

能源甜高粱遗传改良研究进展

邹桂花,陶跃之

(浙江省农业科学院作物与核技术利用研究所,杭州 310021)

摘要:甜高粱是最有应用前景的再生能源作物之一,它的能源转换效率取决于植株总生物量和茎秆汁液含糖量的高低。探明决定甜高粱总生物量和茎秆汁液含糖量积累相关过程的生物学机制并开发相应分子标记,是选育生物能专用甜高粱品种的有效途径。该文从甜高粱糖分积累、遗传多样性研究、遗传图谱的构建、含糖量相关性状的定位及遗传工程研究等方面介绍了近年来甜高粱遗传研究进展。

关键词:甜高粱;遗传改良;分子育种

中图分类号:S566.5 **文献标识码:**A

Progress of Genetic Improvement in Sweet Sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench)

Zou Guihua, Tao Yuezhi

(The Institute of Crop and Nuclear Technology Utilization, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021)

Abstract: Sweet sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) is considered one of most potentially valuable sources for biofuel production. Total biomass and sugar content of stem extracts determine the energy conversion efficiency in sweet sorghum. The effective approach to develop elite sweet sorghum with superior biomass and high sugar content is to understand the molecular mechanism and identify the molecular markers that genetically associated with the traits and the genes. Main research progress achievements of genetic improvement in sweet sorghum are highlighted, including of the investigation of stem sugar accumulation, assessment of genetic diversity, construction of genetic maps and identification of QTLs for sugar-related traits in this brief review.

Key words: sweet sorghum, genetic improvement, molecular breeding

化石能源渐趋枯竭、温室气体效应导致全球变暖、人类生存环境日益恶化是当今世界各国必须面对的严酷事实。为应对日益突出的能源危机和气候变化,世界各国高度重视生物质能源的开发与利用。中国能源储备少、产量低、需求量大、供需矛盾尖锐。中国石油储量仅占世界的2%而消费量居世界第二,将近一半的石油依赖进口。中国的环境污染严重,二氧化硫和二氧化碳的排放量分居世界第一和第二位。面对如此艰巨的节能减排任务,发展利用可再生新能源植物替代化石能源是从根本上解决能源危机的重要举措^[1-3]。

甜高粱是目前公认的最有应用前景的再生能源作物之一^[4]。作为普通高粱的变种,甜高粱起源于炎热、干旱、土壤贫瘠的非洲大陆,与其它禾谷类作物相比,它

更抗旱、耐涝、耐盐碱、耐高温,非常适合在水资源缺乏的干旱和半干旱地区种植,被称为“作物中的骆驼”^[5]。甜高粱还具有很高的光合效能,其生物量在C₄植物中最高,是有效的“太阳能转换器”和令人赞叹的高能作物^[6]。此外,甜高粱茎秆汁液丰富,含糖量高(茎秆汁液和含糖量分别达60%和15%以上),可以加工发酵成酒精,是理想的可再生生物能源库。

甜高粱总生物量和茎秆汁液含糖量的高低从根本上决定着甜高粱的能源转换效率。而这些性状均属于复杂的数量性状,易受环境影响,采用常规育种手段对它们进行选择,效率往往不高。通过分子生物学手段探明决定甜高粱总生物量和茎秆汁液含糖量积累相关过程的生物学机制,开发并应用与高生物量高含糖量性

第一作者简介:邹桂花,女,1975年出生,博士,主要从事甜高粱遗传育种研究,通信地址:310021 浙江省杭州市石桥路198号,浙江省农业科学院作物与核技术利用研究所分子育种中心, Tel:0571-86416058, E-mail:zouguihuazw@163.com。

收稿日期:2008-09-02,修回日期:2008-10-07。

状相关的分子标记,是选育高生物量、高含糖量生物能专用甜高粱品种最为有效的途径。笔者对近年来国内外围绕甜高粱遗传改良方面的相关研究进展做一简要概述。

1 甜高粱糖分的积累

甜高粱的最大特点是粮、糖、纤维兼用。无论制糖、制酒精,或直接作饲料,均围绕一个“糖”字。植物体内碳水化合物大约占干物质总量的90%~95%,而碳水化合物中含量较高且能够互相转化和再利用的主要是蔗糖、淀粉和可溶性糖等糖类物质^[7]。蔗糖既是光合作用早期形成的碳水化合物,又是叶片光合产物向各器官运输的主要形式,在植物体内同化物的运输中具有举足轻重的地位。锤度(Brix)法是测定溶液中总糖含量的常用方法,Ritter等^[8]的研究结果表明,通过Brix法测定的高粱总糖含量与用其他生化方法(HPLC)测得的蔗糖含量、总糖含量间呈极显著正相关。由于Brix测定非常简单,因此作为衡量甜高粱蔗糖含量及总糖含量的重要指标。谢风周等^[9]以Rio为试材研究了甜高粱糖分积累的规律,结果表明:从抽穗开始到完熟,茎秆Brix呈逐渐增加趋势,在完熟期达到高峰,认为甜高粱的最佳收获期应在籽粒完熟期。周鸿飞等^[10]测定6A×S246不同时期的茎秆含糖量,认为糖分积累基本分成3个阶段:前期无积累阶段—中后期积累快速增长阶段—末期积累慢速增长阶段。卞云龙等^[11]对高糖自交系1095和低糖自交系N3的糖分进行测定,在抽穗开花初期到盛花期这段时间里,茎秆中的糖分含量比较低,然后逐步开始提高,乳熟初期到蜡熟初期糖分上升最快,且在蜡熟初期糖分含量达最高,以后开始下降。卢庆善等^[12]研究表明茎秆中糖的积累开始于盛花期之前,到盛花期时,茎秆中蔗糖含量为1.36%,视纯度达15%;10天后,蔗糖含量达6.36%,视纯度达51.83%;乳熟至完熟期,由于大部分营养转运到子粒中,因此茎秆里糖分积累速度有所减缓;完熟时,蔗糖含量为8.57%,视纯度为60.22%。子粒收获后如果茎叶仍呈绿色,那么两周后茎秆蔗糖含量和视纯度都达峰值,分别为11.86%和71.10%,这表明,甜高粱有两个“库”—子粒和茎秆。叶片的光合作用产物(源),可以流向子粒和茎秆,以淀粉或糖的形式贮存起来。阴秀卿等^[13]利用22份甜高粱材料,研究了从穗柄开始自上而下第1~9节间的Brix,发现第6和8节间对主茎秆Brix有较大的正向直接效应,第1、2、3节间对茎秆Brix有较小的正向效应,第4、5、7节间对主茎秆Brix有较高的负向直接效应。说明改进第6、8节间的Brix对提高主茎秆Brix有重要作用,改进第1、2、3节间的

作用较小,而第4、5、7节间则对提高主茎秆节间Brix是不利的。综合上述研究结果,甜高粱含糖量的积累在子粒成熟时达到高峰;茎秆的不同节位含糖量不同,自上而下呈低—高一低的不匀称波形变化;各生育时期高Brix节间均在茎秆的中部或中上部;品种间含糖量和茎汁液含量存在较大的差异^[14]。

2 甜高粱种质资源遗传多样性的评价

栽培高粱在原始高粱基础上经过漫长的自然选择,农艺形态和生理特性已发生了一系列重大改变,形成了品种类型多、栽培要求不一、用途多样的现状。充分了解高粱种质资源的遗传背景及亲缘关系以便在选择亲本组合创造分离群体保持遗传多样性是育种工作的基础。仅依据传统方法如形态特征、地理来源、农艺性状、系谱关系等对高粱进行分类,不足以准确揭示种质资源间的遗传多样性。DNA分子标记技术由于不受基因表达的时空限制和环境条件的影响已被广泛应用于高粱品种间的亲缘关系研究^[15-22]。然而,利用分子标记技术研究甜高粱品种间的遗传多样性的报道不多。Abu Assar等^[23]用16个SSR标记研究了96份来自苏丹、国际半干旱热带作物研究所(ICRISAT)和美国的高粱种质资源的遗传多样性,证明分子标记是研究高粱资源分类、地理分布、生态类型的有效工具。Ritter等^[24]利用AFLP标记研究了31个甜高粱品种和64个籽粒高粱品种间的遗传多样性,共筛选到277个多态性AFLP标记,可将古老的甜高粱品种与近现代育成的品种区分开来。且发现SBI-08和SBI-10染色体上的多态性分子标记可以将甜高粱从籽粒高粱中区分开来,在SBI-10染色体上他们曾定位到一些与含糖量性状(株高、抽穗期等)的QTL和ESTs。Ali等^[25]利用41个SSR标记研究了美国68个甜高粱和4个籽粒高粱间的遗传多样性,同时分析了甜高粱品种间含糖量的遗传变异。利用这些多态性引物共检测出132个等位基因变异位点,平均每个位点检测到的等位基因数为3.22个。根据遗传相似性系数可将72个高粱品种划分为明显的10个类群。这些品种的Brix变异范围在7.13%~19.29%之间。分子标记技术与表型分析相结合,可为获得含糖量高、生物量大的杂交种在亲本选配以及构建甜高粱分离群体定位控制含糖量相关基因等提供众多有益信息。

3 甜高粱遗传图谱的构建和含糖量相关性状的QTL定位

高粱分子遗传图谱的构建始于20世纪90年代。Hulbert等^[26]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。随后不少学者分别利用F₂和RIL群体以RFLP、RAPD、AFLP、SSR为标记构建了一系列高粱遗传连锁图谱并进行了许多农艺性状的QTL定位研究。随着标记技术的发展,近年来发表的高粱遗传连锁图谱的标记位点数在不断增多,连锁群更趋于完整,基因组的覆盖率也大大增加,标记间的平均距离不断减少^[27-42]。高密度分子遗传图谱的构建有助于利用与重要基因紧密连锁的分子标记进行标记辅助选择育种和QTL研究。

甜高粱基因组作图的研究起步相对较晚。到目前为止,仅有三篇文献报道了甜高粱的遗传连锁图和含糖量相关性状的QTL定位。Natoli等^[43]利用两个甜高粱品种LP29/1×LP113A杂交获得的129个F₂单株构建了一张包含144个AFLP和SSR标记的遗传连锁图,图谱总长1381.5cM。并定位了含糖量、蔗糖产量、开花期、株高和总干物重等含糖量相关的性状。在SBI-02和SBI-03连锁群上检测到了影响蔗糖含量的QTLs,在SBI-05连锁群上检测到了影响产糖量的QTL,影响开花期和株高的QTLs位于SBI-01和SBI-05连锁群,干物重的QTL位于SBI-05连锁群。没有检测到影响Brix的QTL,单个QTL的贡献率最高达18.8%。Bian等^[44]利用甜高粱early folger和籽粒高粱N32B杂交的F₂群体构建了一张包含327个RFLP、SSR和AFLP的遗传图谱,图谱总长为983.5cM。并在SBI-04和SBI-10两个连锁群上检测到了影响Brix的QTLs,分别解释了25%和24%的表型变异,两个QTLs的增效等位基因均来自于高糖亲本early folger,加性效应值分别为0.84和0.25。Ritter等^[45]利用甜高粱R9188×籽粒高粱R9403463-2-1衍生的重组自交系群体构建了一张包含228个SSR和AFLP标记的遗传图谱,该图谱包括16个连锁群,总长2012.9cM,标记间的平均距离是8.94cM。利用该群体在两个环境下检测了含糖量相关性状的QTLs,在SBI-01、SBI-03、SBI-05、SBI-06、SBI-07、SBI-08和SBI-10连锁群上共检测到了47个标记与含糖量性状显著相关。其中,位于SBI-05连锁群上的mSSCIR12标记分别与蔗糖含量、总糖含量、Brix等连锁,单个QTL可解释9%~16%的表型变异;而位于SBI-06连锁群上的标记AG/CTG9、AAG/CAA4和Xtxp547均与蔗糖含量、总糖含量、蔗糖产量、Brix等连锁,单个QTL可解释16%~47%的表型变异。在这些位点,影响同一性状的QTL在两种环境下能够重复检测到,并且性状相关的QTLs具有成簇分布的特点,表现为一因多效,在不同环境下

重复检测到的QTLs可用于标记辅助选择育种。比较Natoli和Kimberley等的定位结果,均在SBI-01、SBI-05连锁群上分别检测到了影响抽穗期、产糖量及株高的QTLs。但由于两个连锁群上共同的标记较少,这些影响相同性状的QTL是否为同一个QTL还有待于进一步验证。

4 含糖量性状的遗传工程研究进展

高粱是目前公认的最难建立无性组织或器官再生体系、导入外源基因的作物之一^[45,46]。尽管高粱的组织培养,包括愈伤诱导和植株再生在某些外植体上已经取得成功,但其遗传转化研究工作进展缓慢。王黎明^[47]将具有茎秆多汁、含糖量高、生物产量高且生育期长等特点的热带甜高粱DNA通过花粉管通道导入到黑龙江省当地高粱品种中,以探讨此项技术用于高粱育种的可行性。在受体开花受粉后60min左右剪掉柱头,将供体DNA滴于切口处。导入后代出现了许多变异类型,包括农艺性状、育性、抗病性、含糖量及籽粒品质性状等。测定导入后代的品质性状,结果表明,有4个导入后代的淀粉含量高于受体;3个导入后代的支链淀粉含量高于受体;8个导入后代的单宁含量低于受体。将含糖量高的高粱DNA导入后,获得了15个高于受体含糖量的导入后代,占总数的7.9%。其中有8个导入后代的含糖量既高于受体,又高于供体,这是常规育种所不能得到的。同时导入后代的变异性状可以在杂交后代中表现出来,说明导入后所引起的性状变异是可遗传的。利用外源DNA导入技术获得了常规育种无法得到的变异后代,实现了地理远缘的品种间遗传物质的转移,丰富了遗传类型,表明此项技术用于高粱的种质创新和品质改良是可行的,可作为常规育种的一个辅助手段。

5 展望

拟南芥、水稻等模式植物全基因组测序工作的相继完成开创了植物科学研究的新时代。基于基因组生物学研究的技术方法、信息资源和研究成果为植物遗传改良提供了前所未有的理论基础和技术支撑。高粱种质资源丰富,基因组小,适应环境广泛、抗逆性强,与玉米、水稻和甘蔗等作物同源性高,是禾谷类比较基因组研究中的理想桥梁作物。十几年来,高密度遗传连锁图的构建以及与物理图谱的整合、染色体细胞分子图谱的绘制,极大地推动了高粱一些重要性状(如抗旱、抗病、抗虫及产量等)的基因定位与克隆分离、有利性状的基因聚合、定向选择等方面的研究进展。高粱基因组与其它禾谷类作物基因组的比较研究也得以迅速发展。

笔者所在的浙江省农科院作物分子育种实验室通过与辽宁省农科院国家高粱改良中心的密切合作,近年来在甜高粱种质资源遗传多样性分析、分离群体培育、连锁遗传图谱构建、含糖量相关性状基因定位、候选基因的克隆及甜高粱高效遗传转化体系的建立等方面开展了系统研究并取得了重要进展。目前笔者正利用一个甜高粱与籽粒高粱杂交的重组自交系分离群体,通过 QTL 定位、基因表达谱和表达 QTL 分析相结合的技术手段,细致解析甜高粱茎秆在不同环境、不同时期、不同部位糖含量组分和积累特点的基础上,定位糖含量相关 QTL, 确认糖含量相关的候选基因,从而发现决定甜高粱茎秆总糖含量高低的生物学机制和甜高粱茎秆含糖量相关基因的表达调控规律, 找寻提高甜高粱茎秆含糖量的遗传依据和改良方法, 开发茎秆含糖量相关分子标记并通过标记辅助筛选培育出高生物量、高含糖量的甜高粱新品种。高粱基因组测序工作即将完成、数以万计的 EST 和全长 cDNA 等序列及功能分析数据的释放以及新型分子标记及其高效检测技术的发展, 无疑为上述目标的实现提供了最坚实的基础和最有利的时机。

参考文献

- [1] 王久臣,戴林,田宜水,等.中国生物质能产业发展现状及趋势分析.农业工程学报,2007,23(9):276-281.
- [2] 石元春.发展生物质产业.农机科技推广,2005,4:4-6.
- [3] 石元春.农业的三个战场.求是,2006,10:54-56.
- [4] Doggett H. Sorghum, edn: John Wiley and Sons,2nd,New York: Longman Scientific and Technical.1988:4-5.
- [5] 邹剑秋,宋仁本,卢庆善,等.新型绿色可再生能源作物——甜高粱及其育种策略.杂粮作物,2003,23(3):134-135.
- [6] 牛天堂.甜高粱高产栽培与利用.北京:金盾出版社.2002:6-7.
- [7] Walker D A. Regulatory mechanism in photosynthetic carbon mechanism.Current topic in cellular regulation.New York:Academic Press, 1976:69-76.
- [8] 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.*Mol Breeding*,2008, (22): 367-384.
- [9] 谢凤周. 糖高粱茎秆糖分积累规律的初步研究. 辽宁农业科学, 1989,(5):50-52.
- [10] 周鸿飞,陈志斌,关欣.甜高粱糖分积累动态生物量积累的数学模型.辽宁农业科学,2001,(6):16-18.
- [11] 卞云龙,邓德祥,徐向阳,等.高粱茎秆中糖分含量的变化.杂粮作物, 2004,24(5):282-283.
- [12] 卢庆善.甜高粱研究进展.世界农业,1998,5:21-23.
- [13] 阴秀卿.黑龙江省甜高粱研究现状与展望.黑龙江农业科学,1999,1: 45.
- [14] 曹文伯. 在甜高粱上利用杂种优势的探讨. 植物遗传资源科学, 2002,3(3):15-20.
- [15] Tao Y, Manners J, Ludlow M, et al.DNA polymorphisms in grain sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench).*Theor Appl Genet*,1993,86: 679-688.
- [16] Deu M,Gonzalez-de-Leon D,Glaszmann J,et al.RFLP diversity in cultivated sorghum in relation to racial differentiation.*Theor Appl Genet*, 1994,88:838-844.
- [17] Ahnert D, Lee M, Austin D, et al. Genetic diversity among elite sorghum inbred lines assessed with DNA markers and pedigree information.*Crop Sci*,1996,36:1385-1392.
- [18] Ayana A, Bryngelsson T, Bekele E. Genetic variation of Ethiopian and Eritrean sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) germplasm assessed by random amplified polymorphic DNA (RAPD).*Genet Resour Crop Evol*,2000,47:471-482.
- [19] 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.*Theor Appl Genet*,2003,106: 1316-1325.
- [20] Anas, Yoshida T. Genetic diversity among Japanese cultivated sorghum assessed with simple sequence repeats markers. *Plant Prod Sci*,2004,7:217-223.
- [21] Menz M, Klein R, Unruh N, et al.Genetic diversity of public inbreds of sorghum determined by mapped AFLP and SSR markers.*Crop Sci*, 2004,44:1236-1244.
- [22] Folkertsma R, Frederick H, Rattunde W, et al. The pattern of genetic diversity of Guinea-race *Sorghum bicolor* (L.) Moench landraces as revealed with SSR markers.*Theor Appl Genet*,2005,111:399-409.
- [23] Abu 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).*Crop Sci*,2005, 45:1636-1644.
- [24] Ritter K B, McIntyre C L, Godwin I D, et al. An assessment of the genetic relationship between sweet and grain sorghums, within *Sorghum bicolor* ssp. *Bicolor* (L.) Moench using AFLP markers.*Euphytica*, 2007,157:161-176.
- [25] 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.*Mol Breeding*,2008,21:497-509.
- [26] 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.*Proc Natl Acad Sci USA*,1990,87:4251-4255.
- [27] Bhatramakki D, Dong J, Chhabra A K, et al. An integrated SSR and RFLP linkage map of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Genome*, 2000,43:988-1002.
- [28] Boivin K, Deu M, Rami J F, et al. Towards a saturated sorghum map using RFLP and AFLP markers. *Theor Appl Genet*,1990,98:320-328.
- [29] Chittenden L M, Schertz K F, Lin Y R, et al. A detailed RFLP map of *Sorghum bicolor* × *S. propinquum* suitable for high-density mapping, suggests ancestral duplication of Sorghum chromosomes or chromosomal segments.*Theor Appl Genet*,1994,87:925-933.
- [30] 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. *Mol Gen Genet*, 1999,262:579-588.

- [31] Deu M, Ratnadass A, Hamada M A, *et al.* Quantitative trait loci for head-bug resistance in sorghum. *Afr J Biotechnol*, 2005, 4: 247-250.
- [32] Hausmann B I G, Mahalakshmi V, Reddy B V S, *et al.* QTL mapping of stay-green in two sorghum recombinant inbred populations. *Theor Appl Genet*, 2002, 106: 133-142.
- [33] Hausmann 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. *Theor Appl Genet*, 2004, 109: 1005-1016.
- [34] Kebede H, Subudhi P K, Rosenow D T, *et al.* Quantitative trait loci influencing drought tolerance in grain sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Theor Appl Genet*, 2001, 103: 266-276.
- [35] 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. *Plant Mol Biol*, 2002, 48: 483-499.
- [36] Peng Y, Schertz K F, Cartinhour S, *et al.* Comparative genome mapping of *Sorghum bicolor* (L.) Moench using an RFLP map constructed in a population of recombinant inbred lines. *Plant Breed*, 1999, 118: 225-235.
- [37] Sanchez A C, Subudhi P K, Rosenow D T, *et al.* Mapping QTLs associated with drought resistance in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Plant Mol Biol*, 2002, 48: 713-726.
- [38] 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. *Theor Appl Genet*, 2000, 101: 733-741.
- [39] Tao Y Z, Henzell R G, Jordan D R, *et al.* Identification of genomic regions associated with stay-green in sorghum by testing RILs in multiple environments. *Theor Appl Genet*, 2000, 100: 1225-1232.
- [40] Tuinstra M R, Grote E M, Goldsbrough P B, *et al.* Identification of quantitative trait loci associated with pre-flowering drought tolerance in sorghum. *Crop Sci*, 1996, 36: 1337-1344.
- [41] Xu G W, Magill C W, Schertz K F, *et al.* A RFLP linkage map of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Theor Appl Genet*, 1994, 89: 139-145.
- [42] Xu W, Subudhi P K, Crasta O R, *et al.* Molecular mapping of QTLs conferring stay-green in grain sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Genome*, 2000, 43: 461-469.
- [43] Natoli A, Gprmo C, Chegdani F, *et al.* Identification of QTLs associated with sweet sorghum quality. *Maydica*, 2002, 47: 311-322.
- [44] Bian Y L, Yazaki S J, Maiko I, *et al.* QTLs for sugar content of stalk in sweet sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Agric Sci China*, 2006, 5: 736-744.
- [45] Zhu H, Muthukrishana S, Krishnaveni S, *et al.* Biolistic transformation of sorghum using a rice chitinase gene. *J Genet Breed*, 1998, 52: 243-252.
- [46] Gao Z, Jayaraj J, Muthukrishnan S, *et al.* Efficient genetic transformation of Sorghum using a visual screening marker. *Genome*, 2005, 8(2): 321-333.
- [47] 王黎明. 外源 DNA 直接导入高粱的研究: [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2003: 1.