

# 野生花生种质的 SSR 遗传多样性

陈本银, 姜慧芳\*, 廖伯寿, 任小平, 黄家权, 雷永, 王圣玉

(中国农业科学院油料作物研究所, 武汉 430062)

**摘要:** 以花生属(*Arachis*) 6 个区组 24 种(包括栽培种) 84 份种质为材料, 用 SSR 技术对其亲缘关系和遗传多样性进行了分析。从 206 对 SSR 引物中筛选到 59 对能扩增出稳定的多态性条带的引物, 这些引物能在花生属基因组 DNA 中扩增出 1~6 个 DNA 片段。结果表明, 84 份种质的遗传距离为 0.04~0.93, 平均为 0.64, 其中匍匐区组的 *A. appressipila* 的 2 份种质(G4 与 G5)的遗传距离最小(0.04), 匍匐区组的 *A. rigonii* (G14)与根茎区组的 *A. glabrata* (G28)的遗传距离最大(0.93)。聚类分析结果与花生属的区组分类基本一致, 栽培种花生被聚在花生区组中, 而且 7 份栽培种被聚在同一亚亚组中, 相同植物学类型(相当于变种)的材料均被分别聚在一起。异形花区组与直立区组的亲缘关系最近, 与花生区组的亲缘关系较近的是匍匐区组。花生区组的二倍体野生种 *A. villosa*、*A. duranensis* 和 *A. benensis* 与栽培种花生关系较近, 可以作为桥梁物种来转移其他野生花生的优良基因。

**关键词:** 花生属; 野生种; SSR; 遗传多样性; 亲缘关系

中图分类号: S565.202.4

文献标识码:A

文章编号:1005-3395(2008)04-0296-08

## Genetic Diversity Analysis of *Arachis* Gerplasm by SSR

CHEN Ben-yin, JIANG Hui-fang\*, LIAO Bo-shou, REN Xiao-ping,  
HUANG Jia-quan, LEI Yong, WANG Sheng-yu

(Oil Crops Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430062, China)

**Abstract:** The relationship and genetic diversity among 84 *Arachis* gerplasm of 24 species belonging to 6 sections were systematically investigated based on SSR markers. 59 SSR primer pairs with polymorphic bands ranging from 1 to 6 were selected through 206 primer pairs screening. The genetic distance varied from 0.04 to 0.93 with average of 0.64 among *Arachis* species. Two accessions (G4 and G5) of *A. appressipila* belonging to section *Procumbentes* showed the least distance (0.04), while the largest genetic distances was detected between G14 (*A. rigonii*) belonging to section *Procumbentes* and G28 (*A. glabrata*) belonging to section *Rhizomatosa*. This clustering result was almost consistent with the taxonomic of Section in *Arachis* by Krapovickas and Gregory in 1994. The 7 genotypes of cultivated peanut were grouped into one cluster in section *Arachis*, and different botanical types were grouped into different sub-clusters. Section *Procumbentes* had the closest relationship with Section *Arachis*, while the relationship between sections *Heteranthae* and *Erectoides* were very closer. Some diploid species including *A. villosa*, *A. duranensis* and *A. benensis* had closer relationship with cultivated peanut based on the dendrogram, and they could be used as bridge genotypes to transfer elite genes from wild species to cultivated peanut.

**Key words:** *Arachis*; Wild species; SSR; Genetic diversity; Relationship

收稿日期: 2007-08-15

接受日期: 2007-11-19

基金项目: 国家自然科学基金(30270840 和 30571132); 国家科技基础条件平台项目(2005DKA21002-13)资助

\* 通讯作者 Corresponding author

花生属(*Arachis*)野生近缘材料是栽培种花生遗传改良重要的种质资源或基因资源。目前已发现野生花生具有许多重要的抗病虫性状和优异的品质性状,而且有些抗性或品质是栽培种花生中不存在的<sup>[1-6]</sup>。但是,野生花生与栽培花生存在染色体倍性、遗传组成等差异,致使直接用野生花生与栽培花生杂交会发生不亲和现象<sup>[7]</sup>。因此,有必要从DNA分子方面对野生花生进行系统的遗传多样性和亲缘关系的分析,探索与栽培种花生亲缘较近的野生种并以此为桥梁,为野生花生的有效利用提供理论与物质基础。

微卫星DNA(SSR)具备在基因组中含量丰富、共显性遗传、多态性高、分析简单等优点,受到人们的广泛关注和应用。近年来有关花生的SSR引物不断被开发和设计出来,为花生改良提供了可靠的遗传标记,也为花生种质资源的研究提供了一个更

准确可靠的研究途径<sup>[8]</sup>。

我国自20世纪70年代以来从美国和国际半干旱热带地区作物研究所(ICRISAT)引进了一批花生野生材料并保存于国家种质武昌野生花生圃中。本文以我国野生花生圃中保存的野生花生为材料,通过SSR技术对它们的遗传多样性进行研究,旨在为利用花生野生种改良栽培种提供基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 植物材料

以花生属不同区组24种的84份资源为材料,其中野生近缘种材料77份,包括花生区组38份、匍匐区组13份、直立区组6份、异形花区组5份、圆脉区组2份、根茎区组2份、未命名种材料11份,不同植物学类型的栽培种花生材料7份。它们的基本信息见表1。

表1 花生材料

Table 1 Materials of *Arachis*

种名 Species	区组 Sections	序号 Series	PI 编号* PI code	种名 Species	区组 Sections	序号 Series	PI 编号* PI code
<i>A. appressipila</i>	匍匐区组 <i>Procumbentes</i>	G1		<i>A. glabrata</i>	根茎区组 <i>Rhizomatosa</i>	G27	262833
		G2				G28	262801
		G3	261878			G29	
		G4	261878			G30	
		G5	261877			G31	338297
		G6	262140			G32	
		G7	261877			G33	
<i>A. chiquitata</i>	匍匐区组 <i>Procumbentes</i>	G8		<i>A. sp.</i>		G34	
<i>A. rigonii</i>	匍匐区组 <i>Procumbentes</i>	G9		<i>A. sp.</i>		G35	
		G10	331190	<i>A. sp.</i>		G36	
		G11	262142	<i>A. sp.</i>		G37	292275
		G12	262142	<i>A. sp.</i>		G38	
		G13	262142	<i>A. sp.</i>		G39	
		G14	468165	<i>A. duranensis</i>	花生区组 <i>Arachis</i>	G40	468197
<i>A. cryptopota</i> nica	直立区组 <i>Erectoides</i>	G15	468178			G41	263133
<i>A. stenophylla</i>	直立区组 <i>Erectoides</i>	G16	468365			G42	468201
		G17	331187	<i>A. duranensis</i>		G43	475845
<i>A. oterio</i>	直立区组 <i>Erectoides</i>	G18	468152			G44	468319
		G19				G45	468198
<i>A. dardani</i>	异形花区组 <i>Heteranthae</i>	G20	338543			G46	263133
		G21	338453			G47	263133
<i>A. pusilla</i>	异形花区组 <i>Heteranthae</i>	G22	331189	<i>A. monticola</i>	花生区组 <i>Arachis</i>	G48	
		G23	289628			G49	
		G24	338449			G50	468199
<i>A. macedoi</i>	圆脉区组 <i>Exanervosae</i>	G25				G51	468196
		G26				G52	468196

续表(Continued)

种名 Species	区组 Sections	序号 Series	PI 编号* PI code	种名 Species	区组 Sections	序号 Series	PI 编号* PI code
<i>A. monticola</i>	花生区组 <i>Arachis</i>	G53	219824-1	<i>A. villosa</i>	花生区组 <i>Arachis</i>	G73	210555-2
		G54	219824-2			G74	210555-3
<i>A. kuhlmannii</i>	花生区组 <i>Arachis</i>	G55	468168			G75	298636
<i>A. batizocoi</i>	花生区组 <i>Arachis</i>	G56				G76	331192
		G57	298639	<i>A. hoehnei</i>	花生区组 <i>Arachis</i>	G77	468150
		G58		台山三粒肉	花生区组 <i>Arachis</i>	G78	
<i>A. benensis</i>	花生区组 <i>Arachis</i>	G59		Taishansanlirou			
<i>A. helodes</i>	花生区组 <i>Arachis</i>	G60	262275	协抗青	花生区组 <i>Arachis</i>	G79	
<i>A. chacoense</i>	花生区组 <i>Arachis</i>	G61	276235	Xiekangqing			
		G62		临桂麻壳	花生区组 <i>Arachis</i>	G80	
<i>A. cardenasii</i>	花生区组 <i>Arachis</i>	G63		Linguimake			
		G64	262142	台山珍珠	花生区组 <i>Arachis</i>	G81	
		G65		Taishanzhenzhu			
<i>A. stenosperma</i>	花生区组 <i>Arachis</i>	G66	338279	马山古零	花生区组 <i>Arachis</i>	G82	
		G67	338280	Mashangulin			
		G68	337308	勾了种	花生区组 <i>Arachis</i>	G83	
<i>A. correntina</i>	花生区组 <i>Arachis</i>	G69	261871	Goulezhong			
		G70	262808	江田种	花生区组 <i>Arachis</i>	G84	
		G71	262134	Jiangtianzhong			
<i>A. villosa</i>	花生区组 <i>Arachis</i>	G72	210555-1				

\* PI 为美国植物引进编号。PI means Plant Inventory in USA.

## 1.2 DNA 的提取

选取花生健康幼叶,用 CTAB 法提取基因组 DNA<sup>[8]</sup>。通过 1% 琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测 DNA 浓度和纯度;全部 DNA 浓度均调至 10~50 ng  $\mu\text{l}^{-1}$ ,于 -20℃ 冰箱内保存备用。

## 1.3 SSR 反应体系及程序

以 206 对 SSR 引物扩增基因组 DNA,引物序列由国际半干旱热带地区作物研究所(ICRISAT)生物技术实验室提供。PCR 反应按本实验室建立的优化体系进行,反应总体积为 10  $\mu\text{l}$ ,含 10 mmol/L Tris-HCl (pH 8.3),50 mmol/L KCl,10~20 ng 基因组 DNA,10~40 pmol/L 引物对,2~4 mmol/L MgCl<sub>2</sub>,300~400  $\mu\text{mol/L}$  dNTP 和 0.8~1.2 U *Taq* DNA 聚合酶(Biostar)。反应程序依照 Touch Down 的方法<sup>[9]</sup>,共 48 个循环,每 2 个循环退火温度降低 1℃,起始退火温度为 65℃。

## 1.4 数据统计及分析

根据 PCR 扩增结果,对于某一个一定大小的片段,在某一样品中存在记为“1”,不存在记为“0”,建立各个 SSR 引物在所分析的 84 份花生材

料中扩增片段的分布表(0~1 表),存入 Microsoft Access 数据库中。按照唐荣华<sup>[10]</sup>的方法进行分析,根据聚类结果绘制出遗传关系图。

## 2 结果和分析

### 2.1 花生属种间 SSR 扩增特点

本实验共用 206 对 SSR 引物对 5 份野生花生基因组 DNA 进行预扩增来筛选多态性引物,获得 78 对扩增效果较好的引物。利用 78 对引物对 84 份材料进行扩增,结果表明,其中 59 对引物能扩增出比较好的稳定的多态性条带,4 对引物在大部分基因组没有扩增产物,15 对引物的扩增条带不清晰。所用的 59 对 SSR 引物能在花生属基因组 DNA 中扩增出 1~6 个 DNA 片段,其中引物 3A01 和 Lec-1 扩增的条带数最多(6 条),而大部分引物在大多数种质基因组 DNA 中只扩增出 1~2 条带。这 59 对 SSR 引物在每份种质中扩增出的总条带数为 59~100 条,平均为 82.15 条;59 对 SSR 引物在所有 84 份种质中的等位基因变异总共有 458 个,每对引物的等位变异数为 2~11 个,平均有 7.76 个,多态性总位点数为 458 个。其中 4A06 在

供试材料中检测到 14 个等位基因变异(最多),其片段大小在 150~320 bp 之间。图 1 是引物 7B9 在 84 份种质间的扩增产物电泳结果,每份种质能扩增出 1~2 条 DNA 带,检测到 4 个等位基因变异。

在所有引物中检测到 2~5 个等位基因变异的引物有 12 对,占所筛选引物的 20.34%,其余引物检测到的等位基因变异都在 5 个以上,可见花生属种间的 SSR 多态性丰富。

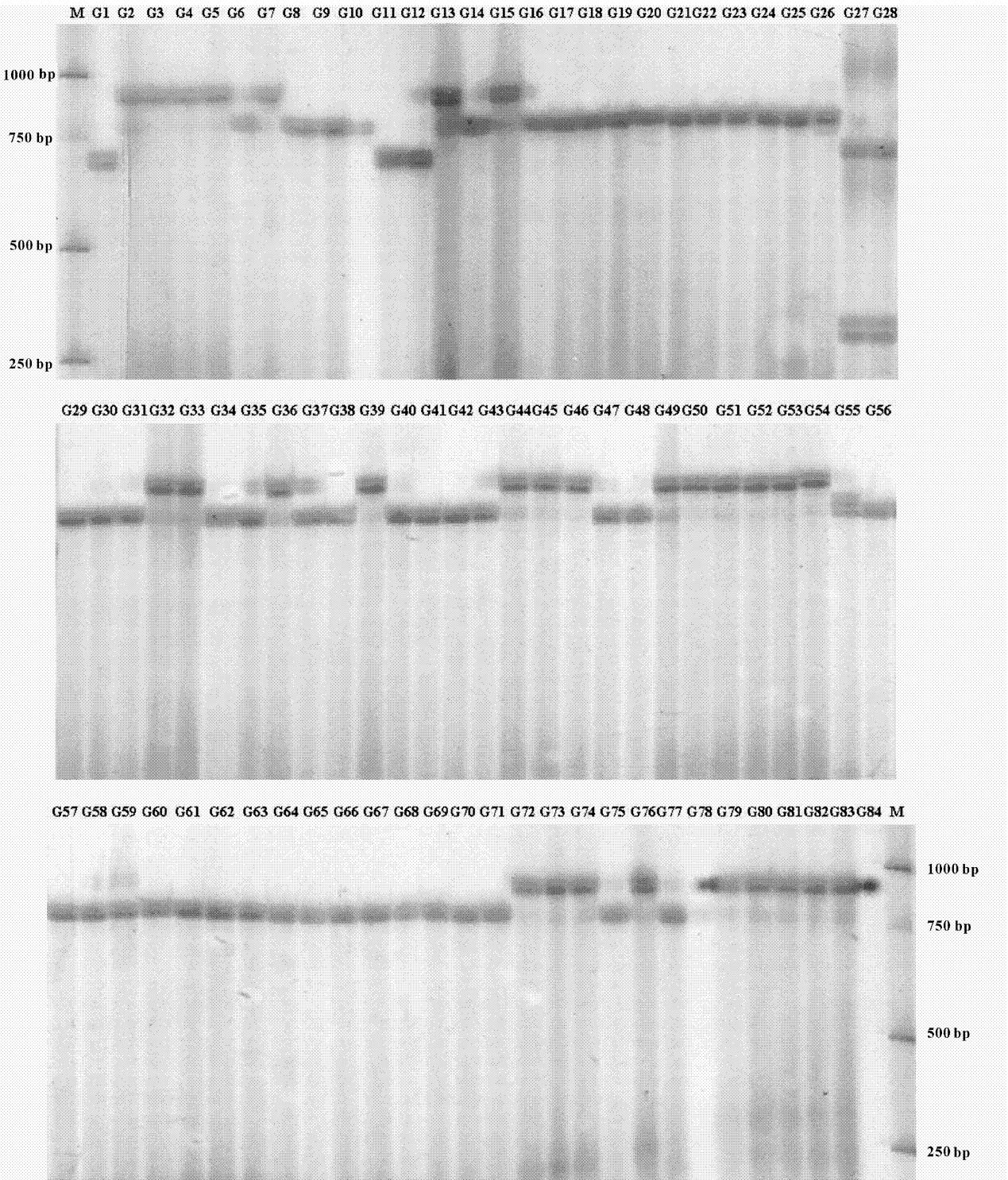


图 1 引物 7B9 对花生属 84 份种质的扩增结果

Fig. 1 PCR amplification of 84 genotypes in genus *Arachis* using SSR primer 7B9

## 2.2 花生属种质间的 SSR 遗传多样性及亲缘关系

根据 59 对 SSR 引物在 84 份花生属种质间扩增出的 DNA 片段所得的 0~1 表,按照唐荣华<sup>[10]</sup>的方法进行分析,结果表明,最长距离法的聚类效果相对较好些,能将全部资源相对比较均匀地分开。因此,本研究采用最长距离法进行聚类分析。花生属野生资源间存在很大的遗传变异,遗传距离变幅宽,其范围在 0.04~0.93 之间,平均为 0.64。以匍匐区组 *A. appressipila* 的 2 份种质(G4 与 G5)的遗传距离最小(0.04),匍匐区组的 *A. rigonii* (G14)与根茎区组 *A. glabrata* (G28)的遗传距离最大(0.93)。两两之间遗传距离大于 0.70 的资源有 1 840 组,占总组数的 53%;大于 0.80 的为 1 013 组,占总组数的 29%,大于 0.90 的有 11 组,包括匍匐区组的 *A. appressipila* 及 *A. rigonii* 与栽培种花生之间的距离。遗传距离小于 0.16 的有 16 个组合,均表现在同一种内的不同材料之间,如 *A. appressipila* 的 G4 与 G5, G4 与 G7, *A. villosa* 的 G72 与 G73, G73 与 G74, *A. stenosperma* 的 G67 与 G68, *A. chacoense* 的 G61 与 G62 等等。有 6 份野生近缘植物与栽培种花生的距离小于 0.35,分别为 G50 (*A. monticola*) 与 G82 (栽培种), G52 (*A. monticola*) 与 G82 (栽培种), G72 (*A. villosa*) 与 G81 (栽培种), G73 (*A. villosa*) 与 G81 (栽培种), G74 (*A. villosa*) 与 G81 (栽培种), G74 (*A. villosa*) 与 G80 (栽培种), 可见花生区组的 *A. monticola* 及 *A. villosa* 与栽培种花生的亲缘较近。G46 (*A. duranensis*) 和 G59 (*A. benesis*) 与 G79 (栽培种) 的遗传距离也较小(均为 0.37),表明 *A. duranensis* 和 *A. benesis* 与栽培种花生的关系也较近。

利用最长距离法对 84 份花生属种质进行聚类分析的结果如图 2 所示。从图 2 可以看出,当遗传距离等于 0.91 时,84 份种质聚为两组(A 组和 B 组)。A 组包括栽培种及少部分花生区组种质、全部根茎区组种质、全部围脉区组种质、大部分匍匐区组种质和未命名种质共 36 份材料;B 组包括大部分花生区组种质、大部分未命名种质、全部直立区组种质、全部异形花区组种质及少部分匍匐区组种质共 48 份材料。栽培种(属于花生区组)花生的遗传变异相对较小,不同类型的 7 份种质聚在一起。可见,本研究的聚类结果与花生属的区组分类基本一致。

A 组在遗传距离为 0.70 时又可以进一步分为

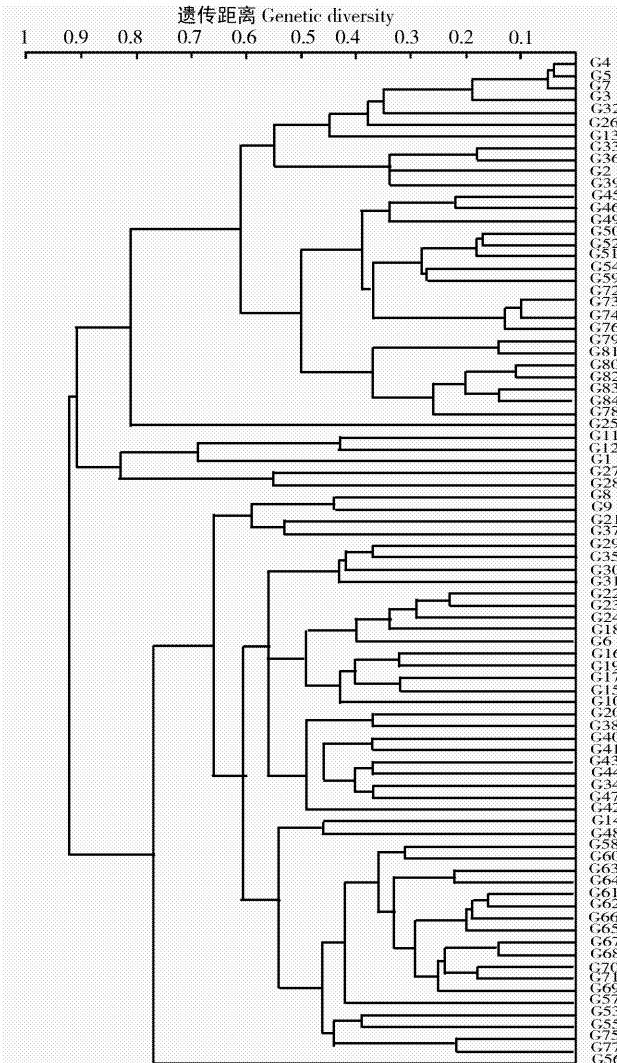


图 2 花生属 84 份种质的 SSR 聚类结果

Fig. 2 Clusters of 84 germplasm of *Arachis* based on SSR

5 个亚组( $A_1, A_2, A_3, A_4$  和  $A_5$ )。 $A_1$  亚组包括花生区组的 12 份野生种和 7 份栽培种、匍匐区组的 6 份种质、1 份围脉区组种质和 4 份未命名种质等共 30 份材料,在遗传距离为 0.56 时进一步分为两个亚亚组( $A_{11}$  和  $A_{12}$ )。 $A_{11}$  组由匍匐区组 *A. appressipila* 的 5 份种质、1 份 *A. rigonii*、围脉区组的 *A. macedoi* 1 份和 4 份未命名种质共 11 份资源组成,其中,匍匐区组 *A. appressipila* 的 5 份种质(G2, G3, G4, G5, G7)的关系较近,平均遗传距离为 0.20,尤以 G4 与 G5 关系最近,遗传距离为 0.04;匍匐区组另一个种 *A. rigonii* (G13) 与这 5 份 *A. appressipila* 间的平均遗传距离为 0.39。可见,匍匐区组的这几份种质间的遗传变异较小。 $A_{12}$  组由花生区组的 12 份野生种及 7 份栽培种组成,其中,

G45 与 G46(均为 *A. duranensis*)的遗传距离为 0.22, 被聚在一起, *A. monticola* 的 5 份种质(G49, G50, G51, G52, G54)的平均遗传距离为 0.24, 4 份 *A. villosa* (G72, G73, G74, G76)间的亲缘关系很近, 平均遗传距离为 0.10。7 份栽培种花生间的平均遗传距离为 0.27, 其中 2 份龙生型种质(G80 和 G82)、2 份普通型种质(G83 和 G84)、2 份珍珠豆型种质(G79 和 G81)分别聚在一起, 遗传距离依次为 0.11、0.14 和 0.14。G25(围脉区组 *A. macedoi*)和 G1(匍匐区组 *A. appressipila*)与其他种质间的差异较大, 被单独聚为 2 个亚组(A<sub>2</sub> 组和 A<sub>4</sub> 组)。第 3 亚组(A<sub>3</sub>)和第 5 亚组(A<sub>5</sub>)分别由匍匐区组 *A. rigonii* 的 2 份种质(G11 和 G12)和根茎区组 *A. glabrata* 的 2 份种质(G27 和 G28)组成, 遗传距离分别为 0.43 和 0.55。可见, A 组的聚类结果与花生属的区组分类基本一致, 与栽培种花生的植物学分类吻合。

B 组在遗传距离为 0.58 时可以进一步划分为 7 个亚组(B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>4</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>7</sub>), 可见 B 组种质间的遗传分化小于 A 组。匍匐区组的 *A. chiquitanta* (G8)与 *A. rigonii* (G9)组成 B<sub>1</sub> 亚组, 遗传距离为 0.44。异形花区组的 *A. dardani* (G21)与未命名种 *A. sp*(G37)组成 B<sub>2</sub> 亚组, 遗传距离为 0.53。B<sub>3</sub> 亚组由 4 份未命名种质(G29, G35, G30, G31)组成, 其平均遗传距离为 0.47。B<sub>4</sub> 亚组由 3 份异形花区组种质、5 份直立区组种质和 2 份匍匐区组种质组成, 其中异形花区组的 *A. pusilla* 的 3 份种质(G22, G23, G24)被聚在一起, 平均遗传距离为 0.26。直立区组的 *A. oterio* 的 2 份种质(G18 和 G19)的遗传距离为 0.44, 被聚在一起, *A. stenophylla* (G15)与 *A. paraguariensis* (G17)的关系相对较近, 遗传距离为 0.32。B<sub>5</sub> 亚组由花生区组的 6 份 *A. duranensis* (G40, G41, G42, G43, G44, G47)、2 份未命名种

(G34, G38)及异形花区组的 1 份 *A. dardani* (G20)组成, 其中, 花生区组 6 份 *A. duranensis* 种质(G40, G41, G42, G43, G44, G47)的关系相对较近, 平均遗传距离为 0.43; 异形花区组的 *A. dardani* (G20)与 G38(未命名种)被聚为一小类, 遗传距离为 0.37。B<sub>6</sub> 亚组由花生区组 10 种的 19 份种质及直立区组的 1 份种质组成, 其中花生区组 *A. cardenasii* 的 3 份种质(G63, G64, G65)间平均遗传距离为 0.25, *A. chacoense* 的 2 份种质(G61 和 G62)间遗传距离为 0.16, *A. stenosperma* 的 3 份种质(G66, G67, G68)间平均遗传距离为 0.17, *A. correntina* 的 3 份种质(G69, G70, G71)的平均遗传距离为 0.20。可见 *A. cardenasii*、*A. chacoense*、*A. stenosperma* 和 *A. correntina* 4 种内不同材料间在 DNA 水平上遗传变异相对较小。花生区组 *A. batizocoi* 的 2 份种质(G57 和 G58)间的距离为 0.31, 被聚在不同的小类中, G58 与 *A. helodes* (G60)的关系较近, 被聚为一个小类, 遗传距离为 0.31。另一份 *A. batizocoi* (G56)与这些种质间的差异较大, 被单独聚为第七亚组(B<sub>7</sub>)。B 组的聚类结果也基本上与花生属的区组分类一致。

## 2.3 花生属区组间的亲缘关系

以花生区组、匍匐区组、直立区组和异形花区组的 20 份种质(每区组 5 份)为材料, 根据 SSR 扩增结果, 分析他们之间的遗传距离, 各区组之间的关系如图 3 所示。

图 3 结果表明, 异形花区组与直立区组的关系最近, 遗传距离为 0.41, 而异形花区组与匍匐区组及直立区组与匍匐区组的关系相对较远, 遗传距离分别为 0.54 和 0.55; 与花生区组的关系远近依次为异形花区组(0.77) > 直立区组(0.74) > 匍匐区组(0.71)。

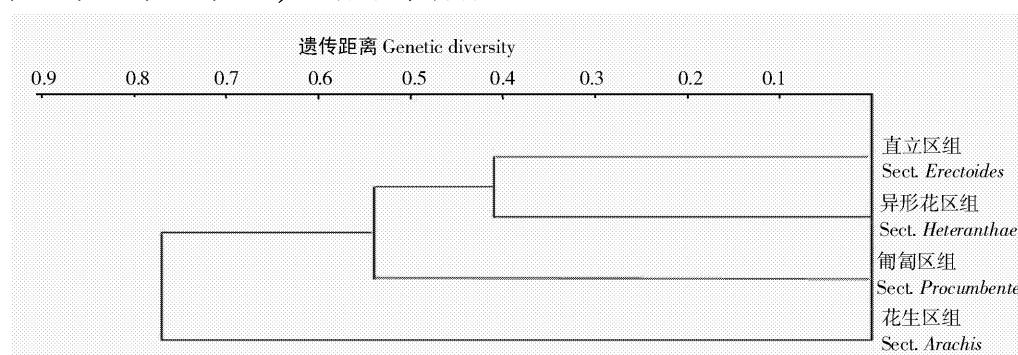


图 3 花生属不同区组间的种亲缘关系

Fig. 3 Relationship among sections of *Arachis*

### 3 讨论

#### 3.1 野生花生种质间的亲缘关系与遗传多样性

系统了解作物种质资源的遗传多样性及亲缘关系是有效利用和保护资源的基础。我国已成为国际上野生花生种质资源的重要保存地之一。有关野生花生的遗传多样性的研究已有一些报道<sup>[10-20]</sup>,但所涉及材料较少或仅以花生区组种质为材料。本研究首次以大量的野生花生种质为材料,同时也利用栽培种花生,涉及到 6 个区组 24 种 84 份资源,用 SSR 分子标记技术,较为系统地研究了我国已引进保存的野生花生种质的遗传多样性及其与栽培种花生的亲缘关系。SSR 分析结果表明,*A. duranensis* 种内的平均遗传距离为 0.57,*A. batizocoi* 种内的平均遗传距离为 0.54,两种之间的遗传距离为 0.60,表明花生区组的 *A. duranensis* 及 *A. batizocoi* 种内和种间均存在较大的遗传分化,种间变异大于种内变异,这与 Paik-Ro<sup>[11]</sup> 及 Marcos<sup>[12]</sup> 用 RFLP 的分析结果一致。

Santos<sup>[13]</sup> 以花生属 5 个区组的 48 份种质为材料,用 RAPD 技术分析了其亲缘关系,聚类结果与花生属的区组分类系统一致,区组间的差异大于区组内的差异,直立区组、三小叶区组、匍匐区组和根茎区组之间的相似程度大于它们与花生区组间的相似程度。目前普遍认为,三小叶区组是花生属中最原始的区组,然后发展到直立区组、圆脉区组、三籽粒区组和异形花区组,大根区组、匍匐区组和根茎区组的进化相对晚些,而花生区组的进化相对于其他区组而言,是进化程度最高的区组。本文与以上的研究结果均一致,异形花区组与直立区组的距离相对较小,异形花区组与匍匐区组及直立区组与匍匐区组的距离相对较大,而花生区组与异形花区组及直立区组的距离均较大。

所用 77 份野生花生和 7 份栽培种花生的 SSR 聚类结果显示,栽培种花生材料均被聚在花生区组类别中,而且相同植物学类型(相当于变种)的材料均被聚在一起,表明 SSR 标记在揭示花生系统进化差异上是有效的。花生区组的二倍体物种 *A. duranensis*、*A. villosa* 和 *A. benensis* 与栽培种花生的关系较近,可以直接与栽培种花生杂交转移其优异基因,还可以作为桥梁物种将其他野生花生的优异基因转移到栽培种花生中。根茎区组种质及大部分匍匐区组种质与大部分花生区组种质被聚在

同一个类群中,说明根茎区组和匍匐区组与花生区组的亲缘关系较近。根据分子标记检测结果,异形花区组与直立区组的亲缘关系最近,这两个区组聚在一起后与匍匐区组的遗传距离小于与花生区组的遗传距离。

#### 3.2 栽培种花生的原始二倍体祖先

由于栽培种花生与花生区组的野生种杂交亲和性相对较高,而与其他区组的种杂交完全不亲和,一般认为栽培种花生是由花生区组的二倍体野生种杂交经染色体自然加倍进化而来。栽培种花生属于花生区组,是异源四倍体,这一区组还有另外一种 *A. monticola* 也是四倍体,其余种都是二倍体。*A. monticola* 与花生栽培种杂交完全亲和,有人认为它是花生栽培种的四倍体祖先或者是一个亚种。在本研究中,大部分 *A. monticola* 种质也都与花生栽培种聚在同一个亚类群中。花生区组的二倍体野生种的染色体组有 A、B、D 3 种,花生栽培种的染色体组为 AABB。因此,花生栽培种的二倍体野生种祖先应包括一个 A 染色体组物种和一个 B 染色体组物种。Kochert<sup>[17]</sup> 根据 RFLP 分子标记研究,认为 *A. duranensis* 是栽培种的 A 染色体组供体, *A. ipaensis* 是 B 染色体组供体,而 *A. cardenasi*、*A. diogoi* 和 *A. batizocoi* 3 种与栽培种花生的差异很大,可能不是花生栽培种的二倍体祖先。Raina<sup>[18-19]</sup> 用 RAPD 和 ISSR 的研究表明, *A. villosa* 和 *A. ipaensis* 与花生栽培种很相似,认为这两种可能是花生栽培种的 A、B 染色体供体。唐荣华<sup>[10]</sup> 以 14 份野生花生种质为材料结果表明, *A. duranensis* 与栽培种花生的关系较近,并认为它可能是栽培种花生的二倍体祖先。Moretzsohn<sup>[20]</sup> 根据 SSR 聚类结果分析,认为栽培种花生与花生区组的二倍体物种 *A. duranensis*、*A. villosa* 和 *A. diogoi* 的关系较近。本研究中的 SSR 分子标记结果表明,花生区组的 A 染色体种 *A. cardenasi* 与花生栽培种的差异大,亲缘关系较远,处于不同的聚类群中,而 *A. villosa* 和 *A. duranensis* 与栽培种花生很相似,聚在同一类群中,而且与栽培种花生的遗传距离很小,因此, *A. villosa* 和 *A. duranensis* 有可能是栽培种花生的 A 染色体供体。本研究用了 3 个 B 染色体种 *A. batizocoi*、*A. hoehnei* 及 *A. benensis*,从聚类结果看, *A. batizocoi* 和 *A. hoehnei* 均与栽培种花生的距离很远,而 *A. benensis* 与栽培种花生的距离较近。因此,本研究的结果支持 *A. batizocoi* 可能不

是栽培种花生 B 染色体供体的观点,而 *A. benensis* 可能是栽培种花生 B 染色体供体。

## 参考文献

- [1] Chen K R(陈坤荣), Zhang Z Y(张宗义), Xu Z Y(许泽永), et al. Evaluation of *Arachis* species resistant to peanut stunt virus (PSV) [J]. Oil Crops China(中国油料), 1992, 14(4): 12–15.(in Chinese)
- [2] Xu Z Y(许泽永), Chen K R(陈坤荣), Zhang Z Y(张宗义). Evaluation of *Arachis* species resistant to peanut strip virus (PSTV) [J]. Oil Crops China(中国油料), 1987(4): 91–93.(in Chinese)
- [3] Sun D R(孙大容). Peanut Breeding [M]. Beijing: Chinese Agriculture Press, 1998: 310–338. (in Chinese)
- [4] Wu L R(吴兰荣), Chen J(陈静), Hu W G(胡文广), et al. A new peanut line 8126 created through hybridization with wild species *A. cardenasi* [J]. Chin J Oil Crops Sci(中国油料作物学报), 2003, 25 (2): 9–11.(in Chinese)
- [5] Johnson D R, Wynne J C, Campbell W V. Resistance of wild species of *Arachis* to the two spotted spider mite, *Tetranychus urticae* [J]. Peanut Sci, 1977, 4: 9–11.
- [6] Subrahmanyam P, Moss J P, Rao V V. Resistance to peanut rust in wild *Arachis* species [J]. Plant Disease, 1983, 67: 209–212.
- [7] Weng Y J(翁跃进), Zhou R(周蓉). Crossing compatibility of different botanical types of cultivated groundnut with related species [J]. Oil Crops China(中国油料), 1986(3): 8–15.(in Chinese)
- [8] Gao G Q(高国庆). Isolation and polymorphism of microsatellite DNA in peanut [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2002. (in Chinese)
- [9] Chen B Y(陈本银). Genetic diversity of *Arachis* species and evaluation for accessions with resistances to important diseases [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2007. (in Chinese)
- [10] Tang R H(唐荣华). Genetic diversity and molecular classification of germplasm in genus *Arachis* [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2004. (in Chinese)
- [11] Paik-Ro O G, Smith R L, Knauf D A. Restriction fragment length polymorphism evaluation of six peanut species within the *Arachis* section [J]. Theor Appl Genet, 1992(84): 201–208.
- [12] Marcos A, Lopes C R, Galgaro M L, et al. RFLP analysis of genetic variation in species of section *Arachis*, genus *Arachis* (Leguminosae) [J]. Euphytica, 2002(123): 421–429.
- [13] Santos V S E, Gimenes M A, Valls J F M, et al. Genetic variation within and among species of five sections of genus *Arachis* L. (Leguminosae) using RAPD [J]. Genet Resour Crop Evolut, 2003, 50: 841–848.
- [14] Smartt J, Stalker H T. The genomes of *Arachis hypogaea* L. cytogenetic studies of putative genome donors [J]. Euphytica, 1978(27): 665–675.
- [15] Stalker H T. A new species in section *Arachis* of peanut with a D genome [J]. Amer J Bot, 1991(78): 630–637.
- [16] Zhang X Y(张新友). Utilization of wild *Erectoides* species in the genus *Arachis* for improvement of cultivated groundnut II. Karyotype analysis [J]. Acta Agri Boreal-Sin(华北农学报), 1992, 7(1): 47–55.(in Chinese)
- [17] Kochert G, Stalker H T, Gimenes M, et al. RFLP and cytogenetic evidence on the origin and evolution of allotetraploid domesticated peanut *Arachis hypogaea* (Leguminosae) [J]. Amer J Bot, 1996 (83): 1282–1291.
- [18] Raina S N, Mukai Y. Genomic *in situ* hybridization in *Arachis* (Fabaceae) identifies the diploid wild progenitors of cultivated (*A. hypogaea* L.) and related wild (*A. monticola*) peanut species [J]. Plant Syst Evol, 1999(214): 1–4.
- [19] Raina S N, Rani V, Kojima T. 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 [J]. Genome, 2001(44): 763–772.
- [20] Moretzsohn M de 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 Biol, 2004, 4: 11