Hamblin M T, Mitchell S E, White G M, et al. Comparative population genetics of the panicoid grasses: sequence polymorphism, linkage disequilibrium and selection in a diverse sample of *Sorghum bicolor*[J]. *Genetics*,2004,167(1):471-483.
- [48] Schloss S J, Mitchell S E, White G M, et al. Characterization of RFLP probe sequences for gene discovery and SSR development in *Sorghum bicolor* (L.) Moench[J]. *Theor. Appl. Genet.*,2002,105(6-7):912-920.
- [49] Casa A M, Mitchell S E, Hamblin M T, et al. Diversity and selection in sorghum: simultaneous analyses using simple sequence repeats[J]. *Theor. Appl. Genet.*,2005,111(1):23-30.
- [50] Xin Z, Wang M L, Barkley N L, et al. Development of a tilling population for sorghum functional genomics, In: *Proceedings of the 15th International Plant & Animal Genome Conference*[M]. San Diego, USA, 2007:397.
- [51] Chopra S, Brendel V, Zhang J, et al. Molecular characterization of a mutable pigmentation phenotype and isolation of the first active transposable element from *Sorghum bicolor*[J]. *Proc. Nat. Acad.*

- Sci., USA,1999,96(26):15330-15335.
- [52] Price H J, Dillon S L, Hodnett G, et al. Genome evolution in the genus sorghum (Poaceae) [J]. *Annals of Botany*,2005,95(1):219-227.
- [53] Spangler R, Zaitchik B, Russo E, et al. Andropogoneae evolution and generic limits in sorghum (Poaceae)using *ndhF*sequences[J]. *SystematicBotany*,1999,24(2):267-281.
- [54] Ming R, Liu S C, Lin Y R, et al. Detailed alignment of saccharum and sorghum chromosomes: comparative organization of closely related diploid and polyploid genomes[J]. *Genetics*,1998,150(4): 1663-1682.
- [55] Swigonova Z, Lai J, Ma J, et al. Close split of sorghum and maize genome progenitors[J]. *Genome Research*,2004,14(10):1916-1923.
- [56] Al-Janabi S M, Honeycutt R J, McClelland M, et al. A genetic linkage map of *Saccharum spontaneum* L. ‘SES 208’ [J]. *Genetics*, 1993,134(4):1249-1260.
- [57] Grivet L, D'Hont A, Roques D, et al. RFLPmapping in cultivated sugarcane (*Saccharum* spp.): genome organization in a highly polyploid and aneuploid interspecific hybrid[J]. *Genetics*,1996,142 (3):987-1000.
- [58] Paterson A H, Chapman B A, Kissinger J C, et al. Convergent retention or loss of gene/domain families following independent whole-genome duplication events in *Arabidopsis*, *Oryza*, *Saccharomyces* and *Tetraodon*[J]. *Trends in Genetics*,2006,22(11): 597-602.