

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2009.00523

## 基于 *Adh1* 基因分析高粱属的系统进化关系

廖芳<sup>1,2</sup>, 刘勇<sup>1</sup>, 杨秀丽<sup>1</sup>, 黄国明<sup>1</sup>, 牛春敬<sup>1</sup>

1. 天津出入境检验检疫局, 天津 300456;  
2. 南开大学生命科学学院, 天津 300071

**摘要:** 高粱属中有重要的粮食作物和优良牧草, 也有农业生产上的重要杂草。文章旨在进一步从分子水平阐明高粱属种间的系统进化关系, 为有效利用种质资源进行分子育种改良作物品质提供理论依据, 并明确检疫性杂草的分类地位。根据二色高粱(*Sorghum bicolor*)的 *Adh1* 全基因序列(GenBank 登录号: AF050456)设计引物, 扩增并测定黑高粱(*S. alnum*)、假高粱(*S. halepense*)、丝克高粱(*S. silk*)和苏丹草(*S. sudanense*)共计 8 个植物材料约 2 000 bp 的 *Adh1* 基因部分序列, 结合 GenBank 中其他 24 个 *Sorghum* 属的同源序列, 以 *Cleistachne sorghoides* 的对应序列为外群, 进行了高粱属的亲缘关系分析, 用 MP、ML 和 NJ 法分别构建了分子进化树, 得到了基本相同的拓扑结构。结果显示: (1) 高粱属可明显分为三大支, 一支是蒴柄高粱(*Chaetosorghum*)和异高粱(*Heterosorghum*)二个亚属, 一支是优高粱亚属(*Eusorghum*), 这两个分支包含  $2n=20$ 、40, 染色体较小的种类, 另一分支包括拟高粱(*Parasorghum*)和有柄高粱(*Stiposorghum*)两个亚属, 包含  $2n=10$  的种类和它们的多倍体近缘种, 染色体相对较大; (2) *S. alnum* 的 *Adh1* 基因表现出明显的地理分化; (3) *Parasorghum* 亚属的 *S. purpureosericeum* 和多色高粱(*S. versicolor*)、光高粱(*S. nitidum*)和 *S. leiocladum* 聚在一起, 而该亚属中的 *S. malarankense*、*S. grande*、*S. timorensis* 却与亚属 *Stiposorghum* 的种聚在一起, 表现出更近的亲缘关系; (4) *S. macrospermum* 和 *S. laxiflorum* 之间具有比其他高粱属种更近的亲缘关系。

**关键词:** 高粱属; *Adh1* 基因; 分子进化树; 亲缘关系

## Molecular phylogenetic relationships among species in the genus *Sorghum* based on partial *Adh1* gene

LIAO Fang<sup>1,2</sup>, LIU Yong<sup>1</sup>, YANG Xiu-Li<sup>1</sup>, HUANG Guo-Ming<sup>1</sup>, NIU Chun-Jing<sup>1</sup>

1. Tianjin Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Tianjin 300456, China;  
2. College of Life Sciences, Nankai University, Tianjin 300071, China

**Abstract:** The genus *Sorghum* contains some important grain crops and economically important forage grasses as well as agricultural weeds. The goals of this study were to elucidate the phylogenetic relationships between *Sorghum* species and ascertain the taxonomy status of the quarantine weeds which provide bases for effective utilization of its germ resources on molecular breeding and improvement of crop qualities and thus provide important guidance for port detection. In the present study, total DNA from the seeds of 8 *Sorghum* species (four *S. alnum*, two *S. halepense*, one *S. silk* and one *S. sudanense*) were extracted, and the partial *Adh1* gene of about 2000 bp in length were amplified by PCR using specific primers designed from conserved regions of *Adh1* gene reported in the GenBank (AF050456) and sequenced. Based on these se-

收稿日期: 2008-06-12; 修回日期: 2008-10-06

基金项目: 国家十一五科技支撑计划项目(编号: 2006BAK10B06)资助

作者简介: 廖芳(1973-), 男, 在读博士, 农艺师, 研究方向: 分子遗传学。Tel: 022-66273153; E-mail: liaoxiyang@yahoo.com.cn

通讯作者: 黄国明(1964-), 男, 本科, 研究员, 研究方向: 植物检疫。Tel: 022-66273188; E-mail: huanggm@tjciq.gov.cn

quences and other 24 *Adh1* sequences registered in the GenBank, the phylogenetic trees constructed by multiple methods (MP, ML, and NJ) with the corresponding *Adh1* sequence of *Cleistachne sorghoides* as the outgroup shared almost the same topology. The results showed that: (1) there were obviously three lineages for the genus *Sorghum*. One included two subgenera *Chaetosorghum* and *Heterosorghum*, and another included subgenus *Eusorghum*, both of which consisted of  $2n=20$  and  $2n=40$  species with small chromosomes. Still another lineage contained the two subgenera *Parasorghum* and *Stiposorghum* with  $2n=10$  species and their polyploid relatives with relatively large chromosomes; (2) geographical divergence clearly existed in the *S. alnum*; (3) *S. purpureosericeum*, *S. versicolor*, *S. nitidum* and *S. leiocladum* of subgenus *Parasorghum* clustered together, but *S. matarankense*, *S. grande*, and *S. timorense* of the same subgenus clustered with the species of subgenus *Stiposorghum*, showing closer relationship with subgenus *Stiposorghum*; (4) *S. macrospermum* was more closely related to *S. laxiflorum* than the other species of the genus *Sorghum*.

**Keywords:** genus *Sorghum*; *Adh1* gene; molecular dendrogram; phylogenetic relationship

高粱属(*Sorghum* Moench)中确认的有 25 种, 其中许多种为抗干旱作物, 作为粮食、饲料、工业原料等具有很高经济价值<sup>[1]</sup>. 该属还包括多种杂草, 其中假高粱 [*S. halepense* (Linn.) pers.] 是危害大、繁殖快、难防治的世界十大恶性杂草之一, 全世界至少 58 个国家和地区有分布, 我国大部分地区均有分布<sup>[2]</sup>, 黑高粱、假高粱及其杂交种被我国列为进境植物检疫性有害生物。假高粱、丝克高粱(*S. silk*)、光高粱 [*S. nitidum* (Vahl) Pers.]、拟高粱 [*S. propinquum* (Kunth) Hitchc.]、苏丹草 [*S. sudanense* (Piper) Stapf]、二色高粱 [*S. bicolor* (Linn.) Moench]、黑高粱(*S. alnum* Parodi) 等在形态上极为类似, 给常规分类鉴定带来一定困难<sup>[1, 3]</sup>, 对它们的分类地位进行研究, 可加大对假高粱及其近似种的检疫力度, 防止假高粱及其近似种进一步在国内扩散。

高粱属的系统发生很早就有研究, Snowden<sup>[4]</sup>依据形态学证据对世界高粱进行了详细分类; Garber<sup>[5]</sup>提出了以细胞遗传学与形态学、地理分布相结合的分类方法, 将高粱属分为 5 个亚属: 优高粱亚属(*Eusorghum*)、拟高粱亚属(*Parasorghum*)、蒴柄高粱亚属(*Chaetosorghum*)、异高粱亚属(*Heterosorghum*)、有柄高粱亚属(*Stiposorghum*), 一定程度上理清了高粱属各种群的系统演变关系, 尤其是在野生种类的区分上取得较大成功。但由于高粱属种间染色体数目变化较大<sup>[6]</sup>, 而且高粱属内某些近缘种间甚至远缘种间杂交能产生可育后代, 进而可能产生新的种群。比如黑高粱是假高粱与苏丹草的杂交后代<sup>[7]</sup>; *S. silk* 是 *S. halepense* × *S. roxburghii* 和 *S. arunchaceum* Stapf 的种间杂交后代<sup>[8]</sup>; 苏丹草和拟高粱可进行远缘

杂交<sup>[9]</sup>。进而发展了生物化学和分子生物学方法来研究高粱属的系统演化。Smith 等<sup>[10]</sup>运用高效液相色谱研究 *S. halepense* 和 *S. bicolor* 的醇溶蛋白和醇谷溶蛋白的峰型差异; Morden 等<sup>[11]</sup>研究野生杂草假高粱、黑高粱和栽培类型 *S. bicolor* 的同工酶谱差异; Chittenden 等<sup>[12]</sup>构建了 *S. bicolor* × *S. propinquum* 杂交种的高密度 RFLP 遗传图谱; 钟小仙等<sup>[9]</sup>、Dahlberg 等<sup>[13]</sup>运用 RAPD 技术进行高粱属部分种群的种质差异和比较评价研究。Dweikat<sup>[14]</sup>采用 SSR 技术研究 *S. bicolor* 和 *S. halepense* 及其杂交子代的遗传差异。进化信息储存于核苷酸序列中, 以基因序列为标记, 开展遗传分化研究, 对恢复(或重建)系统发育提供有价值的资料。Sun 等<sup>[15]</sup>、Dillon 等<sup>[16]</sup>构建了基于 ITS 序列的高粱属 5 个亚属的分子进化树; 印丽萍等<sup>[17]</sup>采用 ITS 序列进行了假高粱及其 5 个近似种同源性分析; Dillon 等<sup>[18]</sup>、Price 等<sup>[6]</sup>综合 ITS 和 *ndhF* 基因序列构建了高粱属 5 个亚属的分子进化树。

*Adh1* (乙醇脱氢酶) 由核基因编码, 多态性高, 已成功用于再现大豆地理种群的进化历史<sup>[19]</sup>和解决多种牧草的基因组进化和亲缘关系问题<sup>[20]</sup>。为进一步从分子水平阐明高粱属种间的系统进化关系, 从而有效利用种质资源进行分子育种改良作物品质, 并明确检疫性杂草的分类地位, 本文依据 GenBank 中高粱属的基因序列, 选择 *Adh1* 基因的第 1 外显子到第 8 外显子长约 2 000 bp 的序列, 通过序列分析, 构建了 MP、ML 和 NJ 3 种分子进化树, 探讨了高粱属的遗传差异和分子系统发生, 补充和完善传统的形态学分类方法, 为假高粱及其近似种的分类和检疫提供分子水平依据。

# 1 材料和方法

## 1.1 材料

### 1.1.1 供试植物材料

本实验的 8 个植物材料(种子)来源于天津出入境检验检疫局植检实验室, 分别是: 2 个 *S. halepense*(分别来源于巴西及由美国进境黄大豆中截获); 4 个 *S. alnum*(分别来源于阿根廷、美国以及由美国进境大豆及黄大豆中截获); 1 个 *S. silk*(来源于美国); 1 个 *S.*

*sudanense*(来源于阿根廷)。其他序列来源于 GenBank 中已登录的 *S. exstans*、*S. plumosum*、*S. brachypodum*、*S. stipoideum*、*S. bulbosum*、*S. intrans*、*S. amplum*、*S. angustum*、*S. interjectum*、*S. ecarinatum*、*S. leiocladum*、*S. matarankense*、*S. timorens*、*S. grande*、*S. nitidum*、*S. purpureosericeum*、*S. versicolor*、*S. macrospermum*、*S. laxiflorum*、*S. propinquum*、*S. bicolor* 及其亚种 *S. arundinaceum*、以及 *S. bicolor* 与 *S. alnum* 的杂交种 *S. x-alnum*, 作为外群的 *Cleistachne sorghoides*(表 1)。

表 1 供试材料的拉丁名、序列号、染色体数目及来源

编号	亚属	拉丁名	GenBank 序列号	染色体数目(2n)	来源
1	<i>Eusorghum</i>	<i>Sorghum alnum</i> 1 Parodi	FJ650405	20	本文(美国大豆)
2		<i>S. alnum</i> 2	FJ650402	20	本文(阿根廷)
3		<i>S. alnum</i> 3	FJ650403	20	本文(美国)
4		<i>S. alnum</i> 4	FJ650407	20	本文(美国黄大豆)
5		<i>S. halepense</i> 1 (Linn.) pers.	FJ650404	40	本文(巴西)
6		<i>S. halepense</i> 2	FJ650406	40	本文(美国黄大豆)
7		<i>S. silk</i>	FJ650401	20	本文(美国)
8		<i>S. sudanense</i> (Piper) Stapf	FJ650408	20	本文(阿根廷)
9		<i>S. propinquum</i> (Kunth) Hitchc.	DQ096170	20	GenBank
10		<i>S. bicolor</i> L. (Moench)	AF050456	20	GenBank
11		<i>S. arundinaceum</i> <sup>a</sup> (Desv.) Stapf	DQ096166	20	GenBank
12		<i>S. x-alnum</i> <sup>b</sup> Parodi	DQ096167	20	GenBank
13	<i>Stiposorghum</i>	<i>S. exstans</i> Lazarides	DQ096174	10	GenBank
14		<i>S. plumosum</i> (R. Br.) P. Beauv.	DQ096176	30	GenBank
15		<i>S. brachypodum</i> Lazarides	DQ096186	10	GenBank
16		<i>S. stipoideum</i> (Ewart & Jean White) C. Gardner and C. E. Hubb	DQ096178	10	GenBank
17		<i>S. bulbosum</i> Lazarides	DQ096177	10	GenBank
18		<i>S. intrans</i> F. Muell. Ex Benth.	DQ096180	10	GenBank
19		<i>S. amplum</i> Lazarides	DQ096179	30	GenBank
20		<i>S. angustum</i> S. T. Blake	DQ096182	10	GenBank
21		<i>S. interjectum</i> Lazarides	DQ096184	30	GenBank
22		<i>S. ecarinatum</i> Lazarides	DQ096181	10	GenBank
23		<i>S. leiocladum</i> (Hack.) C E. Hubb	DQ096187	10	GenBank
24	<i>Parasorghum</i>	<i>S. purpureosericeum</i> (A. Rich). Aschers & Schweinf	DQ096189	10	GenBank
25		<i>S. matarankense</i> Garber & Snyder	DQ096183	10	GenBank
26		<i>S. nitidum</i> (Vahl.) Pers.	DQ096188	20	GenBank
27		<i>S. versicolor</i> Anderss.	DQ096190	10	GenBank
28		<i>S. grande</i> Lazarides	DQ096175	10	GenBank
29		<i>S. timorens</i> (Kunth) Buse	DQ096185	10	GenBank
30	<i>Chaetosorghum</i>	<i>S. macrospermum</i> Garber	DQ096172	40	GenBank
31	<i>Heterosorghum</i>	<i>S. laxiflorum</i> Bailey	DQ096171	40	GenBank
32	Outgroup	<i>Cleistachne sorghoides</i> Benth.	DQ096173	36	GenBank

a: *S. bicolor* 的亚种; b: *S. bicolor* 和 *S. halepense* 的杂交种。

### 1.1.2 引物和试剂

根据 GenBank 中 *S. bicolor* 的 *Adh1* 基因序列 (GenBank 登录号: AF050456) 并参考其他近似种相应序列设计通用引物: *Adh1F1* (5'-GAAGGTGATCAAGTGCAAAGG-3') 位于第 1 内含子前端, *Adh1R1* (5'-GCTTCTTGTGGTCTTTTGGGT-3') 位于第 8 外显子末端。引物由上海英骏生物技术有限公司合成。PCR 扩增相关试剂均为大连宝生物 (TaKaRa) 工程公司产品。

## 1.2 方法

### 1.2.1 DNA 的提取

采用上海生工基因组 DNA 纯化试剂盒 (编号 SK1252) 提取种子基因组 DNA。提取的基因组 DNA 溶于 70  $\mu\text{L}$  1×TE 中。

### 1.2.2 *Adh1* 基因的扩增及电泳检测

*Adh1* 基因的扩增是采用 LA-PCR 两步法, 反应体系总体积为 50  $\mu\text{L}$ , 包含: 10×buffer 5.0  $\mu\text{L}$  (其中含有终浓度为 1.5 mmol/L 的  $\text{MgCl}_2$ ), 浓度各为 2.5 mmol/L 的 4 种 dNTP 混合物 1  $\mu\text{L}$ , 浓度为 20 mmol/L 的引物各为 0.5  $\mu\text{L}$ , 1  $\mu\text{L}$  模板 DNA (约为 20 ng), 0.5  $\mu\text{L}$  LA *Taq* DNA 聚合酶 (5 U/ $\mu\text{L}$ ), 加无菌水至 50  $\mu\text{L}$ 。PCR 反应条件为: 94 预变性 1 min, 然后 98 变性 10 s, 68 复性和延伸 3 min, 45 个循环, 最后 72 延伸 7 min。1.5% 琼脂糖凝胶电泳, EB 染色并观察特定目的大小带的有无。

### 1.2.3 序列测定及对位排列

将目的大小带切胶回收, 连接进 pGEM-T easy 载体, 转化 DH5 $\alpha$  大肠杆菌, 摇菌培养, 蓝白斑筛选, 提取质粒, 送往上海英骏生物技术有限公司进行双向测序, 除去载体序列, Blastn 分析确认, 运用 Clustal X (version 1.8, 参数设为默认值) [21] 分析软件对所扩增的序列以及 GenBank 中相应序列进行比对 (aglinment) 并人工校正, 分析其同源性。

### 1.2.5 序列分析及分子进化树的重建

应用最新版的 Mega4.0 [22] 软件统计所测序列的平均碱基组成百分比、多态位点数、简约信息位点数、转换/颠换比率等。系统发育分析采用最大简约法 (Maximum-parsimony, MP)、最大似然法 (Maximum-

likelihood, ML) 和邻接法 (Neighbor-joining, NJ) 构建分子进化树, 以 *Cleistachne sorghoides* 的同源序列作为外类群 (GenBank 登录号: DQ096173)。

最大简约法使用 PAUP\*4.0b10 [23] 软件, 启发式搜寻 (Heuristic search), 构树方法采用 TBR (Tree bisection reconnection), 逐步加入法随机加入序列 (1 000 random stepwise addition sequence replicates), 所有数据均未加权, 空位 (Gap) 处理为缺失 (Missing), 分子进化树的 *CI*、*RI*、*HI*、*RC* 值由软件提供, MP 树采用重复抽样分析 (Bootstrap analysis) 1 000 次检验分子进化树各分支的置信度。最大似然法使用 PAUP\*4.0b10 软件, 启发式搜寻, 采用 TBR 方法构树, 在 HKY85 模式下赋予颠换比转换 2 倍的加权, 空位作缺失处理, 进化树分支的可靠性由 100 次 Bootstrap 来检验, 碱基频率通过启动树的似然分析得到, 结果 -ln L 为 6527.96, 碱基频率是 0.222 (A)、0.195 (C)、0.241 (G)、0.342 (T), kappa 值是 4.14。邻接法分析采用最新的 mega4.0 软件, 使用最大组成似然模型 (Maximum Composite Likelihood, MCL) 估算遗传距离 [24], 位点间变异率采用 gamma 分布 (shape 参数 = 1), 分析时不考虑插入和缺失, 节点支持率使用 1 000 次 Bootstrap 检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 *Adh1* 基因的扩增

采用 LA-PCR 两步法扩增体系扩增 8 个实验材料, 样品编号见表 1 中的 1~8, 均得到约为 2 000 bp 的目的片段, 测序结果经 Blastn 分析证实所得到的片段为 *Adh1* 基因, 它们的 GenBank 序列号为 FJ650401~FJ650408 (表 1)。

### 2.2 序列特征

*S. bicolor* 的 *Adh1* 基因包含 10 个外显子和 9 个内含子, 约 2 680 bp (GenBank 登录号: AF050456)。以 *S. bicolor* 的 *Adh1* 基因为对照, 本研究所扩增得到的序列包含外显子 1 到外显子 8 之间的序列, 中间含有 7 个内含子, 外显子和内含子边界遵循 GT-AG 规则。8 个 *Adh1* 基因序列中, 长度范围 1 995~2 031 bp, 平均长度为 2 004 bp, A、T、C、G 碱基的平均含量分别为 22.2%、34.4%、19.2%、24.2%, 有明显的 T 碱基偏好, 其中 A + T 含量 (56.6%) 明显大于 G + C 含量 (43.4%)。当空位 (Gap) 作缺失处理时,

31 个高粱属的 *Adh1* 基因排序后的长度为 2 152 个位点, 其中有 412 个变异位点, 229 个为简约的信息位点, 分别占 19.15% 和 10.64%, 核苷酸的替代以替换为主, 转换明显多于颠换, 转换/颠换比值  $R$  为 2.22, 超过临界值, 说明此基因序列没有突变饱和, 其中 T-C 转换明显多于 G-C 转换(比值为 1.67), A-C 和 A-T 颠换少于 G-C 和 G-T 颠换(比值为 0.64)。

### 2.3 分子进化树的构建

利用本研究测定的 8 个高粱属 *Adh1* 基因部分序列, 并结合从 GenBank 中下载的近缘种的同源序列(表 1), 以 *C. sorghoides* 的相应序列为外群, 应用最大简约法(MP)、最大似然法(ML)和邻接法(NJ)构建了高粱属植物的 *Adh1* 基因分子进化树(图 1: A、B、C), 树上各分支上的数字表示用 Bootstrap 统计分析后对该支的支持百分比, 其中 ML 树由于巨大的数据量 Bootstrap 重抽样检查, 所以只进行了 100 次重抽样, MP 和 NJ 树均是采用 1 000 次重抽样。

从图 1 中可以看出, 3 种方法构建的分子进化树具有基本相似的拓扑结构, 简约性分析得到步长为 535,  $CI$ (Consistency index)为 0.8467、 $RI$ (Retention index)为 0.9510、 $HI$ (Homoplasy index)为 0.2370、 $RC$ (Recaled consistency index)为 0.8052, 利用最简约树获得严格一致树(图 1 A)。高粱属可明显分为三大分支, 节点支持率在 98 以上, 一支是 *Chaetosorghum* 和 *Heterosorghum* 2 个亚属, 在该分支中, *S. macrosperrum* 和 *S. laxiflorum* 紧密聚在一起; 一支是 *Eusorghum* 亚属, *S. bicolor* 及其亚种 *S. arundinaceum*、杂交种 *S. x-almum*, 以及形态近似种 *S. halepense*、*S. alnum*、*S. silk*、*S. sudanense*、*S. propinquum* 聚为一类, MP 树(图 1 A)中 *Eusorghum* 亚属其他种聚在一起后再与 *S. propinquum* 聚在一起, 节点支持率为 100, 而 ML 树(图 1 B)和 NJ 树(图 1 C)中, *S. propinquum* 是先与 *S. silk*、*S. sudanense* 聚在一起后再与 *Eusorghum* 亚属其他种聚在一起, 节点支持率分别为 52 和 57; 另一分支包括 *Parasorghum* 和 *Stiposorghum* 两个亚属, 该分支中, *Parasorghum* 亚属的 *S. purpureosericeum* 和 *S. versicolor* 聚在一起节点支持率均为 100, *S. nitidum* 和 *S. leiocladum* 聚在一起, 节点支持率为 96 以上, 而该亚属的 *S. matarankense*、*S. timorensis*, 与 *Stiposorghum* 亚属的 *S. angustum*、*S. brachypodium* 聚在一起, *Para-*

*sorghum* 亚属的 *S. grande* 与 *Stiposorghum* 亚属的 *S. exstans* 表现出较近的亲缘关系, *S. purpureosericeum* 和 *S. versicolor* 在该分支中与 *S. bicolor* 亲缘关系最近, *Stiposorghum* 亚属中 *S. ecarinatum* 和 *S. interjectum* 始终聚在一起, 节点支持率达 90 以上, 该亚属各个种之间位置变动很大, 这一分支的节点支持率大都较低。

### 3 讨论

长期以来, 植物分类学家主要依据形态学和解剖学证据来划分物种, 但是形态性状易受环境影响, 普遍存在趋同和平行进化, 且形态观察易受主客观条件影响, 比如未能有效解决 *S. halepense* 和 *S. alnum* 的区分以及 *S. nitidum* 与 *S. versicolor* 分类地位的确认<sup>[3]</sup>, 而 DNA 是物种进化的忠实记录者, 直接研究碱基构成可以再现物种进化历程, 为物种的系统演化提供有益的线索<sup>[25]</sup>。

本研究所测的高粱属 8 个植物材料和 GenBank 中共计 31 条 *Adh1* 基因部分序列分析结果表明, 核苷酸的替代以替换为主, 转换明显多于颠换, 转换/颠换比值  $R$  为 2.22, 超过临界值, 此基因序列没有突变饱和, 分类单元为种间比较, 受进化噪音的影响可能性较小, 重建系统发生时受饱和效应的影响较小<sup>[26]</sup>。构建的 *Sorghum* 属 MP 树、ML 树和 NJ 树具有基本相似的拓扑结构, 能较明显区分出五个亚属, NJ 树在物种分化细节上提供的信息相对较少, 3 种建树方法显示高粱属可明显分为三大支, 节点支持率在 98% 以上, 一支是 *Chaetosorghum* 和 *Heterosorghum* 2 个亚属, 一支是 *Eusorghum* 亚属, 这两个分支包含  $2n=20$ 、40 染色体较小的种类, 另一分支包括 *Parasorghum* 和 *Stiposorghum* 两个亚属, 包含  $2n=10$  的种类和它们的多倍体近缘种, 染色体相对较大, 与 Price<sup>[6]</sup> 的研究结果一致。

假高粱被认为是 *S. vicolor* 和 *S. propinquum* 的节段异源四倍体杂交后代<sup>[27]</sup>, 假高粱中含有更多的 *S. vicolor* 成分<sup>[28]</sup>, Deu<sup>[29]</sup> 未发现假高粱和 *S. vicolor* 的线粒体 DNA 有分化, 据此认为后者是前者的母体, 本研究结果支持以上说法, 与 *S. propinquum* 相比, 假高粱与 *S. vicolor* 的关系更近。假高粱和苏丹草杂交产生 *S. alnum*, 本研究选择的 4 个 *S. alnum* 群体并不聚在一起, 美国黄大豆中截获的 *S. halepense* 2 与 *S. alnum* 4 聚在一起(节点支持率达 75% 以上), 再



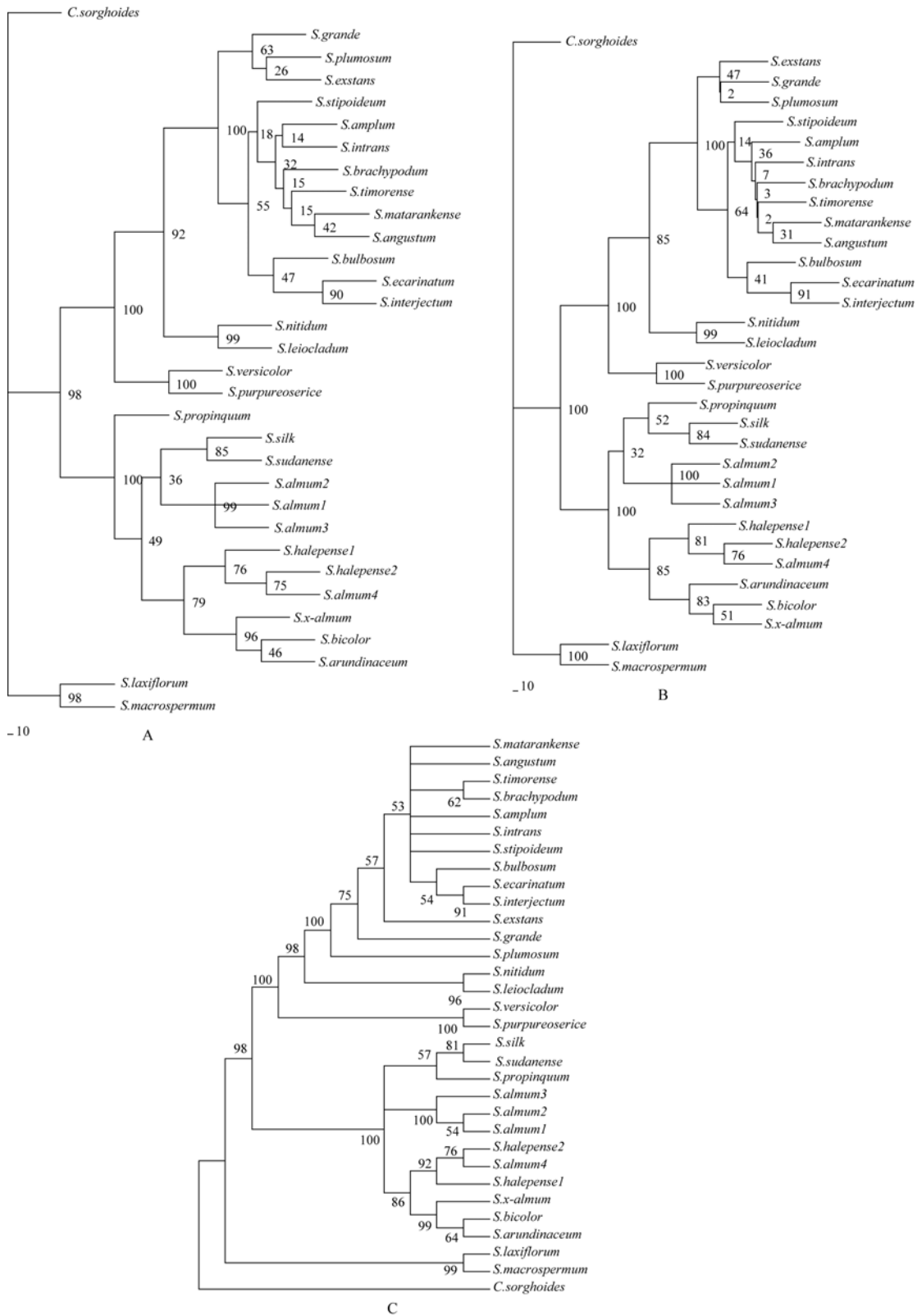


图 1 基于 *Adh1* 序列分析的分子进化树

A: MP 分子进化树。步长为 535, CI 为 0.8467、RI 为 0.9510、HI 为 0.2370、RC 为 0.8052; B: ML 分子进化树。Ti/Tv 为 2.22, -lnL 为 6527.96, kappa 值为 4.14; C: NJ 分子进化树。使用最大组成似然模型(Maximum Composite Likelihood, MCL)估算遗传距离, 位点间变异率采用 gamma 分布(shape 参数=1)。

与来自巴西的 *S. halepense* 聚一起, 而来自美国大豆生境和来自美国与阿根廷的 3 个 *S. alnum* 单独聚一起, *S. alnum* 的 *Adh1* 基因变异表现出明显的地理差异性, 这在以前的研究中未见报道。假高粱与 *S. arundinaceum* 的杂交种 *S. silk*, 应与假高粱和 *S. arundinaceum* 有较近亲缘关系, 但本研究结果表明却与 *S. sudanense* 聚为一支(节点支持率在 81% 以上), 再与黑高粱聚在一起, 这与 Guo 等<sup>[30]</sup> 研究结果一致。高粱(*S. bicolor*)和苏丹草染色体数相同( $2n=20$ ), 杂交不存在遗传障碍, 但二者种的归属问题国内外一直未能形成一致意见<sup>[31]</sup>。

*Parasorghum* 亚属的 *S. purpureosericeum* 和 *S. versicolor* 聚一起, *S. nitidum* 和 *S. leiocladum* 聚一起, 具有较高的节点支持率(96% 以上), *S. versicolor* 在该分支中显示出与 *S. bicolor* 亲缘关系最近, 这与 Price<sup>[6]</sup> 的研究结论不符, 他认为 *S. nitidum* 与 *S. bicolor* 的亲缘关系更近, Sun 等<sup>[15]</sup> 根据 ITS 序列的分析结果甚至建议把 *S. nitidum* 划到亚属 *Eusorghum* 中, 我们认为将 *S. nitidum* 保留在亚属 *Parasorghum* 中更合适。该亚属的 *S. matrankense*、*S. timorensis* 与 *Stiposorghum* 亚属的 *S. angustum*、*S. brachypodium* 聚在一起, *Parasorghum* 亚属的 *S. grande* 与 *Stiposorghum* 亚属的 *S. exstans*、*S. plumosum* 表现出较近的亲缘关系, 均表明 *S. matrankense*、*S. timorensis*、*S. grande* 与 *Stiposorghum* 亚属有更近的亲缘关系, *Parasorghum* 亚属与 *Stiposorghum* 亚属的形态学界线由于许多中间类型的出现而变得模糊<sup>[32]</sup>, 本研究结果支持将 *Parasorghum* 亚属与 *Stiposorghum* 亚属合并为一个亚属(节点支持率均为 100%), 以消除种间不明确的分类和遗传界线, 这与 Sun 等<sup>[15]</sup> 和 Price<sup>[6]</sup> 基于不同的基因序列的研究结论相符。

*S. macrospermum* 和 *S. laxiflorum* 分别是亚属 *Chaetosorghum*、亚属 *Heterosorghum* 中唯一的种, 二者都是  $2n=40$ , 二者形态学上主要差异是 *S. macrospermum* 有简单的圆锥花序和发育不全的芒, 而 *S. laxiflorum* 有分开的圆锥花序和发育完全的芒, ITS、*ndhF* 和本研究的 *Adh1* 基因序列构建的分子进化树均显示二者具有比其他高粱属种更近的亲缘关系, 而且亚属 *Chaetosorghum*、*Heterosorghum* 与亚属 *Eusorghum* 的亲缘关系比与亚属 *Parasorghum*、*Stiposorghum* 的亲缘关系更近<sup>[6, 15]</sup>, 节点支持率均在 98% 以上, 基于这两个种在形态学、细胞遗传学和分子生物学上的紧密相似性<sup>[18]</sup>, 建议将这两个亚属合并在一起。

*Cleistachne* 属( $2n=36$ )染色体数与高粱属不同, 二者同属于 *Sorghastrae* 超属, *C. sorghoides* 与部分高粱属种有较近亲缘关系<sup>[5, 33]</sup>, Sun 等<sup>[15]</sup> 和 Dillon 等<sup>[16]</sup> 依据 ITS 序列分析结果表明, 与 *Zea mays* 相比, *C. sorghoides* 与高粱属的亲缘关系更近。本研究以 *C. sorghoides* 为外群, NJ 法结果表明 *C. sorghoides* 与亚属 *Chaetosorghum*、*Heterosorghum* 具有更近的亲缘关系(遗传距离分别为 0.0263 和 0.0244), 与 *Eusorghum* 亚属的亲缘关系较近(遗传距离在 0.0485~0.0543 之间), 而与其他两个亚属的亲缘关系较远(遗传距离在 0.0598~0.0908 之间), 这与 Sun 等<sup>[15]</sup> 和 Dillon 等<sup>[16]</sup> 认为 *C. sorghoides* 与亚属 *Parasorghum* 和 *Stiposorghum* 有更近的亲缘关系的结论不同, 可能与基因受到的选择压力不同有关, 也可能与建树方法有关, 但本研究结果支持将 *C. sorghoides* 归入 *Sorghum* 属的设想<sup>[33]</sup>。

Dillon 等<sup>[18]</sup> 根据 ITS1 和 *ndhF* 基因的分析结果认为把高粱属现存的 5 个亚属合并为 3 个亚属更合适, *Eusorghum* 亚属保持不变, 亚属 *Chaetosorghum* 和 *Heterosorghum* 合并在一起, 亚属 *Parasorghum* 和 *Chaetosorghum* 合并在一起, 本研究的结果支持这种建议。

本文进一步从分子水平阐明了高粱属种间的系统进化关系, 有继承有发展, 部分廓清了前人研究中不清晰的地方, 又提出了一些新的研究结论, 比如黑高粱 *Adh1* 基因具有明显的地理分化, 苏丹草与栽培高粱基于基因序列的分子进化研究结论比较一致, 但与其他方法的研究结果不太一致, 以及 *Parasorghum* 亚属部分物种分类地位的认定等等, 这可能由于同一物种的不同地理群体间由于生境的不同可能存在较为明显的遗传差异, 不同地理类群的选择对研究结果可能产生较大影响<sup>[34]</sup>, 是否由于生境不同造成还是由于基因进化模式不一致所致, 尚需进一步收集更多地理类型样本或采用别的基因或别的进化分析方法来深入研究。高粱属分类学研究不仅具有理论意义, 同时在农业植保实践中也具有重要的应用价值, 本研究为高粱属种间亲缘关系进一步提供分子水平上的实验证据, 是对传统分类学的补充和完善, 有助于建立正确完善的分类体系, 有效利用种质资源进行分子育种改良作物品质, 并明确检疫性杂草的分类地位。

## 参考文献(References):

- [1] 印丽萍, 邓晟, 易建平, 邬宏. 假高粱及其近似种同源

- 性研究进展. 植物检疫, 2004, 18(4): 232–236.
- [2] 吴海荣, 强胜, 段惠, 林金成. 假高粱的特征特性及控制. 杂草科学, 2004, (1): 52–55.
  - [3] 王建树, 李扬汉. 假高粱与同属 7 种植物营养器官的比较解剖学研究. 杂草学报, 1995, 9(1): 27–33.
  - [4] Snowden JD. Cultivated races of *Sorghum*. *Adlard and Sons*, 1979, 247.
  - [5] Garber ED. Cytotaxonomic studies in the genus *Sorghum*. *Univ Calif Publ Bot*, 1950, 23: 283–361.
  - [6] Price HJ, Dillon SL, Hodentt G, Rooney WL, Ross L, Johnston JS. Genome evolution in the genus *Sorghum* (Poaceae). *Ann Bot*, 2005, 95(1): 219–227. [\[DOI\]](#)
  - [7] Eberlein CV. Germination of *Sorghum alnum* seeds and longevity in soil. *Weed Science*, 1987, 35(6): 796–801.
  - [8] Ross BJ. *Silk sorghum*. *Agnote Dorwin*, 1999, 784: 3.
  - [9] 钟小仙, 顾洪如, 丁成龙, 刘朝晖, 白淑娟, 向阳海. 苏丹草与拟高粱远缘杂交初报. 草地学报, 2002, 10(1): 287–292.
  - [10] Smith JRC, Smith OS. Variation in Kafirin and alcohobubke glutelin chromatograms of *sorghum* inbred lines revealed by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Theor Appl Genet*, 1988, 76(1): 97–107. [\[DOI\]](#)
  - [11] Morden CW, Doebley J, Schertz KF. Allozyme variation among the spontaneous species of *Sorghum* section *Sorghum* (Poaceae). *Theor Appl Genet*, 1990, 80(3): 296–304.
  - [12] Chittenden LM, Schertz KF, Lin Y-R, Wing RA, Paterson AH. 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(8): 925–933.
  - [13] Dahlberg JA, Zhang X, Hart GE, Mullet JE. Comparison assessment of variation among *Sorghum* germplasm accession using seed morphology and RAPD measurements. *Crop Sci*, 2002, 42(1): 291–296.
  - [14] Dweikat I. A diploid, interspecific, fertile hybrid from cultivated sorghum, *Sorghum bicolor*, and the common Johnsongrass weed *Sorghum halepense*. *Mol Breed*, 2005, 16(2): 93–101. [\[DOI\]](#)
  - [15] Sun Y, Skinner DZ, Liang GH, Hulbert SH. Phylogenetic analysis of *Sorghum* and related taxa using internal transcribed spacers of nuclear ribosomal DNA. *Theor Appl Genet*, 1994, 89(1): 26–32.
  - [16] Dillon SL, Lawrence PK, Henry RJ. The use of ribosomal ITS to determine phylogenetic relationships within *Sorghum*. *Plant Syst Evol*, 2001, 230(1): 97–110. [\[DOI\]](#)
  - [17] 印丽萍, 邓晨, 康林, 叶军, 易剑平. 假高粱及其近似种 rDNA ITS 序列同源性分析. 植物检疫, 2004, 18(5): 262–265.
  - [18] Dillon SL, Lawrence PK, Henry RJ, Ross L, Price HJ, Johnston JS. *Sorghum laxiflorum* and *S. macrospermum*, the Australian native species most closely related to the cultivated *S. bicolor* based on ITS1 and *ndhF* sequence analysis of 25 *Sorghum* species. *Plant Syst Evol*, 2004, 249(2): 233–246. [\[DOI\]](#)
  - [19] Brunner S, Fengler K, Morgante M, Tingey S, Rafalski A. Evolution of DNA sequence nonhomologies among maize inbreds. *Plant Cell*, 2005, 17(2): 343–360. [\[DOI\]](#)
  - [20] Ilic K, San Miguel PJ, Bennetzen JL. A complex history of rearrangement in an orthologous region of the maize, sorghum, and rice genomes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(21): 12265–12270. [\[DOI\]](#)
  - [21] Thompson JD, Gibson TJ, Plewnia F. The Clustal\_X windows interface: flexible strategies for multiple sequences alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res*, 1997, 25(24): 4876–4882. [\[DOI\]](#)
  - [22] Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol Biol Evol*, 2007, 24(8): 1596–1599. [\[DOI\]](#)
  - [23] Swofford DL. PAUP\*4.0b9: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (\*and other methods), beta version. 2002, Sinauer Associates, Sunderland.
  - [24] Tamura K, Nei M, Kumar S. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(30): 11030–11035. [\[DOI\]](#)
  - [25] 赵建国, 李辉, 王启贵, 王宇祥, 唐志权. 鸡解偶联蛋 (UCP) 基因内含子的克隆与系统发生树的构建. 遗传, 2004, 26(1): 50–54.
  - [26] Knight A, Mindell DP. Substitutions bias, weighting of DNA sequence evolution, and the phylogenetic positions of *fea's viper*. *Syst Biol*, 1993, 42(1): 18–31.
  - [27] Doggett H. *Sorghum*. 2nd ed. John Wiley and Sons. New York: 1988.
  - [28] Ragab RA. Construction of a *Sorghum* RFLP linkage map using *Sorghum* and maize DNA probe. *Genome*, 1994, 37(4): 590–594. [\[DOI\]](#)
  - [29] Deu MH. Mitochondrial DNA diversity in wild and cultivated *sorghum*. *Genome*, 1995, 38(4): 635–645. [\[DOI\]](#)
  - [30] GUO Qiong-Xia, HUANG Ke-Hui, YU Yun, HUANG Zhen, WU Zhen-Quan. Phylogenetic relationships of *Sorghum* and related species inferred from sequence analysis of the nrDNA ITS region. *Agri Sci China*, 2006, 5(4): 250–256.
  - [31] 詹秋文, 钱章强. 高粱与苏丹草杂种优势利用的研究. 作物学报, 2004, 30(1): 73–77.
  - [32] Spangler RE. Taxonomy of *Sarga*, *Sorghum* and *Vacoparis* (Poaceae: Andropogoneae). *Aus Syst Bot*, 2003, 16(3): 279–299. [\[DOI\]](#)
  - [33] Duvall MR, Doebley JF. Restriction-site variation in the chloroplast genome of *Sorghum* (Poaceae). *Syst Bot*, 1990, 15(3): 472–480. [\[DOI\]](#)
  - [34] 莫赛军, 宋平, 罗大极, 彭茂宇, 张亮, 姚海兰, 周伟, 张竟男, 潘云峰, 郑曙明. 鲫鱼生长激素 基因内含子 2 的多态性分析. 遗传学报, 2004, 31(6): 582–590.