

分子标记在啤酒花种质资源研究中的应用

杨晓翠^{1,2}, 张天虎^{1,3}, 李文建¹

(¹中国科学院近代物理研究所, 甘肃兰州 730000; ²中国科学院研究生院, 北京 100049;

³甘肃亚盛实业(集团)股份有限公司, 兰州 730000)

摘要:利用分子生物学中常用的 DNA 分子标记对世界各地现存的野生和栽培的啤酒花种质资源遗传多样性研究的应用作一综述。通过归纳总结,发现 DNA 分子标记相比形态学标记和细胞学标记具有结果准确、稳定的特点,常用的分子标记技术有 RAPD、RFLP、ISSR、SSR、AFLP、EST 等;研究发现北美洲的啤酒花遗传多样性要高于欧洲的啤酒花,基因变异程度也相对较高;野生啤酒花的基因序列具有丰富的基因多样性,可在分子杂交遗传育种中作为一个种质去改善栽培品种的某些不良性状。因此,利用分子标记研究啤酒花的遗传多样性将对啤酒花的育种提供理论指导和技术支持,目前较为理想的技术是 SSR 和 AFLP。

关键词: DNA 分子标记; 啤酒花; 遗传多样性

Molecular Markers and Their Applications in Hop Germplasm

YANG Xiao-cui^{1,2}, ZHANG Tian-hu^{1,3}, LI Wen-jian¹

(¹Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000;

²Graduate Institute of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049;

³Gansu Yasheng Industrial(Group) Co. Ltd, Lanzhou 730000)

Abstract: This review summarized the progresses on the use of DNA markers of in studying genetic diversity of existing wild and cultivated hop germplasm. The results of DNA molecular marker technology are accurate and stable compared to morphological markers and cytological markers. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD), Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP), Inter-simple Sequence Repeat (ISSR), Simple Sequence Repeat (SSR), and Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) are commonly used molecular markers. Genetic diversity was often higher in hops from North America than those from Europe. The same regular was also found in the degree of genetic variation. Meanwhile, the wild hops' gene order has a rich gene diversity, may take an idioplasm in the molecular heredity hybridization breeding to improve the cultivated varieties' some certain bad characters. The widely used molecular markers in plant genetic diversity research solved a number of difficult issues that traditional method cannot deal with. The use of molecular markers in genetic diversity of hops will be an excellent tool to provide theoretical guidance and technological support for the breeding of hops. The ideal molecular markers are SSR and AFLP presently.

Key words: DNA molecular markers; Hop (*Humulus lupulus* L.); Genetic diversity

DNA 分子标记是存在于生物不同个体或不同群体之间的核苷酸序列,它以 DNA 序列的差异为基础。随着分子生物学的进一步发展和以 PCR 为基础的分子生物学技术的兴起,DNA 分子标记技术也得以广泛地应用于农学、生物学、医学等领域。由于

DNA 分子标记是基于细胞核内的 DNA 片段的差异,因此它不受外界环境因素和基因表达与否的影响,相比形态学标记、生化标记和细胞学标记,它具有独特的、不可比拟的遗传稳定性、可靠性和准确性。DNA 分子标记根据其原理不同又可分为两大

类^[1];第1类是以 Southern 杂交为基础的限制性片段长度多态性 RFLP (restriction fragment length polymorphism)^[2];第2类是以 PCR^[3] 技术为基础的 DNA 分子标记,主要包括以下几种:随机扩增多态性 DNA RAPD (random amplified polymorphic DNA)^[4]、简单序列重复 SSR (simple sequence repeat or microsatellite)^[5]、序列标签位点 STS (sequence tagged sites)^[6]、简单序列重复间扩增 ISSR (inter-simple sequence repeat polymorphic DNA)^[7]、扩增片段长度多态性 AFLP (amplified fragment length polymorphism)^[8-9];伴随着生物科学的日益进步,这些 DNA 分子标记手段也日益得到完善,并不断应用到植物研究中。DNA 分子标记手段应用到植物研究中主要有四个方面:基因组作图^[9]、基因定位^[10]、基因克隆^[11]和遗传多样性^[12]研究。DNA 分子标记对基因组作图的巨大推动作用,使得基因组从遗传学上一个简单的概念发展成一门复杂的新兴学科,成为遗传学乃至整个生物学研究的一个重要领域。DNA 分子标记在植物遗传多样性研究上的广泛应用解决了许多传统方法难以解决的问题,开创了植物遗传多样性研究的新局面,对正确制定植物遗传资源图谱和原位保存策略提供了有力保证^[13]。

1 啤酒花种质资源

啤酒花^[14] (*Humulus lupulus*), 又名忽布、香蛇麻花、酒花和野酒花。属于蔷薇纲 (Rosopsida), 桑科 (Moraceae) 大麻亚科 (subfan Cannabioideae) 和葎草属 (*Humulus* Linn) 多年生攀援草本植物;雌雄异株,茎、枝和叶柄密生绒毛和倒钩刺,叶卵形或宽卵形,基部心形或近圆形,边缘具粗锯齿,背面疏生小毛和黄色腺点;雄花排列为圆锥花序,花被片与雄蕊均为5,雌花每两朵生于一苞片腋间,苞片呈覆瓦状排列为一近球形的穗状花序。果穗球果状,瘦果扁平,花期秋季。果穗可用于啤酒酿造,雌花药用。喜冷凉,耐寒畏热,属长日照植物,在我国主要分布在新疆、东北、华北以及山东、甘肃和陕西等省份。

啤酒花是一种具有贵重经济价值和药用价值的作物^[15]。啤酒花含有树脂类、挥发油、黄酮类、鞣质、胆碱、粗纤维、氨基酸等多种化学成分,具有抗菌、抗肿瘤、抗氧化、雌性激素样、镇静等活性^[16]。其中所含的树脂赋予啤酒独特的芳香和清爽的苦味;鞣质既能消除发酵过程中产生的乳酸菌,又能将酒液中多余的蛋白质凝固、分离出来使酒液澄清^[17]。德国慕尼黑技术大学的专家维尔纳表示,啤

酒花中发现的这种“黄腐醇”能够阻止导致癌细胞生长的酶发挥作用,并且能够帮助人体消除其他致癌物质,尤其是癌症初期具有较好的效果。鉴于以上这些啤酒花的重要用途,本文希望运用分子标记手段来了解和分析现存啤酒花资源的分布状况、遗传多样性、亲缘关系远近等。然而,目前世界上国外对啤酒花的研究已经展开,但国内在这一研究方向上还是空白。因此,希望本文的综述能对啤酒花的研究带来一定的指导作用。

2 分子标记在遗传多样性和育种上的研究

2.1 随机扩增多态性 DNA RAPD (random amplified polymorphism DNA)

RAPD 是 1990 年由美国杜邦公司的 Williams 等^[4]和加利福尼亚生物研究所的 Welsh 等^[18]发明的利用随机引物扩增寻找 DNA 多态性的分子标记方法。该技术建立在 PCR 基础上,采用一系列不同的随机排列的碱基序列寡核苷酸单链作为引物,对所研究的基因组 DNA 进行单引物扩增。基因组 DNA 序列特定的结合位点与引物结合,在 PCR 反应条件下,可扩增出特异的 DNA 片段,扩增产物片段的多态性反映了基因组 DNA 的多态性。RAPD 标记只需要微量的 DNA,对被研究基因组无特定要求,适应性广;操作简便,实验周期短,能在较短的时间内对大量样品进行实验;灵敏度高,引物个别碱基的变化会引起扩增条带数目和强度的极大变化;可以覆盖整个基因组,包括编码和非编码区,可以研究整个基因组的变化;该技术的缺点是 RAPD 为显性标记,不能提供完整信息,易受到实验条件的影响,稳定性差,不能区分纯合体和杂合体^[19-20]。

原俊凤等^[21]利用 12 个随机引物对新疆的 7 个啤酒花居群进行了 RAPD 天然居群遗传多样性和群体间遗传分化的研究,共检测到 121 个可重复的位点,其中多态性位点 119 个,占总位点的 98.35%;分析认为新疆境内啤酒花自然居群的遗传多样性很丰富,居群间产生了一定的分化;野生啤酒花的遗传多样性要远远高于栽培种的啤酒花,地理距离跟遗传距离有相关关系,地理距离越远,遗传距离越大,但野生啤酒花群体所处的微环境差异大,空间距离在野生啤酒花群体的遗传分化中起作用不大。Mura-kami^[22]用 RAPD 法研究了 51 株采自世界各地的啤酒花种类,利用 10 个随机引物检测了品种之间的遗传距离,并将它们归属为 6 类,分析认为许多含高

甲酸的种类其基因座位与欧洲品系的啤酒花有很大差别。Sustar-Vozlic 和 Javornik^[23] 用 RAPD 法分析了来自世界各地啤酒花主要种植区的 65 个品种, 选用 28 个随机引物分析了其遗传变异和种类亲缘关系; 每个引物扩增片段的平均值为 7.4, 平均多态性片段为 2.9, 所占比例为 38.6%, 有 39 个品种产生了特异的 RAPD 图谱; 随后又进行了居群分类分析, 并将其与之前的形态学分类结果进行了比较。Jamie 等^[24-25] 用 RAPD 法鉴定了不同的啤酒花种类, 在 60 个随机引物中, 有 21 个引物在 T6 品种中扩增出了特异条带, 分析认为虽然得到了 RAPD 多态性条带, 但这些多态性条带并不代表某个特异的 DNA 序列。

2.2 限制性片段长度多态性 RFLP (restriction fragment length polymorphism)

RFLP 是 1974 年 Grodzicker 等发明的分子标记技术, 是一种以 DNA-DNA 杂交为基础的第 1 代遗传标记^[19]。该技术利用特定的限制性内切酶识别并切割不同生物个体的基因组 DNA, 得到大小不同的 DNA 片段, 通过琼脂糖凝胶电泳分离不同的片段, 然后与克隆 DNA 探针进行 Southern 杂交和放射显影, 即可以得到反映个体特异性的图谱。该方法已广泛用于遗传图谱构建、基因定位以及生物的进化和分类关系研究^[26]。

Patzak^[27] 用 RFLP 法研究了 34 株来自啤酒花研究中心的样品, 着重对啤酒花体细胞内的查耳酮合成酶基因和邻羟基正戊酮合成酶基因的突变情况进行了分析, 认为这些基因在母细胞和分生组织细胞之间并无分子水平上的差异。

2.3 简单序列重复 SSR (simple sequence repeat)

又叫微卫星 DNA 标记, 是由 Hamade 于 1982 年发现的第 2 代 DNA 分子标记。一般是由存在于基因组中的 2~5 个核苷酸序列重复单位串联组成的 DNA 分子序列。这种序列广泛并随机分布于真核生物基因组中, 重复次数具有高频率的变异, 重复次数的不同产生了等位基因之间的多态性, 这种专化位点的多态性可以十分容易地通过设计特异引物进行 PCR 扩增检测。SSR 两端的序列一般是相对保守的单拷贝序列, 通过设计特异引物以扩增串联重复序列, 再通过电泳检测扩增片段的多态性。根据串联重复数的不同进行相应的遗传分析, 揭示微卫星 DNA 的长度多态性, 产生多态性的原因是微卫星寡核苷酸的重复次数在同一物种的不同个体之间差

异很大以及重复序列在染色体复制和不等交换中产生^[28-30]。

Jakse 等^[31] 讨论和研究了如何获得具有高应用价值的微卫星标记; 他们对现存的分离方法进行了改进, 采用几种限制酶互相组合去消化啤酒花基因组 DNA, 并且找出了最优的酶组合方式, 得到高质量、适合啤酒花作物遗传学研究的微卫星标记, 既可以降低实验成本, 又可以缩短实验时间, 为后续微卫星标记的应用打下了坚实的基础。Stajner 等^[32] 也讨论了微卫星序列的获得以及多态性的检测, 构建了 6 个分别富含 GA、GT、ACA、AGA、CAG 和 ACTC 的微卫星序列的基因组文库, 从文库中筛选出 60 条序列用于引物设计, 得到 25 个扩增位点, 扩增出 265 个等位基因, 平均每个位点约 10.6 个等位基因; 从分析结果来看, 二核苷酸基序的分布要广于三核苷酸或四核苷酸基序, 就多态性而言, 重复序列越长多态性越丰富; 微卫星序列的结构和长度是影响其多态性程度的主要因素。

Stajner 等^[33] 使用 29 个 SSR 位点对 67 株野生和栽培啤酒花进行基因多态性和群体结构的分析, 共检测到 314 个等位基因, 平均每个座位检测到 10.8 个等位基因, PIC 值为 0.607; 同时, 根据遗传距离图谱将这些啤酒花分为 7 类, 其中 3 大类为栽培种, 4 大类为野生种。Bassil 等^[34] 运用 8 个 SSR 位点对欧洲和北美洲的啤酒花进行遗传多样性评估和基因型鉴定的分析, 分析认为北美洲的啤酒花品种基因变异程度和遗传多样性均明显高于欧洲的品种, 并且北美啤酒花中发现的特异基因数量也高于欧洲啤酒花。

从以上这些对啤酒花的 SSR 研究中, 不难看出大力发展和研究北美的啤酒花品种对于丰富啤酒花的种类以及培育各种优良性状的后代将会产生巨大的作用, 同时也不能忽视野生啤酒花资源的利用。

2.4 简单序列重复区间 ISSR (inter-simple sequence repeat)

简单序列重复区间技术又叫锚定简单序列重复技术 (anchored simple sequence repeat, ASSR), 是加拿大的 Ziekiewicz 等^[35] 在 1994 年提出的。该技术以锚定的微卫星 DNA 为引物, 即是在 SSR 序列的 3' 端或 5' 端加上 2~4 个随机选择的核苷酸; 在 PCR 反应中, 锚定引物可以引起特异位点退火, 导致与锚定引物互补的间隔不太大的重复序列间 DNA 片段进行扩增, 所扩增的条带可通过聚丙烯酰胺凝胶电泳或者琼脂糖凝胶电泳加以分辨。该技术实验操作

简单、快速、高效,预先不需要知道其基因序列信息,结合了 RAPD 标记技术和 SSR 标记技术的优点,耗费少、模板 DNA 用量少、遗传多态性高、重复性好^[36]。

Godwin 等^[37]用 ISSR 方法对香蕉、菊花等几种植物进行了多态性分析,结果表明用 ISSR 方法检测到的多态性水平要明显高于 RFLP 和 RAPD 检测到的水平,而这种高的多态性与它的检测方法密切相关,并不只是扩增出了更多数量的多态性条带;然而,作者也提出使用溴化乙锭的琼脂糖凝胶电泳检测分析 ISSR 产物将会丢失部分有用的多态性。Danilova 等^[38]使用 21 个 ISSR 引物分析了 26 株来自俄罗斯和欧洲的啤酒花,共扩增得到 183 个 DNA 条带,其中 106 条具有多态性,占了约 57.9%;根据遗传距离可将它们分为两大类,其多态性水平平均高于 RAPD(38.6%)和 AFLP(43.5%),发现了一些品种特异的 ISSR 引物,如引物 K17 扩增出的 250bp 的片段只出现在来自日本的 K692266 中,未在其他品种中检测到。Danilova 和 Karlov^[39]用 22 个 ISSR 引物对采自俄罗斯和欧洲的雌性和雄性啤酒花进行分析,得到多态性片段百分比为 57.9%;两个引物 K10 和 K22 分别扩增了 700bp 和 500bp 的雄性特异性片段;根据引物序列又设计了雄性特异的 STS 标签,用这个 STS 标签又进一步分析了 33 株雄性和 53 株雌性啤酒花,得到了所预期的雄性特异片段,而在雌株啤酒花中并没有得到相应的片段,而且这两个引物序列与表达的啤酒花基因序列的相似程度达到了 60%~70%。

2.5 扩增片段长度多态性 AFLP (amplified fragment length polymorphism)

AFLP^[40-41]技术是 1992 年由荷兰 Key Gene 公司科学家 Zabeau 和 Vos 发明并发展起来的一种选择扩增限制性酶切片段的方法,1993 获欧洲专利局专利,是一种 RFLP 与 RAPD 相结合而又不使用分子杂交技术的分子标记手段;原理是将基因组 DNA 双酶切,经 PCR 扩增限制性片段,然后进行选择。用特定的双链接头与酶切 DNA 片段连接作为扩增反应的模板,用富含选择性碱基的引物对模板 DNA 进行扩增,限制性位点侧翼的核苷酸与引物的选择性碱基相匹配的限制性片段才可以被扩增。因而选择性碱基的种类、数目和顺序决定了扩增片段的特殊性。扩增产物经聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,后根据凝胶上 DNA 指纹的有无来检测多态性^[20,26]。

Hartl 等^[42]使用 AFLP 方法对 8 个啤酒花品种万方数据

进行了遗传多样性和遗传距离的分析;将引物用荧光物质标记进行放射性检测,从 8 个引物组合中共扩增出可检测的 523 个条带,其中 145 条具有多态性,平均每个引物组合显示了 18 个多态性;AFLP 技术的独到之处在于:①可以鉴别亲缘关系很近的基因型个体;②评估种群的基因相似性程度。Jakse 等^[43]用 8 个 AFLP 引物分析了 41 个啤酒花品种,得到分子量大小不同的 363 个条带,其中 153 条具有多态性,约占 42%,计算出 GS 值为 0.86,根据 GS 值构建了遗传树谱图,将这些啤酒花品种分为了两大类;作者将 AFLP 方法同 SSR 方法比较,认为 SSR 比 AFLP 能得到更多的多态性片段;用 AFLP 数据构建的系统图能与其他 RAPD 数据得到的结果呈现良好的吻合性,而 SSR 相比则吻合度较低。Townsend 和 Henning^[44]用 4 个 AFLP 引物组合分析研究了 60 株本土和栽培的啤酒花,扩增得到 296 个条带,176 个属于多态性片段占据 59.5%,将它们分为 A1 和 A2 两类,每一类又分为 2 个亚类,详细讨论了 A1-1、A1-2、A2-1 和 A2-2 之间遗传距离的远近;分析得出生长在北美地区的啤酒花相对于欧洲啤酒花有更多的变异基因,因而认为在育种工作中引入北美的品种 *H. lupulus* var. *pubescens* 将会得到性状各异的后代。

DNA 分子标记技术在啤酒花作物种植资源遗传多样性和遗传距离评价方面已经得到广泛应用,成功地将现存的野生啤酒花和栽培啤酒花进行分类,并得出啤酒花资源的发源地在中国;鉴定了雄性特异的 DNA 序列和品种特异的 DNA 分子片段;发现来自北美的啤酒花资源其基因多样性要远远高出欧洲品系的啤酒花。同时分子标记也在日新月异地发生着变化,在啤酒花研究中越来越多的 STS 标记开始应用其中。STS 标记^[45]是根据单拷贝的 DNA 片段两端的序列,设计 1 对特异引物,扩增基因组 DNA 而产生的一段长度为几百 bp 的特异序列,STS 标记采用常规 PCR 所用的引物长度,因此 PCR 分析结果稳定可靠,RFLP 标记经两端测序可转化为 STS 标记。这些分子标记原理不同,各具特色,但基本上都遵循一个大的原理如 PCR 技术或 Southern 杂交。有作者将这几种分子标记的相互比较研究用于啤酒花遗传多样性的分析。Patzak^[46]和 Powell 等^[47]比较了 RAPD、STS、ISSR 和 AFLP 在评价啤酒花资源遗传多样性方面的优劣,这几种方法都能区分所研究的 10 类啤酒花品种,但是 Osvald 的 3 个品种只有 AFLP 才能区分开来;其中多态性水平最低

的是 ISSR; AFLP 扩增出了数量最多的 DNA 片段,被认为在分析亲缘关系很近的品种时是一个不错的选择;扩增片段的数量和多态性程度在 ISSR 方法中受电泳方式的影响,琼脂糖凝胶电泳得出的多态性水平略微高于聚丙烯酰胺凝胶电泳得出的多态性水平,但差异不大,扩增片段的数量在两种电泳方式中差异较大。ISSR 和 RAPD 的分析结果具有最高的相关性 0.966, ISSR 与 STS 的相关性系数最低为 0.910。Patzak^[27]研究了用几种分子标记技术探讨啤酒花体外分生组织的体细胞变异情况;以热激前后体细胞的分子变化为基础,分别使用了 RAPD、STS、ISSR、AFLP 和 RFLP 等分子标记技术,结果显示:在 RFLP 和 STS 分析中,母本植株和体外分生组织并未显示分子水平上的差异;RAPD 和 ISSR 分析中,扩增片段存在分子水平上的差异,与母本植株的相似性系数分别为 0.965 和 0.913;在 AFLP 分析中,发现了特殊的扩增多态性片段;显然热激作用增加了 DNA 序列的变异程度。

由于 RFLP 标记多态性检出率低,而 RAPD 标记对实验条件过分地敏感,使得分子标记技术在种质资源遗传多样性检测方面的应用受到了限制。由于 AFLP 技术结合了 RFLP 的稳定性和 RAPD 技术的方便性于一身,自从诞生以后,便广泛应用于种质资源的遗传多样性评价。在用分子标记技术进行遗传多样性研究时,检测位点对基因组的覆盖率是影响所得结果客观性的关键因素之一。由于 AFLP 能同时检测大量遗传位点,因此大大提高了对基因组的覆盖范围,所得结论的准确性大大提高^[1]。

3 总结和展望

遗传变异是植物改良的基础,准确评价种质资源的遗传变异对于种质资源的保存、利用和品种改良有重要意义。DNA 分子标记手段的产生和运用极大地推动了啤酒花种质资源的鉴定、作物品种科学分类、亲缘关系鉴定以及基因组作图的发展,并且已经有这方面的科学研究报道^[48-49]。现存的各种 DNA 分子标记在研究啤酒花作物时都显示出了其独到之处,虽然所得的结论和侧重点不能完全吻合,但在一定程度上反映了啤酒花基因组的信息。近年来新兴发展起来的 EST 分子标记技术在小麦、木本植物等中得到了应用。EST 技术是将 mRNA 反转录成 cDNA 后克隆到质粒或噬菌体载体上构建 cDNA 文库,随机挑选 cDNA 文库并对其 5'端或 3'端进行一步法测序,得到的序列与基因数据库中的序列

进行比较,获得对植物体相应生长繁殖的认识;从 EST 序列中开发的 EST-SSR 标记有很多优点,如:EST-SSR 标记在物种间具有高通用性,通常代表某种基因功能,因而从一种物种中开发的 EST-SSR 可通用于其他近缘物种,不但丰富标记数量而且显著提高标记的利用价值;开发过程简单、成本低、还可反映出转录区的差异^[50-52]。从以上这些文献的分析来看,SSR 和 AFLP 是较为理想的分子标记分析手段。DNA 分子标记可以克服传统的农艺性状易受环境条件影响的缺点,能够反映种质资源的遗传本质。在作物上,越来越多的农艺性状得以深入地研究归结于分子标记的发展,借助于分子标记,能够对植物的基因组结构和遗传学得以深入理解。啤酒花作为一种工业生产原料作物,不像拟南芥等模式生物其基因组信息和遗传背景已经完全搞清楚;也不像水稻、小麦、玉米等大田作物已经广泛运用各种生物技术手段进行了远缘杂交育种和育种技术改良工作。目前国内啤酒花的选育工作才刚刚起步,依然处于育种初级阶段,投入的人力、物力、财力还相对较少,对啤酒花作物的基因组信息了解太少。就关于现存世界各地啤酒花品种的科学分类方法,不同的研究学者也提出了不同的方案,构建了不同的系统树谱图。DNA 分子标记的使用将不断地揭示啤酒花的基因组信息,将基因组作图、基因定位和转基因技术结合起来,为选育高甲酸、抗病、高产量的新品种做出理论指导和技术支持。

参考文献

- [1] 彭学贤. 植物分子生物技术应用手册[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006
- [2] Watanabe A, Araki S, Kobari S, et al. In vitro propagation, restriction fragment length polymorphism, and random amplified polymorphic DNA analyses of Angelica plants [J]. Plant Cell Rep, 1998, 18(3-4): 187-192
- [3] 黄留玉, 王恒樑, 史兆兴, 等. PCR 最新技术原理、方法及应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004
- [4] Williams J K, Kubelik A R, Livak K J, et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic-markers [J]. Nuc Aci Res, 1990, 18(22): 6531-6535
- [5] Gupta P K, Varshney R K. The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis on bread wheat [J]. Euphytica, 2000, 113:163-185
- [6] Brady J L, Scott N S, Thomas M R. DNA typing of hops (*Humulus lupulus*) through application of RAPD and microsatellite marker sequences converted to sequence tagged sites (STS) [J]. Euphytica, 1996, 91: 277-284
- [7] Nagaoka T, Oginara Y. Applicability of inter-simple sequence repeat polymorphisms in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers [J]. Theor Appl Genet, 1997, 97: 597-602
- [8] Jakse J, Kindlhofer K, Javornik B. Assessment of genetic variation and differentiation of hop genotypes by microsatellite and

- AFLP markers [J]. *Genome*, 2001, 44: 773-782
- [9] Cregan P B, Jarvik T, Bush A L, et al. An integrated genetic linkage map of the soybean genome [J]. *Crop sci*, 1999, 39 (5): 1464-1490
- [10] Stress E M K, Karsvall O, Tollin C. Inventory methods for finding historically cultivated hop (*Humulus lupulus* L.) in Sweden [J]. *Genetic Res Crop Evol*, 2010, 57(2): 219-227
- [11] Sakano Y, Okada Y, Matsunaga A, et al. Molecular cloning, expression, and characterization of adenylate isopentenyltransferase from hop (*Humulus lupulus* L.) [J]. *Phytochemistry*, 2004, 65: 2439-2446
- [12] Henning J A, Steiner J J, Hummer K E. Genetic diversity among world hop accessions Grown in the USA [J]. *Crop Sci Soc Ame*, 2004, 44: 411-417
- [13] 张德水, 陈受宜. DNA 分子标记、基因组作图及其在植物遗传育种上的应用 [J]. *生物技术通报*, 1998(5): 15-20
- [14] 张秀实, 吴征镒, 曹子余. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1998
- [15] Stevens J F, Page J E. Xanthohumol and related prenylflavonoids from hops and beer: to your good health [J]. *Phytochemistry*, 2004, 65: 1317-1330
- [16] Qian W, Zhui H D, Ji K L, et al. Xanthohumol, a novel anti-HIV-1 agent purified from Hops *Humulus lupulus* [J]. *Antiriral Res*, 2004, 64: 189-194
- [17] 应雀森, 潘勤, 张娟. 啤酒花的化学成分药理作用及临床应用 [J]. *国外医药-植物药分册*, 2008, 23(4): 139-142
- [18] Welsh J, McClelland M. Finger printing genomes using PCR with arbitrary primers [J]. *Nucleic Acids Res*, 1990, 18 (24): 7213-7218
- [19] 廖朝林, 王华, 廖璐婧, 等. 分子标记在当归属植物遗传多样性研究中的应用 [J]. *湖北农业科学*, 2009, 48(10): 2598-2602
- [20] 王庆浩. 分子标记的研究进展及其在中药研究中的应用 [J]. *辽宁中医杂志*, 2009, 36(9): 1471-1474
- [21] 原俊凤, 张霞, 王绍明. 新疆野生啤酒花群体遗传多样性的 RAPD 分析 [J]. *干旱区研究*, 2006, 23(4): 562-567
- [22] Murakami A. Hop variety classification using the genetic distance based on RAPD [J]. *J Insti Breed*, 2000, 106(3): 157-161
- [23] Sustar-Vozlic J, Javornik B. Genetic relationships in cultivars of hop, *Humulus lupulus* L., determined by RAPD analysis [J]. *Plant Breed*, 1999, 118: 175-181
- [24] Jamie L B, Nigel S S, Mark R T. DNA typing of hops (*Humulus lupulus*) through application of RAPD and microsatellite marker sequences converted to sequence tagged sites (STS) [J]. *Euphytica*, 1996, 91: 277-284
- [25] Patzak J, Oriniakova P, Matousek J, et al. Czech hop characterization using RAPD method and genetic distance analysis of selected genotypes [J]. *Rostlinna Vyroba*, 1999, 45(4): 165-172
- [26] 胡宝刚, 季静, 王昱, 等. 常用分子标记在月季种植鉴定和育种中的应用 [J]. *天津农业科学*, 2009, 15(5): 6-9
- [27] Patzak J. Assessment of somaclonal variability in hop (*Humulus lupulus* L.) in vitro meristem cultures and clones by molecular methods [J]. *Euphytica*, 2003, 131: 343-350
- [28] 欧良喜, 向旭, 狄凤香, 等. SSR 分子标记在荔枝上的研究进展 [J]. *生物技术通报*, 2009(21): 83-87
- [29] 程保山, 杨加银, 徐为军. SSR 标记在水稻遗传育种中的应用 [J]. *安徽农业科学*, 2009, 37(29): 14038-14040
- [30] Jakse J, Satovic Z, Javornik B. Microsatellite variability among wild and cultivated hops (*Humulus lupulus* L.) [J]. *Genome*, 2004, 47: 889-899
- [31] Jakse J, Javornik B. High throughput isolation of microsatellites in hop (*Humulus lupulus* L.) [J]. *Plant Mol Biol Rep*, 2001, 19: 217-226
- [32] Stajner N, Jakse J, Kozjak P, et al. The isolation and characterization of microsatellite in hop (*Humulus lupulus* L.) [J]. *Plant Sci*, 2005, 168: 213-221
- [33] Stajner N, Satovic Z, Cerenak A, et al. Genetic structure and differentiation in hop (*Humulus lupulus* L.) as inferred from microsatellites [J]. *Euphytica*, 2008, 161: 301-311
- [34] Bassil N V, Gilmore B, Oliphant J M, et al. Genic SSRs for European and North American hop (*Humulus lupulus* L.) [J]. *Genetic Res Crop Evol*, 2008, 55: 959-969
- [35] Ziekiewicz E, Rafalski A, Labuda D. Genome fingerprint by simple sequence repeat (SSR) - anchored polymerase chain reaction amplification [J]. *Genomics*, 1994, 20(2): 176-183
- [36] 周延清. DNA 分子标记在植物研究中的应用 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005
- [37] Godwin I D, Aitken E A B, Smith L W. Application of inter simple sequence repeat (ISSR) markers to plant genetics [J]. *Electrophoresis*, 1997, 18: 1524-1528
- [38] Danilova T V, Danilov S S, Karlov G I. Assessment of genetic polymorphism in hop (*Humulus lupulus* L.) cultivars by ISSR-PCR analysis [J]. *Russian J Genet*, 2003, 39(11): 1252-1257
- [39] Danilova T V, Karlov G I. Application of inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism for detection of sex-specific molecular markers in hop (*Humulus lupulus* L.) [J]. *Euphytica*, 2006, 151: 15-21
- [40] Townsend M S, Henning J A, Moore D L. AFLP analysis of DNA from dried hop cones [J]. *Crop Sci*, 2000, 40: 1383-1386
- [41] Townsend M S, Henning J A. Potential heterotic groups in hop as determined by AFLP analysis [J]. *Crop Sci*, 2005, 45: 1901-1907
- [42] Hartl L, Seefelder S. Diversity of selected hop cultivars detected by fluorescent AFLPs [J]. *Theor appl Genet*, 1998, 96: 112-116
- [43] Jakse J, Kindlhofer K, Javornik B. Assessment of genetic variation and differentiation of hop genotypes by microsatellite and AFLP markers [J]. *Genome*, 2001, 44: 773-782
- [44] Townsend M S, Henning J A. AFLP discrimination of native north american and cultivated hop [J]. *Crop Sci*, 2009, 49: 600-607
- [45] Patzak J, Vrba L, Matousek J. New STS molecular markers for assessment of genetic diversity and DNA fingerprinting in hop (*Humulus lupulus* L.) [J]. *Genome*, 2007, 50: 15-25
- [46] Patzak J. Comparison of RAPD, STS, ISSR and AFLP molecular methods used for assessment of genetic diversity in hop (*Humulus lupulus* L.) [J]. *Euphytica*, 2001, 121: 9-18
- [47] Powell W, Morgante M, Andre C, et al. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis [J]. *Mol Breed*, 1996, 2(3): 225-238
- [48] Karlov G I, Danilova T V, Horlemann C, et al. Molecular cytogenetics in hop (*Humulus lupulus* L.) and identification of sex chromosomes by DAPI-banding [J]. *Euphytica*, 2003, 132: 185-190
- [49] Jakse J, Stajner N, Kozjak P, et al. Trinucleotide microsatellite repeat is tightly linked to male sex in hop (*Humulus lupulus* L.) [J]. *Mol Breed*, 2008, 21: 139-148
- [50] 陈全求, 詹先进, 蓝家祥, 等. EST 分子标记在基因组学中应用的研究进展 [J]. *中国农学通报*, 2010, 26(3): 59-63
- [51] 林元震, 郭海, 刘纯鑫, 等. EST-SSR 标记在木本植物中的开发和应用 [J]. *植物生理学通讯*, 2009, 45(12): 1221-1225
- [52] 潘海涛, 王俊君, 王盈盈, 等. 小麦 EST-SSR 标记的开发和遗传作图 [J]. *中国农业科学*, 2010, 43(3): 452-461

作者: 杨晓翠, 张天虎, 李文建, YANG Xiao-cui, ZHANG Tian-hu, LI Wen-jian
作者单位: 杨晓翠, YANG Xiao-cui (中国科学院近代物理研究所, 甘肃兰州730000; 中国科学院研究生院, 北京100049), 张天虎, ZHANG Tian-hu (中国科学院近代物理研究所, 甘肃兰州730000; 甘肃亚盛实业(集团)股份有限公司, 兰州730000), 李文建, LI Wen-jian (中国科学院近代物理研究所, 甘肃兰州, 730000)
刊名: 植物遗传资源学报 ISTIC PKU
英文刊名: Journal of Plant Genetic Resources
年, 卷(期): 2011(5)

参考文献(52条)

1. 潘海涛;王俊君;王盈盈 小麦EST-SSR标记的开发和遗传作图 2010(03)
2. 林元震;郭海;刘纯鑫 EST-SSR标记在木本植物中的开发和应用 2009(12)
3. 陈全求;詹先进;蓝家祥 EST分子标记在基因组学中应用的研究进展 2010(03)
4. Jakse J;Stajner N;Kozjak P Trinucleotide microsatellite repeat is tightly linked to male sex in hop (*Humulus lupulus* L.) [外文期刊] 2008
5. Patzak J Comparison of RAPD, STS, ISSR and AFLP molecular methods used for assessment of genetic diversity in hop (*Humulus lupulus* L.) [外文期刊] 2001
6. Patzak J;Vrba L;Matousek J New STS molecular markers for assessment of genetic diversity and DNA fingerprinting in hop (*Humulus lupulus* L.) 2007
7. Townsend M S;Henning J A AFLP discrimination of native north american and cultivated hop [外文期刊] 2009
8. Jakse J;Kindlhofer K;Javornik B Assessment of genetic variation and differentiation of hop genotypes by microsatellite and AFLP markers 2001
9. Hartl L;Seefelder S Diversity of selected hop cultivars detected by fluorescent AFLPs [外文期刊] 1998
10. Townsend M S;Henning J A Potential heterotic groups in hop as determined by AFLP analysis [外文期刊] 2005
11. Townsend M S;Henning J A;Moore D L AFLP analysis of DNA from dried hop cones [外文期刊] 2000
12. Danilova T V;Karlov G I Application of inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism for detection of sex-specific molecular markers in hop (*Humulus lupulus* L.) [外文期刊] 2006
13. Danilova T V;Danilov S S;Karlov G I Assessment of genetic polymorphism in hop (*Humulus lupulus* L.) cultivars by ISSR-PCR analysis 2003(11)
14. Karlov G I;Danilova T V;Horlemann C Molecular cytogenetics in hop (*Humulus lupulus* L.) and identification of sex chromosomes by DAPI-banding [外文期刊] 2003
15. Powell W;Morgante M;Andre C The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis [外文期刊] 1996(03)
16. Godwin I D;Aitken E A B;Smith L W Application of inter simple sequence repeat (ISSR) markers to plant genetics 1997
17. Ziekiewicz E;Rafalski A;Labuda D Genome fingerprint by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification 1994(02)
18. Bassil N V;Gilmore B;Oliphant J M Genic SSRs for European and North American hop (*Humulus lupulus* L.) [外文期刊] 2008
19. Patzak J Assessment of somaclonal variability in hop (*Humulus lupulus* L.) in vitro meristem cultures and clones by molecular methods [外文期刊] 2003
20. 胡宝刚;季静;王罡 常用分子标记在月季种植鉴定和育种中的应用 2009(05)
21. Patzak J;Oriniakova P;Matousek J Czech hop characterization using RAPD method and genetic distance analysis of selected genotypes 1999(04)
22. Jamie L B;Nigel S S;Mark R T DNA typing of hops (*Humulus lupulus*) through application of RAPD and

23. Sustar-Vozlie J;Javornik B Genetic relationships in cultivars of hop.Humulus lupulus L. determined by RAPD analysis 1999
24. 周延清 DNA分子标记在植物研究中的应用 2005
25. Murakami A Hop variety classification using the genetic distance based on RAPD 2000(03)
26. 原俊凤;张霞;王绍明 新疆野生啤酒花群体遗传多样性的RAPD分析 2006(04)
27. 王庆浩 分子标记的研究进展及其在中药研究中的应用 2009(09)
28. 廖朝林;王华;廖璐婧 分子标记在当归属植物遗传多样性研究中的应用 2009(10)
29. Welsh J;McClelland M Finger printing genomes using PCR with arbitrary primers[外文期刊] 1990(24)
30. Stajner N;Satovic Z;Cerenak A Genetic structure and differentiation in hop (Humulus lupulus L.) as inferred from microsatellites[外文期刊] 2008
31. Stajner N;Jakse J;Kozjak P The isolation and characterization of microsatellite in hop (Humulus lupulus L.)[外文期刊] 2005
32. Jakse J;Javornik B High throughput isolation of microsatellites in hop (Humulus lupulus L.)[外文期刊] 2001
33. Jakse J;Satovic Z;Javornik B Microsatellite variability among wild and cultivated hops (Humulus lupulus L.) 2004
34. 程保山;杨加银;徐为军 SSR标记在水稻遗传育种中的应用 2009(29)
35. 欧良喜;向旭;狄凤香 SSR分子标记在荔枝上的研究进展 2009(21)
36. 应雀森;潘勤;张娟 啤酒花的化学成分药理作用及临床应用 2008(04)
37. 张德水;陈受宜 DNA分子标记、基因组作图及其在植物遗传育种上的应用 1998(05)
38. Henning J A;Steiner J J;Hummer K E Genetic diversity among world hop accessions Grown in the USA 2004
39. Sakano Y;Okada Y;Matsunaga A Molecular cloning, expression, and characterization of adenylate isopentenyltransferase from hop (Humulus lupulus L.)[外文期刊] 2004
40. Qian W;Zhui H D;Ji K L Xanthohumol, a novel antiHIV-1 agent purified from Hops Humulus lupulus 2004
41. Stevens J F;Page J E Xanthohumol and related prenylflavonoids from hops and beer: to your good health[外文期刊] 2004
42. 张秀实;吴征镒;曹子余 中国植物志 1998
43. Stress E M K;Karsvall O;Tollin C Inventory methods for finding historically cultivated hop (Humulus lupulus L.) in Sweden 2010(02)
44. Cregan P B;Jarvik T;Bush A L An integrated genetic linkage map of the soybean genome[外文期刊] 1999(05)
45. Jakse J;Kindlhofer K;Javornik B Assessment of genetic variation and differentiation of hop genotypes by microsatellite and AFLP markers 2001
46. Nagaoka T;Oginara Y Applicability of inter-simple sequence repeat polymorphisms in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers[外文期刊] 1997
47. Brady J L;Scott N S;Thomas M R DNA typing of hops (Humulus lupulus) through application of RAPD and microsatellite marker sequences converted to sequence tagged sites (STS)[外文期刊] 1996
48. Gupta P K;Varshney R K The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis on bread wheat[外文期刊] 2000
49. Williams J K;Kubelik A R;Livak K J DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers[外文期刊] 1990(22)
50. 黄留玉;王恒樑;史兆兴 PCR最新技术原理、方法及应用 2004
51. Watanabe A;Araki S;Kobari S In vitro propagation, restriction fragment length polymorphism, and random amplified polymorphic DNA analyses of Angelica plants[外文期刊] 1998(3-4)

52. 彭学贤 植物分子生物技术应用手册 2006

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zwyczyxb201105011.aspx