

·专题介绍·

花生微卫星标记的研究进展

李孟军¹, 肖寒¹, 卢金东², 王兴军^{1*}

¹山东省农业科学院高新技术研究中心, 山东省作物与畜禽品种改良生物技术重点实验室, 济南 250100

²山东省农业科学院蔬菜研究所, 济南 250100

摘要 近年来花生微卫星标记的开发取得了一定的进展, 初步揭示了花生在DNA水平上的遗传多样性。花生微卫星标记的开发途径主要包括通过构建小片段基因组文库开发基因组SSR标记, 根据花生EST序列开发EST-SSR标记, 根据豆科植物序列信息和SSR标记开发花生SSR标记, 将SSR标记与其它分子标记结合开发新的DNA标记, 以及基于SSR核心序列开发ISSR标记。花生微卫星标记主要应用于遗传多样性研究、遗传图谱与品种指纹图谱构建以及分子标记辅助育种等领域。本文综述了花生SSR标记开发研究的进展及应用。

关键词 表达序列标签, 花生, 微卫星标记, 简单序列重复

李孟军, 肖寒, 卢金东, 王兴军 (2008). 花生微卫星标记的研究进展. 植物学通报 25, 373–380.

栽培花生(*Arachis hypogaea* L.)是异源四倍体($2n=4x=40$, AABB), 含有A和B 2个基因组。现有研究认为四倍体栽培种是由二倍体种*A. duranensis* (A genome)和*A. ipaënsis* (B genome)单一杂交后经染色体自发加倍而成(Kochert et al., 1996)。单一杂交起源、多倍化引起的生殖隔离和少数育种亲本的使用以及连续选择, 使栽培花生基因组高度保守, 遗传多样性非常有限(Young et al., 1996)。尽管栽培花生在形态性状上存在广泛的分化, 但这些形态多样性可能只是由少数基因引起的(Kochert et al., 1991)。了解栽培花生和野生花生的遗传多样性对花生种质的收集、保存和育种应用具有重要意义。

微卫星(microsatellite)或称简单序列重复(simple sequence repeats, SSR)或短串联重复(short tandem repeats, STR)或可变数串联重复(variable number tandem repeat, VNTR), 是指基因组中由2-6个核苷酸组成的基本单位多次重复所构成的一段DNA序列。微卫星分子标记主要有3种类型: SSR、ISSR(inter-simple sequence repeat)和SAMPL(selective amplification of

microsatellite polymorphic loci)。微卫星中重复单位的数目存在高度变异, 这些变异表现为微卫星数目的整倍性变异或重复单位序列中的序列有可能不完全相同, 因而造成多个位点的多态性, 称为简单序列长度多态性(simple sequence length polymorphism, SSLP)。SSR标记是目前最广泛使用的微卫星标记, 与其它分子标记相比, SSR标记具有以下优点: (1)数量丰富, 覆盖整个基因组, 揭示的多态性高; (2)具有多等位基因的特性, 提供的信息量高; (3)以孟德尔方式遗传, 呈共显性; (4)与RFLP、RAPD和AFLP等分子标记相比, 具有方法简便和重复性好等优点。SSR标记的不足之处主要在于SSR座位突变率高, 对变异反应非常敏感, 易受趋同变异引起的平行演化程度的影响, 给物种间亲缘关系的评估带来误差。

近年来, 花生微卫星标记数量有了显著增加(Hopkins et al., 1999; He et al., 2003; Ferguson et al., 2004; Moretzsohn et al., 2004, 2005; Pan et al., 2004; Martins et al., 2006; Gimenes et al., 2007)。已有研究表明, SSR标记是在研究栽培花生遗传多样性、评

收稿日期: 2007-10-31; 接受日期: 2008-02-03

基金项目: 国家高技术研究发展计划项目(No. 2006AA10A114)和山东省农业科学院高技术自主创新基金(No. 2007YCX001)

* 通讯作者。E-mail: xingjunw@hotmail.com

价杂交系统(mating system)、构建遗传连锁图谱和开展标记辅助育种等方面具有广泛应用前景的分子标记(Halward et al., 1991, 1992; Kochert et al., 1991, 1996; Paik-Ro et al., 1992; Hilu and Stalker, 1995; He and Prakash, 1997; Subramanian et al., 2000; Herselman, 2003; Gimenes et al., 2007)。

1 花生微卫星标记开发途径

1.1 基因组SSR标记的开发

通过构建小片段基因组文库获得含SSR序列来开发SSR标记,是开发基因组SSR标记的最主要途径。利用这种方法开发SSR标记比较繁杂,其核心是小片段基因组文库的构建与含SSR序列的获取。这项工作不仅耗时,而且费用很高。

为了构建花生基因组文库,首先提取基因组总DNA,并使用不同的限制性内切酶进行完全酶切,分析酶切图谱,确定建库使用的限制性内切酶。酶切分为单酶切、双酶切和三酶切3种方式,以单酶切为主。在已有研究中建库使用的限制性内切酶包括:单酶切为 *Bam*HI、*Pst*II、*Sau*3AI、*Taq*I 和 *Tsp*509I(Hopkins et al., 1999; Ferguson et al., 2004; Moretzsohn et al., 2004, 2005);双酶切仅见 *Hind*III 和 *Mse*I(He et al., 2003);三酶切为 *Hae*III、*Alu*I 和 *Rsa*I 3种酶的组合(Gimenes et al., 2007)。

根据含SSR DNA片段富集的方式,基因组文库的构建及含SSR序列的获取途径主要分为2种方式:(1)先建库后富集。用限制性内切酶完全酶切花生基因组DNA,选择200-1 000 bp的DNA片段,构建基因组文库,使用放射性标记SSR探针(Hopkins et al., 1999; Ferguson et al., 2004)或GeneTrapper[®] cDNA positive selection system (Invitrogen)(Gimenes et al., 2007)进行含SSR克隆的筛选。这种途径是开发基因组SSR分子标记的传统方法。(2)先筛选后建库。用限制性内切酶完全酶切花生基因组DNA,经PCR扩增后,将生物素标记的SSR探针与含SSR的DNA片段进行杂交,通过亲和吸附(生物素包裹的磁珠或尼龙膜)富集含SSR的

DNA片段,构建基因组文库(He et al., 2003);或先用生物素标记的SSR探针与含SSR的DNA片段杂交,通过亲和吸附富集含SSR的DNA片段后,再经PCR扩增构建基因组文库(Moretzsohn et al., 2004, 2005)。在开发基因组SSR标记的工作中,SSR探针的选择对含SSR序列的富集有重要影响。筛选使用的SSR探针主要包括(AC)₁₃、(AT)₁₅、(CT)₁₀、(GA)₁₅、(GT)₁₀、(GT)₁₅、(TC)₁₃、(AAC)₁₀、(AGT)₁₀、(ATC)₆、(ATC)₁₀、(ATG)₆、(ATT)₁₀、(CAC)₁₀、(CTG)₁₀、(CTT)₁₀、(TGG)₆、(TTG)₆、(ATCC)₁₀、(GATA)₁₀ 和(AAAT)₁₀ (Hopkins et al., 1999; He et al., 2003; Ferguson et al., 2004; Moretzsohn et al., 2004, 2005)。在测序前通过锚定PCR(anchored PCR)筛选技术确定含SSR序列中SSR的位置有助于提高能够用于设计SSR引物的序列比例(Moretzsohn et al., 2004)。

高国庆等(2003)比较了2种从AFLP扩增片段中分离花生微卫星标记的方法,结果表明,从预扩增的AFLP片段中富集SSR的方法简便,可获得较多的含SSR的片段,而从选择性扩增的AFLP片段中分离SSR后直接从电泳胶上切取差异片段进行测序的方法则效率低,不适用于分离花生的微卫星标记。

1.2 EST-SSR标记的开发

尽管花生具有重要的经济和营养价值,但由于其基因组庞大(约 2.8×10^9 bp),与人类基因组大小相当,因此在基因组水平上的研究还十分有限。人们对花生表达序列标签(expressed sequence tag, EST)资源的重要性有广泛共识,各国相继开展了花生EST测序,并在为花生研究者提供基因资源方面已经显示出其重要性。随着公共数据库中花生EST序列数量的增加,开发EST-SSR标记已成为快捷、有效和廉价的途径。截止到2007年8月1日,在GenBank的dbEST数据库中共收录了花生EST序列41 382条,其中USDA-ARS于2007年6月20日和25日分别释放了14 328条和12 876条,预计到2008年10月1日还将释放约11 400条(Guo, 私人通讯)。山东农业科学院高新技术研究中心已释放7 454条,更多的测序及数据整理还在进行中,目前已获

得 EST 共 20 000 余条。

花生 EST-SSR 开发的基本流程为, 首先构建 cDNA 文库进行 EST 测序或从公共基因数据库(如 EMBL、GenBank 和 DDBJ 等)下载 EST 数据, 然后利用相应软件寻找含有 SSR 的序列, 最后根据其两端的保守性序列设计 SSR 引物并进行扩增验证。

与通过构建小片段基因组文库开发 SSR 标记相比, 利用 EST 数据开发 EST-SSR 标记比较简单有效, 并且可与其它研究工作同步进行, 从而实现对 EST 资源的充分利用。EST 序列一般位于基因的功能区域, EST-SSR 多态性水平低于基因组 SSR。本实验室开发 EST-SSR 的工作表明, 在栽培花生中 EST-SSR 多态性水平很低, 而在野生花生中多态性丰富, 因此这些标记在利用野生花生种质资源改良栽培花生在工作中具有重要用途。EST-SSR 标记被称为功能标记, 因其本身是基因的一部分, 其变化可能直接导致与该基因相关的功能发生改变。

1.3 通过同源转移开发花生 SSR 标记

研究表明, DNA 分子标记在豆科(legume)作物中具有可转移性(transferability)(Boutin et al., 1995; Humphry et al., 2002; Isobe et al., 2003)。张建成等(2006)利用为柱花草亚族设计的 SSR 引物和 STS 引物对栽培花生品种的遗传多态性进行了研究, 获得多态性引物 9 对。He 等(2006)检测大豆 SSR 引物 432 对, 其中 109 对引物在栽培花生基因组总 DNA 中能够得到扩增。在 109 对具有转移性的大豆 SSR 引物中, 28% 的引物在 4 个栽培花生品系中检测到多态性。花生属于豆科、蝶形花亚科, 在该亚科中对大豆、苜蓿和百脉根等植物的分子生物学研究远超过对花生的研究, 充分利用这些物种的序列信息和 SSR 研究结果, 筛选可转移的 DNA 分子标记, 将大大促进花生 SSR 的开发和利用。

1.4 SSR 与其它标记结合产生的分子标记

SSR 与 RFLP 相结合是最早发展起来的基于微卫星的分子标记(Ail et al., 1986), 该方法检测到的多态性是由含有 SSR 的酶切片段长度的变异造成的。Weising 等(1998)利用该方法在多种植物中检测到了具有高水平多

态性的目标区域。SSR 与 RAPD 技术相结合产生了随机扩增微卫星多态性(random amplified microsatellite polymorphism, RAMP), RAMP 揭示位于微卫星位点本身或两个引物之间的相关序列长度的多态性。SSR 与 AFLP 相结合产生选择性扩增微卫星多态性位点(SAMPL)(Witsenboer et al., 1997), SAMPL 引物是根据植物中复合微卫星序列设计而成的, 可以扩增从 SAMPL 引物到 AFLP 引物之间的片段。

为了更好地开发花生微卫星标记, Martins 等(2006)开发了一个模型, 该模型将用于检测序列中微卫星的程序(tandem repeat occurrence locator, TROLL)与序列组装和分析软件(Staden Package)整合在一起, 在 SSR 引物设计阶段开发了一个程序。该程序以 experiment file 形式接收批量文件, 利用 Primer3 设计并自动生成 SSR 引物。利用这套软件, Martins 等(2006)开发了 427 对新的花生候选 SSR 引物, 其中从 8 800 条 EST 序列中开发出了 75 对, 利用 GenBank 中的公共数据开发了 352 对。

1.5 花生 ISSR 标记的开发

ISSR 标记是根据核酸序列中出现频率高的 SSR 设计的引物, 扩增位于 2 个反向排列、间隔不太大的 SSR 之间的序列。ISSR 标记以 16-18 bp 的 SSR 为引物, 由 1-4 个碱基组成的串联重复和几个非重复的锚定碱基组成, 通过在引物的 5' 端和 3' 端分别引入 1-2 个选择性碱基提高引物特异性, 直接在基因组 DNA 中进行 PCR 扩增(Zietkiewicz et al., 1994)。ISSR 标记的开发无需通过测序获得 SSR 的侧翼序列, 其扩增谱带丰富。与 SSR 标记具有较强物种特异性不同, ISSR 标记在不同物种中具有很高的通用性, 多态性较高, 检测方便, 可充分利用现有的基因数据库资源。

目前国内外已开发的花生微卫星标记见表 1。

2 花生微卫星标记的应用

2.1 花生遗传多样性研究

栽培和野生花生遗传多样性及亲缘关系的研究对花生种

表 1 已开发的花生微卫星标记

Table 1 Summary of groundnut microsatellite markers

微卫星标记类型	设计引物数	多态性引物数	应用领域	参考文献
SSR	44	9	遗传多样性	Guo et al., 2004
	27	5	遗传多样性	Hopkins et al., 1999
	56	19	遗传多样性	He et al., 2003
	21	1	遗传多样性	高国庆等, 2003
	226	110	遗传多样性	Ferguson et al., 2004
	67	3	遗传多样性	Moretzsohn et al., 2004
	271		构建遗传连锁图谱	Moretzsohn et al., 2005
	427			Martins et al., 2006
	76	45	遗传多样性	张建成等, 2006
	110	44	遗传多样性	黄新阳等, 2006
	13	13	遗传多样性	Gimenes et al., 2007
ISSR	29	29	遗传多样性与品种鉴定	Raina et al., 2001
	6	6	品种分类与品种鉴定	Pan et al., 2004

质的搜集、保存以及在育种工作中的应用具有重要意义。研究人员对花生的遗传多样性进行了广泛而深入的分析, 为花生栽培品种的改良特别是野生花生基因资源的利用提供了科学依据。

栽培花生虽然形态差异很大, 但由于在蛋白质和核酸水平上的多态性较低, 导致花生分子标记研究进展比较缓慢。Hopkins 等(1999)首次筛选出6对多态性SSR引物, 这些SSR引物在花生栽培品种中检测到的多态性高于此前报道的其它所有分子标记如同工酶、RFLPs、RAPDs 和 AFLPs。近年来, 国内外学者利用SSR标记在野生花生(Moretzsohn et al., 2004; Barkley et al., 2007; Gimenes et al., 2007; 陈本银等, 2007; 唐荣华等, 2007b)、栽培花生的不同类型间(He et al., 2003; 韩柱强等, 2003; Ferguson et al., 2004; Moretzsohn et al., 2004; Barkley et al., 2007)、同一栽培花生类型的不同品种间(Krishna et al., 2004; 唐荣华等, 2004a, 2004b; 刘冠明等, 2006; 黄新阳等, 2006; 张建成等, 2006)以及不同抗病种质间(姜慧芳等, 2006, 2007a, 2007b)均检测出了不同程度的遗传多样性。这些新的研究进展为利用分子标记研究花生遗传多样性注入了新的活力。

2.2 花生遗传连锁图谱构建

遗传连锁图谱的构建是实现基因精细定位和克隆的基

础。Moretzsohn 等(2005)以野生花生种 *A. duranensis* 和 *A. stenosperma* ($2n=2x=20$, AA)为亲本, 构建了 F_2 群体。从433对SSR引物中筛选出204对多态性引物, 并将其中80对分离比为1:2:1的SSR引物用于构建连锁群, 在此基础上构建了花生的第1个基于SSR标记的遗传连锁图谱。该遗传连锁图将170个SSR标记定位在11个连锁群中, 共覆盖1 230.89 cM, 其中61个位点很可能代表特定基因, 每个连锁群上有3-15个标记, 标记之间的平均遗传距离为7.24 cM。姜慧芳等(2007a)通过抗病品种远杂9102与感病品种Chico杂交, 应用单粒传法构建了重组近交系群体(recombinant inbred lines, RILs), 从354对SSR引物中筛选出45对多态性引物。每对引物均检测到2个以上多态性位点, 表现共显性遗传。通过骨架连锁群的构建和作图, 获得1个包含8个连锁群的栽培花生部分遗传连锁图谱, 图谱总长度为603.9 cM, 包含28个SSR标记和1个形态标记。该遗传连锁图谱是目前包含连锁群数和标记数最多、覆盖遗传距离最长的栽培花生遗传连锁图谱。

2.3 花生指纹图谱构建

Pan 等(2004)获得的ISSR标记可有效区分中国台湾主要栽培花生品种, 并得到品种专一性分子标记, 利用6对引物所产生的12个分子标记建立了一套有效品种鉴定流程。刘冠明等(2006)对南方花生主产区的20个品种

进行了 SSR 标记指纹图谱研究, 从 64 对 SSR 引物中筛选出 4 对 SSR 引物构建了 20 个花生品种的指纹图谱, 该图谱能使 19 个品种相互区分。DNA 分子标记反映的是遗传上的差异, 其用于品种鉴定具有周期短, 不受环境条件影响等优点。

2.4 花生分子标记辅助育种

花生常规育种中仅凭观察杂交后代性状确定目的基因是否导入到杂交后代, 以及远缘杂交中野生花生遗传物质是否整合到栽培花生中, 不仅耗时, 而且易受环境条件的影响, 难以准确判断。而利用分子标记技术可以比较容易地克服上述问题。

贺梁琼等(2005)研究表明, 40 对 SSR 引物中有 3 对引物 PM36、PM50 和 PM305 能在部分杂种后代 (PM36: T60; PM50: J17、J20、J22; PM305: J7、S11、T62) 中稳定地扩增出野生亲本的特异谱带, 表明这些材料整合了野生亲本的遗传物质。SSR 特异谱带可作为这几份材料中野生亲本 *A. correntina* 的特异遗传标记。洪彦彬等(2007)发现在 220 对 SSR 引物中有 48 对引物在粤油 13 和珍珠黑之间显示了多态性。用上述具有多态性的 48 对 SSR 引物检测深紫色、紫色和粉红色种皮 3 个基因池, 结果表明引物 PM93 在亲本及 3 个基因池间的扩增带型在 630 bp 及 600 bp 附近出现差异, PM93/630-600 与 *dpt* (dark purple testa) 之间的遗传距离为 5.4 cM。姜慧芳等(2007a)从 354 对 SSR 引物中筛选出 2 个与花生青枯病抗性相关的 SSR 标记, 7G02 和 PM137, 它们与青枯病抗性基因的遗传距离分别为 10.9 cM 和 13.8 cM。

3 展望

花生在表型性状上存在着丰富的变异, 由此推测花生在 DNA 水平上也应存在丰富的多态性。随着分子标记(尤其是 SSR 标记)研究的不断深入, 这种多态性将被不断揭示出来。花生遗传背景狭窄及其供试材料缺乏代表性可能是微卫星标记在栽培花生中多态性低的原因。

通过构建小片段基因组文库开发基因组 SSR 分子

标记, 虽然投入大, 工作繁琐, 但获得的 SSR 分子标记在栽培花生中检测到的遗传多态性较高。随着全球范围内花生 EST 序列数量的不断增加, EST-SSR 分子标记的开发将得到极大促进。豆科植物丰富的序列资源与 SSR 引物的开发为通过同源转移开发花生 SSR 标记提供了新的机遇。通过 SSR 标记与其它分子标记(如 RAPD、AFLP 等)相结合开发新的 DNA 分子标记, 在花生中虽未见报道, 但在其它作物中的研究表明该途径是切实可行的。更多微卫星标记的开发以及共用稳定群体的构建对于构建花生精细遗传图谱乃至基因图位克隆意义重大。目前花生微卫星标记的研究已取得了一定的进展, 初步展现出其在花生遗传研究中的应用前景, 但仍无法从分子水平解释栽培花生农艺性状的差异, 距离构建花生的饱和遗传连锁图谱尚有距离。

作为在花生研究中最具应用前景的分子标记, 微卫星标记将为花生属种质亲源关系研究、遗传图谱构建、分子标记辅助育种以及优质、抗病等优良基因发掘等方面提供技术支撑。但目前可供利用的微卫星标记还远远无法满足需求, 因此, 在未来数年内, 微卫星标记的开发将是花生分子生物学研究的重要内容。

参考文献

- 陈本银, 姜慧芳, 廖伯寿, 任小平 (2007). 利用 SSR 技术研究花生属种间亲缘关系. 植物遗传资源学报 8, 140-144.
- 高国庆, He GH, 李杨瑞 (2003). 花生微卫星 DNA 分离方法的研究. 中国油料作物学报 25(3), 30-33.
- 韩柱强, 高国庆, 韦鹏霄, 唐荣华, 钟瑞春 (2003). 利用 SSR 标记分析栽培种花生多态性及亲缘关系. 花生学报 3(增刊), 295-300.
- 贺梁琼, 唐荣华, 高国庆 (2005). 野生花生遗传物质渗入到栽培种的分子证据. 分子植物育种 3, 815-820.
- 洪彦彬, 林坤耀, 周桂元, 李少雄, 李艳, 梁炫强 (2007). 花生深紫色种皮颜色基因的遗传分析及 SSR 标记. 中国油料作物学报 29(1), 35-38.
- 黄新阳, 王传堂, 杨新道, 徐建芝 (2006). 利用新开发的 SSR 标记分析花生栽培种的多态性. 中国农学通报 22(10), 44-48.
- 姜慧芳, 陈本银, 任小平, 廖伯寿, 雷永, 傅廷栋, 马朝芝, Mace E, Crouch JH (2007a). 利用重组近交系群体检测花生青枯病

- 抗性 SSR 标记. 中国油料作物学报 29(1), 26-30.
- 姜慧芳, 廖伯寿, 任小平, 雷永, 傅廷栋, Mace E, Crouch JH (2006). 抗青枯病花生种质的遗传多样性. 作物学报 32, 1156-1165.
- 姜慧芳, 廖伯寿, 任小平, 雷永, Mace E, 傅廷栋, Crouch JH (2007b). 用 SSR 和 AFLP 技术分析花生抗青枯病种质遗传多样性的比较. 遗传学报 34, 544-554.
- 刘冠明, 郑奕雄, 陈建萍, 麦俊伟, 黎国良 (2006). 珍珠豆型花生品种遗传差异的 SSR 标记分析. 河南农业科学 (10), 28-31.
- 唐荣华, 高国庆, 贺梁琼, 韩柱强, 单世华, 钟瑞春, 周翠球, 蒋菁, 李杨瑞, 庄伟建 (2007a). SSR 分子标记检测出的花生类型内遗传变异. 遗传学报 34, 449-459.
- 唐荣华, 贺梁琼, 高国庆, 庄伟建, 韩柱强, 钟瑞春 (2004a). 多粒型花生的 SSR 分子标记. 花生学报 33(2), 11-16.
- 唐荣华, 贺梁琼, 庄伟建, 韩柱强, 钟瑞春, 周翠球, 高国庆, 李忠 (2007b). 利用 SSR 分子标记研究花生属种间亲缘关系. 中国油料作物学报 29(2), 36-41.
- 唐荣华, 庄伟建, 高国庆, 韩柱强, 钟瑞春, 贺梁琼, 周翠球 (2004b). 珍珠豆型花生的简单序列重复 (SSR) 多态性. 中国油料作物学报 26(2), 20-26.
- 张建成, 王传堂, 杨新道 (2006). SSR 和 STS 标记在花生栽培品种鉴定中的应用研究. 植物遗传资源学报 7, 215-219.
- Ail S, Muller SR, Epplen RW (1986). DNA fingerprinting by oligonucleotide probes specific for simple sequence repeat. *Hum Genet* 74, 239-243.
- Barkley NA, Dean RE, Pittman RN, Wang ML, Holbrook CC, Pederson GA (2007). Genetic diversity of cultivated and wild-type peanuts evaluated with M13-tailed SSR markers and sequencing. *Genet Res* 4, 93-106.
- Boutin SR, Young ND, Olson TC, Yu ZH, Shoemaker RC, Vallejos CE (1995). Genome conservation among three legume genera detected with DNA markers. *Genome* 38, 928-937.
- Ferguson ME, Burow MD, Schulze SR, Bramel PJ, Paterson AH, Kresovich S, Mitchell S (2004). Microsatellite identification and characterization in peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Theor Appl Genet* 108, 1064-1070.
- Gimenes MA, Hoshino AA, Barbosa AV, Palmieri DA, Lopes CR (2007). Characterization and transferability of microsatellite markers of the cultivated peanut (*Arachis hypogaea*). *BMC Plant Biol* 7, 9-9.
- Halward TM, Stalker HT, LaRue EA, Kochert G (1991). Genetic variation detectable with molecular markers among unadapted germplasm resources of cultivated peanut and related wild species. *Genome* 34, 1013-1020.
- Halward TM, Stalker HT, LaRue EA, Kochert G (1992). Use of single primer DNA amplifications in genetic studies of peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Plant Mol Biol* 18, 315-325.
- He G, Meng R, Newman M, Gao G, Pittman RN, Prakash CS (2003). Microsatellites as DNA markers in cultivated peanut (*Arachis hypogaea* L.). *BMC Plant Biol* 3, 3-3.
- He G, Prakash CS (1997). Identification of polymorphic DNA markers in cultivated peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Euphytica* 97, 143-149.
- He G, Woullard FE, Marong I, Guo B (2006). Transferability of soybean SSR markers in peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Peanut Sci* 33, 22-28.
- Herselman L (2003). Genetic variation among Southern African cultivated peanut (*Arachis hypogaea* L.) genotypes as revealed by AFLP analysis. *Euphytica* 133, 319-327.
- Hilu KW, Stalker HT (1995). Genetic relationships between peanut and wild species of *Arachis* sect. *Arachis* (Fabaceae): evidence from RAPDs. *Pl Syst Evol* 198, 167-178.
- Hopkins MS, Casa AM, Wang T, Mitchell SE, Dean R, Kochert GD, Kresovich S (1999). Discovery and characterization of polymorphic simple sequence repeats (SSRs) in peanut. *Crop Sci* 39, 1243-1247.
- Humphry ME, Konduri V, Lambrides CJ, Magner T, McIntyre CL, Aitken EAB, Liu CJ (2002). Development of a mungbean (*Vigna radiata*) RFLP linkage map and its comparison with lablab (*Lablab purpureus*) reveals a high level of colinearity between the two genomes. *Theor Appl Genet* 105, 160-166.
- Isobe S, Klimentko I, Ivashuta S, Gau M, Kozlov NN (2003). First RFLP linkage map of red clover (*Trifolium pratense* L.) based on cDNA probes and its transferability to other red clover germplasm. *Theor Appl Genet* 108, 105-112.
- Kochert G, Halward T, Branch WD, Simpson CE (1991). RFLP

- variability in peanut (*Arachis hypogaea* L.) cultivars and wild species. *Theor Appl Genet* **81**, 565-570.
- Kochert G, Stalker HT, Gimenes M, Galgaro L, Lopes CR, Moore K** (1996). RFLP and cytogenetic evidence on the origin and evolution of allotetraploid domesticated peanut *Arachis hypogaea* (Leguminosae). *Am J Bot* **83**, 1282-1291.
- Krishna GK, Zhang J, Burow M, Pittman RN, Delikostadinow SG, Lu Y, Puppala N** (2004). Genetic diversity analysis in Valencia peanut (*Arachis hypogaea* L.) using microsatellite markers. *Cell Mol Biol Lett* **9**, 685-697.
- Martins W, Sousa D, Proite K, Guimaraes P, Moretzsohn M, Bertioli D** (2006). New softwares for automated microsatellite marker development. *Nucleic Acids Res* **34**, e31.
- Moretzsohn MC, Hopkins MS, Mitchell SE, Kresovich S, Valls JFM, Ferreira ME** (2004). Genetic diversity of peanut (*Arachis hypogaea* L.) and its wild relatives based on the analysis of hypervariable regions of the genome. *BMC Plant Biol* **4**, 11-11.
- Moretzsohn MC, Leoi L, Proite K, Guimaraes PM, Leal-Bertioli SCM, Gimenes MA, Martins WS, Valls JFM, Grattapaglia D, Bertioli DJ** (2005). A microsatellite-based, gene-rich linkage map for the AA genome of *Arachis* (Fabaceae). *Theor Appl Genet* **111**, 1060-1071.
- Paik-Ro OG, Smith RL, Knauff DA** (1992). Restriction fragment length polymorphism evaluation of six peanut species within the *Arachis* section. *Theor Appl Genet* **84**, 201-208.
- Pan C, Chen C, Lin S** (2004). Molecular identification of peanut varieties cultivated in Taiwan. <http://www.aac.org.tw/Main/periodical/404/03.html>.
- Raina SN, Rani V, Kojima T, Ogihara Y, Singh KP, Devarumath RM** (2001). RAPD and ISSR fingerprints as useful genetic markers for analysis of genetic diversity, varietal identification, and phylogenetic relationships in peanut (*Arachis hypogaea*) cultivars and wild species. *Genome* **44**, 763-772.
- Subramanian V, Gurtu S, Nageswara-Rao RC, Nigam SN** (2000). Identification of DNA polymorphism in cultivated groundnut using random amplified polymorphic DNA (RAPD) assay. *Genome* **43**, 656-660.
- Weising K, Winter P, Huttell B, Kahl G** (1998). Microsatellite markers for molecular breeding. *J Crop Prod* **1**, 113-143.
- Witsenboer H, Vogel J, Michelmore RW** (1997). Identification, genetic localization, and allelic diversity of selectively amplified microsatellite polymorphic loci in lettuce and wild relatives (*Lactuca* spp.). *Genome* **40**, 923-936.
- Young ND, Weeden NF, Kochert G** (1996). Genome mapping in legumes (Family Fabaceae). In: Paterson AH, ed. *Genome Mapping in Plants*. Austin: Landes Biomedical Press. pp. 212-217.
- Zietkiewicz E, Rafalski A, Labuda D** (1994). Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics* **20**, 176-183.

Advances in Study of Microsatellite Markers in Groundnut

Mengjun Li¹, Han Xiao¹, Jindong Lu², Xingjun Wang^{1*}

¹Key Laboratory for Genetic Improvement of Crop, Animal and Poultry of Shandong Province, High-Tech Research Center, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Ji'nan 250100, China

²Vegetable Research Institute, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Ji'nan 250100, China

Abstract In recent years, with the discovery of microsatellite markers in groundnut (*Arachis hypogaea* L.), the genetic diversity of this crop has been extensively investigated by analysis of simple sequence repeats (SSR). The approaches to developing groundnut microsatellite markers included development of SSR markers from genomic libraries constructed with small DNA fragments, development of expressed sequence tag (EST)-SSR markers from EST sequences generated from different cDNA libraries, identification of transferable SSR markers from other legume crops, development of new markers by combining other markers with SSR markers and generation of inter-SSR (ISSR) markers based on SSR motifs. Groundnut microsatellite markers have been applied in genetic diversity analysis, linkage map construction, fingerprinting analysis of cultivars and marker-assisted breeding. This review summarizes the progress in development of peanut SSR and the application of these markers.

Key words EST, groundnut, microsatellite marker, SSR

Li MJ, Xiao H, Lu JD, Wang XJ (2008). Advances in study of microsatellite markers in groundnut. *Chin Bull Bot* 25, 373–380.

* Author for correspondence. E-mail: xingjunw@hotmail.com

(责任编辑: 刘慧君)

新书介绍

《高黎贡山药用植物名录》

主编: 钱子刚, 李安华

高黎贡山是中国生物多样性丰富的地区之一, 具有动植物种属复杂、新老兼备、南北过渡、东西交汇的格局, 素有“绿色宝库、物种基因库”等美称。其药用植物资源也异常丰富。编写人员历时两年多时间完成了野外调查工作和查阅、研究、整理文献工作, 并编写了本书。本书共记载高黎贡山地区的药用植物 200 科、1 298 种, 其中蕨类植物 25 科、65 种; 裸子植物 8 科、15 种; 被子植物 167 科、1 218 种。

本书由科学出版社最新出版(定价: 80.00 元), 适用于从事生物多样性保护研究和药学、中药学科研、教学工作, 以及从事或有志于中药资源保护与开发利用研究的专业人士和学习者。