

利用分子标记分析高粱的遗传多样性 及其在种质创新中的应用

王黎明, 焦少杰, 姜艳喜, 严洪冬, 苏德峰, 孙广全

(黑龙江省农业科学院作物育种研究所, 哈尔滨 150086)

摘要: 分子标记由于能够反映 DNA 水平上的遗传变异而成为研究遗传多样性的重要方法。本文综述了利用分子标记分析高粱遗传多样性的研究进展, 并阐述了遗传多样性分析在种质创新中的应用方向, 提出了利用分子标记分析高粱遗传多样性研究中尚需进一步加强的研究内容。

关键词: 高粱; 分子标记; 遗传多样性; 种质创新

Genetic Diversity Analysis on Sorghum Using Molecular Markers and Its Application in Germplasm Enhancement

WANG Li-ming, JIAO Shao-jie, JIANG Yan-xi, YAN Hong-dong, SU De-feng, SUN Guang-quan

(Crop Breeding Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086)

Abstract: Using molecular markers to analyze genetic diversity become an important method, because they can reflect genetic variance on DNA level. Research advance of sorghum genetic diversity analysis based on molecular markers were summarized, and their application in germplasm enhancement were also identified. Furthermore, suggestions for further research on genetic diversity analysis of sorghum were put forward.

Key words: sorghum; molecular markers; genetic diversity; germplasm enhancement

高粱的遗传多样性是长期的资源交换、品种驯化及种质创新的结果, 是进行遗传改良的基础。遗传多样性分析可为高粱种质资源的高效利用及杂交育种提供理论依据^[1]。随着分子生物学的发展, 分子标记技术由于不受环境影响、能够直接反映 DNA 水平上的遗传变异而成为研究遗传多样性的重要手段^[2]。和以往研究方法相比, 利用分子标记进行的高粱遗传多样性研究更广泛、更深入, 因此, 了解世界范围内的研究进展将有助于指导我国高粱的遗传多样性研究, 并为种质创新和品种选育提供重要的参考。

1 利用分子标记分析高粱的遗传多样性研究进展

研究遗传多样性的方法最初为根据形态性状来

分析遗传差异, 但由于形态性状指标有限且易受环境影响而表现出很大的局限性^[3]。之后分别出现了细胞标记和生化标记。分子标记是继以上标记之后, 以生物大分子的多态性为基础的一种遗传标记, 由于能够反映出 DNA 水平上的遗传差异且表现出更高的多态性^[4]而成为分析遗传多样性的新方法。在高粱遗传多样性研究上, 利用不同分子标记分别对高粱的起源和分类、不同类型高粱、不同地区和不同时期高粱以及高粱的病虫害和抗逆性等方面的遗传多样性进行了研究。

1.1 分子标记的选择与利用

为研究各种分子标记用于遗传多样性分析的可行性, R. Uptmoor 等^[5]利用 RAPD (random amplified polymorphism DNA)、AFLP (amplified fragment

length polymorphism) 及 SSR (simple sequence repeat) 标记研究了高粱种质的遗传多样性, 结果表明, 利用 RAPD 和 AFLP 标记分析的遗传相似指数呈极显著相关性 ($r = 0.81$), SSR 和 AFLP 以及 RAPD 和 SSR 的相关系数分别为 0.57 和 0.51。M. Geleta 等^[6] 利用 SSR 和 AFLP 标记分析的遗传相似系数也达极显著水平。而 L. Medraoui 等^[7] 认为 ISSR (inter-simple sequence repeat) 标记所揭示的多样性 (0.995 ± 0.006) 高于 RAPD (0.946 ± 0.031)。近年来, EST-SSR (EST, expressed sequence tag)^[8-9] 及 SNP (single nucleotide polymorphisms)^[10-11] 标记逐渐应用于高粱的遗传多样性研究中。尽管对分子标记的研究结果略有不同, 但均认为 SSR、AFLP、RAPD、ISSR、EST-SSR 及 SNP 标记用于高粱的遗传多样性分析是可行的。在以上标记中, SSR 标记以其多态性高、共显性遗传、稳定性好、易操作等优势成为分析遗传多样性所普遍应用的分子标记^[12-14]。

1.2 高粱的起源和分类

1.2.1 关于高粱的起源 栽培高粱是野生高粱在自然选择和人工选择下进化而来的。多数学者认为栽培高粱起源于非洲, 也有学者认为起源于中国^[15]。关于高粱的起源, R. T. Folkertsma 等^[16] 利用 SSR 分子标记对 guinea (几内亚) 族高粱的遗传多样性研究后认为, 高粱种质可能通过古老的贸易之路由东非经阿拉伯海域到达南亚。R. Y. Li 等^[17] 通过对中国高粱地方品种的遗传多样性研究表明, 中国高粱地方品种与国外种质不能通过聚类分析进行明显区分, 并支持中国高粱起源于非洲的观点。

1.2.2 不同种群的分类学研究 对高粱的分类通常采用 Harlan 和 de Wet 的简易分类法, 即 bicolor (双色族)、guinea (几内亚族)、caudatum (顶尖族)、kafir (卡佛尔族)、durra (都拉族) 及 10 个中间类型^[18]。但在实际应用中, 由于大多数种质资源的类型来源记录不准确或无明确记载, 而很难对资源进行确切分类。

利用分子标记可对高粱进行种群的分类^[11,19], 且基于遗传距离和基于模型的分析方法均能明确划分与种群紧密相关的遗传类群^[10,20], 分子标记分类结果和种群的表型分类结果相符^[21]。S. C. Murray 等^[11] 利用 SSR 标记将 125 份甜高粱划分为 kafir/bicolor、caudatum 和 bicolor 3 种类型。S. U. Bhosale 等^[22] 对包括 bicolor、caudatum、durra 和 guinea 等基本种的 219 份种质的研究表明, guinea 种质能够和其他类型种质明确区分开, 且 guinea 种群的遗传多

样性 ($He = 0.67$) 高于其他类型种质。

1.2.3 种质资源的类群划分 对种质资源进行类群划分可根据地理来源、表型性状、系谱以及分子标记等。M. L. Wang 等^[23] 对甜高粱种质进行的类群划分结果与地理来源相关。M. Geleta 等^[6] 同时利用 AFLP、SSR 标记和表型农艺性状对高粱种质的研究表明, 分子标记划分结果与表型性状相关显著。而 T. Shehzad 等^[3] 对 320 份高粱进行 SSR 标记分析后认为, 通过聚类分析不能根据种质的地理来源对表型农艺性状进行有效分类。M. L. Ali 等^[24] 利用分子标记的分类结果和系谱及遗传背景非常相符, 并且将系谱不明确种质资源划分到已知系谱中, 研究结果可用于杂交种选育及分离群体创造。

1.3 不同类型高粱的遗传多样性研究

1.3.1 野生高粱 虽然栽培高粱是由野生高粱进化而来, 但野生高粱的遗传多样性高于栽培高粱, 栽培高粱已陷入遗传瓶颈。相对于农业气候条件, 野生高粱和栽培高粱的遗传多样性差异与地理条件的差异相关性更大, 说明基因流动和遗传漂移对两类高粱的遗传结构产生了影响^[25-26]。M. M. Muraya 等^[27] 采用遗传多样性分析、群体结构分析及空间遗传结构相结合的方法分析了野生高粱和栽培高粱之间的基因流动和多样性的程度及方式, 研究表明, 基因流动以种子为媒介, 以高效率从栽培高粱流向野生高粱, 相反, 从野生高粱流向栽培高粱的效率却不高。在基因流动情况下, 两个类型高粱存在着本质上的差异。

1.3.2 甜高粱 K. B. Ritter 等^[28] 对栽培族中包括 bicolor、caudatum、durra、guinea 和 kafir 种群的 31 份甜高粱及 64 份粒用高粱的遗传相关性进行了研究。结果表明, 甜高粱和粒用高粱不能按种群进行明确划分, 一般划分在相似的种群起源中, 说明甜高粱在栽培高粱中的多元化起源。M. L. Ali 等^[24] 通过对 19 世纪 50 年代以来美国种植的甜高粱遗传多样性研究表明, 甜高粱的遗传相似系数为 0.26 ~ 1.00。按含糖量划分类群后, 类群间含糖量存在显著变异 ($P = 0.004$), 含糖量高的类群和其对应的含糖量低的类群间相关关系远, 类群间遗传距离为 0.66。对于两种高粱的遗传差异, S. Y. Jiang 等^[29] 认为, 这种差异表达的一个原因是由于不同的顺式调节基因或 DNA 甲基化决定的。

1.3.3 苏丹草 Q. W. Zhan 等^[30] 利用 SSR 标记对苏丹草和高粱进行了多样性比较。研究发现, 高粱和苏丹草的多态性信息含量分别为 0.774 和

0.770, 差异不显著。而且, 二者间的遗传距离仅为 0.035, 揭示出苏丹草和高粱高度的同质性, 认为苏丹草 [*Sorghum sudnaense* (Piper) Stapf] 和高粱 [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] 应属于同一个种, 即 *Sorghum bicolor* (L.) Moench。温莹等^[9]利用 EST-SSR 标记对苏丹草和高粱杂交种的遗传多样性研究后, 将亲缘关系较近的中国自育材料划分在同一类群中, 而来自国外的材料单独聚类在一个类群中。

1.3.4 不育系和恢复系 针对育性表现完全不同的不育系和恢复系, M. A. Menz 等^[31]分别利用 AFLP 和 SSR 标记对不育系和恢复系材料进行了遗传多样性研究。利用分子标记不能将不育系和恢复系进行明确区分, 各类群主要按系谱进行了分类。与恢复系相比, 不育系的多样性较低, 认为主要是由于利用保持系回交选育新的 A/B 不育系的过程比选育恢复系更加困难且需要的时间更长, 因此, 保持系中新种质的渗入较慢, 改良受到限制而表现出较低的遗传多样性。

1.4 不同地区及不同时期高粱的遗传多样性

1.4.1 不同地区高粱的遗传多样性研究 利用分子标记分别对美国^[23,32]、印度^[33]、布基纳法索^[34]、巴基斯坦^[35]、赞比亚^[36]、肯尼亚^[27,37]、摩洛哥^[7]及中国^[17,38]等地高粱的遗传多样进行了研究, 结果表明, 多数地区高粱的聚类结果和地理来源显著相关, 并且, 本国高粱与国外高粱相比, 遗传多样性较低, 遗传基础狭窄。

A. H. Assar 等^[39]利用 SSR 标记对苏丹、印度半干旱研究中心及美国的高粱种质进行了研究, 聚类结果和地理来源相符, 并且不同地区高粱的遗传多样性不同。其中, 苏丹的地方品种和改良后的栽培种多样性指数为 0.63, 美国内布拉斯加衍生品种的多样性指数为 0.42, 印度半干旱研究中心的优良育种系为 0.39。

关于中国高粱与国外高粱的遗传多样性, 多项研究均认为中国高粱的遗传多样性低于国外品种^[17,19,38]。H. Zhang 等^[40]通过对中国地方品种的遗传多样性研究发现, 中国高粱与国外高粱之间遗传分化明显, 中国高粱的基因多样性(0.629) 低于东非(0.732)、北美(0.707)和南亚(0.712)等国外高粱。

1.4.2 不同时期高粱的遗传多样性研究 不同时期生产上种植的品种有很大差异。S. Smith 等^[32]分析了 1980–2008 年 63 个广泛种植于美国的杂交种的遗传多样性。研究发现, 和 1980s 相比, 1990s 和

2000s 导入的新等位基因数分别为 128 和 59, 而消失的等位基因数分别为 136 和 114。1990s 至 2000s 多样性水平略有降低。类群划分结果和各时期的杂交种相关性不大。M. Deu 等^[41]对 1976 年(257 份)和 2003 年(484 份)尼日尔高粱 26 年间的遗传多样性进行了研究, 认为 26 年间虽然气候条件和农业管理方法有改变, 但高粱的遗传多样性只有很小的改变, 依然保持较高的遗传多样性, 通过农民的管理可以保存品种的多样性。遗传多样性保持多年的原因主要有两个, 首先, 种质的遗传多样性和传统的种子生产体系使品种适应了气候条件的改变。其次, 在谷物生长区没有棉花、花生或玉米等作物的竞争, 高粱一直是主栽作物。

1.5 抗病虫、抗逆遗传多样性研究

1.5.1 抗病性遗传多样性研究 侵染高粱的病害主要有黑穗病、炭疽病、紫斑病、顶腐病、霜霉病、粒霉病及大斑病等。利用分子标记主要研究了炭疽病、粒霉病和霜霉病等病害的遗传多样性。

在炭疽病研究上, A. Chala 等^[42]利用 AFLP 标记分析了收集于不同高粱产区的炭疽病菌, 聚类后可按不同来源进行分类, 类群间和类群内的遗传变异均较高, 分别为 42% 和 58%, 揭示出病菌间较高水平的遗传差异 ($F_{ST} = 0.42$) 及有限的基因流动 ($Nm = 0.343$), 说明病原体较高的多样性与广泛分布于高粱产区气候条件下多样性的寄主基因型是一致的。L. K. Prom 等^[43]对 2002 年和 2004 年分别从 3 个不同地理来源分离的 232 份炭疽病菌的遗传多样性分析表明, 炭疽病菌的多样性达到显著水平, 为 59%。AFLP 标记的聚类结果与地理来源和收集年份分类不一致。不同材料对病菌的抗性不同, 其中, BTx378 和 QL3 抗所有病菌, 而 BTx623 和 TAM428 对所有病菌敏感, 病原群体存在着丰富的多样性以适应抗性寄主的快速变化。

在粒霉病研究上, R. Sharma 等^[44]利用 SSR 标记分析了表型性状和粒霉的相关性。通过鉴定, 92 份材料中有 74 份抗病, 另外 18 份感病。材料间基因多样性为 0.16~0.91。通过对抗病群体和感病群体的分析表明, 总变异的 12% 来自于抗病群体和感病群体间的差异, 81% 是由于群体内的差异, 其余 7% 是由于基因型间的等位变异。聚类分析可将感病群体和抗病群体明显区分开。其中, 穗型、颖壳包被度及粒色等性状在类群划分中占主要作用。

在霜霉病研究上, V. Kamala 等^[45]利用 SSR 标记分析了抗霜霉病种质的遗传多样性。其中, durra-

caudatum(都拉顶尖族)、guinea-caudatum(几内亚顶尖族)及东非高粱抗病种质的遗传多样性较高。种质间分子遗传距离平均为 0.78,表型距离平均为 0.33。基于 SSR 标记的聚类结果与表型性状相关性较低,相对于种群划分,聚类结果和地理来源更一致。

1.5.2 抗虫性遗传多样性研究 芒蝇和螟虫是高粱茎部的主要虫害。C. Aruna 等^[46]利用 ISSR 标记分析了包括抗芒蝇和螟虫基因型、感芒蝇和螟虫对照以及感虫杂交种亲本系的遗传多样性。聚类结果分为两个类群,第 1 类群为抗虫材料,第 2 类群为感虫对照及感虫亲本系。进一步分析表明,感虫杂交种亲本系和感虫对照的遗传相似,而抗虫材料的遗传具有多样性,说明在抗虫机制上存在着多样性。此外,S. K. Chamarthi 等^[47]也将大多数感芒蝇基因型聚类在一个单独的类群中。并发现了与以往用作抗芒蝇受体 IS18551 不同的 3 个抗性种质 IS1054、IS1057 和 IS4664。

麦二叉蚜虽然是高粱的主要虫害之一,但其多样性研究却较少。研究表明,麦二叉蚜有几种生理型,其中,生理型 1 流行最广且危害最重。通过育种手段来选育抗虫品种是控制虫害的有效方法。Y. Q. Wu 等^[48]利用 ALFP 标记分析了来自于 12 个国家的 26 份高粱种质对生理型 1 的抗性及其遗传多样性;方差分析表明,种质间的抗性差异达极显著水平,种质间的遗传相似系数为 0.69 ~ 0.90;并鉴定出了新的抗虫资源可用于种质的抗虫改良。

在抗虫性遗传上,M. K. Dhillon 等^[49]利用 SSR 标记分析了 12 份不育系、保持系和 12 份恢复系及其 144 份杂交后代的抗芒蝇多样性。研究后认为感芒蝇亲本的遗传多样性很高,但抗芒蝇亲本的遗传多样性却有限。抗芒蝇亲本和感芒蝇亲本间的分子遗传距离和表型遗传距离分别为 73.2 和 38.5。抗芒蝇和感芒蝇杂交组合的表型和分子遗传距离高于其亲本的遗传距离。类群间遗传变异较低(10.8%),而类群内较高(89.2%)。杂交后 F_1 的分子和表型遗传距离与恢复系相比,更接近于不育系,说明不育系的抗虫性对杂交种的抗虫性影响更大。

1.5.3 抗逆性遗传多样性研究 高粱的抗逆性主要包括抗旱、耐涝、耐盐碱、耐瘠薄及抗冷性等,但利用分子标记对抗逆性进行的研究却相对较少,仅对其中的抗旱性进行了研究。K. Rajarajan 等^[50]利用 13 个对持绿性特异的 SSR 标记分析了 100 份高粱的抗旱遗传多样性,聚类分析将抗旱材料和不抗旱

材料分别划分为两个独立类群,遗传相似系数范围为 0.02 ~ 1.00。而 T. T. Tesso 等^[51]的聚类结果主要按地理来源进行了划分,并且最抗旱的种质均来自于东非。

2 遗传多样性分析在种质创新中的应用

2.1 拓宽遗传基础

作物遗传改良的过程就是不断创造变异的过程。遗传多样性丰富的种质资源可带来变异的多样性,为有效的遗传改良奠定基础。通过对多个国家高粱的遗传多样性研究表明,与国外高粱相比,我国高粱的遗传多样性较低、遗传基础狭窄。因此,要结合已有研究结果,加强引进国外各类型遗传多样性丰富的种质资源,并利用其中的优异资源创造新种质,以丰富遗传多样性,拓宽遗传基础。

在引进种质资源进行种质创新时,要结合遗传多样性分析结果与资源的具体利用情况,有针对性地引进相对匮乏的资源。以我国为例,至 2010 年,在全球保存的 235688 份高粱种质资源中,我国保存的数量为 8%,占第 3 位^[52]。虽然种质资源数量很多,但抗病虫资源却比较贫乏,在抗病鉴定的 9000 份资源中,抗丝黑穗病资源不到 0.4%。而在抗虫鉴定的 5000 份资源中,抗蚜虫资源约占 0.3%,抗螟虫资源约占 0.2%。为创造抗蚜种质,我国曾从国外引进 TAM428、IS18681、IS18725 及 Dober 等高度耐蚜虫资源,利用其中的 TAM428 与我国原有的 421B 杂交,成功选育出了耐蚜虫的新不育系 7050A^[53]。

2.2 杂种优势利用

在杂交育种中,为创造类型丰富的分离群体以及强优势的杂交种,亲本的遗传差异起着决定性的作用。利用分子标记研究亲本材料的遗传多样性,可将亲本材料划分为不同的杂种优势群。由于利用 DNA 分子标记划分的群体与系谱及遗传背景相符,并且能够把系谱来源不明确的材料划分到相应类群中,因此,类群的划分结果可用于杂交种选育及分离群体创造中。

由于类群间材料的杂种优势高于类群内,为创造出杂种优势强的杂交后代,在选择亲本时要选择不同类群间的材料进行杂交。另外,虽然表型性状易受环境影响,且研究周期长,但却具有不可替代的重要性和实用性^[54-55]。因此,可将分子多样性研究结果与表型多样性研究结果相结合^[6,33,38],选择表型性状和遗传背景均有较大差异的材料作亲本,来

创造强优势杂交组合。

2.3 杂种优势预测

对杂交后代的杂种优势进行预测是杂种优势研究的重要内容。常规育种方法分析杂种优势一般通过测定亲本的配合力来实现。但配合力的分析需要组配大量的杂交组合,然后通过分析亲本及杂交后代的田间性状表现来进行评价,存在着研究周期长且容易受环境影响而产生分析误差的问题。利用分子标记进行亲本的遗传多样性分析,可测定亲本间的遗传距离,由于亲本间的遗传距离和后代性状的杂种优势间存在着一定程度的相关性,因此,可利用亲本间的遗传距离来预测杂交后代的杂种优势,作为配合力测定的一个辅助手段。

3 需要进一步加强的研究

利用分子标记研究高粱的遗传多样性已越来越重要,尤其是近10年来进行了大量研究。虽然利用分子标记已对高粱的起源和分类、不同类型高粱、不同地区和不同时期高粱以及高粱的病虫害和抗逆性等方面的遗传多样性进行了研究,但有关多种类型高粱、特殊性状、改良历程及杂种优势等方面研究需要进一步加强。

3.1 多种类型高粱的研究

目前,在对高粱的遗传多样性研究上,主要针对粒用高粱、甜高粱和饲草高粱进行了研究。但缺乏对糯高粱、食用高粱、帚用高粱及不同细胞质高粱等其他类型高粱的遗传多样性研究。

我国利用分子标记对高粱的遗传多样性研究存在着研究时间较短且研究内容较少的问题,并主要集中在甜高粱及少量的饲草高粱研究上^[9,14,30,56]。因此,针对育种和生产上对其他类型高粱的广泛需求,更要进一步加强对多种类型高粱遗传多样性的研究。

3.2 特殊性状的研究

在高粱的各类性状中,目前,虽然对病虫害的遗传多样性有了一些研究,但在重要的品质性状及生物和非生物抗性性状遗传多样性方面还有大量需要加强研究的内容。如品质性状中的淀粉及其组成、单宁、蛋白质及赖氨酸等主要成分的遗传多样性。非生物抗性中的抗倒伏性、耐冷性及耐盐碱性等遗传多样性。生物抗性中抗螟虫、蚜虫及粘虫等抗性遗传多样性。

3.3 改良历程的研究

高粱在多年的种植过程中,随着人类需求的不断变化,无论在不断的种质交换、改良过程中,还是

由地方品种到杂交种的种植过程中,在农艺性状、品质性状以及抗性性状等方面的遗传多样性均发生了重大改变。但相对于种植品种的不断变化,相关的遗传多样性研究却相对滞后。

从1949年至今,我国高粱育种经历了地方品种整理、系选育种、杂交育种和杂种优势利用4个发展阶段。种植区域由肥水充足地区向瘠薄、干旱、水涝、盐碱等生产条件较差的地区转移。品种类型由食用为主向酿造、能源、饲用及其他专用品种类型转化。生产目的由单纯追求子粒产量向优质、专用方向发展。在环境压力、品质压力和产量压力下,高粱的特用品质及抗性都产生了很大变化^[18]。但针对品种的不断变化,对不同时期以及不同种植区域高粱品种的遗传多样性还没有进行相关的研究。

3.4 杂种优势的研究

在对高粱的遗传多样性进行研究的同时,虽然对种质资源的遗传距离和类群划分也进行了相应的研究,但相对于玉米^[57]、油菜^[58]等作物,利用遗传距离进行杂种优势群的划分以及杂种优势的预测等方面的研究还不深入,使高粱的遗传多样性研究与杂种优势利用结合不紧密,没有充分发挥利用分子标记进行高粱遗传多样性研究的作用。因此,在杂种优势研究上,要在对亲本的遗传差异和遗传结构深入研究的基础上,进一步划分杂种优势群,构建杂种优势模式,提高育种效率,为杂种优势利用提供新的手段。

参考文献

- [1] 郑殿升,杨庆文,刘旭. 中国作物种质资源多样性[J]. 植物遗传资源学报,2011,12(4):497-500,506
- [2] Glaszmann J C, Kilian B, Upadhyaya H D, et al. Accessing genetic diversity for crop improvement[J]. Plant Biol, 2010, 13: 167-173
- [3] Shehzad T, Okuizumi H, Kawase M, et al. Development of SSR-based sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) diversity research set of germplasm and its evaluation by morphological traits [J]. Genet Res Crop Evol, 2009, 56: 809-827
- [4] Dje Y, Forcioli D, Ater M, et al. Assessing population genetic structure of sorghum landraces from North-western Morocco using allozyme and microsatellite markers [J]. Theor Appl Genet, 1999, 99: 157-163
- [5] Uptmoor R, Wenzel W, Friedt W, et al. Comparative analysis on the genetic relatedness of *Sorghum bicolor* accessions from southern Africa by RAPDs, AFLPs and SSRs [J]. Theor Appl Genet, 2003, 106: 1316-1325
- [6] Geleta M, Labuschagne M T, Viljoen C. Genetic diversity analysis in sorghum germplasm as estimated by AFLP, SSR and morpho-agronomical markers [J]. Biodivers Conserv, 2006, 15: 3251-3265
- [7] Medraoui L, Ater M, Benhabib O, et al. Evaluation of genetic variability of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) in north-western Morocco by ISSR and RAPD markers [J]. Plant Biol Pathol, 2007, 330: 789-797

- [8] Ramu P, Billot C, Rami J F, et al. Assessment of genetic diversity in the sorghum reference set using EST-SSR markers[J]. *Theor Appl Genet*, 2013, 126: 2051-2064
- [9] 温莹, 逯晓萍, 任锐, 等. 高丹草 EST-SSR 标记的开发及其遗传多样性[J]. *遗传*, 2013, 35 (2): 225-232
- [10] Brown P J, Myles S, Kresovich S. Genetic support for phenotype-based racial classification in sorghum[J]. *Crop Sci*, 2011, 51: 224-230
- [11] Murray S C, Rooney W L, Hamblin M T, et al. Sweet sorghum genetic diversity and association mapping for brix and height[J]. *Plant Genome*, 2009, 2: 48-62
- [12] Billot C, Rivallan R, Sall M N, et al. A reference microsatellite kit to assess for genetic diversity of *Sorghum bicolor* (Poaceae) [J]. *Am J Bot*, 2012, 99(6): 245-250
- [13] Thudi M, Fakrudin B. Identification of unique alleles and assessment of genetic diversity of *rabi* sorghum accessions using simple sequence repeat markers[J]. *J Plant Biochem Biotechnol*, 2011, 20 (1): 74-83
- [14] Pei Z, Gao J, Chen Q, et al. Genetic diversity of elite sweet sorghum genotypes assessed by SSR markers[J]. *Biologia Plantarum*, 2010, 54: 653-658
- [15] 卢庆善, 邹剑秋, 朱凯, 等. 高粱种质资源的多样性和利用[J]. *植物遗传资源学报*, 2010, 11 (6): 798-801
- [16] Folkertsma R T, Frederick H, Rattunde W, et al. The pattern of genetic diversity of Guinea-race *Sorghum bicolor* (L.) Moench landraces as revealed with SSR markers[J]. *Theor Appl Genet*, 2005, 111: 399-409
- [17] Li R Y, Zhang H, Zhou X C, et al. Genetic diversity in Chinese sorghum landraces revealed by chloroplast simple sequence repeats[J]. *Genet Res Crop Evol*, 2010, 57: 1-15
- [18] 卢庆善, 赵廷昌. 作物遗传改良[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2011: 492-545
- [19] Deu M, Rattunde F, Chantereau J. A global view of genetic diversity in cultivated sorghum using a core collection[J]. *Genome*, 2006, 49: 168-180
- [20] Wang L M, Jiao S J, Jiang Y X, et al. Genetic structure analysis of sorghum parent lines based on SSR markers[J]. *Cereal Res Commun*, 2013, (41) 3: 359-365
- [21] Perumal R, Krishnaramanujam R, Menz M A, et al. Genetic diversity among sorghum races and working groups based on AFLPs and SSRs[J]. *Crop Sci*, 2007, 47: 1375-1383
- [22] Bhosale S U, Stich B, Rattunde H F W, et al. Population structure in sorghum accessions from West Africa differing in race and maturity class[J]. *Genetica*, 2011, 139: 453-463
- [23] Wang M L, Zhu C S, Barkley N A, et al. Genetic diversity and population structure analysis of accessions in the US historic sweet sorghum collection[J]. *Theor Appl Genet*, 2009, 120: 13-23
- [24] Ali M L, Rajewski J F, Baenziger P S, et al. Assessment of genetic diversity and relationship among a collection of US sweet sorghum germplasm by SSR markers[J]. *Mol Breed*, 2008, 21: 497-509
- [25] Mutegi E, Sagnard F, Semagn K, et al. Genetic structure and relationships within and between cultivated and wild sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) in Kenya as revealed by microsatellite markers[J]. *Theor Appl Genet*, 2011, 122: 989-1004
- [26] Sagnard F, Deu M, Demebe'le' D, et al. Genetic diversity, structure, gene flow and evolutionary relationships within the *Sorghum bicolor* wild-weedy-crop complex in a western African region [J]. *Theor Appl Genet*, 2011, 123: 1231-1246
- [27] Muraya M M, de Villiers S, Parzies H K, et al. Genetic structure and diversity of wild sorghum populations (*Sorghum* spp.) from different eco-geographical regions of Kenya[J]. *Theor Appl Genet*, 2011, 123: 571-583
- [28] Ritter K B, McIntyre C L, Godwin L D, et al. An assessment of the genetic relationship between sweet and grain sorghums, within *Sorghum bicolor* ssp. *bicolor* (L.) Moench, using AFLP markers[J]. *Euphytica*, 2007, 157: 161-176
- [29] Jiang S Y, Ma Z, Vanitha J, et al. Genetic variation and expression diversity between grain and sweet sorghum lines[J]. *BMC Genomics*, 2013, 14: 1-18
- [30] Zhan Q W, Zhang T Z, Wang B H, et al. Diversity comparison and phylogenetic relationships of *S. bicolor* and *S. sudanense* as revealed by SSR markers[J]. *Plant Sci*, 2008, 174: 9-16
- [31] Menz M A, Klein R R, Unruh N C, et al. Genetic diversity of public inbreds of sorghum determined of mapped AFLP and SSR markers[J]. *Crop Sci*, 2004, 44: 1236-1244
- [32] Smith S, Primomo V, Monk R, et al. Genetic diversity of widely used U. S. sorghum hybrids 1980-2008 [J]. *Crop Sci*, 2010, 50: 1664-1673
- [33] Rakshit S, Gomashe S S, Ganapathy K N, et al. Morphological and molecular diversity reveal wide variability among sorghum *Maldandi* landraces from India[J]. *J Plant Biochem Biotechnol*, 2012, 21 (2): 145-156
- [34] Barro-Kondombo C, Sagnard F, Chantereau J, et al. Genetic structure among sorghum landraces as revealed by morphological variation and microsatellite markers in three agroclimatic regions of Burkina Faso[J]. *Theor Appl Genet*, 2010, 120: 1511-1523
- [35] Iqbal A, Sadia B, Khan A I, et al. Biodiversity in the sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) germplasm of Pakistan [J]. *Genet Mol Res*, 2010, 9 (2): 756-764
- [36] Ng'uni D, Geleta M, Bryngelsson T. Genetic diversity in sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) accessions of Zambia as revealed by simple sequence repeats (SSR) [J]. *Hereditas*, 2011, 148: 52-62
- [37] Mutegi E, Sagnard F, Labuschagne M, et al. Local scale patterns of gene flow and genetic diversity in a crop-wild-weedy complex of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) under traditional agricultural field conditions in Kenya [J]. *Conserv Genet*, 2012, 13: 1059-1071
- [38] Wang L M, Jiao S J, Jiang Y X, et al. Genetic diversity in parent lines of sweet sorghum based on agronomical traits and SSR markers[J]. *Field Crop Res*, 2013, 149: 11-19
- [39] Assar A H, Uptmoor R, Abdelmula A A, et al. Genetic variation in sorghum germplasm from Sudan, ICRISAT, and USA assessed by simple sequence repeats (SSRs) [J]. *Crop Sci*, 2005, 45: 1636-1644
- [40] Zhang H, Wang J C, Wang D J, et al. Assessment of genetic diversity in Chinese sorghum landraces using SSR markers as compared with foreign accessions [J]. *Acta Agro Sin*, 2011, 37 (2): 224-234
- [41] Deu M, Sagnard F, Chantereau J, et al. Spatio-temporal dynamics of genetic diversity in *Sorghum bicolor* in Niger [J]. *Theor Appl Genet*, 2010, 47 (8): 1301-1313
- [42] Chala A, Tronsmo A M, Bruerberg M B, et al. Genetic differentiation and gene flow in *Colletotrichum sublineolium* in Ethiopia, the centre of origin and diversity of sorghum, as revealed by AFLP analysis [J]. *Plant Pathol*, 2011, 60: 474-482
- [43] Prom L K, Perumal R, Erattaimuthu S R, et al. Genetic diversity and pathotype determination of *Colletotrichum sublineolium* isolates causing anthracnose in sorghum [J]. *Eur J Plant Pathol*, 2012, 133: 671-685
- [44] Sharma R, Deshpande S P, Senthilvel S, et al. SSR allelic diversity in relation to morphological traits and resistance to grain mould in sorghum [J]. *Crop Pasture Sci*, 2010, 61: 230-240
- [45] Kamala V, Bramel P J, Sivaramakrishnan S, et al. Genetic and phenotypic diversity in downy-mildew-resistant sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) germplasm [J]. *Genet Res Crop Evol*, 2006, 53: 1243-1253