

高粱抗旱性鉴定方法及相关 QTL 定位研究进展

杨彬¹, 张一中^{1,2}, 周福平¹, 史红梅¹, 张海燕¹, 张晓娟¹,
范昕琦¹, 常建忠³, 张桂香¹, 柳青山¹

(¹山西省农业科学院高粱研究所 / 高粱遗传与种质创新山西省重点实验室, 榆次 030600;

²山西农业大学农学院, 太谷 030801; ³山西省农业科学院旱地农业研究中心, 太原 030031)

摘要: 高粱 [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] 是世界上重要的粮食、饲料、纤维和能源作物之一, 因其根系发达、叶片蜡质层厚密、渗透调节能力强、光合效率高等特点, 在干旱条件下具有很强的适应性。因此, 高粱在气候变化、水资源短缺和满足世界粮食需求等方面发挥着重要的作用。干旱是制约世界农业生产的主要逆境因素之一, 如何解决高粱在干旱条件下的产量问题仍然是育种工作者面临的巨大挑战。为了给高粱抗旱育种提供参考, 本文综述了高粱抗旱性的鉴定方法、鉴定指标和优异抗旱种质资源, 以及高粱花前抗旱和花后抗旱相关性状 QTL 定位的研究进展, 并对高粱抗旱性研究的发展趋势提出了展望。认为应建立规模化高粱种质资源抗旱鉴定体系、选择合适的全生育期自然鉴定地点, 筛选抗旱种质资源; 利用高通量测序技术, 高效挖掘高粱抗旱性基因; 建立高粱遗传转化体系、运用基因编辑等生物技术, 加快高粱抗旱育种进程。

关键词: 高粱; 抗旱鉴定; 抗旱指标; QTL 定位

Advances in Studies in Identification Methods and QTL Mapping of Drought Resistance in Sorghum

YANG Bin¹, ZHANG Yi-zhong^{1,2}, ZHOU Fu-ping¹, SHI Hong-mei¹, ZHANG Hai-yan¹, ZHANG Xiao-juan¹,
FAN Xin-qi¹, CHANG Jian-zhong³, ZHANG Gui-xiang¹, LIU Qing-shan¹

(¹Sorghum Institute, Shanxi Academy of Agricultural Sciences/Shanxi Key Laboratory of Sorghum Genetic and Germplasm Innovation, Yuci 030600; ²College of Agronomy, Shanxi Agricultural University, Taiyu 030801;

³Dryland Agriculture Research Center, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Taiyuan 030031)

Abstract: Sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] is one of the globally most important crops that can be used for grain, feed, fiber and energy. Because of its developed root system, thick leaf waxy layer, strong osmotic adjustment ability and high photosynthetic efficiency, sorghum showed strong adaptability particularly under drought conditions, in order to meet the global climate change, water scarcity and world food demand. As drought is one of the major adverse factors that restrict the agricultural production in the world, how to solve the problem of sorghum yield under drought is still a great challenge for the breeders. In order to provide reference for the selection of new varieties of sorghum drought resistance, here we review the methods for drought resistance,

收稿日期: 2018-08-01 修回日期: 2018-09-03 网络出版日期: 2018-11-13

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.s.20181109.1626.004.html>

第一作者研究方向为高粱品种资源鉴定评价, E-mail: 281448991@qq.com

通信作者: 张一中, 研究方向为高粱遗传育种, E-mail: zhyzh225@163.com

基金项目: 山西省重点研发计划重点项目 (201703D211010); 山西省青年基金项目 (201801D221254); 山西省农业科学院育种工程项目 (17yzgc030); 山西省农业科学院特色农业技术攻关项目 (YGG17016); 山西省农业科学院博士基金项目 (YBSJJ1607); 山西省农业科学院优势课题组自选项目 (YYS1705); 山西省农业科学院高粱研究所科研项目 (GLS16-10)

Foundation project: Supported by the Research and Development Program Key Projects of Shanxi Province (201703D211010), Youth Fund Project of Shanxi (201801D221254), Breeding Project of Shanxi Academy of Agricultural Sciences (17yzgc030), Characteristic Agricultural Technology Research Project of Shanxi Academy of Agricultural Sciences (YGG17016), Doctoral Foundation Project of Shanxi Academy of Agricultural Sciences (YBSJJ1607), Self-selected Project of Advantage Subject Group of Shanxi Academy of Agricultural Sciences (YYS1705), Research Projects of Sorghum Research Institute of Shanxi Academy of Agricultural Sciences (GLS16-10)

drought indexes and excellent germplasm resources of sorghum, as well as the research progress on QTL mapping of drought resistance and drought resistance related charactering sorghum. Finally, we provide the prospective in studies for sorghum drought resistance, including: (1) Large-scale tests for drought resistance in sorghum germplasm resources for entire growth period, (2) Gene mining using next-generation sequencing technology, (3) updated breeding methodologies using genetic modification and gene editing.

Key words: sorghum; drought resistance identification; drought resistance indexes; QTL mapping

干旱是影响世界粮食生产的重要因素之一^[1]。随着气候的变化,干旱出现的频率可能会越来越频繁,而且危害程度也会加重^[1]。据预测,到 2050 年全球粮食需求将会增长 70%^[2],这就意味着每年需要再生产 10 亿 t 谷物和 2 亿 t 牲畜产品才能满足增长的需求^[3],这对全球的农业生产提出了巨大的挑战。全球 80% 的耕地是以雨养农业为主,占到世界粮食产量的 60%^[3]。由于雨养农业系统中的水分供应是可变的,因此作物对于干旱环境的适应能力至关重要^[4]。在干旱或半干旱地区,在作物生长的苗期或是生育后期出现干旱的概率最高^[1]。苗期的干旱胁迫会严重影响作物的生长发育;如果在开花期或籽粒灌浆期出现干旱,则可能导致减产或绝收。

高粱 [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] 在世界农业中占有重要地位,因其优良的抗旱性成为了干旱半干旱地区重要的粮食作物和饲料作物之一^[5]。高粱是非洲和亚洲部分地区的主食,是美国、墨西哥、澳大利亚和南非的主要饲料作物^[6],也是我国酿造产业的主要原料。在美国,超过 80% 的高粱是种植在没有灌溉条件下的半干旱地区^[7],在我国旱作农业中高粱也占有重要地位^[8]。因此,选育抗旱高粱品种依然是全球高粱育种的重要方向之一。本文综述了高粱抗旱鉴定方法及鉴定指标、抗旱种质资源的收集鉴定、高粱抗旱性相关性状 QTL 定位等方面的研究进展,并对高粱抗旱性研究的前景提出了展望。

1 高粱抗旱鉴定方法

1.1 高渗溶液模拟旱胁迫法

高渗溶液法多用于高粱萌发期抗旱鉴定,采用一定浓度的高渗溶液作为萌发条件,根据种子发芽指标、幼苗长势以及生理指标评价品种的抗旱性。常用的高渗透溶液有聚乙二醇(PEG)、甘露醇、蔗糖、葡萄糖等,而 PEG-6000 是一种较为理想的渗透调节剂,常被用来模拟干旱处理进行萌发试验。吴奇等^[9]利用 PEG-6000 水溶液模拟干旱胁迫,对 54 份高粱品种(组合)进行萌发期抗旱性鉴定,筛选

出一个抗旱性极强的杂交组合 13218A × 20982R。Bibi 等^[10]在苗期对 20 份高粱种质进行 PEG-6000 溶液模拟干旱胁迫,筛选出 5 份苗期抗旱材料。张丽霞等^[11]确定了在高粱萌发期进行大批材料抗旱鉴定初筛时,PEG-6000 浓度为 15% 较为适宜;并从 396 份高粱材料中筛选出 4 份抗旱能力很强的材料。但该方法一般只用于萌发期或苗期的抗旱鉴定,并不能反映高粱整个生育期的抗旱能力。

1.2 旱棚鉴定法

此法可以根据高粱在不同生态区遭遇干旱的时期,设置不同的水分胁迫条件来控制外界环境,筛选出苗期、成株期或全生育期等不同时期的抗旱材料。旱棚内多采用盆栽或干旱池进行抗旱鉴定,常用于苗期反复干旱鉴定和少量品种全生育期抗旱鉴定。牛天堂在防雨棚内采用抗旱指数法对 1009 份高粱地方品种进行全生育期抗旱性鉴定,筛选出达到 1 级抗旱标准(抗旱指数达到 50% 以上)的品种 62 份^[12]。汪灿等^[13]以 50 份酒用糯高粱资源为材料,设置正常灌水和干旱胁迫 2 个处理在旱棚内进行田间试验,通过测定 8 个农艺性状指标,采用抗旱性度量值(D 值)鉴定方法筛选出成株期抗旱性强的酒用糯高粱材料 2 份。该方法能够同时控制胁迫时期、强度和重复次数,可以减少环境因素带来的误差,重复性较好,鉴定结果可靠;但需要一定的设备,投资较大,适用于少量材料的鉴定。

1.3 田间直接鉴定法

此法应用的关键是适宜的试验地点及多年重复,一般选择高粱生长期降雨量较少的地区进行田间鉴定。在大田条件下设置干旱和水地两个处理,播种前两处理均浇足底墒水,以保证出苗^[14]。干旱处理出苗后全生育期不浇水,水地处理根据高粱生长情况按需浇水,分析高粱在干旱条件下的性状和产量表现,以此评价不同品种的抗旱性。Ali 等^[15]在巴基斯坦 Fatehjang 地区对 10 份高粱品系进行了大田抗旱鉴定,该地区在高粱苗期、开花前和开花后降水少、蒸发量大,干旱胁迫明显,同时利用 7 个形态指标和 3 个生理参数筛选出 4 份抗旱材

料。Emendack 等^[16]以 54 份高粱品系为材料,选择高粱生长季年均降水只有 254 mm 的美国德克萨斯州拉伯克县(Lubbock county)进行田间抗旱鉴定,利用 10 个形态指标和 6 个产量性状筛选出 4 份持绿性好、产量减幅较小的品系。Azarinasrabad 等^[17]在伊朗 Birjand 地区对 10 份高粱进行了大田花后抗旱鉴定,筛选出 1 份产量表现突出的材料。王瑞等^[18]选择高粱生长季年均降雨量小于 340 mm 的山西榆次进行高粱抗旱性鉴定,该地区属于半干旱地区,每年在高粱生长的苗期和中后期均会出现干旱,采用抗旱指数对 61 份高粱材料进行抗旱性评价,筛选出 1 级抗旱材料 2 份、2 级抗旱材料 9 份。此法与大田环境一致,鉴定结果直观,可进行高粱抗旱性的综合分析,又有产量数据,在大规模的鉴定时非常有效,也是目前育种者的首选方法。但此法易受环境影响,需要进行连续多年的鉴定试验。

2 高粱抗旱鉴定指标

2.1 发芽指标

种子的萌发期是高粱生长的关键时期,在土壤水分胁迫下保持较高的出苗率和成活率,对于高粱的生长发育和产量的形成至关重要。吴奇等^[9]在 PEG-6000 水溶液模拟干旱胁迫时,指出萌发抗旱指数、发芽率和根长等性状可作为高粱品种萌发期抗旱性鉴定的主要指标。张丽霞等^[11]以相对出苗率作为高粱种子萌发期抗旱性的鉴定指标。Bibi 等^[10]研究表明高粱幼苗期根长受干旱胁迫影响最大,可作为抗旱鉴定指标。王艺陶等^[19]认为相对芽长、相对根长和相对萌发抗旱指数等可以作为高粱品种抗旱性鉴定的重要指标。

2.2 形态指标

在干旱胁迫下,高粱的细胞结构和相关酶活性等方面产生一系列的干旱响应,最终会表现为生长状况和表型的变化,因而形态特征可以直观地反映出不同品种的抗旱性,可以作为高粱抗旱性鉴定的指标^[14]。Vinodhana 等^[20]发现高粱根部形态与抗旱性关系最为密切,抗旱材料的根长、根体积、根干重明显高于不抗旱材料。Ali 等^[15]指出地上部分鲜重和根鲜重、根干重、根冠比可以作为高粱苗期抗旱指标,而叶面积、叶片干重可以作为高粱花后抗旱指标。株高对干旱胁迫反应显著,Emendack 等^[21]认为株高也可以作为高粱抗旱指标。

2.3 产量指标

高粱抗旱性的强弱最终要体现在产量上,因

此高粱在干旱环境下能否高产是衡量抗旱性的最终标准^[14]。高粱的产量表现和产量构成因素作为抗旱性鉴定指标已经得到广泛应用,单穗粒重^[18]、收获指数^[22]、千粒重^[23]等都可用于评价高粱的抗旱性。同时,利用单穗粒重可以计算多种抗旱性鉴定指标,Abraha 等^[23]利用以下指标对高粱地方品种进行了抗旱性鉴定,结果表明胁迫指数(STI, stress tolerance index)、抗旱几何平均产量(GMP, geometric mean productivity)、水地和旱地的平均产量(MP, mean productivity)适宜鉴定在旱地和水地条件下都表现高产的抗旱品种,而抗旱系数(YSI, yield stability index)和产量指数(YI, yield index)适宜鉴定旱地条件下产量稳定的品种。

敏感指数(SSSI, stress susceptibility index) = $[1 - (Y_s/Y_{ir})]/SI$, 式中 $SI = 1 - (\bar{Y}_s/\bar{Y}_{ir})$;

水地和旱地的平均产量(MP) = $(Y_{ir} + Y_s)/2$;

水地和旱地的产量差(TOL, tolerance) = $Y_{ir} - Y_s$;

胁迫指数(STI) = $Y_{ir} \times Y_s / Y_{ir}^2$;

抗旱几何平均产量(GMP) = $\sqrt{Y_{ir} \times Y_s}$;

抗旱产量指数(YI) = Y_s / \bar{Y}_s ;

抗旱系数(YSI) = Y_s / Y_{ir} 。

其中 Y_{ir} 和 Y_s 分别表示正常水地和干旱处理单个品种的单穗粒重, \bar{Y}_{ir} 和 \bar{Y}_s 分别表示正常水地、干旱处理所有供试品种单穗粒重的平均值。

但抗旱系数仅能反映不同品种在干旱胁迫下的稳产性,并不能反映出品种的高产潜力,比如在水地和旱地条件下产量都低的品种依然具有较高的抗旱系数。因此,筛选的抗旱材料适宜进行高粱抗旱机理研究,但无法满足育种的要求。抗旱性评价的目的在于获得干旱环境下高产稳产的品种,根据这种理解,兰巨生等^[24]提出了抗旱指数(DI, drought resistance index)的概念, $DI = \text{抗旱系数} \times \text{旱地产量} / \text{所有品种旱地平均产量}$, 该指数在评价品种稳产性的同时注重旱地高产性,更适用于产量性状的比较,具有较强的操作性和实际意义,在许多作物的抗旱鉴定中得到广泛应用。祁旭升等^[25]根据抗旱指数的定义进一步完善,提出了改进抗旱指数(IDI, improved drought resistance index), $IDI = \text{旱地单株产量} / \text{旱地所有品种单株平均产量} \times \text{水地单株产量} / \text{水地所有品种单株平均产量}$, 该指标同时考虑植物在逆境和正常条件下的产量表现,强调品种间的比较,可以筛选出丰产、稳产的品种,并利用该方法在大豆 [*Glycine max* (L.) Merr.] 上筛选出 9 份丰产、抗旱品种。

2.4 生理生化指标

研究表明,当植物受到干旱胁迫时,植株在形态指标上的变化虽然可以代表植物所受到的伤害程度,但只能作为最直接的观察,并不能反映植物干旱

胁迫下细胞内的变化,因此需要借助可靠的生理生化指标来对其进行深入研究。前人分析了高粱光合特性以及生理生化特性与抗旱性之间的关系,筛选出一些与抗旱性密切相关的指标(表 1)。

表 1 高粱抗旱性生理生化指标

Table 1 Biochemical indices of drought tolerance in sorghum

鉴定时期 Appraisal period	生理生化指标 Biochemical indices	参考文献 Reference
苗期 Seedling stages	游离脯氨酸	[26]
苗期 Seedling stages	光合速率、气孔阻力、蒸腾速率、叶水势	[27]
苗期 Seedling stages	根系活力、脯氨酸、超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶、丙二醛、叶绿素含量	[28]
苗期 Seedling stages	叶片相对含水量、细胞膜稳定性、蒸腾速率	[29]
苗期 Seedling stages	根部电导率	[30]
花前 Pre-flowering	叶面积指数、叶绿素含量	[21]
花前、花后 Pre-flowering and Post-flowering	叶片含水量、胞间 CO ₂ 浓度、水分利用效率	[31]
花后 Post-flowering	光合速率、蒸腾速率	[32]
花后 Post-flowering	SPAD 值	[33]
开花期、灌浆期 Flowering stages, Filling stage	原初光能转化效率、SPAD 值、叶片温度	[34]
灌浆期 Filling stage	叶绿素含量	[35]
全生育期 Whole growth period	叶片温度、自由水和束缚水含量、可溶性糖、可溶性蛋白	[36]

2.5 综合评价指标

影响作物抗旱性的因素繁多而复杂,通常用单一评价指标无法正确做出判定,常采用多指标相结合的综合评价分析方法,目前应用较多的方法主要有:主成分分析法、隶属函数法、灰色关联度分析法等。

吴奇等^[9]利用主成分分析的综合因子得分函数对 54 个高粱品种的萌发期抗旱性进行综合评定,筛选出一个抗旱性极强的杂交组合 13218A × 20982R,并将 8 个抗旱指标归类成三大成分因子。杨帆等^[37]利用隶属函数法对 10 份甜高粱品种在萌发期的 7 个生长生理指标进行综合评价,发现绿能 1 号抗旱性最强。王艺陶等^[19]认为神经网络自组织映射(SOM)聚类分析法可作为高粱品种萌发期抗旱性分类的重要方法,并筛选出吉杂 305、吉杂 99、HL8 和龙杂 9 号这 4 个高度抗旱品种。汪灿等^[13]采用 8 个指标对 50 份酒用高粱进行成株期抗旱性鉴定,

比较了抗旱性度量值(D 值)、综合抗旱系数(CDC 值)、加权抗旱系数(WDC)3 种鉴定方法的鉴定结果,认为根据 D 值对供试材料抗旱性进行聚类分析的结果与各材料田间实际抗旱表现更接近,可以把抗旱性度量值(D 值)作为高粱成株期抗旱性鉴定适宜的方法。

3 高粱抗旱种质资源筛选

自 20 世纪 70 年代以来,许多学者对高粱抗旱鉴定及抗旱育种进行了大量的研究。例如, B35 作为著名的高粱抗旱种质^[38],在高粱抗旱性遗传、抗旱机制解析、遗传图谱构建和抗旱种质改良等方面发挥了重要的作用。董良利等^[39]通过大田干旱胁迫选育亲本系,成功组配出抗旱节水高粱新品种晋杂 101,并通过全国高粱品种鉴定委员会鉴定。但在生产上,具有较强抗旱性的高粱品种仍相对较少,

因此筛选抗旱资源依然是高粱种质鉴定的核心内容。种质资源是作物育种的基础, 优异抗旱种质资源的筛选和创新是开展抗旱机制研究和培育抗旱品

种的前提。已有的研究表明高粱不同基因型间存在着抗旱性的差异, 现已鉴定出了一批抗旱性较强的种质(表2)。

表2 各国学者在不同时期鉴定的高粱抗旱种质资源

Table 2 Germplasm resources with drought tolerance identified by different scholars in different periods

名称 Name	来源 Source	干旱胁迫时期 Drought stress period	参考文献 Reference
BE35/ 糖、A ₂ 早 B/Tx623-5B BE35/Tang、A ₂ Zao B/Tx623-5B	中国山西	全生育期	[18]
Arfa Gadamak、Wad Ahmed、El-Najada、Koracola、Sham Sham	苏丹	全生育期	[40-41]
ICSR 92003	印度	全生育期	[40-41]
HSD7511、HSD8849	苏丹	全生育期	[42]
梁丰 141-3 Liangfeng141-3	中国四川	成株期	[13]
梁丰 247-3 Liangfeng247-3	中国湖南	成株期	[13]
SC1124、SC663、SC1019	美国	苗期	[43]
H-18、PGRI-191、PGRI-35、PARC-SS-1	巴基斯坦	苗期和花后	[15]
JB14、JB15、JB19、JB22、JB24、JB25、JB26、JB33	埃塞俄比亚	花后	[16]
1790E R、SC599R、KS19R	美国	花后	[34]
Ajabsido R	苏丹	花后	[34]
BTx642 (B35)	美国	花后	[38]
SC35	美国	花后	[44]
E36-1	埃塞俄比亚	花后	[45]
9929020、9929034、N 95B	巴西	花后	[46]
EG 885、EG 469、EG 481、EG 849、Hamelmalo、EG 836、EG 711	厄立特里亚	花后	[47]
IS23399、DRT1030、MS7735、KO5SS53、KO5SS186、B35	ICRISAT	花后	[48]
MS73、CO21、CO22、Tenkasi1、AS2059、AS5078、AS2752、AS5057、AS4289、MS7819、IS5379、AS8038、AS6616、K3、	印度	花后	[49]
PI 685009、PI 685010、PI 685011、PI 685012	埃塞俄比亚	花后	[50]
SC191	印度	花前	[16]
SC270	尼日利亚	花前	[16]
JB39	苏丹	花前	[16]
RIL R.11269	美国	花前	[16]
Tx7078	美国	花前	[34]
SC56	苏丹	花前	[51]
TS217、DA119	埃塞俄比亚	花前	[52]

4 高粱抗旱性相关性状 QTL 定位

高粱的抗旱性是由多个主效基因和微效基因控制的数量性状, 受基因型和环境因素共同影响。分子标记技术的迅速发展为高粱抗旱遗传机制及基因定位提供了新的研究途径。因此, QTL 定位被广泛应用于研究高粱抗旱的分子基础。

高粱对水分胁迫存在两种不同的反应特性, 即开花前抗旱和开花后抗旱, 它们可能由不同的遗传机制控制^[53]。Rosenow 等^[38]选育了一些开花前和开花后都抗旱的高粱杂交种在生产上应用, 对抗旱相关性状进行 QTL 定位将有利于指导高粱抗旱

育种。

4.1 开花前抗旱性 QTL 定位

高粱在开花前期对干旱反应尤为敏感, 花前干旱会直接影响高粱的穗粒数、千粒重和籽粒产量^[54]。Tuinstra 等^[55]利用 RTx7078 (花前抗旱) × B35 (花前对干旱敏感) 构建了 98 个 RIL 群体, 检测到 6 个 QTL 与花前抗旱性相关, 其中 2 个 QTL 位于连锁群 D 上, 3 个 QTL 位于连锁群 F 上, 1 个 QTL 位于连锁群 M 上。Kebede 等^[51]利用 SC56 (花前抗旱) × RTx7000 (花前对干旱敏感) 构建了 125 个 RIL 群体, 共检测到 4 个与花前抗旱相关的 QTL (*Prf C*、*Prf E*、*Prf F*、*Prf G*), 可解释表型变异

的 11.9%~37.7%, 其中 *Prf E* 和 *Prf F* 来源于亲本 SC56, *Prf C* 和 *Prf G* 来源于亲本 RTx7000。Sakhi 等^[56]以 107 份高粱种质资源为材料, 从孕穗期开始进行干旱处理, 利用 98 对 SSR 标记对 23 个抗旱性状进行关联分析, 共检测到 9 个 QTL 与茎粗、叶片干枯率、穗柄伸出长度、旗叶长等 8 个抗旱性状相关; 其中 1 个 QTL (*SbAGB03*) 与蛋白编码基因 *SB02g024110* 同源, 功能为 DNA 或蛋白质结合。以上 QTL 与分子标记为高粱花前抗旱基因的精细定位及其作用机理打下了坚实的基础。

4.2 开花后抗旱性 QTL 定位

高粱开花后遇到干旱, 表现为叶片早衰、叶绿素含量下降, 进而导致植株倒伏、光合能力下降、籽粒灌浆受阻、产量降低^[54]。持绿性(叶片推迟衰老)是用来描述高粱开花后抗旱性的重要指标, 现已鉴定出 5 种类型的持绿基因型^[57-58]。A 型表现为叶片推迟衰老, 但衰老速率与正常植株一致; B 型表现为叶片衰老时间与正常植株一致, 但衰老速率相对缓慢; 这 2 类属于功能性持绿, 可能由特定的基因来调控叶片衰老速率。C 型和 D 型表现为植株虽保持绿色, 但光合能力很低^[53]。E 型, 这一类型叶片起始叶绿素含量较高, 表现出更深的绿色, 所以在后期干旱胁迫下叶片绿色程度下降较慢^[53]。

4.2.1 持绿性 QTL 定位 前人^[59-60]对高粱开花后抗旱持绿性 QTL 进行了大量研究, 许多 QTL 定位都是利用 B35 (BTx642) 作为持绿亲本来构建 RIL 群体。B35 来自埃塞俄比亚, 持绿性状主要受 1 对显性基因控制^[53]。

Tuinstra 等^[22]利用 RTx7078 (花前抗旱、花后对干旱敏感) × B35 (花前对干旱敏感、花后抗旱) 构建了 98 个 RIL 株系, 检测到 7 个持绿性 QTL, 可解释表型变异的 53%, 其中位于 B 连锁群和 F 连锁群的 2 个 QTL 分别与产量 QTL 处于同一位置, 表明花后持绿性与产量密切相关。Xu 等^[59]和 Sanchez 等^[60]利用 B35 (持绿亲本) × RTx7000 (非持绿亲本) 构建了 98 个 RIL 株系, 找到 4 个持绿 QTL 分别位于 3 条染色体上, 其中 *Stg1* 和 *Stg2* 位于 SBI-03, *Stg3* 位于 SBI-02, *Stg4* 位于连锁群 SBI-05, 且所有的持绿性位点均来自 B35, 持绿 QTL 可解释表型变异的 53.5%, 其中 *Stg2* 的效应最大, 可解释表型变异的 20%~30%。持绿 *Stg1* 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^[22]鉴定的位于连锁群 G 上的 QTL。

Crasta 等^[61]利用 B35 (持绿亲本, 低产) × Tx430 (非持绿亲本, 高产) 杂交的 96 个 RIL 株系, 在 4 种环境下共找到 7 个持绿性 QTL, 其中 3 个主效 QTL (*StgA*、*StgD*、*StgG*) 可解释表型变异的 42%, 其他 4 个微效 QTL (*StgB*、*StgI.1*、*StgI.2*、*StgJ*) 可解释表型变异的 25%。

比较 B35 × RTx7000 和 B35 × Tx430 这两个 RIL 群体的 QTL 结果, 发现 4 个 QTL (*Stg1*、*Stg2*、*Stg3*、*Stg4*) 在不同的环境和遗传背景下的表现是一致的^[62]。在 B35 × RTx7000 群体中 *Stg2*、*Stg3* 和 *Stg4* 位点与 B35 × Tx430 群体中 *StgA*、*StgD*、*StgJ* 位点一致^[53]。最近, Hayes 等^[63]利用 B35 × RTx7000 构建的 RIL 群体, 在 4 种环境下鉴定到一个新的持绿性 QTL (*Stg5*), 位于 1 号染色体的 2.4~2.9 cM, 可解释表型变异的 8%~14%, 并且与调节高粱叶片蜀黍氰甙 (Dhurrin) 含量的 QTL 处于同一位置, 测定发现 B35 的蜀黍氰甙含量显著高于 RTx7000, 推测高粱利用蜀黍氰甙抵抗害虫的防御机制, 来保持高粱的持绿性。

4.2.2 持绿 QTL 与其他抗旱性状 QTL 共定位 持绿表型与植物响应干旱胁迫密切相关。在干旱胁迫下, 持绿 QTL 与其他抗旱性状的 QTL 多处于同一区域。

Awika 等^[64]利用 B35 × Tx7000 构建的 100 个 F₁₂ RIL 群体, 检测到 1 个与持绿性 QTL (*Stg2*) 重叠的控制叶片表皮蜡质层的 QTL (*WLcs-1-32*), 与其紧密连锁的标记 (*c1F5510*) 位于高粱 1 号染色体短臂端靠近着丝粒的区域; 研究发现这个标记有一个 2 kb 的多功能基序富集区, 包括核心启动子和增强子区域, 还包含一个响应干旱的 MYB 转录因子, 因此推测这个 QTL 可能是干旱胁迫下同时调控高粱持绿性和叶片蜡质的多效 QTL。Weers 等^[65]利用相同组合的 F₁₂ RIL 群体, 也找到相同的 4 个持绿性 QTL, 其中 1 个 QTL 与控制开花期叶宽的 QTL 处于同一区域。

Reddy 等^[66]在 B35 (持绿亲本) × M35-1 (非持绿亲本) 构建的 245 个 RIL 群体中, 共检测到 55 个与 9 个持绿性状相关的 QTL, 其中有 16 个 QTL 是新发现的; 另外还发现一个基因标记 XnhsbSFCILP67 (*Sb03g028240*), 是编码吡啶-3-乙酰胺合成酶的 *GH3.5* 基因, 与控制孕穗期绿叶总数、成熟期绿叶数、成熟期保持绿叶百分比、成熟期绿叶面积的 QTL 处于 3 号染色体的同一位置, 同时还发现叶绿素代谢的关键酶基因也位于持绿性 QTL 区域。

Kebede 等^[51]利用 SC56(持绿亲本) × RTx7000(非持绿亲本)构建了 125 个 RIL 群体,共检测到 9 个与持绿相关的 QTL,可解释表型变异的 9.9%~15.4%,其中 *Stg J*、*Stg C.1*、*Stg E*、*Stg G*、*Stg A* 来源于持绿亲本 SC56, *Stg C.2*、*Stg B*、*Stg D*、*Stg F* 来源于非持绿亲本 Tx7000。通过比较作图法发现有 2 个 QTL 与玉米抗旱 QTL 的区域相对应,这些基因区域与水稻(*Oryza sativa* L.)、玉米(*Zea mays* L.)控制抗旱相关农艺性状和生理性状的位置是一致的,表明在禾本科作物中这些相同的基因区域可能是一组或几组具有多效性的基因簇,涉及到多个抗旱机制。

Sukumaran 等^[67]利用 Tx436(非持绿、高品质食用恢复系) × 00MN7645(持绿、高产恢复系)衍生的两套 RIL 群体,与 ATx3042(非持绿不育系)构建了两套测交群体,基于 1414 SNPs 高密度遗传图谱对 3 个持绿性状进行复合区间作图法定位,在 3 年 8 个环境下检测到 1 个与叶片 SPAD 值相关的 QTL(*qSPAD4.1*),该 QTL 位于 4 号染色体上,可解释表型变异的 8.7%;还检测到 3 个与叶绿素荧光相关的 QTLs,位于 3 号(*qFv/Fm3.1*)和 4 号染色体上(*qFv/Fm4.1* 和 *qFv/Fm4.1*),分别解释表型变异的 13.1%、26.4% 和 10.4%。

Sabadin 等^[68]以 SC283(持绿亲本) × BR007(非持绿亲本)杂交衍生的 RIL 群体为材料,利用 255 个 DArT 标记、83 个 SSR 标记、5 个 STS 标记和 1 个 RFLP 标记,共检测到 8 个持绿 QTL,其中 2 个 QTL 位于 2 号染色体上,其余 QTL 分别位于 3、4、5、6、8 和 9 号染色体上,*St3*、*St9*、*St5* 分别可解释表型变异的 30%、23%、26%;在水分胁迫环境下,除了 *St2-2* 和 *St5* 来自 BR007 外,其余的 QTL 均来自持绿亲本 SC283;对持绿 QTL *St3* 和产量 QTL *Gy3-1* 之间的共定位分析发现,通过持绿性状的间接选择可能会提高高粱的抗旱性。

4.2.3 分子标记辅助选择抗旱育种 从持绿性 QTL 研究中获得的 QTL 位点和分子标记,可以在分子标记辅助选择育种中加以应用,将持绿 QTL 区域导入到非持绿的高产品种中。

Edema 等^[69]利用 B35 和 E36-1(持绿亲本)分别与 Sekedo 和 Seredo(非持绿轮回亲本)构建回交群体,利用 SSR 分子标记找到与 B35 持绿 QTL(*Stg1*、*Stg2*、*Stg3*、*Stg4*)紧密连锁的标记 25 个,找到与 E36-1 持绿 QTL(LGA、LGJ、LGG)紧密连锁的标记仅有 6 个,说明 E36-1 作为高粱抗旱分子标记辅助育种的供体亲本具有一定的局限性。从

2001 年开始,Reddy 等^[70]利用回交育种和 SSR 分子标记辅助选择技术,将来源于供体 B35 和 E36-1 的持绿基因导入到了大量的当地主栽品种中,在 2003 年他们得到了 2 个置换系,分别是 ISIAP Dorado 和 R16,包含来自 B35 的多个持绿 QTL,经鉴定这 2 个品系在干旱条件下持绿性非常好,而且产量也很高。Harris 等^[71]以 RTx7000 为轮回亲本,以 B35 为非轮回亲本,通过连续回交及分子标记辅助选择,构建了包含 B35 的 4 个持绿 QTL(*Stg1*、*Stg2*、*Stg3*、*Stg4*)片段的近等基因系;并发现 RTx7000 背景的 *Stg2* NIL 在灌浆末期干旱条件下,与 RTx7000 或者其他 NIL 相比,仍具有较多的绿叶面积。Kamal 等^[72]以高产栽培种 Tabat 为受体,以持绿亲本 B35 为供体,通过连续回交和分子标记辅助选择技术相结合,选育出 46 个包含 1 个或多个持绿 QTL(*St1*~*St4*)的 BC₂F₄ 导入系,其中一些品种在干旱条件下,产量和持绿性明显优于 Tabat,并发现只包含 QTL *St1* 位点的一些品系产量水平要比包含其他位点的高很多,认为 *St1* 位点是提高产量的最佳位点。

4.3 抗旱相关基因鉴定与克隆

经过多国学者的共同努力,基于分子标记和连锁图谱获得了大量的高粱抗旱相关 QTL,但是无论在遗传图谱构建和数量性状定位方面都远远落后于水稻、玉米等作物,大多数 QTL 只局限在初步定位。近年来随着高通量测序技术的快速发展,基因组、转录组等各种组学技术为高效挖掘高粱抗旱基因提供了平台与支撑。

Ongom^[73]利用 19 个亲本构建了包含 200 个株系的高粱多亲本高代互交系(MAGIC, multi-parent advanced generation intercross)群体,结合 GBS 测序数据对 3 个抗旱性状进行全基因组关联分析,共找到与抗旱性状相关的 4 个候选基因组区域,这些区域包含 14 个候选基因,与拟南芥[*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.]、玉米和水稻中的基因直系同源,功能注释为抵御非生物胁迫。Johnson 等^[74]利用转录组测序(RNA-Seq)技术,对正常灌水条件下的持绿亲本 B35 和非持绿亲本 R16 进行差异表达基因分析和 GO 注释,结果表明,与 R16 相比, B35 有 1038 个基因上调和 998 个基因下调,其中有 42 个上调基因被注释到与植物响应水分胁迫相关的“渗透胁迫应答”过程中,包括 *DREB1A*(干旱应答元件结合)转录因子、*SDIR1*(具有环指结构域的 E3 泛素蛋白连接酶)和 *P5CS2*(Δ 1-吡咯啉-5-

羧酸合成酶)等。*P5CS2* 是已知参与脯氨酸生物合成的关键酶,对植物抵抗干旱胁迫意义重大。进一步发现,在 B35 中 *P5CS2* 基因的表达量和脯氨酸含量显著高于 R16,说明 *P5CS2* 基因的表达与脯氨酸含量密切相关。研究还发现 *P5CS2* 基因位于持绿 QTL *Stg1* 的区域,说明 *P5CS2* 基因是调控干旱胁迫和持绿性状的一个重要基因。Mary^[75] 利用上述转录组数据,对 *SbSDIR1* 基因过表达转基因小麦 (*Triticum aestivum* L.) 株系进行了系统的表型鉴定和分子鉴定,发现 *SbSDIR1* 基因在引导 ABA 基因表达、延缓叶片衰老等途径中发挥着重要的作用,这将有助于理解其他候选基因在高粱抗旱机制中发挥的重要作用。

SKIP (Ski-interacting protein) 是一种 RNA 代谢相关蛋白,主要参与 pre-RNA 的剪切、调控及降解等生物学功能,在植物抵抗非生物胁迫伤害中起着很重要的调节作用。刘洋等^[76] 克隆了高粱 *SbSKIP* 基因,cDNA 编码区全长 1485 bp,编码 494 个氨基酸;定量 PCR 分析表明,在干旱处理 16 h 后,*SbSKIP* 基因表达量显著增加了 2 倍以上;转基因实验显示 *SbSKIP* 基因表达提高了烟草 (*Nicotiana tabacum* L.) 植株的干旱耐受能力。Qi 等^[77] 发现 *SbSKIP* 基因的过表达可促进矮牵牛 [*Petunia hybrida* (Hook. f.) Vilm.] 植株侧根生长,增强耐旱性。在水分胁迫 14 d 后,*SbSKIP* 植株比野生型长势更好,野生型叶片严重枯萎并死亡,而转基因植株在干旱 17 d 后叶片才出现萎蔫。过表达 *SbSKIP* 植株可增加叶片脯氨酸含量、降低抗氧化剂防御酶活性、减少 MDA 积累。以上研究进一步证明了 *SbSKIP* 基因的功能,为创制转基因抗旱材料提供了依据。

5 结论与展望

高粱是全球农业系统中重要的农作物之一,具有在干旱、盐碱和瘠薄土壤等恶劣环境下生长的能力,在我国主要种植在旱地、盐碱地等边际土壤上。目前全国常年缺水量约 3000 亿 m^3 ,受旱面积达 1300 万 ~2000 万 hm^2 ,水资源短缺依然是制约我国干旱、半干旱地区粮食生产和农业发展的主要因素^[78]。因此,培育和推广抗旱高粱品种,发挥高粱的抗旱优势,对于突破水资源约束、确保国家粮食安全具有重大意义。作物的抗旱性为数量性状,受多基因遗传控制,且与环境密切相关,采用传统杂交育种方法难以实现抗旱性状与优良农艺性状的有效聚

合。随着高通量测序技术的发展,利用现代分子生物学手段进行高粱抗旱遗传改良将会大大提高育种效率。近 30 年来,国内外高粱抗旱种质资源筛选与抗旱 QTL 定位取得了较大的进展,但在我国这些抗旱种质和分子标记并未完全应用到育种中,究其原因主要是抗旱鉴定评价体系不完备,鉴定出的抗旱种质大多农艺性状较差,改良周期长、难度大,还有抗旱分子标记辅助选择育种体系没有完全建立,与常规育种结合不紧密等。针对以上问题,本研究认为以下几项工作将是未来高粱抗旱研究的关键。

5.1 建立规模化高粱种质资源抗旱鉴定体系

目前高粱抗旱育种的主要任务之一就是开展大批量的种质资源抗旱性精准鉴定与材料创新。因此,建立简便易行、稳定可靠的抗旱鉴定体系是加速高粱抗旱育种进程的前提条件。抗旱性鉴定体系的建立主要包括鉴定方法、鉴定指标的选择以及评价方法。在小麦、玉米等作物上,已经颁布了抗旱性鉴定技术的国家或地方标准,如《小麦抗旱性鉴定评价技术规范(国家标准)》^[79]、《玉米抗旱性鉴定技术规范(河北省地方标准)》^[80]、《玉米抗旱性鉴定技术规程(吉林省地方标准)》^[81];在高粱上,由吉林省农业科学院起草的吉林省地方标准《高粱抗旱性鉴定技术规程》在 2015 年发布实施^[82],这些标准都详细说明了小麦、玉米或者高粱的芽期、苗期、全生育期的鉴定方法、鉴定指标和评价方法。因此,今后的高粱种质资源抗旱鉴定可借鉴上述技术规程,根据不同的鉴定目的,将室内鉴定和大田试验相结合,实现不同材料、不同时期的系统鉴定,获得稳定科学的结果,建立高粱特有的抗旱鉴定体系。

5.2 选择合适的全生育期自然鉴定地点

高粱全生育期抗旱性鉴定对于选育抗旱品种至关重要。目前全生育期鉴定多采用人工模拟旱棚法,此法需要搭建旱棚,投入较大,对少量材料进行抗旱鉴定研究是一个很好的手段,但不能进行大规模的抗旱性鉴定。因此,选择合适的鉴定地点对于实现高粱种质资源规模化抗旱性鉴定至关重要。目前,许多学者多选择在降雨偏少、无霜期较长的地方进行全生育期抗旱鉴定,在我国甘肃省敦煌市,年降雨量不足 40 mm^[83];新疆石河子年自然降水量仅为 120 mm 左右^[84];海南作为我国重要的南繁基地,每年 11 月至次年 4 月的平均总降雨量约为 140 mm^[85],这些地方都可以作为高粱全生育期抗旱鉴定的最佳地点。另外,内蒙古乌兰布和沙漠乌海段,该区属于典型的中温带大陆性干旱季风气候

候,年降水量 159.8 mm^[86],这里不仅土壤干旱、而且大气干旱,也可以进行高粱全生育期抗旱鉴定。

5.3 运用先进的生物技术加快高粱抗旱育种进程

随着高通量测序技术的快速发展和测序成本的降低,在全基因组水平上的关联分析和转录组分析等新的技术手段将成为高效挖掘高粱抗旱基因的重要方法。发掘与抗旱性状紧密相关的候选基因,开发功能标记用于高粱抗旱分子标记辅助育种,是目前可以让大众接受且实用有效的方法。但是从育种效率来看,基因工程则是一种快捷和高效的方式。

由于高粱的遗传转化体系建立较困难,转化效率较低,许多基因包括抗旱基因克隆后,只能在别的作物上进行功能验证,限制了高粱的遗传改良。最近, Che 等^[87]公布了一种针对高粱的高效农杆菌转化体系,并基于农杆菌介导构建了高效的高粱遗传转化体系。遗传转化的数据显示,以高粱品系 Tx430 为转化受体,针对不同的筛选标记,其植株再生效率为 6%~29%,其中单拷贝、无骨架的优质转化事件的比例为 45%~66%;同时还利用该转化方法建立了基于 Tx430 稳定的 CRISPR/Cas9 基因敲除体系。此外, Li 等^[88]利用 CRISPR/Cas9 系统,在 α -醇溶蛋白保守的内质网信号肽编码区域设计 sgRNA;通过单个 gRNA 介导的 CRISPR/Cas9 系统成功诱导了 *k1C* 基因家族成员的广泛突变,进而降低了籽粒中 α -醇溶蛋白的含量,提高了赖氨酸含量和蛋白质消化率。以上技术的储备将极大地促进高粱生物技术的发展,使高粱抗旱功能基因研究迎来一个巨大的机遇。

总之,未来我国高粱抗旱育种要取得较大的突破,必须走常规育种与现代生物技术相结合的方法,加强高粱抗旱种质资源的评价,加快抗旱基因的定位与克隆,开发抗旱相关性状功能标记,为我国高粱抗旱性状的遗传改良提供数据基础和技术支持,对高粱适应干旱气候、改善生态环境都具有重要的实践意义。

参考文献

- [1] Essien M A, Pistorius E. A review on physiological contrivances of drought tolerance in sorghum, genetic basis and breeding methods. *Global Journal of Plant Breeding and Genetics*, 2016, 3(8): 248-259
- [2] WWAP(World Water Assessment Programme). The United Nations World Water Development Report 4: Managing water under uncertainty and risk. UNESCO, Paris, 2012
- [3] UNCTAD. Water for Food: Innovative water management technologies for food security and poverty alleviation. United Nations, New York and Geneva, 2011: 1-3
- [4] Borrell A K, Oosterom E J, Mullet J E, George-Jaeggli B, Jordan D R, Klein P E, Hammer G L. Stay-green alleles individually enhance grain yield in sorghum under drought by modifying canopy development and water uptake patterns. *New Phytologist*, 2014, 203(3): 817-830
- [5] Borrell A K, Hammer G L, Hanzl R G. Does maintaining green leaf area in sorghum improve yield under drought? II. Dry matter production and yield. *Crop Science*, 2000, 40(4): 1037-1048
- [6] 白春明,王春语,王平,朱振兴,陆晓春. 高粱子粒单宁含量和颜色 QTL 分析. *植物遗传资源学报*, 2017, 18(5): 860-866
Bai C M, Wang C Y, Wang P, Zhu Z X, Lu X C. QTLs analysis of tannin content and color of grain in sorghum. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2017, 18(5): 860-866
- [7] Sanchez A C, Subudhi P K, Rosenow D T, Nguyen H T. Mapping QTLs associated with drought resistance in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Plant Molecular Biology*, 2002, 48: 713-726
- [8] 山仑,徐炳成. 论高粱的抗旱性及在旱区农业中的地位. *中国农业科学*, 2009, 42(7): 2342-2348
Shan L, Xu B C. Discussion on drought resistance of sorghum and its status in agriculture in arid and semiarid regions. *Scientia Agricultura Sinica*, 2009, 42(7): 2342-2348
- [9] 吴奇,周宇飞,高悦,张姣,陈冰嫻,许文娟,黄瑞冬. 不同高粱品种萌发期抗旱性筛选与鉴定. *作物学报*, 2016, 42(8): 1233-1246
Wu Q, Zhou Y F, Gao Y, Zhang J, Chen B R, Xu W J, Huang R D. Screening and identification for drought resistance during germination in sorghum cultivars. *Acta Agronomica Sinica*, 2016, 42(8): 1233-1246
- [10] Bibi A, Sadaqat H A, Tahir M H N, Akram H M. Screening of sorghum (*Sorghum bicolor* var. Moench) for drought tolerance at seedling stage in polyethylene glycol. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 2012, 22(3): 671-678
- [11] 汪丽霞,王春语,王平,丛玲,于惠琳,陆晓春. 种子萌发期高粱抗旱材料的筛选与鉴定. *分子植物育种*, 2018, 16(17): 5796-5803
Zhang L X, Wang C Y, Wang P, Cong L, Yu H L, Lu X C. Screening and identification of drought-resistant materials at seed germination stage of sorghum. *Molecular Plant Breeding*, 2018, 16(17): 5796-5803
- [12] 卢庆善. 高粱学, 1 版. 北京: 中国农业出版社, 1999: 251-258
Lu Q S. *Sorghum*, 1st. Beijing: China Agricultural Press, 1999: 251-258
- [13] 汪灿,周棱波,张国兵,徐燕,张立异,高旭,高杰,姜讷,邵明波. 酒用糯高粱资源成株期抗旱性鉴定及抗旱指标筛选. *中国农业科学*, 2017, 50(8): 1388-1402
Wang C, Zhou L B, Zhang G B, Xu Y, Zhang L Y, Guo X, Gao J, Jiang N, Shao M B. Drought resistance identification and drought resistance indices screening of liquor-making waxy sorghum resources at adult plant stage. *Scientia Agricultura Sinica*, 2017, 50(8): 1388-1402
- [14] 李龙. 普通菜豆种质资源抗旱性鉴定与抗旱生理特性研究. 北京: 中国农业科学院, 2014
Li L. Drought resistance identification of germplasm resources and study on physiological characteristics related to drought resistance in Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2014
- [15] Ali M A, Abbas A, Niaz S, Zulkiffal M, Ali S. Morpho-

- physiological criteria for drought tolerance in sorghum (*Sorghum bicolor*) at seedling and post-anthesis stages. *International Journal of Agriculture & Biology*, 2009, 11 (6): 674-680
- [16] Emendack Y, Burke J, Sanchez J, Laza H E, Hayes C. Agromorphological characterization of diverse sorghum lines for pre-and post-flowering drought tolerance. *Australian Journal of Crop Science*, 2018, 12 (1): 135-150
- [17] Azarinasrabad A, Mousavinik S M, Galavi M, Beheshti S A, Sirousmehr A. Evaluation of water stress on yield, its components and some physiological traits at different growth stages. *Notulae Scientia Biologicae*, 2016, 8 (2): 204-210
- [18] 王瑞,张福耀,王花云,詹鹏杰,于纪珍,凌亮. 高粱抗旱种质筛选及遗传多样性的 SSR 分析. *植物遗传资源学报*, 2014, 15 (4): 871-876
Wang R, Zhang F Y, Wang H Y, Zhan P J, Yu J Z, Ling L. Drought resistance screening and genetic diversity by SSR markers in sorghum. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2014, 15 (4): 871-876
- [19] 王艺陶,周宇飞,李丰先,依兵,白薇,闫彤,许文娟,高明超,黄瑞冬. 基于主成分和 SOM 聚类分析的高粱品种萌发期抗旱性鉴定与分类. *作物学报*, 2014, 40 (1): 110-121
Wang Y T, Zhou Y F, Li F X, Yi B, Bai W, Yan T, Xu W J, Gao M C, Huang R D. Identification and classification of sorghum cultivars for drought resistance during germination stage based on principal components analysis and self organizing map cluster analysis. *Acta Agronomica Sinica*, 2014, 40 (1): 110-121
- [20] Vinodhana N K, Ganesamurthy K. Evaluation of morpho-physiological characters in sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] genotypes under post-flowering drought stress. *Electronic Journal of Plant Breeding*, 2010, 1 (4): 585-589
- [21] Emendack Y, Malinowski D, Burke J, Burow G, Xin Z G. Morpho-physiological characterization of cold-and pre-flowering drought tolerance in grain sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) inbreds. *American Journal of Experimental Agriculture*, 2014, 4 (12): 1500-1516
- [22] Tuinstra M R, Grote E M, Goldsbrough P B, Ejeta G. Genetic analysis of post-flowering drought tolerance and components of grain development in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Molecular Breeding*, 1997, 3 (6): 439-448
- [23] Abraha T, Nyende A B, Mwangi S G, Kasili R, Araia W. Identification of sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) landraces tolerant to post flowering drought stress using drought tolerance indices. *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, 2015, 7 (7): 211-218
- [24] 兰巨生,胡福顺,张景瑞. 作物抗旱指数的概念和统计方法. *华北农学报*, 1990, 5 (2): 20-25
Lan J S, Hu F S, Zhang J R. The concept and statistical method of drought resistance index in crops. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 1990, 5 (2): 20-25
- [25] 祁旭升,刘章雄,关荣霞,王兴荣,苟作旺,常汝镇,邱丽娟. 大豆成株期抗旱性鉴定评价方法研究. *作物学报*, 2012, 38 (4): 665-674
Qi X S, Liu Z X, Guan R X, Wang X R, Gou Z W, Chang R Z, Qiu L J. Comparison of evaluation methods for drought-resistance at soybean adult stage. *Acta Agronomica Sinica*, 2012, 38 (4): 665-674
- [26] Blum A, Ebercon A. Genotypic responses in sorghum to drought stress. III. Free proline accumulation and drought resistance. *Crop Science*, 1976, 16 (3): 428-431
- [27] 王玉国,贺润喜,苗果园. 不同高粱抗旱品种光合速率及水分利用效率的研究. *生态农业研究*, 1998, 6 (1): 22-24
Wang Y G, He R X, Miao G Y. A study on photosynthesis rate and water use efficiency of Chinese sorghum cultivars with different drought-resistant specialities. *Eco-Agriculture Research*, 1998, 6 (1): 22-24
- [28] 崔江慧,李霄,常金华. PEG 模拟干旱胁迫对高粱幼苗生理特性的影响. *中国农学通报*, 2011, 27 (9): 160-165
Cui J H, Li X, Chang J H. Biochemical characteristics in sorghum seedlings under PEG simulated drought stress. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2011, 27 (9): 160-165
- [29] Ali M A, Abbas A, Awan S I, Jabran K, Gardezi S D A. Correlated response of various morpho-physiological characters with grain yield in sorghum landraces at different growth phases. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 2011, 21 (21): 671-679
- [30] Bawazir A, Idle D B. Drought resistance and root morphology in sorghum. *Plant and Soil*, 1989, 119 (2): 217-221
- [31] Premachandra G S, Hahn D T, Rhodes D, Joly R J. Leaf water relations and solute accumulation in two grain sorghum lines exhibiting contrasting drought tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 1995, 46 (12): 1833-1841
- [32] Ayichev S S. The study of morpho-physiological characters in sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) introgression lines under post-flowering drought stress. Ethiopia, Addis Ababa: Addis Ababa University, 2015
- [33] Talwar H S, Surwenshi A, Seetharama N. Use of SPAD chlorophyll meter to screen sorghum (*Sorghum bicolor*) lines for post-flowering drought tolerance. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 2009, 79 (1): 35-39
- [34] Kapanigowda M H, Perumal R, Djanaguiraman M, Aiken R M, Tesso T, Prasad P V. Genotypic variation in sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] exotic germplasm collections for drought and disease tolerance. *Springer Plus*, 2013, 2 (1): 650
- [35] 程保成,刘巧英,江宏. 高粱品种资源研究(1)-用叶绿素鉴定高粱品种的抗旱性. *中国科学院西北水土保持研究所集刊*, 1988 (8): 32-34
Cheng B C, Liu Q Y, Jiang H. Study on sorghum varieties resources (1)-Measuring the drought resistance of sorghum varieties by measuring chlorophyll II containing. *Memoir of NISWC: Academia Sinica*, 1988 (8): 32-34
- [36] 王艺陶. 高粱抗旱机制及评价指标的研究. 沈阳: 沈阳农业大学, 2013
Wang Y T. Drought resistant mechanism and the valuation criteria in sorghum. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2013
- [37] 杨帆,魏晓岑,张士超,王宝山. 不同甜高粱品种萌发期抗盐和抗旱性比较. *植物生理学报*, 2015, 51 (10): 1604-1610
Yang F, Wei X C, Zhang S C, Wang B S. Comparison on salt and drought resistances of different varieties of sorghum bicolor at germination stage. *Plant Physiology Journal*, 2015, 51 (10): 1604-1610
- [38] Rosenow D T, Clark L E. Drought tolerance in sorghum//Loden H D, Wilkinson D. Proceedings of the 36th annual corn and sorghum industry research conference, 1981: 18-31
- [39] 董良利,平俊爱,张福耀,程庆军,杜志宏,吕鑫. 抗旱、节水

- 高粱新品种晋杂 101 的选育. 作物杂志, 2006(4): 48-49
Dong L L, Ping J A, Zhang F Y, Cheng Q J, Du Z H, Lv X. Breeding of a new drought-resistant and water-saving cultivar Jinza 101. Crops, 2006(4): 48-49
- [40] Abu-Assar A H, Uptmoor R, Abdelmula A A, Wanger C, Salih M, Ali A M, Ordon F, Friedt W. Assessment of sorghum genetic resources for genetic diversity and drought tolerance using molecular markers and agro-morphological traits. University of Khartoum Journal of Agricultural Sciences, 2009, 17(1): 1-22
- [41] Abu-Assara A H, Uptmoor R, Abdelmula A A, Wanger C, Salih M, Ordon F, Friedt W. Genetic variation in sorghum germplasm from Sudan, ICRISAT, and USA assessed by simple sequence repeats (SSRs). Crop Science, 2005, 45(4): 1636-1644
- [42] Hamza N B, Idris A E, Elmunsor I I, Ibrahim A I A, Abuali A I. Drought tolerance assessment in grain sorghum (*Sorghum bicolor* [L.] moench) genotypes using agro-morphological traits and DNA markers. International Journal of Plant Breeding and Genetics, 2016, 10(3): 125-131
- [43] Mutava R N. Evaluation of sorghum genotypes for variation canopy temperature and drought tolerance. USA: Kansas, Manhattan, Kansas State University, 2012
- [44] Rosenow D T, Quisenberry J E, Wendt C W, Clark L E. Drought tolerant sorghum and cotton germplasm. Agricultural Water Management, 1983, 7(1): 207-222
- [45] Haussmann B I G, Mahalakshmi V, Reddy B V S, Seetharama N, Hash C T, Geiger H H. QTL mapping of stay-green in two sorghum recombinant inbred populations. Theoretical and Applied Genetics, 2002, 106: 133-142
- [46] Menezes C B, Ticona-Benavente C A, Tardin F D, Cardoso M J, Bastos E A, Nogueira D W, Portugal A F, Santos C V, Schaffert R E. Selection indices to identify drought-tolerant grain sorghum cultivars. Genetics and Molecular Research, 2014, 13(4): 9817-9827
- [47] Negash T A. Genetic diversity and post flowering drought tolerance analysis of Eritrean sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) moench] landraces using morpho-physiological and molecular markers. Kenya, Nairobi: Jomo Kenyatta University of Agriculture and Technology, 2015
- [48] Rajarajan K, Ganesamurthy K, Mayilsamy M, Yuvaraja A, Selvi B. Genetic diversity of sorghum genotypes for drought tolerance based on morpho-physiological traits. Madras Agricultural Journal, 2016, 103(10-12): 304-308
- [49] Vinodhana N K, Ganesamurthy K. Evaluation of morpho-physiological characters in sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) genotypes under post-flowering drought stress. Electronic Journal of Plant Breeding, 2010, 1(4): 585-589
- [50] Burke J J, Emendack Y, Hayes C, Xin Z G, Burow Gloria. Registration of four post-flowering drought-tolerant grain sorghum lines with early-season cold tolerance. Journal of Plant Registrations, 2018, doi: 10.3198/jpr2017.12.0086crg
- [51] Kebede H, Subudhi P K, Rosenow D T, Nguyen H T. Quantitative trait loci influencing drought tolerance in grain sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). Theoretical and Applied Genetics, 2001, 103, 266-276
- [52] Techale B, Tamene Y, Ferede T. Response of wild type sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) moench) accessions to pre-flowering drought stress. African Journal of Agricultural Research, 2014, 9(41): 3077-3081
- [53] 倪先林, 赵甘霖, 刘天朋, 张长伟, 陈国民, 胡炯凌, 丁国祥. 高粱重要抗性性状的基因定位研究进展. 福建农业学报, 2012, 27(6): 652-660
Ni X L, Zhao G L, Liu T P, Zhang C W, Chen G M, Hu J L, Ding G X. Advances in sorghum resistance gene mapping. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2012, 27(6): 652-660
- [54] Prasad P V, Pisipati S R, Mutava R N, Tuinstra M R. Sensitivity of grain sorghum to high temperature stress during reproductive development. Crop Science, 2008, 48: 1911-1917
- [55] Tuinstra M R, Grote E M, Goldsbrough P B, Ejeta G. Identification of quantitative trait loci associated with pre-flowering drought tolerance in sorghum. Crop Science, 1996, 36: 1337-1344
- [56] Sakhi S, Shehzad T, Rehman S, Okuno K. Mapping the QTLs underlying drought stress at developmental stage of sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] by association analysis. Euphytica, 2013, 193(3): 433-450
- [57] Thomas H, Smart C M. Crops that stay green. Annals of Applied Biology, 1993, 123: 193-219
- [58] Thomas H, Howard C J. Five ways to stay green. Journal of Experimental Botany, 2000, 51: 329-337
- [59] Xu W, Subudhi P K, Crasta O R, Rosenow D T, Mullet J E, Nguyen H T. Molecular mapping of QTLs conferring stay-green in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). Genome, 2000, 43: 461-469
- [60] Sanchez A C, Subudhi P K, Rosenow D T, Nguyen H T. Mapping QTLs associated with drought resistance in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). Plant Molecular Biology, 2002, 48: 713-726
- [61] Crasta O R, Xu W W, Rosenow D T, Mullet L, Nguyen H. Mapping of post-flowering drought resistance traits in grain sorghum: Association between QTLs influences premature senescence and maturity. Molecular Genetics and Genomics, 1999, 262: 579-588
- [62] Subudhi K D, 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. Theoretical and Applied Genetics, 2000, 101: 733-741
- [63] Hayes C M, Weers B D, hakran M, Burow G, Xin Z, Emendack Y, Burke J J, Rooney W L, Mullet J E. Discovery of a dhurrin QTL in *Sorghum bicolor*: Co-localization of dhurrin biosynthesis and a novel stay-green QTL. Crop Science, 2015, 56(1): 104-112
- [64] Awika H O, Hays D B, Mullet J E, Rooney W L, Weers B D. QTL mapping and loci dissection for leaf epicuticular wax load and canopy temperature depression and their association with QTL for staygreen in *Sorghum bicolor* under stress. Euphytica, 2017, 213(9): 207
- [65] Weers B D. Integrated analysis of phenology, traits, and QTL in the drought tolerant sorghum genotypes BTx642 and RTx7000. Ames: Iowa State University, 2011
- [66] Reddy N R R, Ragimasalawada M, Sabbavarapu M M, Nadoor S, Patil J V. Detection and validation of stay-green QTL in post-rainy sorghum involving widely adapted cultivar, M35-1 and a popular stay-green genotype B35. BMC Genomics, 2014, 15(1): 909
- [67] Sukumaran S, Li X, Li X R, Zhu C S, Bai G H, Perumal R, Tuinstra M R, Vara Prasad P V, Mitchell S E, Tesso T T, Yu

- J M. QTL ping for grain yield, flowering time, and stay-green traits in sorghum with genotyping-by-sequencing markers. *Crop Science*, 2016, 56 (4): 1429-1442
- [68] Sabadin P K, Malosetti M, Boer M P, Tardin F D, Santos F G, Guimarães C T, Gomide R L, Andrade C L T, Albuquerque P E P, Caniato F F, Mollinari M, Margarido G R A, Oliveira B F, Schaffert R E, Garcia A A F, van Eeuwijk F A, Magalhaes J V. Studying the genetic basis of drought tolerance in sorghum by managed stress trials and adjustments for phenological and plant height differences. *Theoretical & Applied Genetics*, 2012, 124 (8): 1389-1402
- [69] Edema R, Amoding L A. Validating simple sequence repeat (SSR) markers for introgression of stay-green quantitative trait loci (QTLs) into elite sorghum lines. *African Journal of Biotechnology*, 2015, 14 (46): 3101-3111
- [70] Reddy B V S, Ramesh S, Reddy P S, Kumar A A. Genetic enhancement for drought tolerance in sorghum. *Plant Breeding Reviews*, 2009, 31: 189-222
- [71] Harris K, Subudhi P K, Borrell A, Jordan D, Rosenow D, Nguyen H, Klein P, Klein R, Mullet J. Sorghum stay-green QTL individually reduce post-flowering drought-induced leaf senescence. *Journal of Experimental Botany*, 2007, 58 (2): 327-338
- [72] Kamal N M, Gorafi Y S, Ghanim A M. Performance of sorghum stay-green introgression lines under post-flowering drought. *International Journal of Plant Research*, 2017, 7 (3): 65-74
- [73] Ongom P O. Association mapping of gene regions for drought tolerance and agronomic traits in sorghum. West Lafayette, Indiana: Purdue University, 2016
- [74] Johnson S M, Cummins I, Ling L F, Slabas A R, Knight M R. Transcriptomic analysis comparing stay-green and senescent *Sorghum bicolor* lines identifies a role for proline biosynthesis in the stay-green trait. *Journal of Experimental Botany*, 2015, 66 (22): 7061-7073
- [75] Mary B F. Molecular mechanisms of drought stress tolerance that underlie the stay green trait in *Sorghum bicolor*. United Kingdom, Durham: Durham University, 2017
- [76] 刘洋,姚新转,吕立堂,雷雨婷,代婷婷,赵德刚. 高粱 *SbSKIP* 基因的克隆及其在烟草中的抗旱功能分析. *农业生物技术学报*, 2016, 24 (10): 1500-1511
- Liu Y, Yao X Z, Lv L T, Lei Y T, Dai T T, Zhao D G. Cloning of *SbSKIP* gene from sorghum (*Sorghum bicolor*) and analysis of drought-resistant function in tobacco (*Nicotiana tabacum*). *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2016, 24 (10): 1500-1511
- [77] Qi Y, Yao X Z, Zhao D G, Lu L T. Overexpression of *SbSKIP*, a pre-mRNA splicing factor from *Sorghum bicolor*, enhances root growth and drought tolerance in *Petunia hybrid*. *Scientia Horticulturae*, 2018, 240: 281-287
- [78] 程晓霖,方天堃. 中国农业水资源利用及管理现状分析. *农业经济*, 2006 (4): 39-40
- Cheng X L, Fang T K. Analysis of current situation of agricultural water resources utilization and management in China. *Agricultural Economy*, 2006 (4): 39-40
- [79] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. GB/T 21127-2007. 小麦抗旱性鉴定评价技术规范. 北京: 中国标准出版社, 2007
- General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of the People's Republic of China. GB/T 21127-2007. Technical specification of identification and evaluation for drought resistance in wheat. Beijing: Standards Press of China, 2007
- [80] 河北省质量技术监督局. DB13/T 1282-2010. 玉米抗旱性鉴定技术规范. 北京: 中国标准出版社, 2010
- Hebei Provincial Administration of Quality and Technical Supervision. DB13/T 1282-2010. Technical specification of identification for drought resistance in maize. Beijing: Standards Press of China, 2010
- [81] 吉林省质量技术监督局. DB22/T 2017-2014. 玉米抗旱性鉴定技术规程. 北京: 中国标准出版社, 2014
- Jilin Provincial Administration of Quality and Technical Supervision. DB22/T 2017-2014. Technical specification of identification for drought resistance in maize. Beijing: Standards Press of China, 2014
- [82] 吉林省质量技术监督局. DB22/T 2388-2015. 高粱抗旱性鉴定技术规程. 北京: 中国标准出版社, 2015
- Jilin Provincial Administration of Quality and Technical Supervision. DB22/T 2388-2015. Technical specification of identification for drought resistance in sorghum. Beijing: Standards Press of China, 2015
- [83] 祁旭升,王兴荣,张彦军,乔海明,张建平,米君. 胡麻成株期抗旱指标筛选与种质抗性鉴定. *核农学报*, 2015, 29 (8): 596-606
- Qi X S, Wang X R, Zhang Y J, Qiao H M, Zhang J P, Mi J. Drought resistance indexes selection for oil flax at the adult stage and drought resistance identification of oil flax germplasm. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2015, 29 (8): 596-606
- [84] 李志博,林海荣,魏亦农,郝忠玲,喻娟. 北疆主栽棉花抗旱性生育期差异评价及鉴定体系的初步建立. *干旱地区农业研究*, 2011, 29 (3): 84-90
- Li Z B, Lin H R, Wei Y N, Xi Z L, Yu J. Primary evaluation of drought resistance and construction of identificationsystem of cotton at different growth stages in Northern Xinjiang. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2011, 29 (3): 84-90
- [85] 翁锦辉. 南繁的农业气候条件分析与利用. *广西气象*, 2003, 24 (2): 21-22
- Weng J H. Analysis of agricultural climatic conditions during breeding period and its utilization. *Journal of Guangxi Meteorology*, 2003, 24 (2): 21-22
- [86] 陈新闯,郭建英,董智,李红丽,李锦荣,王合云. 乌兰布和沙漠乌海段新月形沙丘表层沉积物粒度与重金属分布特征. *水土保持学报*, 2015, 29 (3): 47-51
- Chen X C, Guo J Y, Dong Z, Li H L, Li J R, Wang H Y. Characteristics of heavy metal distribution and grain size in surface sediments of barchan dunes of Wuhai Section in Ulan Buh Desert. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2015, 29 (3): 47-51
- [87] Che P, Anand A, Wu E, Sander J D, Simon M K, Zhu W W, Sigmund A L, Zastrow-Hayes G, Miller M, Liu D L, Lawit S J, Zhao Z Y, Albertsen M C, Jones T J. Developing a flexible, high-efficiency *agrobacterium*-mediated sorghum transformation system with broad application. *Plant Biotechnology Journal*, 2018, 16 (7): 1388-1395
- [88] Li A X, Jia S G, Yobi A, Ge Z X, Sato S J, Zhang C, Angelovici R, Clemente T E, Holding D R. Editing of an alpha-kafrin gene family increases digestibility and protein quality in sorghum. *Plant Physiology*, 2018, dio: 10.1104/pp.18.00200