

栽培花生品种间 SSR 标记多态性及特征分析

侯名语^{1,2}, 杨鑫雷¹, 郭慧敏¹, 穆国俊¹, 刘立峰¹

(1. 华北作物种质资源教育部重点实验室, 河北省作物种质资源重点实验室, 河北 保定 071001;

2. 河北农业大学 生命科学学院, 河北 保定 071001)

摘要:通过筛选栽培花生间具有多态性的 SSR, 分析总结多态性 SSR 的特征, 旨在选择性利用 SSR 标记, 推动栽培花生遗传图谱构建、相关农艺性状的 QTL 定位和分子标记辅助育种进程。以秦皇岛光秧、石腰豆、印度窄叶、抗 019、四粒红和黑花生 6 个不同植物学类型的中国栽培种花生为材料, 选用不同设计类型的 1 523 个 SSR 标记筛选品种间多态性 SSR, 并对其扩增片段长度、重复基序、重复次数等进行分析。结果表明, 1 523 个标记中, 筛选获得 43 对多态性 SSR 标记, 产生 123 个多态性标记位点, 多态性标记数占 2.8%。43 对多态性 SSR 标记中, 以 ARS×× 的多态性最高, 在 6 个品种中多态率达 6.8%。统计各种质间具多态性的 SSR, 其中石腰豆与四粒红间多态性最高, 共筛选到 56 个多态性标记位点; 秦皇岛光秧与印度窄叶间多态率最低, 筛选到 21 个多态性标记位点。在 123 个多态性 SSR 标记位点中, 80% 多态性 SSR 位点片段长度为 150~300 bp; 18.8% 多态标记的重复基序为 GA, 其次为 AG、TC, 分别占 12.5%, 12.5%; 多态标记中二核苷酸、三核苷酸重复基序的重复次数在 15 次以上的占 60%。

关键词:花生; SSR; 多态性; 特征

中图分类号: S565.03 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7091(2015)02-0183-08

doi: 10.7668/hbxb.2015.02.032

Identification and Characterization of Polymorphic SSR in Cultivated Peanut

HOU Ming-yu^{1,2}, YANG Xin-lei¹, GUO Hui-min¹, MU Guo-jun¹, LIU Li-feng¹

(1. Laboratory of Crop Germplasm Resources for Northern China, Ministry of Education, Key

Laboratory of Crop Germplasm Resources of Hebei Province, Baoding 071001, China;

2. College of Life Sciences, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, China)

Abstract: Through screening polymorphic SSRs and analyzing its characteristic, it is anticipated that the identified set of highly informative markers should be very useful to initiate constructing SSR genetic linkage map, QTL research, and molecular assistant breeding studies in cultivated groundnut. A total of 1 523 markers designed by different methods were used to screen for polymorphism in 6 peanut accessions with different botanical types, and the characteristics of polymorphic SSR were analyzed in the aspect of amplified fragment length, repeat motif, and repeat number. The result showed that only 43 (2.8%) pairs of markers with 123 polymorphic loci expressed polymorphism. Among the 43 polymorphic SSRs, ARS×× showed the highest polymorphic rate (6.8%). For the combination examined, Shiyadoudou and Silihong were the highest with polymorphic loci of 56, while Qinhuangdaoguangyang and Yinduzhaiye were the lowest with polymorphic loci of 21. Fragment length of 80% polymorphic loci were between 150 bp and 300 bp; GA motif (18.8%) was the most abundant, followed by AG (12.5%) and TC (12.5%); the repeat number of 60% of di-nucleotide and tri-nucleotide motif was over 15.

Key words: Peanut; SSR; Polymorphism; Characteristic

花生 (*Arachis hypogaea* L.) 是世界第五大油料作物。产量、品质、抗逆等性状大多数属于数量性

状。单纯利用表型鉴定数量性状费时费力, 且选择效率低, 而利用分子标记进行分子标记辅助选择将

收稿日期: 2014-12-09

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项基金项目 (CARS-14); 河北科技支撑计划项目 (11220109D); 河北省高等学校科学研究重点项目 (ZD2010136)

作者简介: 侯名语 (1976-), 女, 河北徐水人, 实验师, 在读博士, 主要从事花生遗传育种研究。

通讯作者: 刘立峰 (1966-), 男, 河北宁晋人, 教授, 博士, 主要从事花生基因组学与分子育种研究。

加快花生的育种进程。

中国栽培花生分为 2 个亚种,即密枝亚种(*ssp. hypogaea*,交替开花类群)和疏枝亚种(*ssp. fastigiata*,连续开花类群),前者包括普通型(*var. hypogaea*)和龙生型(*var. hirsuta*)2 个变种,后者包括多粒型(*var. fastigiata*)、珍珠豆型(*var. vulgaris*)、秘鲁变种(*var. peruviana*)和赤道变种(*var. aequatoriana*)4 个变种^[1]。各变种之间在表型上具有很大差异,但在基因组 DNA 水平上检测到的差异却很小。花生分子标记研究结果也表明,SSR 比 RFLP、RAPD 等标记的多态性更高、应用更广泛^[2]。

目前,花生上已开发了近万个 SSR,利用 SSR 构建了多张栽培花生遗传群体的遗传连锁图谱^[3]。各连锁图亲本间 SSR 多态性研究结果表明,栽培花生间变异远小于野生花生种^[4-7],例如,在 AA 基因组的 K7988 (*A. duranensis*) 与 V10309 (*A. stenosperma*) 两亲本间的多态性为 46.8%^[4],而在栽培花生的两亲本间多态性低至 2.46%^[5]。Qin 等^[6]选用 4 576 个 SSR 标记构建栽培花生遗传连锁图,在 Tifrunner 与 GT-C20 两亲本构建的 RIL 群体上,只有 216 个标记,即 5.7% 的标记定位到连锁图上。栽培花生间多态性 SSR 量少,是构建遗传连锁图、QTL 定位及分子辅助育种研究的限制步骤。如对已开发的近万个 SSR 进行多态性的特点分析,有针对性地应用到栽培花生品种的鉴定上,可以省去不必要的物力、人力。Zhao 等^[7]将花生上已开发的 9 274 个 SSR 标记进行统计整理后发现,在 8 个栽培花生种质中 1 343 个 SSR 标记具多态性,比率为 14.5%。Pandey 等^[8]分析了 4 485 个 SSR 在 20 个种质的 15 个组合中的多态性,筛选到 946 个高多态信息含量的 SSR,多态比率为 21.1%。其中,双核苷酸基序的 SSR 具有较高的多态性信息含量(Polymorphism information content, PIC),检测到的位点数高于其他类型的 SSR。Boontang 等^[9]研究 4 个花生种质抗旱性相关 SSR 时,在已开发的 SSR 标记中重点选择抗性相关的标记,所选标记中 48.9% 的 SSR 具有多态性,提高了 SSR 的筛选效率。花生 SSR 标记随着分子标记技术的发展,其数量呈现与日俱增的态势,对其选择性的应用将成为栽培种花生分子标记辅助育种的研究重点。本研究以 6 个具不同生态型的栽培花生为材料,分析统计组合间 SSR 标记的多态性信息含量,并对多态性 SSR 的类型、重复基序和重复次数等方面进行分析,旨在明确栽培种花生间多态性 SSR 标记的设计类型和特征,进而推动栽培种花生遗传图谱构建、相关农艺性状的 QTL

定位和分子标记辅助育种进程。

1 材料和方法

1.1 试验材料

选用河北农业大学花生育种室提供的 6 个栽培花生品种为材料,分别为:秦皇岛光秧(普通型, *var. hypogaea*)、石腰豆(多粒型, *var. fastigiata*)、四粒红(珍珠豆型, *var. vulgaris*)、印度窄叶(普通型, *var. hypogaea*)、抗 019(中间型)与黑花生(中间型)。2012 年 5 月,挑选上述 6 个花生品种的饱满种子,单粒播种于带蛭石的营养钵,加 MS 营养液培养,置于 26 ℃ 光照培养箱,光照 14 h,黑暗 10 h 培养。

1.2 DNA 提取

取花生植株的新叶,提取 DNA。提取方法和 PCR 扩增过程采用崔顺立等^[10]方法进行。

1.3 SSR 引物筛选

试验所用 SSR 引物来自公开发表的 SSR 引物序列,根据引物公开发表文章^[4,11-23]上的多态性及出带情况,选择出带及多态性高的 SSR,标记名称根据 Zhao 等^[7]的方法统一命名。由上海生物工程公司合成。

1.4 数据分析

将电泳图谱上每个品种清晰可见且重复出现的条带记为“1”,同一位置无带记为“0”,建立原始矩阵,统计每 2 个品种间具有多态性的 SSR 位点,利用 Excel 统计其扩增片段长度、重复序列。利用 NT-SYS2.11a 聚类分析软件对 6 个栽培品种进行聚类分析。

2 结果与分析

2.1 六个种质间多态性 SSR 标记

各类型标记在 6 个种质间多态性的鉴定结果见表 1。1 523 个标记中,有 270 个未扩增出有效条带,占 17.7%。无效条带百分率最高的是 Genomic-SSR 中的 Ag × ×,11 个 Ag × × 中 7 个不能扩增出有效条带,百分率为 63.6%。其次是 Genomic-SSR 中的 Ap × ×,无效条带的百分率为 60%。其他标记的无效条带百分率为 0 ~ 38.7%, Genomic-SSR 中 IPAHM × ×、PMc × ×、PM × ×、Ah × ×、seq × ×、S × × 等标记的无有效条带百分率分别为 38.7%, 36.4%, 27.1%, 20.7%, 9.5%, 8.9%。EST-SSR 中的 GM × ×、AHBGS × ×、TC × ×、gi × ×、AC × ×、RM × × 等标记的无效条带百分率分别为 25.5%, 20.8%, 8.6%, 5.1%, 4.2%, 2.9%。Transposon-SSR 中 AhTE × × 及不知类型的 ARS × × 等标记的无效条带

百分率分别为 3.5%、15.3%。Genomic-SSR 中的 Ad ××、Ai ××、ML ××、Ah3TC ××、GA ×× 及 EST-SSR 中的 EE ××、EM ××、RI ××、RN ××，与豆类标记 Lec-1 等标记在 6 个种质间均能扩增出有效条带，即无不出条带现象。

1 253 个 SSR 标记能在 6 个种质间扩增出有效条带(表 1)，具有多态性的标记共计 43 个，多态性百分率为 2.8%，多态性标记位点为 123 个；包括 17 个 Genomic-SSR、16 个 EST-SSR、5 个转座子-SSR、4 个不知类型的 ARS ×× 及 1 个豆类标记 Lec-1。即 827 个 Genomic-SSR、550 个 EST-SSR、86 个转座子-SSR、59 个 ARS ×× 标记中的多态标记比率分别为 2.1%、2.9%、5.8%、6.8%；Lec-1 在 6 个中国栽培花生种质中具有多态性。多态性百分率最高的为不知类型的 ARS ×× 标记，达 6.8%；其次是转座子-

SSR 的 AhTE ××，多态性百分率为 5.8%。Genomic-SSR 中多态性百分率最高的为 GA ××，达 6.3%，仅次于 ARS ××。seq ××、Ap ××、S ××、Ah3TC ××、Ah ××、PM ××、IPAHM ×× 等其他 Genomic-SSR 的多态性百分率分别为 3.4%、3.3%、2.4%、2.2%、1.8%、1.2%、0.8%。EST-SSR 中多态性百分率最高的为 EE ×× 和 EM ××，达 5%。TC ××、AHBGS ××、RN ××、RM ××、gi ××、GM ×× 等其他 EST-SSR 的多态性百分率分别为 4.8%、3.8%、2.9%、2.9%、2.6%、2.4%。在 Genomic-SSR 中的 Ad ××、Ag ××、Ai ××、ML ××、PMc ×× 及 EST-SSR 中的 AC ×× 与 RI ×× 等标记中未筛选到多态性标记。今后中国栽培花生分子育种研究选用 SSR 时，可重点考虑 ARS ××、AhTE ××、GA ××、EE ××、EM ××、TC ××、AHBGS ×× 等标记。

表 1 SSR 标记来源及在 6 个栽培花生种质中的多态性

Tab.1 Source and polymorphism of SSR markers in 6 peanut accessions

标记名称 Marker name (prefix)	Genomic-SSR	EST-SSR	其他 Other-SSR	无带标记数目 (百分率/%) Number of markers unamplified	多态标记数目 (百分率/%) Number of polymorphic markers	标记来源 Source of markers
AC ××		24		1(4.2)	0(0)	[4]
Ad ××	4			0(0)	0(0)	[11]
Ag ××	11			7(63.6)	0(0)	[13]
Ah ××	111			23(20.7)	2(1.8)	[13~15]
Ah3TC ××	45			0(0)	1(2.2)	[16]
AHBGS ××		53		11(20.8)	2(3.8)	[17]
AhTE ××			86*	3(3.5)	5(5.8)	[12]
Ai ××	2			0(0)	0(0)	[17]
Ap ××	30			18(60.0)	1(3.3)	[17]
ARS ××			59**	9(15.3)	4(6.8)	[11]
EE ××、EM ××		20		0(0)	1(5.0)	[18]
GA ××	16			0(0)	1(6.3)	[11]
gi ××		39		2(5.1)	1(2.6)	[4]
GM ××		165		42(25.5)	4(2.4)	[11]
IPAHM ××	238			92(38.7)	2(0.8)	[19]
Lec-1			1	0(0)	1(100.0)	[14]
ML ××	4			0(0)	0(0)	[4]
PM ××	85			23(27.1)	1(1.2)	[14]
PMc ××	11			4(36.4)	0(0)	[20]
RM ××		35		1(2.9)	1(2.9)	[21]
RI ××		5		0(0)	0(0)	[4]
RN ××		104		0(0)	3(2.9)	[4]
seq ××	147			14(9.5)	5(3.4)	[22]
S ××	123			11(8.9)	3(2.4)	[23]
TC ××		105		9(8.6)	5(4.8)	[4]
总计 Total	827	550	146	270(17.7)	43(2.8)	

注：* . 转座子-SSR；** . 未知类型。
Note：* . Transposon-SSR；** . Unknown type.

2.2 各种质间多态性 SSR

利用 2.1 结果中的 123 个多态标记位点对 6 个种质进行聚类分析(图 1),结果表明,多粒型石腰豆与各种质间的遗传差异最大。同为普通型的秦皇岛光秧与普通型的印度窄叶之间遗传相似度最高,相似系数为 0.86。中间型的黑花生与普通型的秦皇岛光秧、印度窄叶间遗传相似度高,相似系数为 0.815。中间型抗 019 靠近珍珠豆型种质。相应地,

与多粒型种质石腰豆相关组合的多态性 SSR 位点高于其他种质间组合(表 2),平均达 47 个多态性位点;其次是珍珠豆型种质四粒红,与其他 5 个种质间组合的多态性位点平均为 42 个。秦皇岛光秧、黑花生与其他种质组合间的多态性 SSR 位点低,平均为 38。四粒红与石腰豆组合间的多态性位点最多,达 56 个。遗传差异最小的秦皇岛光秧与印度窄叶间的多态性位点最少,为 21 个。

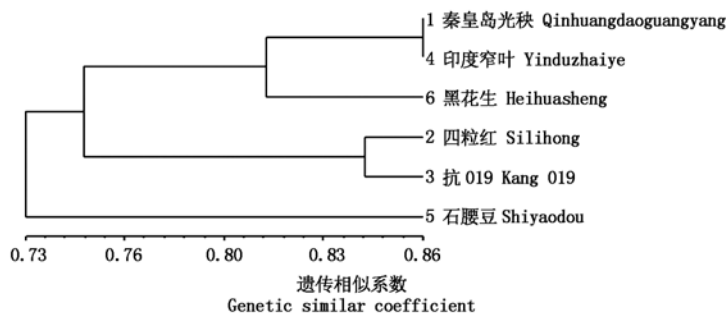


图 1 六个栽培花生种质聚类分析

Fig. 1 Cluster analysis of 6 cultivated peanut

表 2 不同花生种质组合间多态位点

Tab. 2 Distribution of polymorphic locus between peanut accessions

品种 Accession	秦皇岛光秧 Qinhuangdaoguangyang	四粒红 Silihong	抗 019 Kang 019	印度窄叶 Yinduzhaiye	石腰豆 Shiyadou	黑花生 Heihuasheng
四粒红 Silihong	45					
抗 019 Kang 019	48	27				
印度窄叶 Yinduzhaiye	21	46	45			
石腰豆 Shiyadou	45	56	47	44		
黑花生 Heihuasheng	31	36	35	44	44	
平均 Average	38	42	40	40	47	38

2.3 多态性 SSR 的特征

对 6 个种质间 123 个多态性标记位点的扩增片段长度进行分析(图 2),123 个多态位点片段长度为 100~600 bp。扩增片段在 150,200 bp 处的多态位点分别有 38,32 个,两者占总数的 57%。分布在 250,300 bp 处的扩增片段分别为 13,15 个,两者占总数的 23%。在 100,350,400,500,600,450 bp 处分别有 7,7,4,4,2,1 个多态位点。共计 98 个多态

性 SSR 位点的片段长度为 150~300 bp,占 80%。仅有 15% 多态位点的扩增片段长度在 350 bp 以上。

6 个种质间 43 个多态性 SSR 中,除 Ah4-101、ARS××及 AhTE××外,共有 33 个能在文献中对应到重复基序及重复次数,对其重复基序进行分析(图 3)。56.3% 的 SSR 属于二核苷酸重复基序,其中 GA 重复基序占比例最高,为总数的 18.8%;其次为 AG、TC,各占总数的 12.5%;AT 重复基序仅占总数的 3.1%。三核苷酸重复基序中,TAA、CAA 占比例最大,各占 9.4%;CTT、GAG、GCC 等其他三核苷酸重复基序共占总数的 9.3%,各占 3.1%。即 84.4% 的多态 SSR 为二核苷酸、三核苷酸重复基序。AGAA、(CA)(TA)³、TATG/AT、(TC)TT(TC)TT(TC)、(TG)(AG)等四核苷酸及混合重复基序共占 15.5%,各占 3.1%。

在上述 33 个多态 SSR 重复基序中,二核苷酸、三核苷酸重复基序共有 25 个,对其重复次数进行分析(图 4)。25 个多态 SSR 重复基序的重复次数为 5~32 次。重复 10,19 次的基序所占比例最大,各

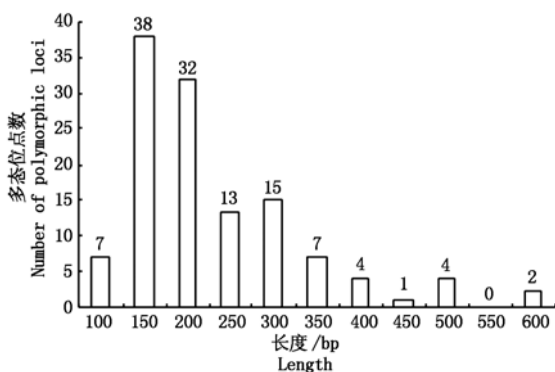
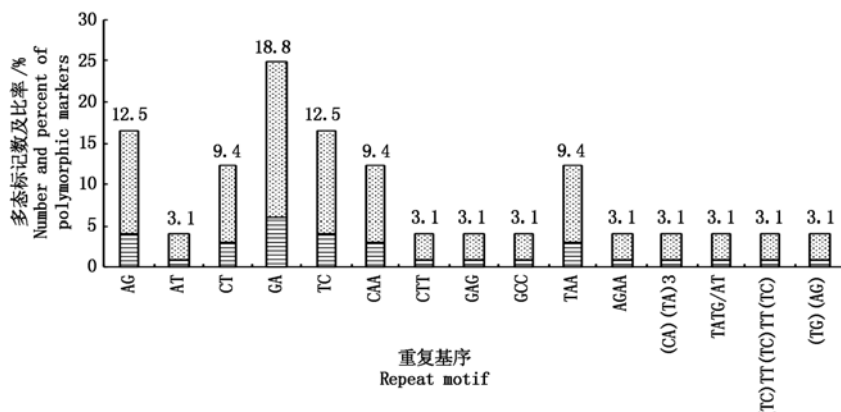


图 2 多态标记位点的长度分布

Fig. 2 Fragment length of polymorphic locus

占 12% ;其次,重复 7,8,18,23,32 次的基序各占 8%。重复次数在 15 次以上的占 60%。三核苷酸基序中 55.5% 的重复次数为 5~10 次,44.4% 的重复次数为 18~29 次。二核苷酸重复基序的重复次

数为 7~32 次,重复 10,19,32 次的基序所占比例最大,各占 12.5% ;重复次数在 15 次以上的二核苷酸重复基序为 69.4% ,12 次以下的二核苷酸重复基序为 30.4%。

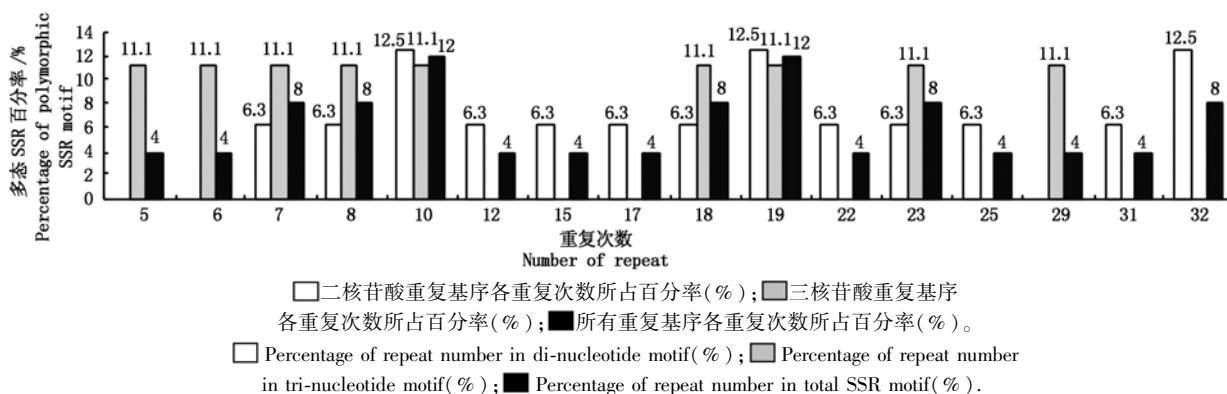


多态标记中各重复基序的数目;多态标记中各重复基序的百分率(%)。

Number of repeat motif in polymorphic markers; Percentage of repeat motif in polymorphic markers(%)。

图 3 多态标记中重复基序的分布

Fig. 3 Distribution of repeat motif in polymorphic markers



二核苷酸重复基序各重复次数所占百分率(%) ;三核苷酸重复基序各重复次数所占百分率(%) ;所有重复基序各重复次数所占百分率(%)。

Percentage of repeat number in di-nucleotide motif(%) ; Percentage of repeat number in tri-nucleotide motif(%) ; Percentage of repeat number in total SSR motif(%)。

图 4 多态 SSR 重复基序与重复次数的关系

Fig. 4 Relationship between number of repeat and polymorphic SSR motif

3 结论与讨论

本研究选用了 4 种具不同植物学类型的栽培种花生为材料,对其多态性 SSR 的特征分析后发现 1 523 个标记在 6 种质间的多态比率为 2.8% ,低于 Zhao 等^[7]、Pandey 等^[8] 研究结果(14.5% ,21.1%),但与 Zhao 等^[7] 及 Pandey 等^[8] 的研究材料不仅具有不同的生态型,且来源于不同的国家。本研究在种质间 SSR 多态率、SSR 类型、SSR 基序、重复次数等方面试验结果反映了中国栽培花生中多态 SSR 的特征。

种质间的等位位点差异是影响 SSR 多态率的重要因素。本研究利用 SSR 对 6 个种质聚类的结果表明,多粒型栽培花生石腰豆与其他 3 种植物学类型的栽培花生间具有较远的遗传距离。姜慧芳等^[24-27] 在比较中国核心种质与 ICRISAT 核心种质

的遗传分化程度时,多粒型与其他几种生态型间的遗传相似系数小。今后利用中国栽培花生构建遗传连锁图群体时,可将多粒型种质作为亲本之一,以提高亲本间 SSR 多态率,有助于构建高密度花生 SSR 连锁图谱进行 QTL 定位。

SSR 类型不同,在栽培花生间的多态率不同。EST 所处区域为基因转录区,在各种间比较保守,理论上,由 EST 开发的 SSR 在种间的多态性比 Genomic-SSR 低。水稻、小麦、甘蔗、大豆^[28-32] 中的研究结果证实了这一点。花生上有 Genomic-SSR 比 EST-SSR 多态率高的研究结果。在 Varshney 等^[33] 建立的第一张栽培花生的遗传连锁图中,Proite 等^[21] 开发的 EST-SSR 在亲本 ICGV86031、TAG24 间的多态性比例是 7.5% ,低于 Genomic-SSR 的多态性比例。Liang 等^[34] 的研究结果也支持此观点。Zhao 等^[7] 对 9 274 个 SSR 在 8 个花生种质中的多态性进行分

析,结果表明,EST-SSR 多态性比 Genomic-SSR 低。而 Moretzsohn 等^[17]利用开发的 Genomic-SSR 与 EST-SSR 在 *A. duranensis* 和 *A. stenosperma* 花生种中的研究结果显示,两者的多态性相当。但也有研究结果表明,EST-SSR 比 Genomic-SSR 多态率高。Qin 等^[6]利用 BAC 文库开发的 SSR 检测 Tifrunner × GT-C20、SunOleic 97R × NC94022 这 2 对亲本间多态性,比例分别是 3.2%,2.1%,而开发的 EST-SSR 的多态性比例是 4.1%,2.9%,高于 BAC-SSR。Li 等^[35]利用已发表的 709 对 SSR 引物检测 16 个栽培花生种(12 个是美国栽培品种、4 个是中国栽培品种)间的多态性发现,Palmieri 从野生种 *A. pintoi* 开发的 Genomic-SSR 在 16 个栽培花生种间没有多态性,97 个 EST-SSR 引物中有 40 对在 16 个栽培种间显示多态性^[35]。本研究结果显示,EST-SSR 与 Genomic-SSR 的多态性比率分别为 2.9%,2.1%,差异不显著($P=0.29>0.05$),说明 EST-SSR 与 Genomic-SSR 在栽培花生种质中的多态率相当。由于 EST-SSR 为基因转录区的变异,结合 EST 的功能,检测到的 QTL 位点更有助于解释目标性状变异的分子、生化机理,也利于功能标记的开发应用,此方面的研究在中国栽培花生上已有相关报道^[36]。EST-SSR 在花生上的应用研究有待大力发展。

转座子为一经常变化位置的序列,易发生突变,在种间具有丰富的多态性,Mondal 等^[37]在栽培花生中鉴定到与叶锈抗性 QTL 的转座子 SSR。除 Genomic-SSR、EST-SSR 外,本研究选用了 86 个转座子引物,其多态比率仅次于 ARS × ×、GA × ×。根据转座子开发的 SSR 在栽培花生上的应用有待深入研究。

栽培花生间多态 SSR 具有一些典型特征及独特的特点。在真核生物基因组中,各 SSR 重复基序在不同的生物种中的丰富度不同。在双子叶植物中,ATT 是含量最为丰富的重复基序,其次是 GA、AT、CTT、GT,例如大豆、番茄、松树^[38]。花生中的多项研究结果表明,GA 是多态性信息含量最高的重复基序^[4,22,35]。与已有研究报道结果类似,本研究结果表明,84.4% 的多态 SSR 为二核苷酸、三核苷酸重复基序,GA 重复基序的 SSR 在 6 个中国栽培花生种质中变异大,多态率最高。另外,基序的重复次数影响标记的多态性。在基因组 DNA 中,SSR 基序随着重复次数增多,缺失、插入等突变几率增加,多态比率随之提高。许多研究表明,SSR 基序重复次数越多,即片段越长,多态信息含量越高^[39-42],但也有研究结果与此结论不同,两者之间无显著相

关^[43-45]。在花生研究中,Moretzsohn 等^[4,17]开发的 Genomic-SSR 在作图群体两亲本间的多态性结果显示两者无相关,但在 2 个野生种、6 个栽培种之间的多态性结果中,重复次数为 21~25 次的 SSR 比 5~10 次的高,表明 SSR 基序重复次数与多态信息含量成正相关^[4,17]。也有研究结果表明,花生 Genomic-SSR 重复长度与多态信息含量之间无显著相关^[22,46]。本研究多态 SSR 中二核苷酸基序重复次数在 15 次以上的占 69.1%。但重复次数一般在 32 次以下,多态位点的片段长度在 150~300 bp。根据前人研究及本试验结果,认为在中国栽培花生 SSR 研究中,GA 重复基序及重复次数在 10 次以上的 SSR 可作为优先选择重点。

综合本研究及已有研究报道,栽培花生上含有丰富的 SSR 位点,根据不同花生种质选择不同类型、不同特征的 SSR,加之 SSR 片段检测中荧光标记精确检测技术的发展,构建高密度的中国栽培花生 SSR 遗传连锁图及 SSR 标记辅助选择育种的难度将得到缓解。Hong 等^[47]、洪彦斌等^[48]、张新友等^[49]早在 2009、2012 年构建了中国栽培花生 SSR 遗传连锁图,总长分别为 885.4,586,504.18 cM。本研究对中国栽培花生中多态 SSR 的试验结果将为今后我国花生育种中 SSR 的选择利用提供依据。

参考文献:

- [1] 孙大容. 花生育种学[M]. 北京:中国农业出版社,1998:21.
- [2] Gautami B, Ravi K, Narasu M L, et al. Novel set of groundnut SSR markers for germplasm analysis and interspecific transferability[J]. International Journal of Integrative Biology, 2009, 7(2): 100-106.
- [3] Guo B Z, Pandey M K, He G H, et al. Recent advances in molecular genetic linkage maps of cultivated peanut[J]. Peanut Science, 2013, 40: 95-106.
- [4] Moretzsohn M C, Leoi L, Proite K, et al. A microsatellite-based, gene-rich linkage map for the AA genome of *Arachis* (Fabaceae) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2005, 111(6): 1060-1071.
- [5] Ravi K, Vadez V, Isobe S, et al. Identification of several small main-effect QTLs and a large number of epistatic QTLs for drought tolerance related traits in groundnut (*Arachis hypogaea* L.) [J]. Theor Appl Genet, 2011, 122: 1119-1132.
- [6] Qin H D, Feng S P, Chen C, et al. An integrated genetic linkage map of cultivated peanut (*Arachis hypogaea* L.) constructed from two RIL populations[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2012, 124(4): 653-664.

- [7] Zhao Y L, Prakash C S, He G H. Characterization and compilation of polymorphic simple sequence repeat (SSR) markers of peanut from public database[J]. BMC Research Notes, 2012, 5: 362.
- [8] Pandey M K, Gautami B, Jayakumar T A, et al. Highly informative genic and genomic SSR markers to facilitate molecular breeding in cultivated groundnut (*Arachis hypogaea* L.) [J]. Plant Breeding, 2012, 131 (1): 139 – 147.
- [9] Boontang S, Tantisuwichwong N, Jogloy S, et al. Simple sequence repeat (SSR)-based genetic variability among peanut genotypes different in specific leaf weight and relative water content[J]. African Journal of Biotechnology, 2013, 12(26): 4053 – 4064.
- [10] 崔顺立, 刘立峰, 陈焕英, 等. 河北省花生地方品种基于 SSR 标记的遗传多样性[J]. 中国农业科学, 2009, 42(9): 3346 – 3353.
- [11] Gautami B, Foncéka D, Pandey M K, et al. An international reference consensus genetic map with 897 marker loci based on 11 mapping populations for tetraploid groundnut (*Arachis hypogaea* L.) [J]. PLoS One, 2012, 7(7): 1 – 11.
- [12] Shirasawa K, Koilkonda P, Aoki K, et al. Sin silico polymorphism analysis for the development of simple sequence repeat and transposon markers and construction of linkage map in cultivated peanut[J]. BMC Plant Biology, 2012, 12: 80.
- [13] Gimenes M A, Hoshino A A, Barbosa A V, et al. Characterization and transferability of microsatellite markers of the cultivated peanut (*Arachis hypogaea*) [J]. BMC Plant Biology, 2007, 7: 9.
- [14] Hopkins M S, Casa A M, Wang T, et al. Discovery and characterization of polymorphic simple sequence repeats (SSRs) in peanut[J]. Crop Sci, 1999, 39: 1243 – 1247.
- [15] Moretzsohn M C, Hopkins M S, Mitchell S E, et al. Genetic diversity of peanut (*Arachis hypogaea* L.) and its wild relatives based on the analysis of hypervariable regions of the genome[J]. BMC Plant Biology, 2004, 4: 11.
- [16] Macedo S E, Moretzsohn M C, Leal-Bertioli S C M, et al. Development and characterization of highly polymorphic long TC repeat microsatellite markers for genetic analysis of peanut[J]. BMC Research Notes, 2012, 5: 86.
- [17] Moretzsohn M C, Barbosa A V G, Alves-freitas D M T, et al. A linkage map for the B-genome of *Arachis* (Fabaceae) and its synteny to the A-genome[J]. BMC Plant Biology, 2009, 9: 40.
- [18] Guo B Z, Chen X P, Hong Y B, et al. Analysis of gene expression profiles in leaf tissues of cultivated peanuts and development of EST-SSR markers and gene discovery[J]. Intl J Plant Genomics, 2009: 1 – 14.
- [19] Cuc L M, Mace E S, Crouch J H, et al. Isolation and characterization of novel microsatellite markers and their application for diversity assessment in cultivated groundnut (*Arachis hypogaea* L.) [J]. BMC Plant Biology, 2008, 8: 55.
- [20] He G H, Meng R H, Newman M, et al. Microsatellites as DNA markers in cultivated peanut (*Arachis hypogaea* L.) [J]. BMC Plant Biology, 2003, 3: 3.
- [21] Proite K, Leal-Bertioli S C M, Bertioli D J, et al. ESTs from a wild *Arachis* species for gene discovery and marker development[J]. BMC Plant Biology, 2007, 7: 7.
- [22] Ferguson M E, Burow M D, Schulze S R, et al. Microsatellite identification and characterization in peanut (*A. hypogaea* L.) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2004, 108: 1064 – 1070.
- [23] Wang C T, Yang X D, Chen D X, et al. Isolation of simple sequence repeats from groundnut [J]. Electronic Journal of Biotechnology, 2007, 10(3): 473 – 480.
- [24] 姜慧芳, 任小平, 张晓杰, 等. 中国花生小核心种质与 ICRISAT 微核心种质的 SSR 遗传多样性比较[J]. 作物学报, 2010, 36(7): 1084 – 1091.
- [25] 姜慧芳, 任小平, 张晓杰, 等. 中国花生小核心种质 SSR 遗传多样性[J]. 中国油料作物学报, 2010, 32(4): 472 – 478.
- [26] 姜慧芳, 任小平, 陈玉宁, 等. 中国花生地方品种与育成品种的遗传多样性[J]. 西北植物学报, 2011, 31(8): 1551 – 1559.
- [27] 任小平, 张晓杰, 廖伯寿, 等. ICRISAT 花生微核心种质资源 SSR 标记遗传多样性分析[J]. 中国农业科学, 2010, 43(14): 2848 – 2858.
- [28] Cho Y G, Ishii T, Temnykh S, et al. Diversity of microsatellites derived from genomic libraries and GenBank sequences in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2000, 100(5): 713 – 722.
- [29] Eujayl I, Sorrells M E, Baum M, et al. Isolation of EST-derived microsatellite markers for genotyping the A and B genomes of wheat[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2002, 104(2/3): 399 – 407.
- [30] Gupta P K, Rustgi S, Sharma S, et al. Transferable EST-SSR markers for the study of polymorphism and genetic diversity in bread wheat[J]. Molecular Genetics and Genomics, 2003, 270(4): 315 – 323.
- [31] Cordeiro G M, Casu R, McIntyre C L, et al. Microsatellite markers from sugarcane (*Saccharum* spp.) ESTs cross transferable to erianthus and sorghum[J]. Plant Science, 2001, 160(6): 1115 – 1123.
- [32] Song Q J, Marek L F, Shoemaker R C, et al. A new integrated genetic linkage map of the soybean[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2004, 109(1): 122 – 128.

- [33] Varshney R K, Bertoli D J, Moretzsohn M C, *et al.* The first SSR-based genetic linkage map for cultivated groundnut (*Arachis hypogaea* L.) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2009, 118(4): 729 – 739.
- [34] Liang X, Chen X, Hong Y, *et al.* Utility of EST-derived SSR in cultivated peanut (*Arachis hypogaea* L.) and *Arachis* wild species [J]. BMC Plant Biology, 2009, 35.
- [35] Li Y, Chen C Y, Knapp S J, *et al.* Characterization of simple sequence repeat (SSR) markers and genetic relationships within cultivated peanut (*Arachis hypogaea* L.) [J]. Peanut Science, 2011, 38: 1 – 10.
- [36] 胡宏霞, 穆国俊, 侯名语, 等. 河北省花生地方品种基于 EST-SSR 的遗传多样性及性状 – 标记相关分析 [J]. 植物遗传资源学报, 2013, 14(6): 1118 – 1123, 1129.
- [37] Mondal S, Hande P, Badigannavar A M. Identification of transposable element markers for a rust (*Puccinia arachidis* Speg.) resistance gene in cultivated peanut [J]. Journal of Phytopathology, 2014, 162(7–8): 548 – 552.
- [38] Wang Z, Weber J, Zhong G, *et al.* Survey of short tandem DNA repeats [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1994, 88: 1 – 6.
- [39] Weber J L. Informativeness of human (dC-dA)_n (dG-dT)_n polymorphisms [J]. Genomics, 1990, 7: 524 – 530.
- [40] Thomas M R, Scott N S. Microsatellite repeats in grapevine reveal DNA polymorphisms when analyzed as sequence-tagged sites (STSs) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1993, 86: 985 – 990.
- [41] Udupa S M, Robertson L D, Weigand F, *et al.* Allelic variation at (TAA)_n microsatellite loci in a world collection of chickpea (*Cicer arietinum* L.) germplasm [J]. Mol Gen Genet, 1999, 261: 354 – 363.
- [42] Burstin J, Deniot G, Potier J, *et al.* Microsatellite polymorphism in *Pisum sativum* [J]. Plant Breeding, 2001, 120(4): 311 – 317.
- [43] Love J, Knight A, McAleer M, *et al.* Towards construction of a high-resolution map of the mouse genome using PCR analyzed microsatellites [J]. Nucleic Acids Research, 1990, 18: 4123 – 4130.
- [44] Bell C, Ecker J. Assignment of 30 microsatellite loci to the linkage map of Arabidopsis [J]. Genomics, 1994, 19: 137 – 144.
- [45] Yu K, Park S, Poysa V. Abundance and variation of microsatellite DNA sequences in beans (*Phaseolus* and *Vigna*) [J]. Genome, 1999, 42: 27 – 34.
- [46] Cuc L M, Mace E S, Crouch J H, *et al.* Isolation and characterization of novel microsatellite markers and their application for diversity assessment in cultivated groundnut (*Arachis hypogaea* L.) [J]. BMC Plant Biology, 2008, 8: 55.
- [47] Hong Y B, Chen X P, Liang X Q, *et al.* A SSR-based composite genetic linkage map for the cultivated peanut (*Arachis hypogaea* L.) genome [J]. BMC Plant Biology, 2010, 10: 17. doi:10.1186/1471-2229-10-17.
- [48] 洪彦彬, 梁炫强, 陈小平, 等. 花生栽培种 SSR 遗传图谱的构建 [J]. 作物学报, 2009, 35(3): 395 – 402.
- [49] 张新友, 韩锁义, 徐 静, 等. 花生主要品质性状的 QTLs 定位分析 [J]. 中国油料作物学报, 2012, 34(3): 311 – 315.