

分子标记在绣球属育种中的应用研究进展

陆泓锦¹, 吴宜静¹, 张一鸣¹, 续言¹, 王露¹, 赵天祎¹, 章寒¹,
蔡明^{1*}, 杨玉勇², 张启翔¹

(1. 花卉种质创新与分子育种北京市重点实验室, 国家花卉工程技术研究中心, 城乡生态环境北京实验室, 园林环境教育部工程研究中心, 林木花卉遗传育种教育部重点实验室, 北京林业大学 园林学院, 北京 100083; 2. 昆明杨月季园艺有限责任公司, 云南 昆明 650500)

摘要: 绣球属植物花期长、花色丰富, 是重要的切花、盆花和园林绿化植物。我国是绣球属种质资源分布中心, 但育种技术落后, 缺少具备市场竞争力的自育品种。分子标记技术可辅助定向改良观赏性状、缩短育种周期, 已成为观赏植物育种的重要手段。研究总结了近年来常用分子标记技术在绣球属植物种植资源鉴定与评价以及分子标记辅助育种中的应用, 并展望新一代测序技术应用前景, 如提高资源评价与鉴定的准确性、发掘与观赏性状紧密连锁分子标记、提高育种后代选择效率、缩短育种周期等, 为绣球属种质资源保护与有效利用提供参考。

关键词: 绣球属; 种质资源; 育种; 分子标记

中图分类号: S722.3

文献标志码: A

文章编号: 1001-7461(2022)04-0173-08

Research Progress on Molecular Markers of *Hydrangea* Genus

LU Hong-jin¹, WU Yi-jing¹, ZHANG Yi-ming¹, XU Yan¹, WANG Lu¹, ZHAO Tian-yi¹, ZHANG Han¹,
CAI Ming^{1*}, YANG Yu-yong², ZHANG Qi-xiang¹

(1. Beijing Key Laboratory of Ornamental Plants Germplasm Innovation & Molecular Breeding; National Engineering Research Center for Floriculture; Beijing Laboratory of Urban and Rural Ecological Environment; Key Laboratory of Genetics and Breeding in Forest Trees and Ornamental Plants of Ministry of Education; School of Landscape Architecture, Beijing Forestry University, Beijing 100083; 2. Kunming Yang Chinese Rose Gardening Co., Ltd, Kunming, Yunnan 650500, China)

Abstract: The genus *Hydrangea* has a long blooming period and rich color. It is an important cut flower, potted flower and garden plant. China is the center of germplasm resources distribution of genus *Hydrangea*, but there is a lack of self-bred varieties with market competitiveness, and the breeding technology is backward. Molecular markers can assist in directional improvement of ornamental traits and shorten the breeding cycle, which has become an important means of ornamental plant breeding. This paper summarized the applications of some commonly used molecular marker techniques in the *Hydrangea* resource identification, evaluation and assisted breeding in recent years, and the application of a new sequencing technology was prospected from the aspects of improving the accuracy of resource evaluation and appraisal, developing chain molecular markers that were closely connected to ornamental characteristics, improving the efficiency of breeding offspring, and shortening the breeding period. The results provide references for the conservation and effective utilization of *Hydrangea* resources.

Key words: *Hydrangea*; genetic resource; breeding progress; molecular marker

绣球 (*Hydrangea macrophylla*) 又名八仙花、紫阳花, 是虎耳草科绣球属植物^[1]。绣球属植物花

收稿日期: 2021-06-14 修回日期: 2021-11-11

基金项目: 中央高校基本科研业务费 (2015ZCQ-YL-03, YX2013-05)。

作者简介: 陆泓锦。研究方向: 园林植物资源与育种。E-mail: Luhongjin@bjfu.edu.cn

* 通信作者: 蔡明, 博士, 副教授。研究方向: 园林植物资源与育种。E-mail: mingcai82@bjfu.edu.cn

序硕大,花色丰富,观赏价值极高,可作为切花、盆花、园林绿化材料应用,深受世界各国人们喜爱^[2]。我国是绣球属种质资源分布中心,但资源利用率低。目前国内生产与应用的品种多引自国外,缺少具备市场竞争力的自育品种,且育种技术落后,因此需要对绣球种质资源进行系统的收集与研究,改善育种技术,提高利用率。

分子标记是根据基因组 DNA 存在丰富的多态性而发展起来的可直接反映生物个体 DNA 水平上的差异的一类新型的遗传标记,它是继形态学标记、细胞学标记、生化标记之后最为可靠的遗传标记技术。通常所说的分子标记是指以 DNA 多态性为基础的遗传标记。可以分成以下 3 类:第 1 类是以分子杂交为核心的 DNA 分子标记 RFLP;第 2 类是以聚合酶链式反应(PCR)为核心的 DNA 分子标记 RAPD、SSR、ISSR、AFLP、SCAR、STS 等。第 3 类

是一些新型分子标记如 SNP、InDel、CNV、SV 等。常见的分子标记名称以及定义如表 1 所示。DNA 分子标记在种质资源鉴定与分子育种等方面具有广阔的应用前景。自 20 世纪 80 年代引入分子标记以来,育种研究得到了深度上的扩展和步骤上的简化^[4],分子标记数量丰富,遗传稳定,多态性高,多为共显性,不仅广泛应用于植物种质鉴定与评价^[5]、植物遗传多样性^[6]、亲缘关系鉴定^[7]、杂交后代鉴定^[8]、重要性状基因定位以及分子标记连锁图的构建^[9]等方面的研究,已成为观赏植物种质资源鉴定与评价、重要性状遗传规律分析、缩短育种周期、定向改良观赏性状和杂交后代早期鉴定与选择的重要手段。本研究整理了不同分子标记技术应用于绣球属植物研究的情况,为绣球属植物资源评价与利用奠定基础。

表 1 常见分子标记名称及定义

Table 1 Commonly used molecular marker names and definitions

缩写	分子标记名称	英文名称
RFLP	限制性片段长度多态性技术	restriction fragment length polymorphism
RAPD	随机扩增多态性 DNA 分子标记技术	random amplified polymorphic DNA
SSR	简单重复序列/微卫星	simple sequence repeats/Microsatellite
ISSR	简单重复序列区间	Inter-simple sequence repeat
AFLP	扩增片段长度多态性	Amplified Fragment Length Polymorphism
SNP	单核苷酸多态性	Single-Nucleotide Polymorphism

1 分子标记在种质资源鉴定与评价研究中的应用

1.1 资源鉴定

分子标记能够较为准确地区分品种,便于后期管理与应用。T. A. Rinehart 等^[11]利用 38 个 SSR 位点构建系统发生树,对部分绣球品种名称提出了修改建议,绣球栽培品种 *Hydrangea macrophylla* ‘Libelle’ 与 *Hydrangea macrophylla* ‘Libelle White’ 为同一品种,品种名中‘White’用来描述颜色,是为了便于市场流通而后期添加;*Hydrangea macrophylla* ‘Pink Beauty’ 与 *Hydrangea macrophylla* ‘Preziosa’ 的 DNA 指纹图谱相同,可能为同一品种;部分圆锥绣球(*Hydrangea paniculata*)品种基因型一致,应进行统一命名;*Hydrangea macrophylla* ‘Reewee’ 的绣球品种实际上包含 2 个不同品种^[12-13],应区分命名。P. Hempel 等^[14]利用 SSR 分子标记技术构建了 Wädenswil 家族图谱,纠正了 Wädenswil 家族中部分品种的命名。J. T. Lindstorm 等^[15]使用 11 个 RAPD 引物区别鉴定出 7 个绣球品种,包含 5 个多次开花品种,2 个抗寒品种,

其中 5 个多次开花品种得到了很好的区分,但上述引物未能区分开 *Hydrangea macrophylla* ‘Endless Summer’ 与 *Hydrangea macrophylla* ‘David Ramsay’,推测其为相同品种,或由于引物多态性较差,不足够将其区分。D. Zlesak 等^[16]发现绣球 *Hydrangea macrophylla* ‘Bailday’ 与名称较为相似的 *Hydrangea macrophylla* ‘Bailmer’ 可被 156 个 AFLP 条带区分,推测二者不是同一品种;而 *H. macrophylla* ‘Bailday’ 与表型相似的 *Hydrangea macrophylla* ‘Varigata’ 仅在 1 个位点上有差别,推测‘Varigata’可能是‘Bailday’的衍生品种,或是同一品种。Y. H. Joung 等^[17]结合叶片等表型信息,将 29 种绣球资源利用 RAPD 进行聚类分析,此外还进行了基于 rbcL 基因获得的 SNP 标记的单体型分析。BS-UPGMA 和 IB-NJ 聚类分析都将 29 个绣球资源分成了 2 个组,并将不知名品种鉴定为一种冠盖绣球(*Hydrangea anomala* var. *petiolaris*)。李艳香^[18]采用 SRAP 分子标记技术对绣球属 11 个野生种和 8 个品种进行了亲缘关系研究,从 110 对引物中筛选出 14 条扩增条带清晰、多态性丰富的引物组合,其中一个引物组合可以把 19 种绣球品种区

别开。E. Mortreau 等^[19]利用 25 个 ISSR 引物,测试了 7 个绣球属植物,UPGMA 聚类分析将 7 种植物分成了总苞绣球(*Hydrangea involucrata*)和马桑绣球(*Hydrangea aspera*)2 组,总苞绣球的个体之间区分明显,马桑绣球被细分成了 5 个小组,鉴定结果与地理学数据、表型分析数据、生理学、染色体学数据吻合。地理分布较广泛的种类,其遗传多样性通常较高。J. H. Lee 等^[20]从 64 个 AFLP 引物组合筛选出 2 个组合对 22 种绣球属植物进行遗传多样性分析,共检测到 120 条 DNA 片段,通过 UPGMA 聚类分析发现,17 个绣球品种和山绣球(*Hydrangea macrophylla* var. *normalis*)聚类到一组,其余 4 种韩国栽培品种聚类到一组,韩国栽培品种与绣球品种遗传距离相对较大,得到很好区分,并推测山绣球是野生原始种。S. Yamamoto 等^[21]利用 19 个来自日本的粗齿绣球品种和 14 个来自韩国济州岛的粗齿绣球品种共 188 株的遗传结构进行 SSR 分子标记分析。结果表明,济州岛种群的遗传结构与日本西部地区种群的遗传结构密切相关,日本西部和西北部地区采样的粗齿绣球与在日本中部和东部地区采样的粗齿绣球的遗传结构存在差异。此外,韩国发现本土的黄脉绣球(*Hydrangea luteovenosa*),其在日本西部分布广泛,但在韩国是濒危种^[22]。T. Ito 等^[23]在 4 个来自韩国和日本的黄脉绣球中利用 SSR 分子标记技术研究分析,发现在 23 对引物中有 5 个 SSR 位点在基因上都有清晰条带。H. J. Choi 等^[24]利用上述 5 个 SSR 标记对韩国黄脉绣球和 3 种日本黄脉绣球进行分析,发现存在于韩国 285 个个体中的 2 个多座位基因型在日本个体中并未被检测到,推测韩国黄脉绣球可能引自日本。

1.2 遗传多样性分析

彭继庆等^[25]利用 ISSR-PCR 分子标记技术对 23 个绣球品种进行遗传多样性研究,从 100 条引物中筛选出 10 条引物对供试材料基因组总 DNA 进行 PCR 扩增,共扩增出条带 123 条,其中多态性条带 102 条,经 PopGen32 软件包分析,23 个绣球花品种的平均有效等位基因数为 1.493 7,平均 Nei's 基因多样性指数为 0.290 7,平均 Shannon's 信息指数为 0.435 7,遗传距离介于 0~0.769 1,遗传一致度介于 0.463 4~1.000 0,具有广泛的遗传多样性。此外彭继庆等^[26]还利用上述 ISSR 分子标记的 10 条引物以绣球和圆锥绣球的 38 个品种为材料进行遗传多样性分析,绣球、圆锥绣球 2 个种的多态条带比例分别 79.55%、67.2%;38 个绣球花品种观测等位基因数为 1.924 2,有效等位基因数为

1.676 8,Nei's 基因多样性指数为 0.378 2,Shannon's 信息指数为 0.549 7,具有较高的遗传多样性和较强的环境适应能力;绣球、圆锥绣球 2 个种的基因多样性为 0.375 8,种内基因多样性为 0.282 6,种内遗传变异占 75.20%。T. Uemachi 等^[27]从 426 个 RAPD 标记中筛选出 413 有多态性的标记,对山绣球和 2 种粗齿绣球(*Hydrangea serrata* var. *serrata*、*Hydrangea serrata* var. *yessoensis*)进行 UPGMA 分析,发现 RAPD 和叶绿体 DNA 分析均表明山绣球遗传多样性高于另外 2 个,推测是因为其有广泛的地理分布。

1.3 亲缘关系分析

绣球属早期亲缘关系分析常用表型分析、核型分析、同工酶分析等^[28-29],而分子标记技术具有较高的准确性与可信度,是近年来亲缘关系研究的主要方法。T. A. Rinehart 等^[13]使用 14 个 SSR 标记对 85 个绣球属和近缘属资源进行分析,聚类结果印证了大部分绣球属野生种原有的分类观点,各亚组内物种间遗传距离差异较大,物种间和亚组间缺乏基因流使得种间自然杂交困难。S. M. Reed^[12]等利用上述 SSR 分子标记引物鉴定了 36 个绣球品种及杂交种和野生圆锥绣球亲缘关系,发现虽然很多品种源自同一亲本,但是各个品种之间相似性较低;早花与夏花品种聚成 2 类,早花品种间遗传关系较远,推测是由于这些早花品种的来源地不同而造成的。N. Sukhikh 等^[30]从利用 38 个 SSR 分子标记对 39 个绣球品种进行亲缘关系分析,其中 9 个 SSR 引物具有显著的多态性,通过聚类分析将 39 份材料分为 3 大类,其中 2 类全部为圆球形(Mophead)花序品种,另一类全部为蕾丝帽(Lacecap)花序品种,且蕾丝帽品种间亲缘关系更近。S. M. Reed 等^[31]用 39 个 SSR 标记鉴定 114 个绣球品种,聚类分析发现 5 个多次开花品种与 4 个单次开花品种具有较高遗传相似性,多次开花品种 *Hydrangea macrophylla* 'Early Sensation'与其他多次开花品种亲缘关系较远,推测可能是杂交中的亲本。X. B. Wu 等^[32]通过 GBS(Genotyping by Sequencing)技术,在 82 个绣球品种中找到 5 803 个 SNP 位点,利用种群结构分析(population structure analysis)将 82 个品种聚类成了 3 组,一组全部为粗齿绣球(*Hydrangea macrophylla* ssp. *serrata*)栽培品种,另外 2 组为大花绣球(*Hydrangea macrophylla* ssp. *macrophylla*)栽培品种。早期研究认为粗齿绣球(*Hydrangea macrophylla* ssp. *serrata*)与大花绣球(*Hydrangea macrophylla* ssp. *macrophylla*)在系统分类学上属于并列关系^[33],但是 X. B. Wu 等^[32]根据 5 803

个 SNP 位点进行系统发生分析认为应将粗齿绣球归类为绣球的亚种,与部分学者^[12-13]观点一致。J. T. Lindstorm 等^[15]使用 11 个 RAPD 引物将 7 个绣球品种分成了 2 个聚类,聚类分析发现 7 个品种遗传距离都很相近,最大遗传距离的 2 物种相似度可达到 88%。Q. Song 等^[34]筛选了 10 条 ISSR 引物对 9 组近缘无性系绣球进行分子标记研究,10 条引物共产生 207 条条带,其中多态性条带 171 条,占总条带的 82.61%。绣球品种 *Hydrangea macrophylla* ‘Twist N Shout’ 是最具代表性的蕾丝帽品种之一,但其中 1 个芽突变体缺失了蕾丝帽这一典型特征。然而 ISSR 标记显示,该无蕾丝帽花序的芽突变体与 ‘Twist N Shout’ 只有 3 条条带不同。此外,单瓣花品种与重瓣花品种的 ISSR 分子标记条带有显著差异。

2 分子标记辅助育种

2.1 杂交子代鉴定

S. M. Reed 等^[35]使用常山与绣球作为亲本进行杂交,通过 SSR 分子鉴定获得了真实杂种,杂交子代表型介于双亲之间并可产生大量花粉。J. H. Kardos 等^[36]使用绣球与伞花绣球(*Hydrangea angustipetala*)杂交,利用 12 个 SSR 引物进行鉴定,结合表型对比分析确认杂交后代真实性。N. Kudo 等^[37]用绣球与耐寒绣球杂交,通过子叶培养获得杂交后代,采用 RAPD 鉴定了后代^[38]。此外还采用中国绣球 *Hydrangea scandens* ssp. *chinensis* (现名称修订为 *Hydrangea chinensis*) 与绣球杂交,用 2 对 RAPD 引物鉴定出其为真实杂种^[39]。S. M. Reed 等^[40]以绣球 *Hydrangea macrophylla* ‘Kardinal’ 为母本,以圆锥绣球 *Hydrangea paniculata* ‘Brussels Lace’ 为父本进行杂交,子代经 RAPD 验证为真实杂种后代。后代在叶片和被毛方面与父本圆锥绣球相似,比母本对白粉病抗性更强。T. A. Rinehart 等^[41]用 SSR 验证了上述杂交后代的真实性,并发现除了性状介于双亲之间,染色体数量有时也会介于双亲之间。K. D. Jones 等^[42]采用人工相互授粉进行绣球属杂交试验,使用 RAPD 验证杂种后代真实性,鉴定了以耐寒绣球 *Hydrangea arborescens* ‘Dardom’ 为母本,总苞绣球(*Hydrangea involucrata*)为父本的杂交组合得到的杂交后代,杂交后代染色体数量($2n=34$)介于双亲之间。M. Cai 等^[43]使用绣球 *Hydrangea macrophylla* ‘Diamond’ 为母本与耐寒绣球 *Hydrangea arborescens* ‘Annabelle’ 为父本进行杂交,通过胚挽救获得 F1 代,对后代进行 SSR 分子标记鉴定证明为真实杂交

后代。

分子标记技术在鉴定子代真实性的同时也可以通过观察引物在杂交后代中产生片段的来源,可以判断双亲之间多样性的高低。M. Wiedemann 等^[44]使用粗齿绣球、山绣球与 2 个常山品种进行属间杂交,使用 RAPD 测序验证后代真实性,引物共产生 30 个片段,11 个片段来自母本,13 个片段来自父本,说明双亲多样性较高。L. Crespel 等^[45]使用马桑绣球种内亲缘关系最远的 2 品种进行杂交,对获得的 10 个后代进行 ISSR 分析标记证明后代为真实后代,亲本之间多态性为 96.9%,后代之间多态性标记为 60%,表明亲本杂合度很高。

2.2 遗传连锁图谱和观赏性状关联标记

绣球的遗传连锁图谱研究起步相对较晚。2018 年,T. A. Rinehart 等^[46]采用转录组测序获得 1 535 个 SNP,其中 779 个位点具有多态性,但是由于部分位点在图谱中位置相同和预期分离极为不同等原因,标记密度不够充分,不足以构建连锁图谱。因此,T. A. Rinehart 等^[41]对绣球 *Hydrangea macrophylla* ‘Bailmer’ 和 *Hydrangea macrophylla* ‘Vetchii’ 杂交获得的 F1 代进行基因分型测序(GBS),以期待找到更多 SNP 标记来完成图谱。T. Waki 等^[47]以 ‘Kirakiraboshi’ 和 ‘Frau yoshimi’ 杂交 F2 代的 93 株材料为作图群体,通过 NGS(Next-generation DNA Sequencing)技术获得 672 个 SSR 标记,构建了第 1 张绣球遗传连锁图谱,包含 147 个标记和 18 个连锁群,总图距 980 cm,并将花序类型 *INF* 位点定位到连锁群 4,并获得 2 个标记,分别可解释 93.5% 和 96.3% 的花序表型变异。C. Tränkner 等^[48]使用 RAD(Restriction-site-associated DNA Sequencing)结合 BSA(Bulk Sequence Analysis)混池测序方法对蕾丝帽花序和圆球型花序 F1 杂交后代进行测序,获得 2 个与 *INF* 位点紧密关联的标记,每个标记可解释 99.7% 的花序表型变异。X. Wu 等^[49]以 82 个绣球品种为材料,使用了 5 803 个 SNP 标记对绣球花序类型和多次开花性状开展了全基因组关联分析(Genome-wide Association Study, GWAS),筛选到 1 个与花序类型相关标记,最多解释 65.5% 表型变异,经转换为 CAPS 标记,表型预测准确率达 100%;同时获得了 23 个与多次开花连锁的分子标记。K. Nashima 等^[50]在绣球全基因组数据的基础上,通过 ddRAD 简化基因组测序技术构建了高密度遗传连锁图谱,最长为 2 944.5 cm,包含 4 071 个 SNP 标记和 18 个连锁群;将重瓣性状位点 d_{jo} 定位到 CHR17 连锁群 33.7~43.8 Mb,将另一位点 d_{su} 定位到 CHR04 连锁群,开发了

J01 和 S01 标记用于快速鉴别重瓣表型。X. Wu 等^[51]以绣球 *Hydrangea macrophylla* ‘Veitichii’ 和 *Hydrangea macrophylla* ‘Endless Summer’ 为亲本构建 F1 群体,利用 267 个由转录组获得的 SSR 多态性分子标记和 3 923 个由 GBS 获得的

SNP 多态性标记共 4 190 个标记进行父本、母本以及共同遗传图谱的构建,共同遗传图谱包含 1 767 个定位标记(146 SSRs and 1 621 SNPs),长度为 1 383.4 cm,由 18 个连锁群组成,平均映射区间为 0.8 cm。

表 2 分子标记技术在绣球属研究应用情况

Table 2 Application of molecular markers in research and use of *Hydrangea*

应用	方法	物种	主要结果	参考文献
资源鉴定	SSR	部分绣球品种	使用 38 个 SSR 位点构建系统发生树,规范部分绣球品种名称	[11]
资源鉴定	SSR	Wädenswil 家族	构建 Wädenswil 家族图谱,并纠正了家族中部分品种名称	[14]
资源鉴定	RAPD	7 个绣球品种	区分开 5 个多次开花品种	[15]
资源鉴定	AFLP	部分绣球品种	区分开绣球品种 ‘Bailday’ 与名称较为相似的 ‘Bailmer’,并推测出其衍生品种或同一品种	[16]
资源鉴定	RAPD,SNP	29 种绣球	聚类分析将 29 种绣球区分为 2 个组,将不知名品种鉴定为冠盖绣球	[17]
资源鉴定	SRAP	11 个野生种和 8 个品种	筛选出能将 19 种绣球区分开的引物组合	[18]
资源鉴定	ISSR	7 个绣球属植物	聚类分析将 7 个绣球属植物区分为 2 个组,	[19]
资源鉴定	AFLP	22 种绣球属植物	UPGMA 聚类分析将韩国栽培品种与其他绣球品种区分开,并推测山绣球是野生原始种	[20]
资源鉴定	SSR	33 种粗齿绣球品种	济州岛种群的遗传结构与日本西部地区种群的遗传结构密切相关,日本西部和西北部地区粗齿绣球与中部和东部地区的粗齿绣球遗传结构存在差异	[21]
资源鉴定	SSR	4 种黄脉绣球	发现 23 对引物中有 5 个 SSR 位点在基因上都有清晰条带	[23]
资源鉴定	SSR	韩国与日本黄脉绣球	推测韩国黄脉绣球可能引自日本	[24]
遗传多样性	ISSR	23 个品种的绣球	具有广泛的遗传多样性	[25]
遗传多样性	ISSR	38 个品种的绣球和圆锥绣球	具有较高的遗传多样性和较强的环境适应能力	[26]
遗传多样性	RAPD	山绣球和 2 种粗齿绣球	UPGMA 分析发现山绣球遗传多样性高于另外 2 种粗齿绣球	[27]
亲缘关系鉴定	SSR	85 个绣球属和近缘属资源	各亚组内物种间遗传距离差异较大,物种间和亚组间缺乏基因流	[13]
亲缘关系鉴定	SSR	36 个品种及杂交种与野生圆锥绣球	鉴定了 36 个绣球品种及杂交种和野生圆锥绣球亲缘关系	[12]
亲缘关系鉴定	SSR	39 个绣球品种	聚类分析将 39 份材料分为 3 大类	[30]
亲缘关系鉴定	SSR	114 个绣球品种	5 个多次开花品种与 4 个单次开花品种具有较高遗传相似性,推测 ‘Early Sensation’ 可能是杂交中的亲本	[31]
亲缘关系鉴定	SNP	82 个绣球品种	利用种群结构分析(population structure analysis)将 82 个品种聚类成了 3 组,认为应将粗齿绣球归类为绣球的亚种	[32]
亲缘关系鉴定	RAPD	7 个绣球品种	将 7 个绣球品种分成了 2 个聚类,7 个品种遗传距离都很相近	[15]
亲缘关系鉴定	ISSR	9 组近缘无性系绣球	10 条引物共产生 207 条条带,其中多态性条带 171 条,单瓣花品种与重瓣花品种的 ISSR 分子标记条带有显著差异	[34]
杂交子代鉴定	SSR	常山与绣球及其杂交后代	确认了杂交后代的真实性	[35]
杂交子代鉴定	SSR	绣球与伞花绣球及其杂交后代	确认了杂交后代的真实性	[36]
杂交子代鉴定	RAPD	绣球与耐寒绣球及其后代	确认了杂交后代的真实性	[37-38]
杂交子代鉴定	RAPD	绣球与中国绣球及其杂交后代	确认了杂交后代的真实性	[39]
杂交子代鉴定	RAPD,SSR	绣球 ‘Kardinal’ 与圆锥绣球 ‘Brussels Lace’ 及其杂交后代	确认了杂交后代的真实性	[40-41]

续表 2

应用	方法	物种	主要结果	参考文献
杂交子代鉴定	RAPD	耐寒绣球 <i>H. arborescens</i> ‘Dardom’ 与总苞绣球 (<i>H. involucrata</i>) 及其后代	确认了杂交后代的真实性	[42]
杂交子代鉴定	SSR	绣球 ‘diamond’ 与耐寒绣球 ‘annabelle’ 及其杂交后代	确认了杂交后代的真实性	[43]
杂交子代鉴定	RAPD	粗齿绣球、山绣球与 2 个常山品种	确认杂交后代真实性并认为双亲多样性较高	[44]
杂交子代鉴定	ISSR	马桑绣球 (<i>H. aspera</i>) 种内亲缘关系最远的 2 品种	表明亲本杂合度很高	[45]
遗传连锁图谱	SSR	93 株绣球 ‘Bailmer’ 和 ‘Veitchii’ 杂交获得的 F1 代	构建了第 1 张绣球遗传连锁图谱, 包含 147 个标记和 18 个连锁群, 总图距 980 cm, 并将花序类型 INF 位点定位到连锁群 4, 并获得 2 个标记, 分别可解释 93.5% 和 96.3% 的花序表型变异	[47]
观赏性状关联标记	BSA 混池测序	蕾丝帽花序和圆球形花序 F1 杂交后代	基于 RAD (Restriction-site-associated DNA Sequencing) 技术获得 2 个与 INF 位点紧密关联的标记, 每个标记可解释 99.7% 的花序表型变异	[48]
观赏性状关联标记	SNP	82 个绣球品种	筛选到 1 个与花序类型相关标记, 最多解释 65.5% 表型变异, 获得了 23 个与多次开花连锁的分子标记	[49]
观赏性状关联标记	SNP	绣球 ‘Posy Bouquet Grace’ 与绣球 ‘Blue Picotee Manaslu’ 杂交后代	构建了高密度遗传连锁图谱, 包含 4 071 个 SNP 标记和 18 个连锁群; 定位重瓣性状位点 djo, 开发了用于快速鉴别重瓣表型的 J01 和 S01 标记	[50]
遗传连锁图谱	SSR SNP	绣球 ‘Veitchii’ 和 ‘Endless Summer’ 为亲本构建 F1 群体	构建了父本、母本以及共同遗传图谱	[51]

3 结论与讨论

分子标记已大量应用于绣球属植物研究中, 其中资源评价使用了 RAPD、AFLP、ISSR、SSR、SRAP、SNP 等分子标记技术, 辅助育种研究常用 RAPD、AFLP、ISSR、SSR 等分子标记, 这些标记均有其各自的优点和局限性。随着新一代测序技术的快速发展和测序成本的降低, 基于转录组、简化基因组和全基因组数据的 SSR、SNP、InDel 等分子标记将大规模应用于绣球研究中, 在提高资源评价与鉴定的准确性、发掘与观赏性状紧密连锁分子标记、提高育种后代选择效率、缩短育种周期等方面发挥重要作用。基于组学数据开发的分子标记, 已在绣球遗传连锁图谱构建、花色、花序类型、重瓣性等重要观赏性状遗传规律研究中获得了初步成果^[46-55]。未来, 随着绣球全基因组序列的公布^[47-51], 全基因组关联分析、全基因组选择 (Genome Selection) 等高效分析策略将广泛应用于绣球复杂性状解析、紧密连锁分子标记开发和基因精细定位中, 结合多组学数据, 研究者将深入了解绣球花朵变色、花序类型、花朵重瓣、攀援和花香等性状形成的分子机理和遗传规律, 为实现绣球分子设计育种奠定基础。

参考文献:

- [1] 卫兆芬, 黄淑美, 陆玲娣. 中国植物志: 第三十五卷[M]. 北京: 科学出版社, 1995: 226.
- [2] 曾奕, 杨伟权, 郁书君. 绣球花的育种研究进展[J]. 广东农业科

学, 2018, 45(6): 36-43.

ZENG Y, YANG W Q, YU S J. Research progress of *Hydrangea* breeding[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2018, 45(6): 36-43. (in Chinese)

- [3] IDREES M, IRSHAD M. Molecular markers in plants for analysis of genetic diversity: a review[J]. European Academic Research, 2014, 2(1): 1513-1540.
- [4] 高洁铭, 杨世鹏, 孙雪梅, 等. 菊芋种质资源鉴定及 DNA 指纹图谱的构建[J]. 西南农业学报, 2019, 32(8): 1892-1897.
GAO J M, YANG S P, SUN X M, *et al.* Identification of *Heli-anthus tuberosus* L. germplasm resources and construction of DNA fingerprint [J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2019, 32(8): 1892-1897. (in Chinese)
- [5] 陈洁. 山樱花居群遗传多样性的 SSR 分析[D]. 南京: 南京林业大学, 2016.
- [6] 程玮哲, 樊军锋, 周永学, 等. 基于荧光 SSR 标记的 10 个白杨派种质资源遗传多样性分析[J]. 西北林学院学报, 2021, 36(3): 88-93.
CHEN W Z, FAN J F, ZHOU Y X, *et al.* Genetic diversity analysis of the 10 poplar accessions based on SSR molecular markers[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2021, 36(3): 88-93. (in Chinese)
- [7] 乔中全, 王晓明, 李永欣, 等. 38 个紫薇品种亲缘关系的 ISSR 分析[J]. 浙江农业学报, 2019, 31(4): 58-64.
QIAO Z Q, WANG X M, LI Y X, *et al.* Phylogenetic relationships among 38 cultivars of *Lagerstroemia indica* based on ISSR molecular markers [J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2019, 31(4): 58-64. (in Chinese)
- [8] 闫芬芬, 郑兴娟, 罗智, 等. 枣和酸枣杂交后代遗传多样性的 SSR 分析[J]. 西北林学院学报, 2018, 33(3): 91-97, 152.
YAN F F, ZHENG X J, LUO Z, *et al.* Genetic diversity analy-

- sis of hybrid progeny from Chinese jujube and wild jujube by SSR[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2018, 33(3):91-97, 152. (in Chinese)
- [9] 巫明会, 樊军锋, 高建设, 等. 秦黑杨1号等美洲黑杨指纹图谱构建及遗传关系分析[J]. 西北林学院学报, 2019, 34(4):91-95. WU M H, FAN J F, GAO J S, *et al.* Construction of fingerprints and analysis of genetic relationship among *Populus deltoides* hybrids Qinheiyang No. 1[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2019, 34(4):91-95. (in Chinese)
- [10] YANG C, MA Y, CHENG B, *et al.* Molecular evidence for hybrid origin and phenotypic variation of *Rosa chinensis* [J]. Genes (Basel), 2020, 11(9):996.
- [11] RINEHART T A, REED S M. Using DNA fingerprinting to identify mislabeled plants in the trade: an example from *Hydrangea* [C]. Atlanta G A. USA, Southern Nurserymen's Association Research Conference, 2006:580-583.
- [12] REED S M, RINEHART T A. Simple-sequence repeat marker analysis of genetic relationships within *Hydrangea paniculata* [J]. HortScience, 2009, 44(1):27-31.
- [13] RINEHART T A, SCHEFFLER B E, REED S M. Genetic diversity estimates for the genus *Hydrangea* and development of a molecular key based on SSR[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 2006, 131(6):787-797.
- [14] HEMPEL P, HOHE A, TRÄNKNER C. Molecular reconstruction of an old pedigree of diploid and triploid *Hydrangea macrophylla* genotypes[J]. Frontiers in Plant Science, 2018, 9:429.
- [15] LINDSTROM J T, PELTO M C, DIRR M A. Molecular assessment of remontant (reblooming) *Hydrangea macrophylla* cultivars[J]. J. Environ. Hort., 2003, 21(2):57-60.
- [16] ZLESKAK D, BRADEEN J, ANDERSON N O. The use of AFLP markers to resolve clonal origin and integrity in rose, *Hydrangea*, and Lily[J]. Floriculture and Ornamental Biotechnology, 2007, 1(1):51-60.
- [17] JOUNG Y H, SUN J K, LEE N S, *et al.* Identification of Hydrangeaceae accessions of wild origin from Jeju, Korea, using molecular markers[J]. Plant Genetic Resources, 2010, 8(3):235-241.
- [18] 李艳香. 19个绣球属种质资源的SRAP分析[D]. 长沙:湖南农业大学, 2009.
- [19] MORTREAU E, BERTRAND H, LAMBERT C, *et al.* Collection of *Hydrangea*: genetic resources characterisation[J]. Acta Horticulturae, 2003, 623:231-238.
- [20] LEE J H, HYUN J O. The Use of AFLP markers for cultivar identification in *Hydrangea macrophylla* [J]. Journal of Korean Society of Forest Science, 2007, 96(2):125-130.
- [21] YAMAMOTO S, Y ABE, T HOTTA, *et al.* Genetic structure of Korean and Japanese population of *Hydrangea serrata* analyzed by microsatellite analysis[J]. III International Symposium on Germplasm of Ornamentals, 2020, 1291:169-172.
- [22] CHOI H J, KANEKO S, YOKOGAWA M, *et al.* Population and genetic status of a critically endangered species in Korea, *Euchresta japonica* (Leguminosae), and their implications for conservation[J]. Journal of Plant Biology, 2013, 56(4):251-257.
- [23] ITO T, KANEKO S, YOKOGAWA M, *et al.* Isolation and characterization of microsatellite markers for *Hydrangea luteovenosa* (Hydrangeaceae), an endangered species in Korea [J]. Korean Journal of Plant Taxonomy, 2013, 43(1):30-33.
- [24] CHOI H J, ITO T, YOKOGAWA M, *et al.* Population and genetic status of a critically endangered species in Korea: *Hydrangea luteovenosa* (Hydrangeaceae) [J]. Korean Journal of Plant Taxonomy, 2017, 47(1):1-5.
- [25] 彭继庆, 徐志高, 曹福祥, 等. 绣球和圆锥绣球品种遗传多样性 ISSR 研究[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(7):18-22. PENG J Q, XU Z G, CAO F X, *et al.* Study on genetic diversity of varieties of *Hydrangea macrophylla* and *Hydrangea paniculata* by ISSR markers [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2017, 45(7):18-22. (in Chinese)
- [26] 彭继庆, 曹福祥, 曹基武, 等. 绣球花品种遗传多样性的 ISSR 分析及指纹图谱构建[J]. 中南林业科技大学学报, 2016, 36(12):115-120. PENG J Q, CAO F X, CAO J W, *et al.* Genetic diversity and fingerprint construction of varieties of *Hydrangea macrophylla* by ISSR markers [J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology, 2016, 36(12):115-120. (in Chinese)
- [27] UEMACHI T, MIZUHARA Y, DEGUCHI K, *et al.* Phylogenetic relationship of *Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser. and *H. serrata* (Thunb.) Ser. evaluated using RAPD markers and plastid DNA sequences [J]. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 2014, CH-092.
- [28] LAMBERT C, BERTRAND H, LALLEMAND J, *et al.* Characterisation of a collection of *Hydrangea macrophylla* using isoenzyme analysis [J]. Acta Hort., 2000, 50(8):295-296.
- [29] BERTRAND H. Management and knowledge of the *Hydrangea* collection of Angers. Morphological characters and data-analysis [C]//Angers, France. Nineteenth international symposium on improvement of ornamental plants 508, 1998:173-178.
- [30] SUKHIKH N, MALYAROVSKAYA V, KAMIONSKAYA A, *et al.* Genetic variation in *Hydrangea macrophylla* (thunb.) ser. in Russia based on simple sequence repeat markers [J]. Bangladesh J. Bot., 2018, 47(4):937-943.
- [31] REED S M, RINEHART T A. Simple sequence repeat marker analysis of genetic relationships within *Hydrangea macrophylla* [J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 2007, 132(3):341-351.
- [32] WU X B, ALEXANDER L W. Genetic diversity and population structure analysis of bigleaf *Hydrangea* using genotyping-by-sequencing [J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 2019, 144(4):257-263.
- [33] GELDEREN C J, GELDEREN D M. Encyclopedia of hydrangeas [M]. Portland: Timber Press, 2004:57.
- [34] SONG Q, LI H, ZHANG D. Genetic relatedness of *Hydrangea macrophylla* clones using ISSR markers [J]. III International Symposium on Germplasm of Ornamentals, 2020, 1291:45-54.
- [35] REED S M, JONES K D, RINEHART T A. Production and characterization of intergeneric hybrids between *Dichroa febrifuga* and *Hydrangea macrophylla* [J]. Journal of the American Society for

- Horticultural Science, 2008, 133(1): 84-91.
- [36] KARDOS J H, ROBACKER C D, DIRR M A, *et al.* Production and verification of *Hydrangea macrophylla* × *H. angustipetala* hybrids[J]. HortScience, 2009, 44(6): 1534-1537.
- [37] KUDO N, NIIMI Y. Production of interspecific hybrids between *Hydrangea macrophylla* f. hortensia (Lam.) Rehd. and *H. arborescens* L. [J]. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 1999, 68(2): 428-439.
- [38] KUDO N, NIIMI Y. Production of interspecific hybrid plants through cotyledonary segment culture of embryos derived from crosses between *Hydrangea macrophylla* f. hortensia (Lam.) Rehd. and *H. arborescens* L. [J]. Engei Gakkai Zasshi, 1999, 68(4): 803-809.
- [39] KUDO N, MATSUI Y, OKADA T. A novel interspecific hybrid plant between *Hydrangea scandens* ssp. *chinensis* and *H. macrophylla* via ovule culture[J]. Plant Biotechnology, 2008, 25(6): 529-533.
- [40] REED S M, RIEDEL G L, POOLER M R. Verification and establishment of *Hydrangea macrophylla* 'Kardinal' × *H. paniculata* brussels lace' interspecific hybrids[J]. Journal of Environmental Horticulture, 2001, 19(2): 85-88.
- [41] RINEHART T A, SCHEFFLER B, REED S M. Estimating genetic diversity within the *Hydrangea* genus using molecular markers[C]. Atlanta, GA USA. Southern Nurserymen's Association Research Conference, 2005, 50: 654-657.
- [42] JONES K D, REED S M. Production and verification of *Hydrangea arborescens* 'Dardom' × *H. involucrata* hybrids[J]. HortScience, 2006, 41(3): 564-566.
- [43] CAI M, WANG K, LUO L, *et al.* Production of interspecific hybrids between *Hydrangea macrophylla* and *Hydrangea arborescens* via ovary culture[J]. HortScience, 2015, 50(12): 1765-1769.
- [44] WIEDEMANN M, MEINL K, SAMAIN M S, *et al.* Intergeneric hybrids between species of *Hydrangea* and *Dichroa*—their germination in vivo and in vitro and molecular verification by RAPD analysis[C] Melle (Belgium). MXXV International EUCARPIA Symposium Section Ornamentals: Crossing Borders 1087, 2015: 333-338.
- [45] CREPEL L, GALOPIN P M. Architectural and genetic characterization of *Hydrangea aspera* subsp. *aspera* kawakami group, *H. aspera* subsp. *sargentiana* and their hybrids[J]. Euphytica, 2012, 184(3): 289-299.
- [46] RINEHART T, WADL P, STATON M. An update on *Hydrangea macrophylla* breeding targets and genomics[C]. Minneapolis, MN (United States of America) III International Symposium on Woody Ornamentals of the Temperate Zone 1191, 2016: 217-224.
- [47] WAKI T, KODAMA M, AKUTSU M, *et al.* Development of DNA markers linked to double-flower and hortensia traits in *Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser[J]. The Horticulture Journal, 2018, 87(2): 264-273.
- [48] TRÄNKNER C, KRUGER J, WANKE S, *et al.* Rapid identification of inflorescence type markers by genotyping-by-sequencing of diploid and triploid F1 plants of *Hydrangea macrophylla*[J]. BMC Genetics, 2019, 20(1): 1-12.
- [49] WU X, ALEXANDER L W. Genome-wide association studies for inflorescence type and remontancy in *Hydrangea macrophylla*[J]. Horticulture Research, 2020, 7(1): 1-9.
- [50] NASHIMA K, SHIRASAWA K, GHELFI A, *et al.* Genome sequence of *Hydrangea macrophylla* and its application in analysis of the double flower phenotype[J]. DNA Research, 2021, 28(1): dsaa026.
- [51] WU X, HULSE-KEMP A M, WADL P A, *et al.* Genomic resource development for hydrangea (*Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser.)—a transcriptome assembly and a high-density genetic linkage map[J]. Horticulturae, 2021, 7(2): 25.
- [52] ANAYA-COVARRUBIAS J Y, LARRANAGA N, ALMARÁZ-ABARCA N, *et al.* Hydrangea DNA methylation caused by pH substrate changes to modify sepal colour is detected by MSAP and ISSR markers[J]. Agronomy, 2019, 9(12): 871.
- [53] UEMACHI T, KATO Y, NISHIO T. Comparison of decorative and non-decorative flowers in *Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser [J]. Scientia Horticulturae, 2004, 102(3): 325-334.
- [54] UEMACHI T, OKUMURA A. The inheritance of inflorescence types in *Hydrangea macrophylla*[J]. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 2012, 81(3): 263-268.
- [55] SUYAMA T, TANIGAWA T, YAMADA A, *et al.* Inheritance of the double-flowered trait in decorative *Hydrangea* flowers[J]. The Horticulture Journal, 2015, 84(2): 140-147.