

倪先林, 赵甘霖, 刘天朋, 等. 高粱重要抗性性状的基因定位研究进展 [J]. 福建农业学报, 2012, 27 (6): 652-660.

NI X-L, ZHAO G-L, LIU T-P, et al. Advances in Sorghum Resistance Gene Mapping [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2012, 27 (6): 652-660.

高粱重要抗性性状的基因定位研究进展

倪先林, 赵甘霖, 刘天朋, 张长伟, 陈国民, 胡炯凌, 丁国祥

(四川省农业科学院水稻高粱研究所, 四川 泸州 646000)

摘 要: 抗病性是高粱遗传改良的主要目标, 是高粱高产、优质的重要保证。近年来, 随着分子生物技术的进步, 高粱基因组研究得到迅速发展, 大量重要的抗性性状基因被定位于相应的高粱遗传连锁图上, 这为高粱抗性机制的生理研究、抗性基因的克隆、分子标记辅助选择、有利基因的定向转移及基因聚合奠定了基础。本文综述了高粱抗旱性 QTL、抗病性基因、抗虫性基因、抗寄生草及耐寒性基因定位的研究进展, 探讨抗性基因定位存在的问题及其有效利用, 展望了高粱抗性基因定位在高粱遗传育种研究中的应用前景。

关键词: 高粱; 抗旱性; 基因定位; 数量性状位点; 分子标记

中图分类号: S 514

文献标识码: A

Advances in Sorghum Resistance Gene Mapping

NI Xian-lin, ZHAO Gan-lin, LIU Tian-peng, ZHANG Chang-wei, CHEN Guo-min, HU Jiong-ling,
DING Guo-xiang

(Rice and Sorghum Research Institute, Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Luzhou,
Sichuan 646000, China)

Abstract: Improving sorghum's disease resistance is one of the major objectives in our breeding program, as it is essential for the crop's high yield and desirable quality. In recent years, the advancement in molecular biotechnology fueled the significant progress in sorghum genome research. A large number of the critical resistance genes in sorghum have now been added on the genetic linkage map. It helps propel the studies on the physiology, resistance mechanism, resistance gene cloning, molecular marker assisted selection, favorable gene directed transfer and gene pyramiding on sorghum. In this article, notable achievements, such as the mapping of the QTL that resists drought and genes that resists diseases, pests, parasitic grasses or low temperatures, are summarized; the scientific challenges and anticipated future developments in the field of study are discussed; and specifically, some potential applications of the resistant gene mapping for sorghum breeding are presented.

Key words: sorghum; drought resistance; gene mapping; quantitative trait loci; molecular marker

高粱是世界第 5 大粮食作物, 其产量仅次于玉米、小麦、水稻和大麦, 具有 C4 植物的高光效特征。高粱抗旱性强、产量高、适应性广、耐涝及抗盐碱, 广泛种植于世界 5 大洲的热带干旱和半干旱地区, 是这些地区重要的粮食作物和饲料作物。在我国, 高粱也是重要的食用饲用和工业原料作物。

高粱起源于非洲, 属于禾本科高粱族 (*Andropogoneae*), 染色体数目 $2n = 20$ 。在禾本

科作物中, 高粱基因组较小, 其单倍体基因组 DNA 含量约 750 Mb, 比水稻 (约 430 Mb) 稍大, 但远小于玉米 (2 500 Mb)、小麦 (16 695 ~ 17 423 Mb)、大麦 (约 4 600 Mb) 和甘蔗 (930 ~ 7 440 Mb), 是禾本科类作物基因组结构、功能和进化研究的又一重要模式作物。近年来, 随着全球气候的变化, 干旱、病虫害等对作物产量的影响日趋严重, 抗性研究已成为了作物研究的重要内容。

收稿日期: 2012-02-15 初稿; 2012-04-25 修改稿

作者简介: 倪先林 (1981-), 男, 硕士, 研究实习员, 主要从事高粱相关研究工作 (E-mail: xianlinn@163.com)

通讯作者: 丁国祥 (1962-), 男, 副研究员, 主要从事高粱相关研究工作 (E-mail: dgx6132@163.com)

基金项目: 国家高粱产业技术体系 (nycyts12-01-04-02); 四川省财政育种基因工程项目 (200JYGC11-031); 四川省农业科学院青年人才基金项目 (2012QNJJ-023); 优质酿酒专用高粱现代产业链技术研究与集成示范项目 (2010 年)

高粱的抗性性状大部分属于较为复杂的数量遗传,受遗传和环境因子的共同作用,这就需要对高粱的抗性性状进行大规模的基因定位研究。但由于抗性性状遗传的复杂性,传统研究方法又易受时间和空间的影响,因而抗性育种进展缓慢。分子标记技术由于具有标记数量多、不受环境影响、能精确定位性状基因、显著提高选择效率等优点,已被广泛应用于高粱遗传多样性研究^[1]、遗传图谱的构建^[2]、基因/QTL定位^[3-4]等方面。利用分子标记进行辅助选择育种,可以大大减少遗传累赘的影响,提高育种效率,加快抗病基因的转移和聚合。目前,高粱基因组测序已完成,完整的覆盖高粱全基因组的高密度遗传连锁图谱也构建完成,一些重要的抗性性状也通过分子标记定位于相应的遗传连锁群上,这对于高粱抗性机制的生理研究、重要性状基因的克隆、分子标记辅助选择、有利基因的定向转移及基因聚合奠定了基础。

1 抗旱基因定位

高粱是最耐旱的禾本科作物之一,由于其具有丰富的耐旱遗传特性和较小的基因组,因而成为研究耐旱性遗传机理和生理学机理的优秀模式作物。高粱有2种不同的干旱反应特性,即开花前抗旱性和开花后抗旱性,分别由不同的遗传机制控制。开花前发生干旱常导致高粱生长发育速度减慢,生育停滞或枯死,直接影响穗的大小、穗粒数和籽粒产量。开花后发生干旱,则会发生授粉不良、植株早衰、光合能力下降、籽粒灌浆受阻、茎腐病、粒霉病、茎秆倒伏,造成减产和籽粒品质下降,籽粒发芽率降低。高粱的抗旱性状是多基因作用的结果,对抗旱基因进行定位有利于对抗旱性遗传机理的研究和抗旱育种实践的应用。

1.1 开花前抗旱性 QTL 基因定位研究

高粱在穗分化至开花期对干旱反应尤为敏感,持续干旱会造成高粱生育停滞、甚至枯死,直接影响高粱的籽粒产量和品质。

Tuinstra等^[5]在B35(持绿亲本,花前对干旱敏感,花后耐旱)和Tx7078(非持绿亲本,花前耐旱,开花后对干旱敏感)杂交组成的98个F5 RIL群体中,通过150个RAPD与20个RFLP标记的分析,发现6个位点与花前抗旱性有关,其中2个位点在连锁群D上,3个位点位于连锁群F上,1个位点位于连锁群M上。Kebede等^[6]在SC56(持绿亲本)×Tx7000(非持绿亲本)组配的125个F7 RIL群体中,用复合区间作图法,发

现了4个花前抗旱QTL(Pfr C、Pfr E、Pfr F和Pfr G),解释表型变异11.9%~37.7%,LOD值3.14~9.88;其中Pfr F抗旱位点在3个不同的试验环境中都得以表达,分别可解释表型变异的18.7%、22.2%和25.2%,Pfr G抗旱位点在2个不同的试验环境中得以表达,分别可解释表型变异的15.0%和37.7%,Pfr F和Pfr G是2个主效QTL。Pfr E和Pfr F抗旱位点来源于持绿亲本SC56,Pfr C和Pfr G来源于非持绿亲本Tx7000。2位研究者所用的亲本材料不同,但抗旱性QTL在不同遗传背景和环境条件下一致表达,这些稳定表达的QTL有利于高粱抗旱性基因的精细定位及其作用机制的进一步研究。

1.2 开花后抗旱性 QTL 基因定位研究

开花后抗旱性又被称为持绿性,在干旱后期,具有持绿性状的基因型抗植株早衰和叶片死亡,其叶片内仍保留有叶绿素,且维持进行光合作用的能力远比那些衰老型叶片更长,而那些开始衰老的叶片虽然也含有叶绿素,但却丧失了进行光合作用的能力。Thomas和Smart^[7]鉴定出4种类型的持绿性,前2类是功能性持绿,分别有特定的基因来控制 and 调节衰老的开始及衰老速率。另2类持绿性状则表现为植株虽呈绿色,但缺乏光合活性。Thomas和Howarth^[8]发现了第5种类型的持绿性,叫做E型。其较高的叶片绿色度与较高的起始叶绿素含量有关,在衰老过程中随着叶片叶绿素含量的降低,叶片绿色程度减少的较慢。具有持绿性的高粱,对开花后干旱胁迫具有很强的抗性。

Tuinstra等^[9]在B35×Tx7078杂交组成的98个RIL群体中利用RAPD标记找到7个持绿QTL,对表型变异的贡献率为53%,其中有2个QTL在2个不同的试验环境中可以一致表达。Crasta等^[10]在B35×Tx430组成的RIL群体中,采用RFLP标记在4个环境的试验中找到7个持绿QTL,解释遗传变异的90%,其中3个主要持绿QTL(SGA、SGD、SGG)对表型变异贡献率为42%,4个次要持绿QTL(SGB、SGL1、SGL2、SGJ)对表型变异贡献率为25%,持绿性状的遗传力为0.72。Xu等^[11]在B35×Tx7000组合的98个RIL群体中,经2年5个环境的试验,找到位于3个连锁群上的4个持绿QTL(Stg1、Stg2、Stg3、Stg4),解释总变异的53.5%。Stg1、Stg2位于连锁群A上,分别解释表型变异的13%~20%和20%~30%,且在2年的5个试验环境中都稳定检测到;Stg3、Stg4位于连锁群D、J上,分别解释

表型变异的 9.7%~14.8%和 11.1%~12.4%，且分别在 3 个和 2 个不同的试验环境中检测到；Stg2 的加性效应最大，4 个主要持绿 QTL 对持绿表型的贡献率大小依次是 Stg2>Stg1>Stg3>Stg4，所有的持绿位点均来源于 B35。持绿 QTLStg1 和 Stg2 所在的基因组区域包含了光合作用关键酶基因、热激蛋白和脱落酸应答基因，并推断 Stg1 可能是 Tuinstra 等^[9]鉴定的位于连锁群 G 上的 QTL。Tao 等^[12]用 QL39×QL41 组合的 160 个 RIL 群体，5 个地点 3 个生长季鉴定出 5 个持绿 QTL，分别位于连锁群 A、B、C、G 和 I 上，连锁群 B 和 I 上的区段在 3 个试验中一致表达，连锁群 A 上的区段在 2 个试验中一致表达，而连锁群 G 和 C 上的区段只在 1 个环境中得以表达。连锁群 A 和 C 上的持绿位点来自于亲本 QL39，连锁群 B、G 和 I 上的持绿位点来自亲本 QL41。Subudhi 等^[13]用 B35×Tx7000 组合的 RIL 群体，超过 2 年的 2 点试验结果表明，4 个持绿 QTL（Stg1、Stg2、Stg3、Stg4）在不同遗传背景下的表达具有相当高的一致性。在考虑表型变异率、遗传背景和环境一致的情况下，Stg1、Stg2、Stg3 对持绿性状的表达更重要。Stg2 包含有很大的上位性效应，在连锁群 C 上找到 1 个与持绿和叶绿素含量相关的 QTL 区域，并推断 Stg2 是控制持绿性状最重要的 QTL，解释最多的表型变异率。这与 Tao 等^[12]的研究结果相一致。Kebede 等^[6]用 SC56（持绿亲本）×Tx7000 组合的 RIL 群体，在 5 个环境中发现了 9 个持绿 QTL，位于 7 个连锁群上，大多数 QTL 解释表型变异的 10%~15%，LOD 值 2.63~4.21。StgG 在 4 个环境中都持续表达，其中在 1 个环境中解释表型变异达 22.6%，LOD 值为 5.95；StgJ 在 3 个环境中一致表达，而其他 QTL 只在 1 个环境中表达。除在连锁群 C、B、D、F 上的持绿 QTL 来自于亲本 Tx7000 外，其他位点都来自于持绿亲本 SC56，所有的 QTL 解释了总表型变异的 25%，表明 QTL 间存在着明显的互作。对比分析发现，StgA、StgG 和 StgJ 的位置与以往研究的结果一致^[9-11]；StgA、StgJ 位于与 B35×Tx430 和 B35×Tx7000 作图群体相同的连锁群区域，StgG 与 Crasta^[10]和 Tuinstra^[9]的连锁群 G、F 的位点相同，StgG 和 StgJ 在所有环境中都表达，StgA 是一个主效 QTL，其他 QTL 可能是微效的。进一步的分析表明，StgA 与玉米 8 号染色体上的持绿 QTL 相对应，另一个持绿 QTLStgB 与玉米 9 号染色体持绿 QTL 同源。Sanchez 等^[14]

用 B35×Tx7000 构建的 RIL 群体，鉴定出 4 个持绿 QTL，这 4 个主要的持绿 QTL 在所有不同的试验环境中都一致表达，解释表型变异的 53.5%。Haussmann 等^[15]用 IS9830×E36-1 和 N13×E36-1 组合的 RIL 群体，复合区间作图法在 3 个试验环境中找到持绿 QTL 5~8 个，解释表型变异的 31%~42%，在 2 个群体中，双亲对持绿基因都有贡献。连锁群 A、E 和 G 上的持绿 QTL 在 2 个群体中和不同年份都有表达，持绿位点来自于持绿亲本 E36-1。但是，在 IS9830×E36-1 组合的 RIL 群体中，连锁群 C 上的主效持绿 QTL 却来自于非持绿亲本 IS9830。

许多不同的高粱基因型都被证明有持绿特性（B35、SC56、E36-1），非持绿亲本也具有花前抗旱性 QTL，但它们的地理来源不尽相同，B35 和 E36-1 来自埃塞俄比亚，SC56 来自苏丹，Tx7000 则来自美国。B35 的持绿性状主要受一显性基因控制，许多的持绿 QTL 定位研究都用 B35 作为亲本之一^[9-11,13-14]，这些研究鉴定出了 4 个主效 QTL（Stg1、Stg2、Stg3、Stg4）和其他许多修饰持绿性状表达的微效 QTL，并认为 Stg2 是最重要的 QTL，且持绿 QTL 间存在着明显的互作。对 B35×Tx7000 和 B35×Tx430 的作图群体持绿 QTL 分析结果进行比较，发现 4 个持绿 QTL（Stg1、Stg2、Stg3、Stg4）在 7 个环境和不同的遗传背景下表现一致^[9,12]。Stg1 和 Stg2 与 Tuinstra 等^[9]发现的 QTL 具有同样的标记和基因组位置，是相同的数量位点。在 B35×Tx7000 中 Stg2、Stg3 和 Stg4 位点^[11]与 B35×Tx430 群体中 StgA、StgD 和 StgJ 位点^[10]一致。目前，已有大量标记定位于连锁群 A、D 和 J 上的持绿 QTL 区域，这有助于对持绿性状 QTL 的进一步精细定位及克隆。

2 高粱抗病虫害性基因定位

病虫害是影响高粱产量和品质的重要因素之一。全世界已报道的高粱病害有 60 余种，国内发现的也有 30 余种，较普遍发生的有 15 种^[16]。高粱病虫害生理小种的分化加大了其防治难度。培育和利用抗病虫品种，是防治病虫害的经济有效途径之一。

2.1 抗丝黑穗病基因定位

高粱丝黑穗病广泛分布于世界各地高粱生产区，在我国高粱春播区，严重时发病率可高达 70%，是影响我国高粱生产发展的主要病害之一。高粱对丝黑穗病的抗性，具有受主效基因控制和微

效多基因控制的2种类型^[17]。

Oh等^[18]采用43个玉米基因组克隆和3个限制性内切酶对4个抗病品系和4个感病品系进行高粱抗丝黑穗病作图亲本筛选,在SC325和RTx7078之间检测到最大多态性。从SC325和RTx7078品种中一共筛选出122个高粱基因克隆、10个玉米基因克隆和168个RAPD标记,绘图标记的连锁分析表明,RFLP标记tam1294和RAPD标记OPG5-2与SC325的抗性基因连锁,距离分别为13.5 cM和11.2 cM。Oh等^[19]的进一步研究表明,RFLP标记pSbTXS560、pSbTXS1294和RAPD标记OPG5-2与连锁群B上的丝黑穗病抗性基因(*Shs*)连锁,遗传距离分别为8.8、19.9和6.0 cM。李玥莹等^[20]采用分离群体分组分析法(BSA),分别利用恢复系分离群体(2381R/矮四)和保持系分离群体(Tx622B/7050B)对高粱丝黑穗病抗病基因进行SSR分析,初步确定高粱丝黑穗病3号生理小种抗性基因与SSR位点Xtxp80连锁,距离为8.3 cM,但未能将其定位在相应的连锁群上;邹剑秋等^[21]采用相同的群体和方法进行进一步研究,发现了2个在抗病品系中稳定出现,可作为高粱抗丝黑穗病3号生理小种基因标记应用的SSR标记Xtxp13和Xtxp145,分别位于染色体B和I上,与抗病基因的遗传图距分别约为9.6 cM和10.4 cM。Oh和邹剑秋研究所用的材料不尽相同,但他们都在染色体B上定位到了抗性基因,因而在以后的研究中,可以加大染色体B上标记的开发和充实,以加快抗性基因的精细定位和克隆。

2.2 抗炭疽病基因定位

高粱炭疽病于1852年在意大利首次被报道。炭疽病不仅危害叶片,也可引起茎腐病,常危害甜高粱和粒用高粱,在大多数高粱产区都有发生,是高粱的主要病害之一。高粱炭疽病和玉米炭疽病的病菌属于不同的真菌种类^[22]。高粱对炭疽病的抗性表现出显性和隐性。

Boora等^[23]利用SC326-6×BTx623的F2:3家系分析了高粱对炭疽病的抗性遗传,结果表明该抗性受一对隐性基因控制,并用300对RAPD引物对分离群体进行了分析,筛选到3对与该性状相关的引物,其中2对引物与抗性基因表现共分离,另外1对与感病基因连锁,但未能将这些鉴定出来的RAPD标记定位在遗传图谱上。Panday等^[24]在G73(隐性抗亲)×HC136(感亲)组配的群体中,用BSA法从114对RAPD引物中筛选出了6

对与炭疽病相关的引物,其中3对与炭疽病隐性抗病基因表现共分离,而另外3对则与感病基因连锁,进一步的分析发现有2对引物(OP116和OPD12)与抗病位点连锁最为紧密。Singh等^[25]用HC136×G73组合的RIL群体通过BSA法分析表明,RAPD标记OPJ 011437与炭疽病抗性基因紧密连锁,与抗病位点的遗传图距为3.26 cM,位于第8染色体长臂上。另外1个RAPD标记OPJ 01也在抗性亲本G73和抗性群体中扩增出了条带。将RAPD标记OPJ 011437转化为SCAR标记,并证明该SCAR标记也在同样的位点与抗性基因连锁,说明这些标记可在高粱炭疽病的抗性选育中应用。Katile^[26]用SC155-14E(抗亲)和BTx623(感亲)构建的群体,找到了与炭疽病抗性基因连锁的3个AFLP标记(Xtxa607、Xtxa3181、Xtxa4327)和3个SSR标记(Xtxp3、Xtxp55、Xtxp72),位于连锁群B上。Perumal等^[3]用SC748-5(Cg1Cg1主效显性基因)×BTx623组合的群体,将显性抗炭疽病基因Cg1精细定位在第5染色体上,AFLP标记Xtxa6227和SSR标记Xtxp549与该基因紧密连锁,位于基因的同侧,距离分别为1.8 cM和3.6 cM,并证明这2个标记可有效地应用于高粱抗炭疽病的分子标记辅助育种中,这有利于对显性抗炭疽病基因Cg1的进一步克隆和利用。

2.3 抗叶枯病基因定位

高粱叶枯病的抗性是显性单基因遗传。Boora等^[27]用抗性亲本SC326-6与感病亲本BTx623杂交,对F2群体用RAPD标记、BSA法和单株分析相结合,发现标记OPD12与抗病性出现共分离,将该RAPD标记转换成SCAR标记,发现该SCAR标记与抗性基因紧密连锁,交换率为8.6%,但在已发表的遗传图谱上无相应的标记与之对应,因而不能确定该位点在连锁群上的位置。Mohan等^[28]用296B和IS18551组合的168个F7 RIL群体,在2个不同的环境中找到了12个与5种叶病有关的QTL,位于连锁群SBI-03、SBI-04和SBI-06上,解释表型变异的6.9%~44.9%,而形态学标记植株颜色在不同的年份和地点下都与大多数QTL相关。

2.4 抗粒霉病基因定位

粒霉病是由多种病原真菌引起的高粱籽粒病害,会导致籽粒品质的严重下降,特别是在热带半干旱地区。高粱粒霉病是目前生产上最受重视的高粱病害^[18]。

Klein 等^[29]用 Sureno (抗亲) × RTx430 (感亲) 构建的 RIL 群体, 区间作图和单因子方差分析发现 5 个 QTL 显著影响粒霉病发病率, 分别位于连锁群 D、E、F、G 和 I 上, 解释表型变异的 10%~24%。这些 QTL 的效应和相对基因组区域与几个相关的农艺性状 (株高、穗柄长) 分布一致, 这也与这些表型性状和粒霉病发生率之间的相关分析结果一致, 同时发现在 LGI 上还有一些对叶病发生率有关的 QTL 位点 (包括细菌性叶枯病、环纹叶斑病、炭疽), 它们解释表型变异的 33%~55%。

2.5 抗霜霉病基因定位

高粱霜霉病于 1956 年首先在巴拿马种植的饲料高粱上发现, 是高粱的一种毁灭性病害, 该病在非洲、亚洲、美洲的许多国家都有发生, 是高粱检疫病害之一。高粱对霜霉病的抗性由 1 或 2 对显性基因控制。根据不同的品种对病原菌抗性反应的不同, 美国 Texas 研究所研究了霜霉病菌的 3 个生理小种 (1、2、3), 结果表明, QL3-India 有 2 个显性基因对霜霉病 3 个生理小种都具有抗性, 而 SC414-12 则有 1 个显性基因对霜霉病的 3 个相同生理小种具有抗性, 且这 3 个基因之间并无连锁关系^[30]。

Gowda 等^[31]用 RT7080 × SC414 构建的群体, 分析表明霜霉病的抗性由 1 对显性基因决定。SC414 的抗性基因对霜霉病的 3 个生理小种都具有抗性, 674 个 RAPD 引物中, 有 2 个引物 (PAL1₃₆₀ 和 OPQ8₅₁₀) 与 SC414 中的霜霉病抗性基因连锁, 分布在抗病基因的同侧, 距离为 13.5 cM 和 9.5 cM。RAPD 标记 OPQ8 可能与 RFLP 标记 txs552 连锁。利用已有的 IS3620C × BTx623 构建的 RFLP 作图群体, 在另 1 个高粱材料 BTx623 中, 也找到了 2 个与另 1 个不同的霜霉病抗性基因连锁的 RFLP 标记, txs1052 和 txs1092 (2), 分布在基因的两侧, 距离分别为 12 cM 和 14 cM, 该抗性基因位于连锁群 C 上。Oh 等^[32]的研究表明, 高粱材料 SC325 对霜霉病 1 型和 3 型生理小种具有抗性, 霜霉病的抗性由 1 对显性基因控制, RFLP 标记分析发现抗性位点与标记 psbTXS552 和 psbTXS361 共分离, 遗传距离分别为 5.0 cM 和 7.9 cM, 但由于标记差异, 相应的位点没能在相应连锁群上准确定位。虽然 SC325 和 SC414 中的抗性基因不同, 但它们有可能在同一个连锁群中。

2.6 抗锈病基因定位

锈病是在世界范围内高发的病害, 呈数量性状

变异, 主要侵染叶片和穗梗, 严重时可能造成籽粒减产 65%。

Tao 等^[33]以 QL39 × QL41 组合的 160 个 RIL 为材料, 通过 2 年的重复试验, 发现 4 个染色体区段 (2、4、5、10) 与锈病抗性有关, 其两侧紧密连锁的标记分别为 BNL5109/TXS1625、R2323/ISU102、SSCIR51/TXS2042、PSB47/TX422。对应于 Menz 等^[2]的 LGD、LGC、LGB、LGH 连锁图, 这 4 个位点能解释表型变异的 6.8%~42.6%, 位于 LG10 (Menz 等^[2], LGH) 上的位点具有最大的抗性效应, 解释总变异的 40%, 是控制锈病抗性遗传的主效基因。McIntyre 等^[34]利用来自甘蔗根茎叶的 54 个抗病基因同源序列 (RGAs), 将 31 个 RGAs 定位在了高粱除 LGD 和 LGI 外的 8 条染色体上。一些 RGAs 被单独定位到一条染色体上, 但大量的 RGAs 在不同的染色体上成簇出现, 甘蔗和高粱的遗传图谱中有 23 个 RGAs 是相同的。发现了 4 个抗锈病 QTL, 其中 5 个 RGAs 被定位在 3 个抗锈病 QTL 区域, 分别位于 LGA、LGB 和 LGE 上, 甘蔗中与抗锈病有关的 3 个 RGAs 也都被定位到了高粱的 LGE 上, 位于 LGE 上的 1 个主效抗锈病 QTL (RGA-Q32) 与玉米 10S 和甘蔗的抗锈病基因 *Rp1-D* 具有同源关系, 说明了 RGAs 在鉴定与抗锈病位点连锁的标记中的实用性。

2.7 抗茎腐病基因定位

高粱茎腐病广泛发生于世界的热带和温带高粱产区, 该病常导致籽粒灌浆不饱满, 生长势弱或花梗折断, 茎秆破损及植株倒伏。

Reddy 等^[35]用 IS22380 (感亲) × E36-1 (抗亲) 构建的 F9 RIL 群体, 用 SSR 标记和 RAPD 标记, 构建了包含 66 个 SSR 标记和 19 个 RAPD 标记的遗传连锁图谱, 10 个连锁群覆盖 650.3 cM。用复合区间作图法, 在 2 个不同的地点分别发现了 5 个和 4 个与茎腐病抗性性状相关的 QTL, 其中在 2 个不同的地点鉴定出的腐烂节间数、侵染长度和倒伏率 QTL 是相同的。这些在不同的环境下稳定表达的 QTL 有助于分子标记辅助选择抗茎腐病高粱品种。

2.8 抗蚜虫基因定位

蚜虫是高粱的主要害虫之一, 在我国为害高粱最严重的蚜是高粱黄蚜。高粱对蚜虫的抗性遗传分为显性和不完全显性。

1999 年, 美国得克萨斯州的 A & M 大学得出抗蚜基因至少分布于 9 个位点, 8 个连锁群, 其中

多数是不完全显性。Katsar 等^[36]利用 RFLP 方法分析了美国高粱对于麦二叉蚜的抗性, 研究发现至少有 10 个位点位于 8 个连锁群上, 与蚜虫生理型 C、E、I 和 K 抗性相关, 分别位于 LGA、LGD、LGE、LGF、LGG、LGH、LGI、LGJ 上, 解释总表型变异的 2.94%~49.38%。位于 LGE 上的 2 个 QTL 位点和 LGG 上的 1 个位点有着最大的抗性效应, 抗性位点都来源于抗性亲本 Tx2783。Agrama 等^[37]用 GBIK×Redlan 组合的 93 个 RIL 群体, 发现有 9 个分别位于连锁群 A、B、C、D、F、H、J 上的 QTL 与蚜虫生理型 I、K 的抗性有关, 这些 QTL 解释表型变异的 5.6%~38.4%, 其中 1 个 SSR 位点和 1 个 RAPD 位点同时抗 2 种生理型。另外有 4 个标记与特异生理型抗性性状连锁。研究发现, 对每种生理型的抗性可由多个 QTL 控制, 说明不同基因的多个基因组区段控制高粱蚜虫的抗性。WU 和 Huang^[38]用 Westland A (感蚜)×PI550610 (抗蚜) 组合的群体, 118 个 SSR 标记, 复合区间作图法和多区间作图法在第 9 染色体上检测到 2 个稳定表达的抗性 QTL: QSsgr-09-01 (主效 QTL) 和 QSsgr-09-02 (微效 QTL), 分别解释表型变异的 55%~80% 和 1%~6%。这些抗性 QTL 具有加性和部分显性效应, 部分与主效 QTL 紧密连锁的 SSR 标记 (Xtxp67、Xtxp230) 可用于分子标记辅助育种。Nagaraj 等^[39]利用 96-4121 (抗蚜)×Redlan (感蚜) 组合的 RIL 群体, 构建了包含 13 个连锁群 60 个 SSR 标记的遗传连锁图谱, 用复合区间作图法, 发现了 3 个与蚜虫生理型 I 相关的 QTL 和 5 个与蚜虫生理型 K 相关的 QTL, 这些 QTL 可解释总表型变异的 9.0%~19.6%。李钥莹等^[40]对 BTAM428 和 ICS212B 组配的 132 个 F₂ 群体进行分析, 采用 BSA 法筛选出 3 个与抗蚜基因连锁的标记 OPN208373、OPN207727 和 OPY 214600, 分别位于抗蚜基因的两侧, 与抗蚜基因的距离为 3.2、6.5 和 11.7 cM, 并将与抗蚜基因紧密连锁的 2 个 RAPD 标记成功的转化为 SCAR 标记, 构建了抗蚜基因连锁群图谱, 从而为分子标记辅助育种提供了可靠的依据。常金华^[41]利用 BSA 法对河农 16 (抗蚜)×千三 (感蚜) 构建的 F₂ 分离后代群体进行 SSR 分析, 找到了 1 个与抗蚜基因紧密连锁的 SSR 标记 Xtxp6 和 1 个 AFLP 标记 Xtxa7, 位于基因的两侧, 与抗蚜基因的遗传距离分别为 8.0 cM 和 4.8 cM, 并初步将该显性抗蚜基因定位在了第 9 连锁群上。结果还表明该研究所定位的抗蚜基

因可能与李钥莹等所研究的抗蚜基因来源不同。大量研究都在第 9 染色体上发现了抗蚜基因, 而部分主效和显性抗蚜基因也已被初步定位, 这为抗蚜基因的精细定位及克隆利用打下了基础。

2.9 抗高粱秆蝇基因定位

高粱秆蝇是影响高粱产量最重要的害虫之一, 常在高粱幼苗期发生。鉴定出与高粱秆蝇抗性相关的 QTL 位点, 有利于解释复杂高粱秆蝇性状间的相互作用的遗传机制和遗传背景, 指导高粱抗秆蝇育种。

Satish 等^[42]用 296B (感亲)×IS18551 (抗亲) 组合的 168 个 RIL 群体, 构建了包含 162 个微卫星标记的遗传连锁图谱, 用多区间作图法发现了 29 个与高粱秆蝇抗性有关的 QTL, LOD 值 2.6~15, 解释表型变异的 5%~33%。大部分的抗性 QTL 位点均来自亲本 IS18551, 但也有 6 个 QTL 的抗性位点来自亲本 296B。该研究鉴定的 QTL 与相应玉米基因组区域的昆虫抗性 QTL (基因) 位点相一致, 表明昆虫的抗性位点在这些作物间存在保守性。Aruna 等^[43]用 27B (感亲)×IS2122 (抗亲) 组合的 210 个 RIL 群体, 构建了包含 149 个标记位点 (127 个基因组微卫星标记、21 个基因微卫星标记和 1 个形态标记) 的遗传连锁图谱, 用多区间作图法发现了 25 个与高粱秆蝇抗性相关的 QTL, LOD 值 2.44~24.1, 解释表型变异的 4.3%~44.1%。大部分的抗性 QTL 位点来自亲本 IS2122, 但有 2 个 QTL 区域的抗性来自感亲 27B; 有 3 个基因组区域包含多个性状的 QTL, 表明基因的多效性和连锁的紧密性, 鉴定出在不同环境下稳定表达的 QTL, 并进一步鉴定出大多数 QTL 所在区域的可能候选基因。

3 寄生草抗性基因定位

徐吉臣等^[44]用山桂红和 SRN39 构建的 RIL 群体进行寄生草萌发诱导物基因定位研究, 认为该性状由单一隐性基因控制, 与分子标记数据进行共分离发现, 该萌发诱导物基因位于高粱连锁群 J 上, 相距最近的 SSR 标记有 903 kb, 为 13 cM, 进一步的精细定位发现, 有 2 个分子标记 OPAJ0604、OPJ1314 分别位于基因的两侧, 距离为 1.6 cM 和 2.1 cM。Hausmann 等^[45]利用 IS9830×E36-1 (群体 1) 和 N13×E36-1 (群体 2) 组合的 2 个 RIL 群体, 构建了遗传连锁图谱, 通过 5 个不同环境的试验, 用复合区间作图法, 在群体 1 中 2 年分别发现了 11 个和 9 个与寄生草抗性相关的 QTL,

解释遗传变异的 77% 和 80%，群体 1 中最重要的 QTL 与连锁群 I 上的主效低寄生草萌发基因位点相一致。在群体 2 中，11 个和 9 个 QTL 解释遗传变异的 79% 和 82%，在 2 个群体中检测到 5 个相同的 QTL，抗性位点分别来自 IS9830 和 N13，这些在不同的遗传背景、环境和年份下检测到的 QTL 可以用于分子标记辅助选择优良候选基因，并有助于寄生草抗性基因的精细定位和克隆。

4 耐冷害基因定位

低温是影响高粱早期生长的一个主要限制因素。中国的本地高粱品种具有优良的耐冷特性，在低温下具有良好的出苗率和出苗活力，并正作为一种基因资源用来改良其他品种的苗期耐冷特性。利用分子标记辅助选择技术可以加快中国地方品种的优良耐冷害基因渗入其他品种中。

Joseph 等^[46]用山桂红（耐冷害）和 SRN39（感冷害）构建了 153 个 RIL 群体，用单标记分析法、单区间作图法和复合区间作图法在低温和最适温度下鉴定与高粱早期表现相关的 QTL，发现了 2 个与高粱种子萌发相关的 QTL，1 个在连锁群 SBI-03a 上，来自亲本 SRN39，在低温和最适温度下表现显著。另外 1 个在连锁群 SBI-07b 上，来自亲本山桂红，在低温条件下表现更为显著。此外，复合区间作图法还发现 1 个与出苗速度相关的 QTL 在 SBI-02 上，来自亲本 SRN39；单区间作图法在 SBI-04 上发现 1 个与幼苗早期活力相关的 QTL，来自亲本 SQR。

5 问题和展望

随着分子标记技术的发展、高粱物理图谱和遗传图谱的整合，大量影响高粱生长发育及生产的重要抗性基因/QTL 被定位到相应的高粱连锁群上，一些在不同遗传背景和环境条件下稳定表达的 QTL 也被检测到，这对于优良抗性基因的精细定位、克隆、定向转移和聚合，培育具有广谱或持久抗性的高粱品种提供了便利的条件，也为利用分子标记辅助选择进行抗性育种创造了条件，大大推进了高粱抗性育种研究的进程。有助于培育一系列近等基因系（NIL）的大群体，并推动 QTL 的精细定位和对高粱抗性机制的深入了解，为育种家们进行分子标记辅助选择提供便利。Karen 等^[47]以 BTx642 和 RTx7000 为亲本，用 62 个 DNA 分子标记做检测，成功地构建了包含 BT×642 的 1~4 个持绿 QTL（Stg1、Stg2、Stg3 和 Stg4）片段的

近等基因系群体 RTx7000。

遗传基础单一是抗性丧失最主要的原因，聚合多个不同抗性基因是获得高水平持久抗性的重要途径。但由于国内高粱资源的抗性较差，因此一方面应积极引进国外的抗性资源，拓宽抗病遗传基础；另一方面应采用先进的方法和技术改良已有材料的抗性，发掘和鉴定更多的抗性基因，并聚合多个抗性基因，创造新的材料。此外，其他作物上鉴定和分离克隆到的基因可以直接转化到高粱中，为高粱的改良提供一个很好的变异来源。利用与目的基因紧密连锁的分子标记，进行分子标记辅助选择育种，可以大大减少遗传累赘的影响，加快抗病基因的转移，实现抗病基因的快速聚合。但在实际过程中，由于基因的互作及环境影响，聚合系对个别小种的抗病能力反而比单基因系弱。因此，应利用抗病效应大、与环境或其他基因负向互作效应小的主效基因进行分子标记辅助育种的抗病改良。就抗旱性而言，持绿 QTL 在所有 10 个连锁群中都有发现，因此把持绿性状与花前抗旱性基因聚合在一起，是培育能在不同时期抗干旱胁迫高粱品种的一种有效途径。就抗病虫性而言，由于其群体的结构变化带有明显的区域差异，因此应连续监测群落的变异情况，及时更换或补充新的抗性基因，有效进行抗性基因的合理部署和交叉利用，在育种和栽培过程中科学地利用抗性基因，延长品种抗性。

发掘具有广谱或持久抗性的高粱资源，精细定位和克隆重要的抗性基因，进而开发出与目标基因紧密连锁的广适性分子标记，特别是针对基因位点的特异性标记（SNP 或 InDel 等）或基因本身的标记，对于加速抗性基因分子标记辅助育种具有重要意义。高粱全基因组测序的完成带动了高粱大规模分子标记的开发。而为了加快高粱抗性品种辅助选育进程，大量抗性基因标记的筛选必将成为下一步的研究内容。但就目前而言，分子标记技术虽然类型较多，但却都存在一些不足。如 RFLP 技术复杂、RAPD 重复稳定性差、AFLP 操作繁琐等，而分子标记育种技术也仍主要局限于基础研究领域，与实践结合较少，还有一定的局限性，致使大部分的研究仍停留在初步定位阶段，离抗性基因的克隆、转移及聚合利用还有一定的距离，这就需要研发出分析速度更快、成本更低、信息量更大的更完善的分子标记技术，并积极构建优良的定位群体（NIL，CSSLs），为抗性基因的进一步精细定位及克隆奠定基础。

参考文献:

- [1] MENZ M A, KLEIN R R, UNRUH N C, et al. Genetic diversity of public inbreds of sorghum determined by mapped AFLP and SSR markers [J]. Crop Sci, 2004, 44 (4): 1236—1244.
- [2] 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 Mol Biol, 2002, 48 (5—6): 483—499.
- [3] PERUMAL R, MENZ M A, MEHTA P J, et al. Magill. Molecular mapping of Cg1, a gene for resistance to anthracnose (*Colletotrichum sublineolum*) in sorghum [J]. Euphytica, 2009, 165 (3): 597—606.
- [4] JORDAN D R, KLEIN R R, SAKREWSKI K G, et al. Mapping and characterization of Rf5: a new gene conditioning pollen fertility restoration in A1 and A2 cytoplasm in sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] [J]. Theor Appl Genet, 2010, 123 (3): 383—396.
- [5] TUINSTRAL M R, GROTE E M, GOLDSBROUGH P B, et al. Identification of quantitative trait loci associated with pre-flowering drought tolerance in sorghum [J]. Crop Sci, 1996, 36 (5): 1337—1344.
- [6] KEBEDE H, SUBUDHI P K, ROSENOW D T, et al. Quantitative trait loci influencing drought tolerance in grain sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) [J]. Theor Appl Genet, 2001, 103 (2—3): 266—276.
- [7] THOMAS H, SMART C M. Crops that stay green [J]. Ann Appl Biol, 1993, 123 (1): 193—219.
- [8] THOMAS H, HOWARTH C J. Five ways to stay green [J]. J Exp Bot, 2000, 51 (1): 329—337.
- [9] TUINSTRAL M R, GROTE E M, GOLDSBROUGH P B, et al. Genetic analysis of post-flowering drought tolerance and components of grain development in *Sorghum bicolor* (L.) Moench [J]. Mol Breed, 1997, 3 (6): 439—448.
- [10] CRASTA O R, XU W 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]. Mol Gen Genet, 1999, 262 (3): 579—588.
- [11] 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.
- [12] TAO Y Z, HENZELL R G, JORDAN D R, et al. Identification of genomic regions associated with stay green in sorghum by testing RIL in multiple environments [J]. Theor Appl Genet, 2000, 100 (8): 1225—1232.
- [13] 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: 733—741.
- [14] SANCHEZ A C, SUBUDHI P K, ROSENOW D T, et al. Mapping QTLs associated with drought resistance in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) [J]. Plant Molecular Biology, 2002, 48 (5—6): 713—726.
- [15] 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.
- [16] 卢庆善, 孙毅. 杂交高粱遗传改良 [M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2005: 414.
- [17] 曹如槐, 王晓玲, 任建华, 等. 高粱对丝黑穗病的抗性及其遗传研究 [J]. 遗传学报, 1988, 15 (3): 170—173.
- [18] OH B J, GOWDA P S B, MAGILL C W, et al. Tagging acremonium wilt, downy mildew and head smut resistance genes in sorghum using RFLP and RAPD markers [J]. Sorghum Newsl, 1993, 34: 34.
- [19] OH B J, FREDERIKSEN R A, MAGILL C W. Identification of molecular markers linked to head smut resistance gene (*Shs*) in sorghum by RFLP and RAPD analyses [J]. Phytopathology, 1994, 84 (8): 830—833.
- [20] 李玥莹, 王天舒, 邹剑秋, 等. 高粱丝黑穗病抗病基因 SSR 分析 [J]. 沈阳农业大学学报, 2008, 39 (6): 686—689.
- [21] 邹剑秋, 李玥莹, 朱凯, 等. 高粱丝黑穗病 3 号生理小种抗性遗传研究及抗病基因分子标记 [J]. 中国农业科学, 2010, 43 (3): 713—720.
- [22] HORVATH B J, VARGAS J M. Genetic variation among *Colletotrichum graminicola* isolates from four hosts using isozyme analysis [J]. Plant Disease, 2004, 88 (4): 402—406.
- [23] BOORA K S, FREDERIKSEN R, MAGILL C. DNA-based markers for a recessive gene conferring anthracnose resistance in sorghum [J]. Crop sci, 1998, 38 (6): 1708—1709.
- [24] PANDAY S, SINDHU A, BOORA K S. RAPD based DNA markers linked to anthracnose disease resistance in *Sorghum bicolor* (L.) Moench [J]. Genetics, 2002, 40(2): 206—211.
- [25] 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.
- [26] KATILE S O. Expression of defense genes in sorghum grain mold and tagging and mapping a sorghum anthracnose resistance gene [D]. M Sc Michigan State University, 2007.
- [27] BOORA K, FREDERIKSEN R A, MAGILL C W. A molecular marker that segregate with sorghum leaf blight resistance one cross is maternally inherited in another [J]. Mol Gen Genet, 1999, 261 (2): 317—322.
- [28] MOHAN S M, MADHUSUDHANA R, MATHUR K, et al. Identification of quantitative trait loci associated with resistance to foliar diseases in sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] [J]. Euphytica, 2010, 176 (2): 199—211.
- [29] KLEIN R R, RODRIGUEZ H R, SCHLUETER J A, et al. Identification of genomic regions that affect grain mold

- incidence and other traits of agronomic importance in sorghum [J]. *Theor Appl Genet*, 2001, 102 (2-3): 307-319.
- [30] SIFUENTES J, FREDERIKSEN R A. Inheritance of resistance to pathotypes 1, 2 and 3 of *Peronosclerospora sorghi* in sorghum [J]. *Plant Disease*, 1988, 72 (4): 332-333.
- [31] GOWDA P S, FREDERIKSEN R A, MAGILL C W, et al. DNA markers for downy mildew resistance gene in sorghum [J]. *Genome*, 1995, 38 (4): 823-826.
- [32] OH B J, FREDERIKSEN R A, MAGILL C W. Identification of RFLP markers linked to a gene for downy mildew resistance (*Sdm*) in sorghum [J]. *Canadian Journal of Botany*, 1996, 74 (2): 315-317.
- [33] 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.
- [34] 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*, 2005, 48 (3): 391-400.
- [35] REDDY P S, FAKRUDIN B, RAJKUMAR S M, et al. Molecular mapping of genomic regions harboring QTLs for stalk rot resistance in sorghum [J]. *Euphytica*, 2008, 159 (1-2): 191-198.
- [36] KATSAR C S, PATERSON R H, TEETES G L, et al. Molecular analysis of sorghum resistance to the greenbug (*Homoptera: Aphididae*) [J]. *Economic Entomology*, 2002, 95 (2): 448-457.
- [37] AGRAMA H A, WILDE 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.
- [38] WU Y Q, HUANG Y H. Molecular mapping of QTLs for resistance to the greenbug *Schizaphis graminum* (Rondani) in *Sorghum bicolor* (Moench) [J]. *Theor Appl Genet*, 2008, 117 (1): 117-124.
- [39] NAGARAJ N, REESE J C, TUINSTRA M R, et al. Molecular mapping of sorghum genes expressing tolerance to damage by greenbug (*Homoptera: Aphididae*) [J]. *Economic Entomology*, 2005, 98 (2): 595-602.
- [40] 李明莹, 赵妹华, 杨立国, 等. 高粱抗蚜基因分子标记的建立 [J]. *作物学报*, 2003, 29 (4): 534-540.
- [41] 常金华. 高粱品种"河农 16"抗蚜的理化特性及抗性基因定位 [D]. 石家庄: 河北农业大学, 2005.
- [42] SATISH K, SRINIVAS G, MADHUSUDHANA R, et al. Identification of quantitative trait loci for resistance to shoot fly in sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] [J]. *Theor Appl Genet*, 2009, 119 (8): 1425-1439.
- [43] ARUNA C, BHAGWAT V R, MADHUSUDHANA R, et al. Identification and validation of genomic regions that affect shoot fly resistance in sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] [J]. *Theor Appl Genet*, 2011, 122 (8): 1617-1630.
- [44] 徐吉臣, WEERASURIYA Y M, BENNETZEN J L. 高粱 (*Sorghum bicolor*) 分子图谱的构建及寄生草 (*Striga asiatica*) 萌发诱导物基因的定位 [J]. *遗传学报*, 2001, 28 (9): 870-876.
- [45] HAUSSMANN B I G, HESS D E, OMANYA 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.
- [46] JOSEPH K, NILUPA G, GEBISA E. QTL analysis of early-season cold tolerance in sorghum [J]. *Theor Appl Genet*, 2008, 116 (4): 577-587.
- [47] KAREN H, SUBUDHI P K, ANDREW B. Sorghum stay-green QTL individually reduce post-flowering drought-induced leaf senescence [J]. *Experimental Botany*, 2007, 58 (2): 327-338.

(责任编辑: 柯文辉)