DOI: 10.3724/SP.J.1006.2010.00932

绿豆遗传连锁图谱的整合

赵 丹 程须珍* 王丽侠 王素华 马燕玲

中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081

摘 要: 利用绿豆及其近缘种的 701 对 SSR 引物, 对现有绿豆遗传连锁图谱进行补充, 结果在高感豆象绿豆栽培种 Berken 和高抗豆象绿豆野生种 ACC41 两亲本间筛选到多态性 SSR 引物 104 对。群体分析后, 结合其他分子数据, 使用作图软件 Mapmaker/Exp 3.0b, 获得一张含有 179 个遗传标记和 12 个连锁群, 总长 1 831.8 cM、平均图距 10.2 cM 的新遗传连锁图谱, 包括 97 个 SSR 标记, 91 个来自绿豆近缘种; RFLP 标记 76 个; RAPD 标记 4 个; STS 标记 2 个。对 32 个绿豆、小豆共用 SSR 标记在遗传连锁图谱的分布分析发现, 二个基因组间有一定程度的同源性, 共用标记在连锁群上的排列顺序基本上一致, 只有部分标记显示绿豆和小豆基因组在进化过程中发生了染色体重排; 利用新图谱对 ACC41 的抗绿豆象主效基因重新定位, 仍定位于 I(9)连锁群, 与其相邻分子标记的距离均小于 8 cM, 其中与右翼 SSR 标记 C220 的距离约 2.7 cM。与原图谱比较, 新定位的抗性基因与其相邻标记的连锁更加紧密。

关键词: 绿豆; 遗传连锁图谱; SSR 标记; 图谱比较; 抗豆象基因

Integration of Mungbean (*Vigna radiata*) Genetic Linkage Map

ZHAO Dan, CHENG Xu-Zhen*, WANG Li-Xia, WANG Su-Hua, and MA Yan-Ling

Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China

Abstract: A high-density genetic linkage map with informative markers is essential for plant genome analysis, including gene mapping, identification of quantitative trait loci (QTL), map-based cloning, and physical map construction. A genetic linkage map of mungbean (*Vigna radiata*, $2n = 2x = 22$) was constructed using recombinant inbred line (RIL) population derived from an intersubspecific cross between a highly bruchid-susceptible cultivar Berken and a highly bruchid-resistant wild type ACC41 (*V. radiata* subsp. *sublobata*). A total of 104 pairs of polymorphic SSR primers were screened from 701 pairs of primers for density-enhancement of the previous map. In combination with data from other markers, a new genetic linkage map with 179 markers was obtained using Mapmaker/Exp 3.0b software, including 97 SSR markers (91 markers from mungbean close relatives), 76 RFLP markers, four RAPD markers, and two STS markers. All of these marker loci were assigned to 12 linkage groups with total length of 1 831.8 cM and an average marker interval of 10.2 cM. The transferability of SSR markers from the relatives of mungbean was also evaluated in mungbean, including adzuki bean (*V. angularis* L.), black gram (*V. mungo* L.), common bean (*Phaseolus vulgaris*), and cowpea (*V. unguiculata*). In the 597 pairs of SSR primers, approximately 65% from adzuki bean, 72% from black gram, 42% from common bean, and 30% from cowpea could be effectively amplified in mungbean genome, indicating different levels of genomic homology between mungbean and these four relative species. A total of 98 pairs of polymorphic SSR primers from the relative species were effective in genetic analysis of mungbean. The new linkage map of mungbean was compared with a published linkage map of Azuki bean (*V. angularis*, $2n = 2x = 22$, $n = 11$) on the basis of 32 common SSR markers. Most of markers distributed on both maps in similar sequences, except that a few markers rearranged on chromosomes during evolution. In the new map of mungbean, the major gene resistant to bruchid was located on LG I(9) as earlier reported. The distances between this gene and its flanking markers C78 (left) and C220 (right) were 8.0 cM and 2.7 cM, respectively. Consequently, the marker interval containing this target gene has shortened compared with the previous map and the accuracy has also been improved.

Keywords: Mungbean; SSR; Genetic linkage map; Comparative mapping; Bruchid resistant gene

本研究由国家食用豆产业技术体系建设项目(nycytx-18), 食用豆行业科技专项(nyhyzx07-017), 国家自然科学基金项目(30871565)和中央级科研院所社会公益研究专项(092060302-12)和国家“十一五”科技支撑计划(2006BAD02B08, 2006BAD13B05)资助。

* 通讯作者(Corresponding author): 程须珍, E-mail: Chengxz@caas.net.cn, Tel: 010-62189159

第一作者联系方式: E-mail: zhaodan96069@yahoo.com.cn; Tel: 13269117545

Received(收稿日期): 2009-11-07; Accepted(接受日期): 2010-03-19.

绿豆(*Vigna radiata*)属于豆科(Leguminosae)蝶形花亚科(Papilionaceae)菜豆族(Phaseoleae)豇豆属(*Vigna*), 染色体组为 $2n=22$ 。由于其具有耐瘠、固氮养地等特性, 目前已成为中国农业种植结构调整、西部开发及经济欠发达地区农民脱贫致富的重要作物^[1]。同时绿豆富含蛋白质、维生素、矿质元素等营养物质, 且具有药用价值, 是广受欢迎的医食两用作物^[2], 也是中国传统出口商品。然而, 与大宗作物如玉米、水稻相比, 国内外对绿豆的遗传研究还相对滞后, 现代分子生物学技术在其基因发掘、基因标记、标记辅助育种等方面还鲜有应用。

遗传连锁图是基因标记、克隆、标记辅助育种的重要基础。目前国外先后发表了5张绿豆遗传连锁图^[3-7], 但标记密度较低, 且所用标记大多为RAPD和RFLP, 在图谱构建及标记辅助育种中存在不利因素。SSR分子标记因具有共显性、多态性丰富、重复性好、实验周期短、在植物基因组中分布广等众多优点, 已成为构建作物遗传图谱的首选分子标记^[8]。目前公开发表的绿豆SSR标记数目非常有限^[9-12], 且多态性较低, 其进一步的利用受到限制^[11], 而小豆(*Vigna angularis*)、菜豆(*Phaseolus vulgaris*)等绿豆近缘植物的分子生物学研究比较深入, 已有大量SSR标记定位在遗传图谱上。因SSR标记在近缘植物基因组间有一定的通用性^[13-15], 且从基因组文库开发绿豆SSR标记相对耗时耗力, 所以本研究对绿豆近缘种小豆、黑吉豆、菜豆和豇豆的SSR引物进行了多态性筛选, 将近缘种SSR标记整合到Humphry等^[5]已构建的绿豆RFLP遗传连锁图中。一方面, 为绿豆开发重复性好且试验周期短的PCR标记和构建高密度绿豆遗传图谱奠定基础; 另一方面, 为绿豆与其近缘种间的比较基因组学研究提供一定的信息。本研究结果将为ACC41中抗绿豆象基因的定位分析提供信息, 进一步辅助该基因的精细定位研究。

1 材料与方法

1.1 试验材料

作图群体是以野生绿豆ACC41和栽培绿豆Berken为亲本构建的202个F₉代重组自交系群体(引自澳大利亚)。母本Berken(*Vigna radiata* ssp. *radiata*)由美国俄克拉荷马州立大学James Kirby博士培育, 高感豆象(100%感)^[16], 父本ACC41(*Vigna radiata* ssp. *sublobata*)是1984年澳大利亚Lawn博士在昆士兰州的萨默塞特奥马镇(经度152°33', 纬度27°7')发

现的1个野生绿豆材料, 为蔓生类型, 茎秆纤细, 农艺性状与栽培绿豆有很大差异^[17], 高抗豆象(100%抗)^[18]。

1.2 引物与SSR标记方法

SSR引物701对, 其中小豆引物197对, 黑吉豆引物61对, 菜豆引物293对, 豇豆引物46对, 绿豆引物104对, 另外还有RAPD引物8个, 绿豆STS引物2对。引物均由北京赛百盛基因技术有限公司合成。

参照Ji等^[19]发表的SSR标记方法, 于苗期取亲本及各株系叶片, 用简化CTAB法提取总DNA进行PCR扩增, 用5%的聚丙烯酰胺变性凝胶电泳分离扩增产物。

1.3 遗传标记多态数据

澳大利亚联邦科学与工业研究院(CSIRO)提供的Humphry等^[5]图谱, 包含78个RFLP分子标记数据。

1.4 绿豆抗感豆象鉴定数据

重组自交系RIL群体在4个环境下的绿豆象抗感统计数据^[20], 均由本实验室提供。RIL群体种子受害率为0~100%, 根据种子受害率评价其抗性, 本研究以80%为界, 将RIL群体抗豆象性状值分为抗(在4个环境下受害率均<20%)和感(在4个环境下受害率均>20%)两组。

1.5 连锁图谱的构建与整合

连锁分析软件为Mapmaker/Exp3.0b。按软件要求录入家系数据较完全的SSR标记新数据, 加上来自Humphry等^[5]78个RFLP分子标记图谱数据, 同父本的记作a, 同母本的记作b, 带型不清或数据缺失者记作“-”。调用转换的数据文件, 设定LOD 3.0, 最大遗传图距50 cM, 使用group命令推测可能的连锁群, 然后利用3点和多点分析构建连锁群, 采用compare和order命令对连锁群的标记排序, ripple命令进行反复梳理, map命令计算标记间遗传距离(cM), 使用软件MapChart绘制遗传图谱。作图后以error detection命令检测误差, 设错误检测水平为1%。以Humphry等^[5]绿豆图谱上的RFLP标记为锚定标记确定相应连锁群。绿豆抗豆象主效基因定位和作图一并进行。最后, 利用共有的SSR标记对绿豆和小豆两个近缘种基因组进行比较作图分析。

2 结果与分析

2.1 近缘种SSR标记在绿豆中的分析

从597对小豆、黑吉豆、菜豆和豇豆SSR引物

中筛选出在野生绿豆 ACC41 和栽培绿豆 Berken 之间的多态性引物 98 对, 其中小豆引物 37 对, 黑吉豆引物 16 对, 菜豆引物 41 对, 豇豆引物 4 对, 它们的有效扩增率分别为 65%、72%、42%和 30%, 来自黑吉豆的引物在绿豆中有效扩增率最高, 来自豇豆的引物有效扩增率最低; 另外, 筛选了 104 对绿豆 SSR 引物, 但有效扩增率仅为 42%, 得到 6 对多态性引物, 再一次表明目前发表的绿豆 SSR 引物在绿豆基因组中的多态性较低, 扩增效果也有待进一步提高。用双亲间多态性好且产物稳定的 104 对引物对作图群体进行分析, 共扩增出 107 个标记位点, 其中 SSR 引物 J5 和 C14 分别扩增出 2 个和 3 个位点, 其余引物均扩增出一个位点。

作图群体双亲之间多态性标记的 2 种基因型在 RIL 群体中的比例应符合 1:1, 对 107 个新增标记的两种基因型在作图群体中的分布进行卡方测验表明, 在 0.05 概率水平和 0.01 概率水平上分别有 9 个和 32 个新增标记表现为偏分离, 占总标记位点的 38%。在 41 个偏分离标记位点中, 37 个偏向母本 Berken (绿豆栽培种), 占偏分离标记位点数的 90%, 仅有 4 个偏向父本 ACC41 (绿豆野生种), 占偏分离标记位点数的 10%。图谱整合后总的偏分离率为 32.2%, 较之原连锁图谱^[5]的 30.8%略高。

2.2 遗传连锁图谱的整合

在 Humphry 等^[5]图谱基础上, 加上家系数据较完全的 SSR 标记新数据, 使用 Mapmaker/Exp3.0 软件作图。得到一张包含 12 个连锁群, 179 个分子标记的遗传连锁图谱, 其中 SSR 标记 97 个: 91 个来自绿豆近缘种, RFLP 标记 76 个, RAPD 标记 4 个, STS 标记 2 个, 图谱总遗传距离为 1 831.8 cM。各连锁群标记数在 8~40 个之间, 连锁群长度在 51.2~483.9 cM 之间, 标记间平均距离 10.2 cM。

新增多态性位点中 103 个标记定位到图谱中, 其中 95 个标记定位到 Humphry 等^[5]构建的绿豆图谱中 13 个连锁群上, 形成了 11 个连锁群, 剩余 8 个标记又另外形成了 1 个连锁群 N (图 1)。新增标记中有 10 个未能在连锁群上定位, 作图位点率 91.2%。

2.3 整合前后绿豆遗传连锁图对比分析

Humphry 等^[5]原图谱含 13 个连锁群, 78 个 RFLP 标记位点, 总长 737.9 cM。新图谱有 12 个连锁群, 总长 1831.8 cM, 整合后图谱的长度显著增加了。原图谱标记间平均距离 9.5 cM^[5], 新图谱标记间平均

距离 10.2 cM, 标记间平均距离有所增大, 是由于新图谱 A(1)'和 D(4)两个连锁群中存在两个大于 35 cM 的空隙, 其他连锁群密度均有所减小。整合后图谱的标记分布更加均匀, 对绿豆基因组的覆盖率也极大增加。

新图谱与原图谱连锁群间发生一些变化, 原图谱中连锁群 A、B 和 M 因新加入 8 个标记而连在一起, 形成一个大的连锁群 A(1)' (图 1), 说明原图谱中这 3 个连锁群可能是绿豆同一条染色体上的不同区域, 加密前被分成 3 个连锁群, 可能是由于连锁群位点密度不够高或者一些与三者关系紧密的位点还没有被定位。绿豆完整的基因组应包括 11 个连锁群, 本研究得到了 12 个连锁群, 表明至少有 1 条染色体中存在频繁交换或标记空缺区段。随着新位点数的不断加入、连锁群密度的加大, 连锁群的数目一定会减少, 直到与绿豆染色体一一对应。

2.4 小豆与绿豆的比较连锁图

绿豆新图谱含有 32 个小豆 SSR 引物定位标记, 这些引物在小豆遗传图谱^[21]中已有确定位点, 并且 32 对引物在两连锁图中均扩增出单个位点。利用这些共有标记对绿豆和小豆图谱做简单的绘图比较 (图 2), 大多数标记被定位到所期望的位置, 并且通过与其周围标记(两物种连锁群共有)的连锁关系进一步证实两物种基因组间同源性的存在, 例如整合后在绿豆连锁群 D(4)上定位的 5 个 SSR 标记均已定位于小豆连锁图^[21]的第 8 连锁群且顺序完全一致, 由此推断进化过程中绿豆连锁群 D(4)可能与小豆的第 8 连锁群存在同源关系, 两连锁群间很可能有相同或相似的保守序列。

2.5 绿豆抗豆象基因定位

原图谱的绿豆抗豆象主效基因 Br1 位于 I(9)连锁群 RFLP 标记 pM213~VrCS16 之间, 距离左翼标记 pM213 为 5.0~8.0 cM, 间距较大。图谱整合后, 该主效基因依然定位于原 RFLP 标记之间, 但此目标范围内新增加了 5 个 SSR 标记 C370、C220、C352、C273 和 C151, 和 1 个 RAPD 标记, 各位点排列顺序见图 1。抗性基因位点与相邻分子标记间的连锁关系更加紧密, 其中与右翼 SSR 标记 C220 的距离约为 2.7 cM。另外, STS 标记 L11 与 L12 及已知与野生绿豆 TC1966 抗豆象基因连锁的 RAPD 标记 C49-2、C78 在此连锁群中亦表现出与 ACC41 的抗绿豆象基因 Br1 有连锁关系 (图 1, I(9)连锁群)。引物

图 1 整合后遗传连锁图

Fig. 1 Integrated genetic linkage map of mungbean

SSR 引物以其来源的植物名称拼音的第一个字母再加本实验室编号来命名, 如引物 X109、H57、C239、J22、L83 分别来自小豆、黑吉豆、菜豆、豇豆和绿豆。*和**表示显著($P<0.05$)和极显著($P<0.01$)偏分离位点。新加引物以粗黑体示。

Primers were named as the first letters of the species' names and followed by the number of our laboratory, such as the primer X109 (azuki bean-Xiaodou in Chinese). * and **: significant segregation distortion loci at $P<0.05$ and $P<0.01$, respectively. New markers are shown in bold.

C220 在绿豆基因组中的扩增情况如图 3。

3 讨论

3.1 近缘种 SSR 标记在绿豆基因组中的转移性

本研究中绿豆 SSR 引物在绿豆基因组中的扩增效果与多态性仍不理想; 分析的绿豆近缘种 SSR 引物在绿豆基因组中的有效扩增率为 30%~70%, 筛选

到的 98 对多态性 SSR 引物可以有效用于绿豆分子遗传学研究, 说明在绿豆遗传研究比较落后的情况下, 利用近缘种 SSR 标记对绿豆进行分子研究是便捷可行的方法。

3.2 图谱整合前后标记位置的变化

整合后遗传连锁图与 Humphry 等^[5]原图谱基本一致, 但也有一些标记位置随着连锁图谱整合发生

图 2 绿豆与小豆的遗传连锁图比较

Fig. 2 Comparison of linkage maps of the mungbean (*V. radiata*) and azuki bean (*Vigna angularis*) genomes
黑色竖线为绿豆连锁群, 标以字母和数字, 除 N 和 L 外; 灰色竖线为小豆连锁群, 标以数字。

Mungbean linkage groups are shown as black vertical lines noted by letters and numbers, except N and L groups, azuki bean linkage groups as grey vertical lines capped by numbers.

图 3 C220 在 ACC41、Berken 和 RIL 部分家系上的扩增产物

Fig. 3 Amplification products of C220 among ACC41, Berken and parts of RIL lines

M: marker; P1: Berken; P2: ACC41; 3~6: RIL 家系中高感材料; 7~10: RIL 家系中高抗材料; 其余: 部分 RIL 家系。

M: marker; P1: Berken; P2: ACC41; 3~6: Bruchid highly-susceptible lines of RIL; 7~10: Bruchid highly-resistant lines of RIL; others: parts of RIL lines.

变动, 4 个位点在连锁群上的位置发生颠倒(图 4), 这可能是因标记偏分离现象的影响, 宋宪亮等^[22]认为偏分离可以影响标记间的重组距离, 也会影响到连锁群上标记的顺序。本研究中源于重组自交系的偏分离位点较多, 约占位点总数的 32%, 可能与 RIL 群体的野生亲本携带不利位点较多或在重组自交系

群体构建过程中人为抽样造成的偏差等原因有关。此外, 不同的研究者采用不同的分子标记和作图软件, 也可能导致不同遗传连锁图间标记顺序的差异^[23-24]。

3.3 绿豆与小豆连锁图间的比较分析

本研究通过共有标记对绿豆 12 个连锁群和小豆 11 个连锁群的比较认为, 绿豆连锁图谱中 A(1)'、

图 4 整合后 B(2)和 H(8)连锁群上分子标记的位置变化

Fig. 4 Loci alternation of group B(2) and group H(8) after integration

A 和 C 分别为整合前的 B(2)和 H(8)连锁群; B 和 D 分别为整合后的 B(2)和 H(8)连锁群。

A and C are parts of linkage groups of B(2) and H(8) before integration; B and D are parts of linkage groups of B(2) and H(8) after integration.

C(3)、D(4)、E(5)、F(6)、H(8)、I(9)、K(11)、L 连锁群可能分别与小豆连锁图谱中的第 4、10、8、7、3、2、2、9、6 连锁群相对应, 对应连锁群间可能存在同源区域。由于两基因组对应连锁群间共有标记数目较少, 如绿豆 C、F 连锁群与小豆第 10、3 连锁群间仅有两个共有标记, 不能通过与周围共有标记的连锁关系证实标记间的顺序性, 所以结果还需更多的共有标记验证。在以上对应连锁群中, 除绿豆 K(11)连锁群与小豆的第 9 连锁群中标记 X165 与 X170 位置颠倒外, 其余共有标记的顺序完全一致, 说明绿豆与小豆基因组间存在一定的保守性, 且保守区域内很少发生重排。但标记 X126、X46、X40 与其周围的标记不同, 定位到了两个基因组间明显不同的区域, 反映出绿豆与小豆基因组间关系的复杂性。

另外, 基于比较图中绿豆连锁群 H 和 I 与小豆连锁群 2 的关系(图 4)推断, 该绿豆连锁图中连锁群 H 和 I 可能来自绿豆同一条染色体的不同区域, 或是在绿豆进化过程中有密切联系。同样, Humphry 等^[5]在利用共有标记对绿豆和扁豆连锁群进行比较时(图 4)发现了类似的现象并也提出了以上观点。

豆科比较基因组学的研究结果认为豆科植物中亲缘关系较近的物种间染色体同线性广泛存在, 而

图 5 绿豆连锁群 H 和 I 与小豆连锁群 2(A)及与扁豆连锁群 2(B)关系比较

Fig. 5 Comparisons of H and I linkage groups from mungbean with the linkage group 2 of azuki bean (A) and with the linkage group 2 of lablab (B)

且基因在染色体上具有相似的排列顺序^[25-30], 本研究通过利用共有标记对绿豆和小豆遗传图谱进行比较, 所得结果进一步为该观点补充了论据, 并且获得了一些绿豆和小豆基因组间的同源性信息, 期望对它们在遗传衍化中关系的推测提供一些基本资料。另外, 本研究所获得 SSR 标记的利用不仅会对绿豆与其近缘种的比较基因组学研究提供信息, 对于基因发掘、鉴定、标记辅助选择育种、绿豆种质资源遗传多样性分析等研究也能起一定的促进作用。

3.4 抗豆象基因定位分析

新图谱中抗豆象基因与相邻分子标记连锁更加紧密, 与右翼标记 C220 遗传距离约为 2.7 cM, 精确度较原图谱有所提高, 为该主效基因的精细定位奠定了基础。本研究中目标区间内新增的 5 个 SSR 标记(包括 C220)均来自于菜豆, 虽然只有标记 C151 已定位于菜豆遗传连锁图第 9 连锁群, 其他 4 个还未定位, 但以上结果还是可以表明利用近缘种的 SSR 标记开展绿豆抗豆象基因定位工作是可行的。当然, 精细定位工作还受作图群体、标记数量和种类等方面的影响, 所以今后应在尝试利用更多种类标记的同时, 继续借助比较基因组作图, 获得近缘种中抗豆象基因的同源片段, 首先筛选目标区段的 SSR 标记; 同时, 建立近等基因系或较大的作图群体 F_{2:3}, 完成对该抗绿豆象基因的精细定位工作, 进而克隆、转化该抗性基因, 并用于抗豆象育种的分子标记辅助选择, 以期选育出抗豆象的绿豆优良品种, 从而解决豆象危害问题。

4 结论

通过对 597 对绿豆近缘种的 SSR 引物在绿豆基因组中的可转移性分析, 约 65% 小豆、72% 黑吉豆、42% 菜豆、30% 豇豆 SSR 引物可在绿豆中有效扩增, 共筛选到的 98 对多态性 SSR 引物可以有效用于绿豆分子遗传学研究; 最终将 103 个新标记位点整合至 Humphry 等^[5]图谱中, 其中 SSR 标记 97 个, 整合后的图谱共有 179 个遗传标记, 12 个连锁群, 总长 1831.8 cM, 平均图距 10.2 cM; 绿豆和小豆遗传连锁图中共有 SSR 标记及标记间的顺序反映二基因组间同源性较高; 来自菜豆的 SSR 标记 C220 与绿豆抗豆象主效基因 *Br1* 紧密连锁, 遗传距离约为 2.7 cM。

References

- [1] Lin R-F(林汝法), Chai Y(柴岩), Liao Q(廖琴), Sun S-X(孙世贤). Minor Crops in China (中国小杂粮). Beijing: China Agriculture

- Press, 2002. pp 192–209 (in Chinese)
- [2] Zheng Z-J(郑卓杰). Food Legumes in China (中国食用豆类学). Beijing: China Agriculture Press, 1995. pp 141–166 (in Chinese)
- [3] Menancio-Hautea D, Kumar L, Danesh D, Young N D. A genome map for mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] based on DNA genetic markers ($2n = 2x = 22$). In: O'Brien J S ed. Genetic Maps 1992, A Compilation of Linkage and Restriction Maps of Genetically Studied Organisms. NY, USA: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1993. pp 6259–6261
- [4] Lambrides C J, Lawn R J, Godwin I D. Two genetic linkage maps of mungbean using RFLP and RAPD markers. *Austr J Agric Resour*, 2000, 51: 415–425
- [5] Humphry M E, Konduri V, Lambrides C J, Magner T, McIntyre C L, Aitken E A B, Liu C J. Development of a mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] RFLP linkage map and its comparison with lablab (*Lablab purpureus*) reveal a high level of colinearity between the two genomes. *Theor Appl Genet*, 2002, 105: 160–166
- [6] Sholihin, Hautea D M. Molecular mapping of drought resistance in mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek]: 1. Linkage map in mungbean using AFLP markers. *J Biotechnol Pertanian*, 2002, 7: 17–24
- [7] Chen H M, Liu C A, Kuo C G, Chien C M, Sun H C, Huang C C, Lin Y C, Ku H M. Development of a molecular marker for a bruchid (*Callosobruchus chinensis* L.) resistance gene in mungbean. *Euphytica*, 2007, 157: 113–22
- [8] Klos K L E, Paz M M, Marek L F, Cregan P B, Shoemaker R C. Molecular markers useful for detecting resistance to brown stem rot in soybean. *Crop Sci*, 2000, 40: 1445–1452
- [9] Kumar S V, Tan S G, Quah S C, Yusoff K. Isolation and characterization of seven tetranucleotide microsatellite loci in mungbean, *Vigna radiata*. *Mol Ecol Notes*, 2002, 2: 293–295
- [10] Kumar S V, Tan S G, Quah S C, Yusoff K. Isolation of microsatellite markers in mungbean, *Vigna radiata*. *Mol Ecol Notes*, 2002, 2: 96–98
- [11] Miyagi M, Humphry M, Ma Z Y, Lambrides C J, Bateson M, Liu C J. Construction of bacterial artificial chromosome libraries and their application in developing PCR-based markers closely linked to a major locus conditioning bruchid resistance in mungbean. *Theor Appl Genet*, 2004, 110: 151–156
- [12] Gwag J G, Chung J W, Chung H K, Lee J H, Ma K H, Dixit A, Park Y J, Cho E G, Kim T S, Lee S H. Characterization of new microsatellite markers in mungbean (*Vigna radiata* L.). *Mol Ecol Notes*, 2006, 6: 1132–1134
- [13] Liu C-Y(刘长友), Cheng X-Z(程须珍), Wang S-H(王素华), Wang L-X(王丽侠), Sun L(孙蕾), Mei L(梅丽), Xu N(徐宁). The screening of SSR and STS markers for genetic diversity analysis of mungbean. *J Plant Genet Res* (植物遗传资源学报), 2007, 8(3): 298–302 (in Chinese with English abstract)
- [14] Peakall R, Gilmore S, Keys W, Morgante M, Rafalski A. Cross-species amplification of soybean (*Glycine max*) simple sequence repeats (SSRs) within the genus and other legume genera: implications for the transferability of SSRs in plants. *Mol Biol*

- Evol*, 1998, 15: 1275–1287
- [15] Sharma R K, Gupta P, Sharma V, Sood A, Mohapatra T, Ahuja P S. Evaluation of rice and sugarcane SSR markers for phylogenetic and genetic diversity analyses in bamboo. *Genome*, 2008, 51: 91–103
- [16] J Kingston R W. Berken: a new mungbean variety. *Qld Agric J*, 1975, 101: 659–661
- [17] Lawn R J, Cottrell A. Wild mungbean and its relatives in Australia. *Biologist*, 1988, 35: 267–273
- [18] Rebetzke G J. Attributes of Potential Adaptive and Agronomic Significance in the Wild Mungbean (*Vigna radiata* L.) Wikzek ssp. *sublobata* (Roxb.) Verdc. Brisbane, Australia: MS Dissertation of University of Queensland, 1994
- [19] Ji W(季伟), Wang L-X(王立新), Sun H(孙辉), Wang M-Y(王茅雁), Zhao C-P(赵昌平). Predigestion of wheat SSR analysis protocol. *J Agric Biotechnol* (农业生物技术学报), 2007, 15(5): 907–908 (in Chinese with English abstract)
- [20] Mei L(梅丽), Wang S-H(王素华), Wang L-X(王丽侠), Liu C-Y(刘长友), Sun L(孙蕾), Xu N(徐宁), Liu C-J(刘春吉), Cheng X-Z(程须珍). Mapping of genes resistant to bruchid in mungbean using recombinant inbred lines population. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2007, 33(10): 1601–1605 (in Chinese with English abstract)
- [21] Han O K, Kaga A, Isemura T, Wang X W, Tomooka N, Vaughan D A. A genetic linkage map for azuki bean [*Vigna angularis* (Willd.) Ohwi & Ohashi]. *Theor Appl Genet*, 2005, 111: 1278–1287
- [22] Song X-L(宋宪亮), Sun X-Z(孙学振), Zhang T-Z(张天真). Segregation distortion and its effect on genetic mapping in plants. *J Agric Biotechnol* (农业生物技术学报), 2006, 14(2): 286–292 (in Chinese with English abstract)
- [23] Li W-H(李卫华), Liu W(刘伟), You M-S(尤明山), Xu J(许杰), Liu C-L(刘春雷), Li B-Y(李保云), Liu G-T(刘广田). Construction of wheat molecular linkage map using different SSR markers and the polymorphism of the markers. *J Triticeae Crops* (麦类作物学报), 2007, 27(1): 1–6 (in Chinese with English abstract)
- [24] Wang Z-L(王竹林), Liu S-D(刘曙东), Liu H-Y(刘惠远), He Z-H(何中虎), Xia X-C(夏先春), Chen X-M(陈新民). Genetic linkage map in “Bainong 64” × “Jingshuang 16” of wheat. *Acta Bot Boreal-Occident Sin* (西北植物学报), 2006, 26(5): 886–892 (in Chinese with English abstract)
- [25] Fatokun C A, Menancio-Hautea D I, Danesh D, Young N D. Evidence for orthologous seed weight genes in cowpea and mungbean based on RFLP mapping. *Genetics*, 1992, 132: 841–846
- [26] Pereira M G, Lee M. Identification of genomic regions affecting plant height in sorghum and maize. *Theor Appl Genet*, 1995, 90: 380–388
- [27] Menancio-Hautea D, Fatokun C A, Kumar L, Danesh D, Young N D. Comparative genome analysis of mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek) and cowpea (*V. unguiculata* L.) Walpers using RFLP mapping data. *Theor Appl Genet*, 1993, 86: 797–810
- [28] Boutin S R, Young N D, Olsen T C, Yu Z H, Shoemaker R C, Vallejos C E. Genome conservation among three legume genera detected with DNA markers. *Genome*, 1995, 38: 928–937
- [29] Pereira M G, Lee M. Identification of genomic regions affecting plant height in sorghum and maize. *Theor Appl Genet*, 1995, 90: 380–388
- [30] Lagercrantz U. Comparative mapping in Arabidopsis and Brassica, fine scale genome collinearity and congruence of genes controlling flowering time. *Plant J*, 1996, 9: 13–21