

利用 ISSR 和 SSR 分子标记构建北柴胡遗传图谱

战晴晴^{1,2*}, 隋 春^{1*}, 魏建和^{1*}, 范圣此¹, 张 杰²

(1. 中国医学科学院、北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193;

2. 东北林业大学生命科学学院, 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要: 以北柴胡 (*Bupleurum chinense* DC.) 种内杂交所得的 F₁ 代 96 株植株为作图群体, 利用拟测交理论, 进行北柴胡遗传图谱构建。经父母本多态性筛选, 从 30 条 ISSR (inter-simple sequence repeat, 内部简单重复序列) 和 44 对 SSR (simple sequence repeat, 简单重复序列) 引物中筛选出 28 条 ISSR 和 14 对 SSR 多态性引物。对 F₁ 代进行基因型和连锁分析, 初步构建了包含 13 个连锁群、80 个 (72 个 ISSR 和 8 个 SSR) 位点的首张北柴胡遗传图谱。该图谱覆盖长度 2 633.9 cM, 平均图距 33.4 cM, 13 个连锁群包含 2~31 个标记不等, 连锁群遗传距离 15.4~1 295.7 cM。该图谱为北柴胡性状基因定位、图位克隆以及分子标记辅助选择育种等研究奠定了基础。

关键词: 北柴胡; 遗传图谱; ISSR; SSR

中图分类号: R931

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2010) 04-0517-07

Construction of genetic linkage map of *Bupleurum chinense* DC. using ISSR and SSR markers

ZHAN Qing-qing^{1,2*}, SUI Chun^{1*}, WEI Jian-he^{1*}, FAN Sheng-ci¹, ZHANG Jie²

(1. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100193, China; 2. College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

Abstract: Molecular genetic map is a fundamental organizational tool for genomic research. However, a genetic linkage map for *Bupleurum chinense* DC. has not been developed. In this study, with the theory of pseudo-testcross, 96 F₁ plants from an intraspecific cross of *B. chinense* were used as mapping populations. Twenty eight ISSR (inter-simple sequence repeat) primers and 44 SSR (simple sequence repeat) primers were used to detect the polymorphisms between the parental plants, and of them, 28 ISSRs and 14 SSRs were selected to analyze the F₁ populations. The map consisted of 13 linkage groups which included 80 (72 ISSRs and 8 SSRs) loci, and covered 2 633.9 cM with an average density of 33.4 cM. All 13 linkage groups consisted of 2 – 31 loci ranging in length from 15.4 – 1 295.7 cM. This map will provide a basis for studies on gene mapping, map-based cloning and maker-assisted selection of important traits in *B. chinense*.

Key words: *Bupleurum chinense* DC.; genetic linkage map; ISSR; SSR

遗传图谱是进行植物基因组结构分析的基础, 是基因定位与克隆乃至基因组结构与功能研究的基础。较高密度的遗传图谱可以应用于数量性状的基

因定位、图位克隆、比较基因学和分子标记辅助选择育种等研究。遗传图谱的构建在农作物中开展较早, 研究深入并得到了应用。1986 年, Helentjaris 等^[1]构建了第 1 张玉米 RFLP (restriction fragment length polymorphisms, 限制性内切酶片段长度多态性) 遗传图谱。Moore 等^[2]在水稻 19 个连锁区段的基础上, 对水稻、小麦、玉米、谷子、甘蔗和高粱 6 种作物进行了比较遗传作图, 得到一个环状的禾本科原始基

收稿日期: 2009-09-10.

基金项目: 国家科技支撑计划重点资助项目 (2006BAI09B01); 博士后科学基金资助项目 (20070410615); 中央级院所所长科研基金资助项目 (YZ-1-10).

*对论文同等贡献.

*通讯作者 Tel / Fax: 86-10-62818841, E-mail: wjianh@263.net

基因组框架,表明它们来源于一个共同的祖先。这对起源进化的研究具有重要意义。20 世纪 90 年代以来,随着 DNA 分子标记的不断开发,几乎所有重要农作物的 DNA 分子遗传图谱都有研究报道^[3]。

由于药用植物多为野生短期引种的群体,高度杂合,或遗传育种基础严重匮乏,缺少用于构图的植物群体,遗传图谱构建工作进展缓慢。和农作物相比,已构建的高密度药用植物遗传图谱很少^[4]。Bratteler 等^[5]利用 300 个 AFLP (amplified fragment length polymorphism, 扩增片段长度多态性) 标记,构建了狗筋麦瓶草 (*Silene vulgaris* Garcke) 遗传图谱,分别为 547 cM 和 446 cM 的父母本遗传图谱。谭晓凤^[6]利用 62 个 RAPD (random amplified polymorphic DNA, 随机扩增多态性 DNA) 标记,构建了第一张银杏 (*Ginkgo biloba* L.) 分子遗传图谱,该遗传图谱包含 19 个连锁群,总长度 829.1 cM,覆盖了银杏基因组的 1/3。

北柴胡 (*Bupleurum chinense* DC.) 属于伞形科 (Umbelliferae) 柴胡属 (*Bupleurum* L.) 植物。其根具疏肝解郁、和解退热、升提中气之功效。柴胡属植物种类很多,全世界约有 150 种,是伞形科中的一个大类。据《中国植物志》记载,我国共有柴胡属植物 36 种、17 变种、7 变型。目前,国内外对柴胡生物学的研究主要集中在药用成分含量、相关基因克隆及品种选育方面,还没有关于柴胡遗传图谱构建的报道。本研究以北柴胡种内杂交得到的 F₁ 代为作图群体,利用 ISSR 和 SSR 两种标记构建出第一张北柴胡遗传图谱,旨在为北柴胡高密度图谱的建立、重要性状的基因定位及遗传育种奠定基础。

材料与方法

材料 以北柴胡种内杂交所得的 F₁ 代 96 株植株为作图群体,其中母本为雄性不育植株。所有材料取自中国医学科学院药用植物研究所栽培种试验基地。

北柴胡基因组 DNA 的提取 北柴胡叶片总 DNA 提取采用隋春等^[7]报道的方法,并将 DNA 浓度稀释至 20 ng·μL⁻¹, -20 °C 保存备用。

ISSR 分析方法 本实验采用的 30 条 ISSR 引物及其退火温度参考隋春等^[7]的报道 (表 1)。扩增反应体系为 15 μL,包括 ddH₂O 6.0 μL, Taq PCR Master Mix 7.5 μL, 引物 0.5 μL, 模板 DNA 20 ng。扩增反应程序为: 94 °C 预变性 5 min, 94 °C 变性 45 s, 55 °C 退火 90 s, 72 °C 延长 2 min, 共 45 个循环,最后 72 °C 延长 10 min。扩增产物用 1.5% 琼脂糖凝胶检测,电泳电压为 110 V。

SSR 分析方法 本课题组在此研究之前构建了北柴胡 cDNA 文库,5'-端单反应测序了 3 000 余个随机挑选的克隆,并根据测序结果利用 SSRHunter1.3 软件分析得到 86 个 SSR 位点^[8]。经引物设计及 PCR 验证获得 44 对扩增条带清晰且与预期大小一致的 SSR 引物,用于本试验的遗传图谱构建。表 2 列出了其中在父母本中有多态性的引物序列及其退火温度和预期扩增片段大小。扩增反应体系为 15 μL,包括 ddH₂O 5.5 μL, Taq PCR Master Mix 7.5 μL, 引物 0.5 μL, 模板 DNA 20 ng。扩增反应程序为: 94 °C 预变性 5 min, 94 °C 变性 1 min, 56 °C 退火 1 min, 72 °C 延长 90 s, 共 30 个循环,最后 72 °C 延长 10 min。扩增产物用 3% 琼脂糖凝胶检测^[9],电泳电压为 120 V。

Table 1 Sequences of ISSR primers used for the genetic linkage map construction

Primer No.	Primer sequences (5'-3')	Primer No.	Primer sequences (5'-3')
1807	AGA GAG AGA GAG AGA GT	1844	CTC TCT CTC TCT CTC TRC
1808	AGA GAG AGA GAG AGA GC	1845	CTC TCT CTC TCT CTC TRG
1809	AGA GAG AGA GAG AGA GG	1847	CAC ACA CAC ACA CAC ARC
1810	GAG AGA GAG AGA GAG AT	1848	CAC ACA CAC ACA CAC ARG
1811	GAG AGA GAG AGA GAG AC	1851	GTG TGT GTG TGT GTG TYG
1812	GAG AGA GAG AGA GAG AA	1855	ACA CAC ACA CAC ACA CYT
1814	CTC TCT CTC TCT CTC TA	1856	ACA CAC ACA CAC ACA CYA
1816	CAC ACA CAC ACA CAC AT	1857	ACA CAC ACA CAC ACA CYG
1826	ACA CAC ACA CAC ACA CC	1859	TGT GTG TGT GTG TGT GRC
1834	AGA GAG AGA GAG AGA GYT	1864	ATG ATG ATG ATG ATG ATG
1836	AGA GAG AGA GAG AGA GYA	1868	GAA GAA GAA GAA GAA GAA
1840	GAG AGA GAG AGA GAG AYT	1873	GAC AGA CAG ACA GAC A
1841	GAG AGA GAG AGA GAG AYC	1885	BHB GAG AGA GAG AGA GA
1842	GAG AGA GAG AGA GAG AYG	1892	AGA GAG AGA GAG AGA GYC
1843	CTC TCT CTC TCT CTC TRA	1895	AGA GTT GGT AGC TCT TGA TC

Table 2 Sequences of SSR primers used for the genetic linkage map construction

Locus names	Primer sequences (5'-3')	Locus names	Primer sequences (5'-3')
S01C12	F: TTCTCCGTTCTGGGTTTATGA R: GAGTTTCCGCTCAAAGATGC	S25G05-2	F: CAATAGATTCGGTTCAAGTTCAG R: ATCAAAGCAAAGGTGGCAAAT
S02F09	F: GCCTTCAGACCACCTAAAAATG R: TGGGGAATAGAACAGAGATTGG	S26D06	F: TTGGGCATGACAATCACAGAA R: GAAAGTTATTAGGGTTTGAAGGGT
S04A09	F: CGTCACTTAGCCTTGTATGGAAC R: TCGTTATCATTTTTCATGGCTTT	S27D09	F: CATAAAACAAAAGGCAAATCG R: GTCGGTAATGAATCCAAATGAG
S05E04	F: CTGAGACACCCCGTTCTGTT R: GCAATTCACCTTGTGTAT	S28D08	F: GAGACAGGGAATAAGAAAAGTG R: TGAAGAAAGAGGCGAGAAC
S05G04	F: TGGAAACTCGACAGTCCCTTAT R: GGAACAAGCAAACAATGTACCA	S28G10	F: TTGTTCAAGGATTTTCGAGGCT R: ATCGGTGTTTCAGCAGTAGCG
S07D09	F: AGCAGCAGCAAGGTCAAATAA R: CCCTGAAAACCTCTTCGACA	S28H08-1	F: GAAGATAAGCAAGTTGAAGA R: TACCTGTTGAAACCGAATA
S08C06	F: GTTATCCCCGGATTCATGTG R: AACCATCAACCATCATCATCA	S28H08-2	F: GTATTCGGTTTCAACAGGTA R: AGGAAGTCGGAATAGTCAT
S09C07	F: GGGAGAAAAGGTGAGGAAGAAG R: TAGGAAGGGATATGTGACTGTTG	S32D05	F: CTGGAAATGGAGTTAGAAGACA R: AACGAACTCAGACCCCTAAT
S11H09	F: AAGAAAGTATTGACGCAGAGGC R: CAAATCAGTGCCAAGATAAGGTA	S32F06	F: TCTAACTTAACACCACCATTTCA R: CCAACAATAGCAGTTACCCAT
S12E11	F: GCGAAGACTGAGTGGCTTGATG R: AGAAACCATAACCATGCCTGCTA	S35A10	F: GTAATGATGATGCCTCCACAG R: CGGCGACAATACAAGACCAA
S15C07	F: CAATGGCTGTTTCATCTGTCTG R: GCAACTCCCAATCCCCAAATGA	S35F03	F: CTTAGATTCTTGCCCTTGC R: GTCAAATGTAGCCTTCAATCA
S16E08-1	F: GAGAAGAAAGCGGCTGGTGGT R: AAGGCGATGAGATGACAAGGGT	S36B04	F: AGAGGAGGATATGGGAAGTGA R: TTGATGGAGCCTCTACCTTTC
S16E08-2	F: AAAACACCTCTGCCACCTCCA R: CACCATCGGAAGGGAACCA	S36C06	F: GCCATAGAAGTTGGTTCACG R: GCTGTCCGAGTCATCATAG
S16F08	F: TGGTGGACGAAAGATGGGTG R: TGTGGTGAATGTCCAGAGCC	S37E10-1	F: GCAAGTAATGGGTAGTTGTATG R: AATGTTCCAGGCTCAAGTT
S18E10	F: AAAATATCCCTGCTCCTTCTG R: ATTCTCGGTGGCTCGCTTAG	S37E10-2	F: AGAAAGAGTTACGGTGGGACA R: AGTGGGCATAGGGATTTGTT
S18H12	F: CAGCACCTAAAGTCTCAACG R: AGTTTCTCATCTCGGCTTGT	S37E10-3	F: ACAAATCCCTATGCCCACT R: TGTTAGTACCACCTGTTTCTTT
S20D05	F: CCCCAGAACAAAGGAAAGCAGC R: CAGCACCAACAATGTCATATCTCC	S38C11-1	F: ACCACAGTGATAACGAGGACA R: ATCTTTGGCTCAGAACTAGAAC
S22H03	F: GCTTCATCGCTTACCTCTATCC R: CTCCATTATTGTTGCCGTTTCC	S38C11-2	F: CCTCGTGACTTTAGGAGATGC R: GAGATTCTGCGACCTGTTC
S23D11	F: CTCTTTCTCAAAACCCACCATC R: CATCTCCACCTTGTAATCACTC	S38D02	F: ACCAAACCACTATGTCCTACTAC R: CTCAAGGAGGCTGGAAACTG
S23E08	F: CAGGACGATAAGGCTGATGTT R: CACATAAAATCTCCACCAAAATA	S39A04	F: GACTCACCACGCCTAATAAAACA R: TCTTACCAGCAAGCCATTC
S25A01	F: TTCTACATTTTGGGCGTTTAC R: ACCTGCTTGAGATGATTTGA	S40C04	F: ATGATGAAGTGGGAAGAGGGT R: GCTTTGAGGACCTGGTTGTTA
S25G05-1	F: CTCCATTCCTCCTTGTAGTC R: TGAACCGAATCTATTGGGTGAAA	S40D07	F: GTTCAGCAAAGGAGAAGACGA R: TTTGTCCTGGTGCGTGGTG

数据统计和连锁分析

数据统计 统计电泳图谱上清晰的条带, 根据双假测交理论, 在子代呈现 1 : 1 分离的位点, 将有带的亲本及在子代中杂合的位点, 记为 “H”; 无条带的亲本及在子代中隐性纯合的位点, 记为 “A”;

在子代呈现 3 : 1 分离的位点, 双亲及有条带的子代记为 “H”; 无条带的子代记为 “A”; 条带模糊不清或缺失的位点记为 “-”。在 $P = 0.05$ 的水平上, 用卡方检验对所有分离标记进行方差分析, 推断是否存在偏分离。标记的命名是引物名称加上该引物

扩增出的多态性条带的顺序号, 顺序号按条带的相对分子质量由大到小排列。

图谱构建 利用 Mapmaker/Exp Version 3.0 软件, 将符合 1:1 分离比的标记进行两点分析。用 “group” 命令 ($LOD=3.0$, 最大重组率为 $r=0.4$) 推测可能的连锁群。对于标记数少的连锁群直接利用 “order” 命令计算出每组内标记的相对位置, 再用 “ripple” 命令确定最佳顺序; 对于标记数较多的连锁群进行多点分析, 确定最大的似然图谱, 并根据 “Kosambi” 函数计算图距, 然后用 Mapdraw V2.1 软件绘制连锁框架图。最后将能够连锁的 3:1 分离标记逐个添加到图谱中 ($LOD=3.0$, 最大重组率为 $r=0.4$), 得到最终的遗传图谱。

结果

1 分子标记多态性分析

首先将 30 条 ISSR 引物和 44 对 SSR 对引物在亲本间进行多态性筛选。以带型清晰、差异明显为标准, 共筛选出符合要求的 ISSR 引物 28 条和 SSR 引物 14 对。其多态性频率分别为 93.3% 和 31.8%, 其中 SSR 多态性频率比较低。出现这一情况的原因可能与试验材料及采用琼脂糖电泳有关。

28 条 ISSR 引物在 F_1 群体中, 共扩增出 154 条多态性条带, 每条引物能扩增出 2~8 条多态性条带不等, 平均每条引物扩增 5.5 条多态性条带; 14 对 SSR 引物扩增出 14 条多态性条带; 共计 168 条多态性条带。经卡方检验后 ($P=0.05$), ISSR 和 SSR 分别有 32 个和 4 个分离位点不符合孟德尔分离比, 共 36 个位

点表现偏分离, 频率为 21.4%。符合孟德尔 1:1 和 3:1 分离比的总带数为 132 条, 占多态位点 78.6%。其中符合 1:1 分离位点的 81 个, 符合 3:1 分离位点的 51 个, 分别占孟德尔分离位点的 61.4% 和 38.6%。图 1 和图 2 分别为 ISSR 引物 I873 和 SSR 引物 S22H03 扩增的部分结果。

2 遗传图谱的构建

应用 Mapmaker/Exp Version 3.0 软件和 Mapdraw V2.1 软件构建遗传图谱, 将 132 个位点中的 80 个位点 (72 个 ISSR 和 8 个 SSR) 定位在 13 个连锁群上, 覆盖全长 2 633.9 cM, 平均位点数为 6.2 个, 两位点间平均图距为 33.4 cM。位点最多的连锁群为 LG1 和 LG2, 分别包含 31 个和 17 个位点, 位点数最少的连锁群只有 2 个。连锁群 LG1 遗传距离最长, 达 1 295.7 cM; LG7 遗传距离最短, 为 15.4 cM。各连锁群平均间距最大的为 43.6 cM, 最小的为 7.7 cM。表 3 和图 3 显示 ISSR 标记和 SSR 标记在各连锁群中的分布情况。

Table 3 The distribution of markers and genetic distance of LGs on the map

Linkage group	No. of loci	Length /cM	Average distance /cM	Linkage group	No. of loci	Length /cM	Average distance /cM
LG1	31	1 295.7	43.2	LG8	3	74.2	37.1
LG2	17	697.5	43.6	LG9	3	38.5	19.3
LG3	5	148	37.0	LG10	2	42.7	42.7
LG4	4	82.1	27.4	LG11	2	42	42
LG5	3	49.1	24.6	LG12	2	41.3	41.3
LG6	3	78.6	39.3	LG13	2	28.8	28.8
LG7	3	15.4	7.7	Total	81	2 633.9	33.4

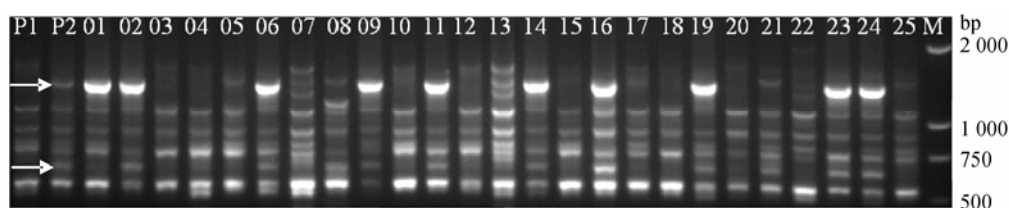


Figure 1 A part of amplification results using primer I873. M: marker; P1: male parent; P2: female parent; 1-24: F_1 plants 1-24; polymorphic fragments are indicated by arrow

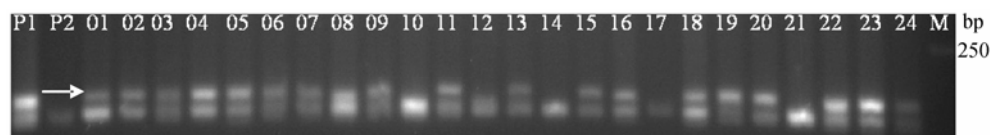


Figure 2 A part of amplification results using primer S22H03. M: marker; P1: male parent; P2: female parent; 1-24: F_1 plants 1-24; polymorphic fragments are indicated by arrow

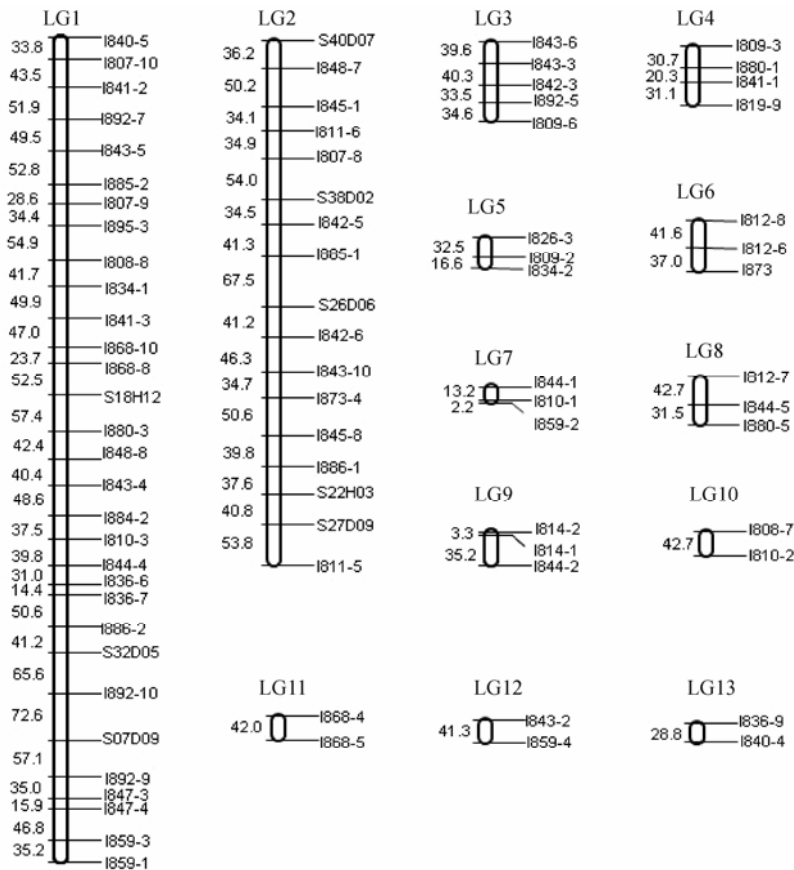


Figure 3 The molecular genetic linkage map of *B. chinense*. Absolute distance in cM are indicated on the left side of linkage groups and locus names on the right

讨论

大多数药用植物栽培历史较短或基本没有经过人工选择, 遗传背景复杂, 基因高度杂合。要建立常规的作图群体, 如 F_2 代群体、回交群体 BC、回交自交系群体 BL、重组自交系群体 RLs 等, 周期长, 难度大。已构建的药用植物遗传图谱多采用双假测交。双假测交的遗传学依据是双亲均为高度杂合的个体, 一个亲本的许多位点在另一亲本中呈现纯隐性或亦为杂合位点, 这些位点在 F_1 代分离, 分离比为 1:1 或 3:1 (1:2:1), 可以根据杂合位点的来源构建双亲的遗传图谱^[9]。Grattapaglia 和 Sederoff^[10]首次提出了利用 F_1 代群体和分子标记技术相结合的拟测交作图策略构建桉树遗传图谱的设想。Dugo 等^[11]利用 RAPD 分子标记构建了二倍体玫瑰 F_1 的遗传图谱, 分别得到全长为 388 cM 和 260 cM 的父母本遗传图谱。本试验以北柴胡种内杂交得到的 F_1 代 96 株植株为材料, 选用 42 条 (对) 引物进行扩增, 获得了较丰富的多态性位点。经卡方检验表明, 大多数位点 (168 个中有 132 个) 分离比符合孟德尔遗传规律, 表明本群体所选用的 F_1 代群体可用于构建北柴胡遗传

图谱。

分子连锁群是植物染色体在分子水平上的反映。分子连锁群的数目应同相应物种的染色体数目一致。北柴胡染色体数为 $2n = 12$, 本研究得到的遗传图谱有 13 个连锁群, 出现这种情况可能是因为染色体中存在频繁交换, 致使标记间的连锁关系不稳定, 也可能是因为标记数量有限, 存在标记空缺区段, 而使位于同一染色体上的连锁群不能连锁。目前, 很多构建的遗传图谱的连锁群数量还未能实现与物种的染色体一一对应, 如谭晓凤^[6]构建的银杏 ($2n = 24$) 遗传图谱包含了 20 个连锁群, Lowe 和 Walker^[12]构建的葡萄 ($2n = 38$) 父母本遗传图谱分别包含了 19 和 18 个连锁群, Lu 等^[13]构建的大白菜 ($2n = 20$) 遗传图谱包含了 12 个连锁群。但原位杂交技术等的发展为解决这一问题提供了可能^[14]。

偏分离指观察到的基因型比例偏离预期的孟德尔频率, 无法用传统的遗传理论和方法加以分析。但是偏分离在作图过程中又是普遍存在的, 在小麦^[15]、大豆^[16]、花生^[17]、大白菜^[14]等的分子遗传图谱构建中都有表现。在水稻、玉米中已经发现了导致偏分离

的雄配子体基因^[18, 19], 证实偏分离现象与配子体的选择有关。Knox 和 Ellis^[20]认为环境因素、非同源重组、基因转换和转座因子等也可能是引起偏分离的重要因素。文献报道的偏分离所占比例相差很大, 有人比较了 14 个种间构图群体, 发现平均有 25.3% 的标记发生偏离, 有的甚至接近 50%^[21]。Moretzsohn 等^[22]构建的花生属 AA 基因组遗传图谱标记的偏分离比例高达 51%。本试验中得到的 168 个标记中有 36 个在后代中出现偏分离, 占总标记数的 21.4%, 属于正常的偏离范围。

本研究利用 ISSR 和 SSR 两种标记构建了北柴胡遗传图谱。结果显示, 所构建的遗传图谱存在标记分布不均匀和图距较大的问题。分析出现这两种情况的原因, 作者认为一方面是本实验所用的 EST-SSR, 其多态性没有基因组 SSR 丰富, 往往用于遗传图谱的加密, 另一方面是 EST-SSR 标记数量太少 (14 对), 因而导致出现标记分布不均匀和图距较大的问题, 甚至可能将一条染色体分割成为 2 条染色体。尽管已有大量报道表明 SSR 标记用于构建遗传图谱时具有突出优点, 如位点单一, 可作为锚定标记, 有助于图谱染色体的归并和不同连锁群的整合等, 且微卫星在基因组中分布广泛而又随机, 只要 SSR 标记位点足够多, 构建的图谱就可以覆盖整个基因组^[23]。但是 SSR 引物是特异性引物, 通用性只限于同属甚至同种内, 而不像 RAPD、AFLP 一样在很多物种中都能通用, 而且 SSR 开发费用昂贵。本实验所用的 SSR 引物, 来自本实验室构建的北柴胡 cDNA 文库中分析得到的 44 对 SSR 引物, 经父母本筛选后只有 14 对 SSR 引物可以用来构建遗传图谱, 由于数量太少, 限制了 SSR 标记方法在构建北柴胡遗传图谱中的作用。因此, 构建一张高密度、高饱和的北柴胡遗传图谱还需开发更多的基因组 SSR 标记, 或结合多种分子标记方法, 如 AFLP、单核苷酸多态性标记 (single nucleotide polymorphisms, SNP)、相关序列扩增多态性标记 (sequence-related amplified polymorphism, SRAP) 等。

References

- [1] Helentjaris T, Slocum M, Wright S, et al. Construction of genetic linkage maps in maize and tomato using restriction fragment length polymorphisms [J]. Theor Appl Genet, 1986, 72: 761-769.
- [2] Moore G, Devos KM, Wang Z, et al. Cereal genome evolution. Grasses, line up and form a circle [J]. Curr Biol, 1995, 5: 737-739.
- [3] Yang JP, Rong TZ, Huang LJ, et al. Construction of the frame molecular linkage map in maize [J]. Acta Agron Sin (作物学报), 2004, 30: 82-87.
- [4] Li FL, Ma XJ. Advances in studies on molecular linkage map in medicinal plants [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2008, 39: 129-133.
- [5] Bratteler M, Lexer C, Widmer A. A genetic linkage map of *Silene vulgaris* based on markers [J]. Genome, 2006, 49: 3202-3271.
- [6] Tan XF. Contribution of a Molecular Genetic Linkage Map for *Ginkgo biloba* L. by RAPD (利用 RAPD 构建银杏的分子遗传图谱) [D]. Wuhan: Central South Forestry University, 1998.
- [7] Sui C, Wei JH, Chen SL, et al. Establishment and optimization of ISSR - PCR reaction system for *Bupleurum chinense* DC. [J]. LiShiZhen Med Mater Med Res (时珍国医国药), 2008, 8: 1837-1839.
- [8] Sui C, Wei JH, Chen SL, et al. Construction of a full-length enriched cDNA library and analysis of 3111 ESTs from roots of *Bupleurum chinense* DC [J]. Bot Stud, 2010, 51: 7-16.
- [9] Song J, Han MY, Zhao CP, et al. Contribution of a general genetic linkage map for peach using a 'Qinguang2' × 'Shuguang' F₁ progeny by SSR markers [J]. Acta Bot Boreal (西北植物学报), 2008, 28: 895-900.
- [10] Grattapaglia D, Sederoff R. Genetic linkage maps of *Eucalyptus grandis* and *Eucalyptus urophylla* using a pseudo testcross: mapping strategy and RAPD markers [J]. Genetics, 1994, 137: 1127-1137.
- [11] Dugo ML, Satovic Z, Millan T. Genetic mapping of QTLs controlling horticultural traits in diploid roses [J]. Theor Appl Genet, 2005, 111: 511-520.
- [12] Lowe KM, Walker MA. Genetic linkage map of the interspecific grape rootstock cross Ramsey (*Vitis champinii*) × Riparia Gloire (*Vitis riparia*) [J]. Theor Appl Genet, 2006, 112: 1582-1592.
- [13] Lu G, Cao JS, Chen H. Genetic linkage map of *Brassica campestris* L. using AFLP and RAPD markers [J]. J Zhejiang Univ, 2002, 5: 1862-1775.
- [14] Yu SC, Wang YJ, Zheng XY. Construction and analysis of a molecular genetic map of Chinese cabbage [J]. Sci Agric Sin (中国农业科学), 2003, 36: 190-195.
- [15] Messmer MM, Keller M, Zanetti S. Genetic linkage map of a wheat × spelt cross [J]. Theor Appl Genet, 1999, 98: 1163-1170.
- [16] Wu XL, He CY, Wang YJ, et al. Construction and analysis of a genetic linkage map of soybean [J]. Acta Genet Sin (遗传学报), 2001, 28: 1951-1961.

- [17] Varshney RK, Bertoli DJ, Moretzsohn MC, et al. The first SSR-based genetic linkage map for cultivated groundnut (*Arachis hypogaea* L.) [J]. *Theor Appl Genet*, 2009, 118: 729–739.
- [18] Kinshita T. Report of the committee on gene symbolization nomenclature and linkage group [J]. *Rice Genet Newslett*, 1993, 10: 7–39.
- [19] Coe EH, Polacco M. Gene list and working maps [J]. *Maize Genet Coop Newslett*, 1995, 694: 157–191.
- [20] Knox MR, Ellis THN. Excess heterozygosity contributes to genetic map expansion in pea recombinant inbred populations [J]. *Genetics*, 2002, 162: 861–873.
- [21] Zhang YZ. An AFLP Linkage Mapping Using a Hybrid Population of *Populus tomentosa* (毛白杨杂交群体 AFLP 遗传图谱的构建) [D]. Beijing: Chinese Academy of Forestry, 2001.
- [22] Moretzsohn MC, Leoi L, Proite K, et al. A microsatellite-based, gene-rich linkage map for the AA genome of *Arachis* (Fabaceae) [J]. *Theor Appl Genet*, 2005, 111: 1060–1071.
- [23] Dirlewanger E, Cosson P, Tavaud M, et al. Development of microsatellite markers in peach (*Prunus persica* (L.) Batsch.) and their use in genetic diversity analysis in peach and sweet cherry (*Prunus avium* L.) [J]. *Theor Appl Genet*, 2002, 105: 127–138.

关于推荐 2010 年中国药学会科学技术奖的通知

中国药学会科学技术奖是 2005 年 7 月经国家科学技术部批准的我国药学领域的科学技术奖, 每年评选一次, 2006、2007、2008 和 2009 年已经四次颁奖。2010 年奖励最高限额分为: 一等奖 2 名、二等奖 5 名、三等奖 8 名, 奖励金额分别为 50 000、30 000 及 10 000 元。中国药学会将从获得奖励的项目中, 推荐国家科技奖励项目。

申报时间: 2010 年 4 月 30 日前, 以邮戳为准。

有关推荐、申报 2010 年中国药学会科学技术奖的推荐要求、申报渠道和推荐材料的具体要求等事宜可从中国药学会网站 <http://www.cpa.org.cn> 查询相关通知。

联系方式:

地 址: 北京市朝阳区建外大街四号建外 SOHO 九号楼 1802 室

联系人: 孙文虹 (010-58699275-819)、鲁 毅 (010-58699275-820)

邮 编: 100022 传 真: 010-58699125

E-mail: sunwenhong2002@163.com