

大白菜 SRAP 反应体系的建立与优化 *

杨 琦, 张鲁刚 *

(西北农林科技大学园艺学院, 陕西杨凌 712100)

摘 要: 以大白菜基因组 DNA 为模板, 通过正交试验设计, 从 Mg^{2+} 、Taq 酶、dNTPs、引物、模板 5 种因素 4 个水平对大白菜 SRAP (Sequence-related amplified polymorphism, 序列相关扩增多态性) 反应体系进行优化, 建立了适合于大白菜的 SRAP-PCR 优化反应体系, 该体系为 25 μ L; Mg^{2+} 浓度为 3.0 mmol/L, dNTPs 为 0.2 mmol/L, Taq 酶 1.5 U, 引物为 0.2 μ mol/L, 模板 DNA 73.2 ng。PCR 反应程序为: 94℃ 预变性 5 min; 94℃ 变性 1 min, 35℃ 复性 1 min, 72℃ 延伸 1 min, 5 个循环; 94℃ 变性 1 min, 50℃ 复性 1 min, 72℃ 延伸 1 min, 35 个循环, 72℃ 延伸 10 min。

关键词: 大白菜; SRAP; 优化; 正交试验

中图分类号: S6434.1

文献标识码: A

文章编号: 1004-1389(2007)03-0119-05

Optimization of SRAP Reaction System in Chinese Cabbage (*Brassica campestris* syn. *rapa* L. ssp. *Pekinensis* (Lour) olsson)

YANG Qi and ZHANG Lu-gang *

(College of Horticulture, Northwest A & F University, Yangling Shaanxi 712100, China)

Abstract: Using Chinese Cabbage (*Brassica campestris* syn. *rapa* L. ssp. *Pekinensis* (Lour) olsson) genome DNA as template, the major components of SRAP, such as concentrations of Mg^{2+} , dNTPs, Taq DNA polymerase, primers and template, were optimized in this study by orthogonal design in five factors four levels respectively. The results showed that the optimum SRAP reaction system includes Mg^{2+} 3.0 mmol/L, dNTPs 0.2 mmol/L, DNA template 73.2 ng, Taq DNA polymerase 1.5 U and primer 0.2 μ mol/L in the 25 μ L volume reaction. The most suitable protocol was initially denaturing at 94℃ for 5 min, then pre-amplifying at 94℃ 1 min, 35℃ 1min and 72℃ 1 min for five cycles, finally amplifying for 35 cycles when the annealing temperature was adjusted to 50℃.

Key words: Chinese cabbage (*Brassica campestris* syn. *rapa* L. ssp. *Pekinensis* (Lour) olsson); SRAP; Optimization; Orthogonal design

SRAP^[1] (Sequence-related amplified polymorphism, 序列相关扩增多态性) 标记是由美国加州大学蔬菜作物系 Li 和 Quiros 发展的一种基于 PCR 反应的新型分子标记技术。其原理是针对基因外显子中 GC 含量丰富, 而启动子、内含子中 AT 含量丰富的特点设计两组引物进行 PCR 扩增, 因不同个体的内含子、启动子与外显子间隔

区长度不等而产生多态性。其中正向引物 (F-primer) 长 17bp, 5' 端的前 10 bp 是一段填充序列, 紧接着是 CCGG, 它们组成核心序列加上 3' 端 3 个选择碱基, 对 ORFs 外显子进行特异扩增; 反向引物 (R-primer) 长 18bp, 5' 端的前 11bp 是一段填充序列, 紧接着是 AATT, 它们组成核心序列加上 3' 端 3 个选择碱基, 以特异结合富含 AT 的

* 收稿日期: 2006-12-05 修回日期: 2006-12-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (编号 30270913)。

作者简介: 杨 琦 (1983—), 男, 在读硕士, 从事分子遗传学研究。E-mail: yugo_iou@yahoo. com. cn

通讯作者: 张鲁刚。E-mail: lugangzh@163. com

内含子、启动子区域和间隔序列进行特异扩增。SRAP 具有多态性和信息量丰富,技术简便,结果稳定,成本较低,适用于基因定位、基因克隆、生物多样性^[2]、遗传图谱构建^[3]、cDNA 指纹图谱、预测杂种优势、比较基因组学^[4]等诸多研究领域,已广泛应用于芸薹属作物、马铃薯、水稻、莴苣、大蒜、苹果、柑桔属作物、芹菜^[1]、棉花^[5]、辣椒^[6]、小麦^[7]、柿属植物^[8]、花生^[9]、烟草^[10]、甘薯^[11]等植物中。就不同植物类群而言,SRAP 的最佳反应条件会有所差别,主要的影响因子有 Mg^{2+} 浓度、dNTPs 浓度、Taq 聚合酶浓度、引物浓度、模板 DNA 浓度等。目前,对于 SRAP 反应体系的某些影响因子已有一些初步的研究,但在大白菜中尚鲜见报道。笔者通过正交试验设计建立了一套适合于大白菜 SRAP-PCR 分析的反应体系,以期为大白菜的分子生物学研究提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料为大白菜杂交一代 $A_{1-26} \times 02S_{149-5}$ 的自交 F_2 群体,由西北农林科技大学园艺学院白菜组提供。所用 Taq 聚合酶购于华美生物工程公司,dNTPs 购于保罗曼公司,分子量标准为宝生物工程(大连)有限公司 DL2000,PTC-200 型 PCR 仪为美国 MJ Research 公司产品,Gel-2000 凝胶成像系统为 Bio-Rad 公司产品。SRAP 引物根据 Li 和 Quiros 公布的引物序列,由上海生物工程有限公司合成。

正向引物 Forward primer:
me1:5'TGAGTCCAAACCGGATA3'
me2:5'TGAGTCCAAACCGGAGC3'
me3:5'TGAGTCCAAACCGGAAT3'
me4:5'TGAGTCCAAACCGGACC3'

表 1 PCR 反应的因素与水平
Table 1 Factors and levels of PCR reaction

因素 Factor	水平(体积) Level(Final concentration)			
	1	2	3	4
dNTPs (2.5 mmol/L)/ μ L	1.0	2.0	3.0	4.0
Mg^{2+} (25 mmol/L)/ μ L	1.0	2.0	3.0	4.0
Taq 酶 (5U · μ L ⁻¹)/ μ L Taq DNA polymerase	0.1	0.2	0.3	0.4
引物/ (10 μ mol · L ⁻¹)/ μ L Primer	0.5	0.75	1.0	1.25
模板 DNA (36.6ng · μ L ⁻¹)/ μ L DNA template	0.5	1.0	1.5	2.0

1.4 反应体系稳定性的检测

选择 SRAP 引物 me1em3 对随机选取的 12 个模板 DNA_k6~k13,b54~b57,分别进行扩

me5:5'TGAGTCCAAACCGGAAG3'
me6:5'TGAGTCCAAACCGGTAA3'
me7:5'TGAGTCCAAACCGGTCC3'
me8:5'TGAGTCCAAACCGGTGC3'
反向引物 Reverse primer:
em1:5'GACTGCGTACGAATTAAT3'
em2:5'GACTGCGTACGAATTTGC3'
em3:5'GACTGCGTACGAATTGAC3'
em4:5'GACTGCGTACGAATTTGA3'
em5:5'GACTGCGTACGAATTAAC3'
em6:5'GACTGCGTACGAATTGCA3'
em7:5'GACTGCGTACGAATTCAA3'
em8:5'GACTGCGTACGAATTCTG3'
em9:5'GACTGCGTACGAATTCTGA3'
em10:5'GACTGCGTACGAATTCTG3'
em11:5'GACTGCGTACGAATTCCA3'

1.2 DNA 的提取

取大白菜幼苗的幼嫩真叶,用改良 CTAB 法提取 DNA,参照李永明^[12]的方法,水浴略有改动。

1.3 SRAP 反应体系的优化

采用 $L_{16}(4^5)$ 正交试验设计,对 SRAP 反应体系中的 Mg^{2+} 浓度、dNTPs 浓度、Taq 聚合酶浓度、引物浓度、模板 DNA 浓度进行 5 因素 4 水平的筛选分析(表 1 和表 2),共 16 个处理。

反应体系总体积为 25 μ L,扩增程序为:94℃ 预变性 5 min;94℃ 变性 1 min,35℃ 复性 1 min,72℃ 延伸 1 min,5 循环;94℃ 变性 1 min,50℃ 复性 1 min,72℃ 延伸 1 min,35 循环;72℃ 延伸 10 min。PCR 产物用 2% 的琼脂糖(BBI 公司产品)凝胶电泳分离,经溴化乙锭(EB)染色后在 Gel-2000 凝胶成像系统上采集图像。

增,对优化过的大白菜 SRAP 反应体系的稳定性进行检测。

表 2 PCR 反应因素水平 L₁₆ (4⁵) 正交试验设计

Table 2 L₁₆ (4⁵) orthogonal design of the factors and levels of PCR reaction

编号 No.	dNTPs/ μL (2.5 mmol $\cdot$ L ⁻¹)	Mg ²⁺ / μL (25 mmol $\cdot$ L ⁻¹)	Taq 酶/ μL (5U $\cdot$ μL^{-1}) Taq DNA polymerase	引物 Primer/ μL (10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	模板 DNA DNA template/ μL (36.6 ng $\cdot$ μL^{-1})	得分 Score
1	1.0	1.0	0.1	0.5	0.5	0
2	1.0	2.0	0.2	0.75	1.0	1
3	1.0	3.0	0.3	1.0	1.5	3
4	1.0	4.0	0.4	1.25	2.0	3
5	2.0	1.0	0.2	1.0	2.0	1
6	2.0	2.0	0.1	1.25	1.5	2
7	2.0	3.0	0.4	0.5	1.0	5
8	2.0	4.0	0.3	0.75	0.5	5
9	3.0	1.0	0.3	1.25	1.0	0
10	3.0	2.0	0.4	1.0	0.5	1
11	3.0	3.0	0.1	0.75	2.0	4
12	3.0	4.0	0.2	0.5	1.5	4
13	4.0	1.0	0.4	0.75	1.5	1
14	4.0	2.0	0.3	0.5	2.0	3
15	4.0	3.0	0.2	1.25	0.5	3
16	4.0	4.0	0.1	1.0	1.0	2
K1	7	2	8	12	9	38(T...)
K2	13	7	9	11	8	
K3	9	15	11	7	10	
K4	9	14	10	8	11	
k1	1.75	0.5	2.0	3.0	2.25	
k2	3.25	1.75	2.25	2.75	2.0	
k3	2.25	3.75	2.75	1.75	2.5	
k4	2.25	3.5	2.5	2.0	2.75	
R	1.5	3.25	0.75	1.25	0.75	

注:根据电泳条带多少、清晰程度、亮度得分。

Note:Scoring is according to the quantity, quality and brightness of the electrophoresis results.

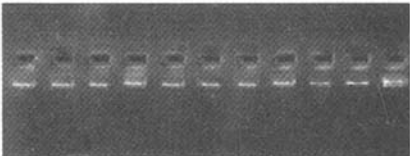


图 1 改良 CTAB 法提取得到的 DNA 电泳结果

Fig. 1 The eggplant leaves DNA with modified CTAB

2 结果与分析

2.1 大白菜基因组 DNA 的提取

使用改良 CTAB 法提取的 DNA,沉淀颜色呈白色,能够完全溶解。从图 1 可见,条带清晰,没有脱尾现象。分光光度计测定结果显示,A260/A280 值位于 1.7~1.9 之间。结果表明,用改良的 CTAB 方法抽提,能够得到高质量的 DNA,可以直接用于 SRAP-PCR 反应。

2.2 大白菜 SRAP-PCR 反应体系的优化

正交实验设计 SRAP-PCR 反应体系,选取 me3em2 作为引物,随机选取 1 个模板 DNA 进行扩增,电泳结果见图 2。从图 2 可以看出,不同的

组合,由于各因素浓度不同,因此扩增结果存在明显的差异。结果显示第 7、8、11、12 组合扩增的结果比较理想,谱带不仅清晰,并且多态性较好,主带较明显,尤其 7、8 最优。第 3、4、6、14、15 组合扩增出的结果,谱带多态性也较高,但谱带强度和主带较差。其他组合只能扩增出较弱的谱带或几乎扩增不出条带。

由图 2 可以看出,dNTPs 浓度在 4 个水平变化时,扩增产物电泳条带呈现正态分布,最好的产物谱带 7、8、11、12 出现在 5~8 和 9~12 组合中,即 dNTPs 浓度为 0.2 mmol/L 和 0.3 mmol/L 时产物谱带比 0.1 mmol/L 和 0.4 mmol/L 时产物谱带质量较高。

当 dNTPs 浓度在前 3 个水平时,在 1~4、5~8 和 9~12 组合中,4 条谱带均为由弱变强趋势,即 Mg²⁺ 浓度在 3 个水平的变化与扩增产物电泳条带呈现线形关联,随 Mg²⁺ 浓度增加谱带质量增高,Mg²⁺ 浓度在 3、4 两个水平扩增结果相似。在 dNTPs 浓度为 0.4 mmol/L 时,即 13~16 组合,15、14 的扩增产物较 13、16 好,可见在较高

dNTPs 浓度下,中等的 Mg^{2+} 浓度和中等的 Taq 酶浓度比较适宜。

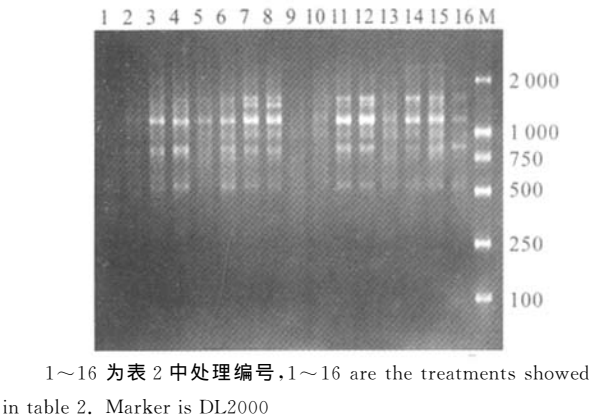


图 2 引物 me3em2 的正交设计 PCR 反应体系扩增结果

Fig. 2 The amplification results of PCR reaction systems from orthogonal design

分析最优组合 7、8、11、12 和最差组合 1、2、9、10 的 Taq 酶浓度和模板 DNA 浓度可以看出,最优和最差组合均涵盖了 Taq 酶浓度和模板 DNA 浓度的 4 个水平,可见 Taq 酶浓度和模板 DNA 浓度在反应体系中对扩增结果不是决定因素,而与其他因素的互作效应大于单独效应;同时发现最优组合 7、8、11、12 中引物浓度在较低的水平,说明过高的引物浓度不利于扩增。

根据电泳条带明亮、清晰和条带多少再进一步对 16 个组合排序得分,条带质量越高得分越高(表 2)。在假设不存在交互作用的情况下进行直观分析:①求各列各水平的和 K_1 、 K_2 、 K_3 、 K_4 ;②由于各列各水平均重复了 4 次,故可由和求出各水平的均值 k_1 、 k_2 、 k_3 和 k_4 ;③用各列最大平均值减去最小平均值得各列的极差 R 。显然 R 越大,说明该因素对指标影响越大。因此可利用 R 给出各因素影响指标的主次顺序。结果显示,在选定的 4 水平范围内,5 个因素的主次顺序为: Mg^{2+} 、dNTPs、引物、Taq 酶、模板 DNA。从平均值上看, Mg^{2+} 以水平 3 好, dNTPs 以水平 2 好, 引物以水平 1 好, Taq 酶以水平 3 好, 模板 DNA 以水平 4 好。综合看来,最优组合为: Mg^{2+} 为 3.0 mmol/L, dNTPs 为 0.2 mmol/L, Taq 酶为 1.5 U, 引物为 0.2 μ mol/L, 模板 DNA 为 73.2 ng。该体系除模板 DNA 浓度外与最优反应材料 7 和 8 的组成基本一致。

2.3 反应体系确定

选择引物 me1em3, 随机挑选 12 个模板, 对

反应体系的稳定性进行检测。从图 3 可见,每个反应都能扩增出多态性强,条带清晰,重复性好的结果,表明此反应条件适合于大白菜的 SRAP-PCR 反应体系。

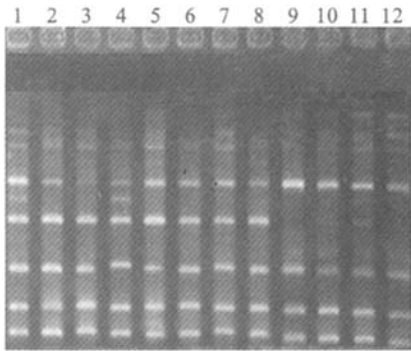


图 3 引物 me1em3 的扩增结果

Fig. 3 Results of PCR amplification using primer me1em3

3 讨论

SRAP 是一种基于 PCR 技术的新型分子标记,其原理是针对基因外显子中 GC 含量丰富,而启动子、内含子中 AT 含量丰富的特点来设计两组引物进行 PCR 扩增,因不同个体的内含子、启动子与外显子间隔区长度不等而产生多态性。该标记使用的扩增程序一般为:94℃ 预变性 5 min; 94℃ 变性 1 min, 35℃ 复性 1 min, 72℃ 延伸 1 min, 5 循环; 94℃ 变性 1 min, 50℃ 复性 1 min, 72℃ 延伸 1 min, 35 循环; 72℃ 延伸 10 min。前 5 个循环复性温度设为 35℃,主要是考虑到低的复性温度能够确保两个引物与靶 DNA 部分配对;随后循环中复性温度升到 50℃,可以保证前 5 个循环的扩增产物在余下循环中进行指数式扩增;如果复性温度在 40 个循环中都保持 35℃,扩增片断重复性将很低^[13]。

改良 CTAB 法提取的 DNA 无论质量还是数量均有很大的提高,其纯度和浓度均达到了 SRAP 反应的要求。DNA 模板的适宜的范围较大,一般而言,模板 DNA 在 5~100 ng 均有 PCR 产物,但不同物种 DNA 结构不同,具体的最适 DNA 用量也有差异。

混合物中的离子浓度,尤其是 Mg^{2+} 浓度对 PCR 的特异性及扩增效率有很大的影响。 Mg^{2+} 浓度过高非特异性产物增加, Mg^{2+} 的浓度过低,则 dNTPs 本身要结合一部分,模板中的 EDTA 螯合一部分,这样就没有足够的 Mg^{2+} 来激活 Taq

酶,最终导致扩增产物减少甚至失败。dNTP 浓度过高,扩增时错误掺入率也增加,dNTP 浓度过低,反应中过早消耗完,直接影响扩增产物的浓度。引物浓度过低,引物与模板的结合率低,扩增反应过早终止,从而导致扩增图谱无产物。而引物浓度过高,就会引起引物与模板的非特异性配对,造成扩增背景模糊。

最终确定的适合于大白菜的 SRAP 体系,在 Mg^{2+} 、dNTP 以及引物浓度上与李严等^[14]对西瓜研究中的用量差别不大,而 Taq 酶用量差别较大,原因可能是基因组大小不同或使用的药品仪器产地不同所致。这表明 SRAP 最佳扩增体系的建立应根据自己所用仪器及药品对影响扩增的主要因素调整,以建立一套适合所研究作物使用的体系。一般 SRAP 的结果检测使用 PAGE 电泳分析,耗时长、成本高,本试验使用琼脂糖电泳依然能够得到较为理想的结果,故在进一步研究中可以考虑对 SRAP 结果先进行琼脂糖电泳检测,如结果不理想再进行 PAGE 电泳检测。通过本试验筛选得到的反应体系,经反复验证,结果可靠,带型稳定,可以保持扩增的重复性,完全适用于下一步的研究中。

参考文献:

[1] Lic G F. Quiros Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system base on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in Brassica [J]. Theor Appl Genet, 2001, 103: 455~461.

[2] Ferriol M, Pico B, Nuez F. Genetic diversity of a germplasm collection of Cucurbita pepo using SRAP and AFLP

markers [J]. Theor Appl Genet, 2003, 107: 271~282.

[3] LIN Z X, ZHANG X L, NIE Y C, *et al.* Construction of a genetic linkage map for cotton based on SRAP[J]. Chinese Science Bulletin, 2003, 48(19): 2063~2067.

[4] LI G, GAO M, YANG B, *et al.* Gene for gene alignment between the Brassica and Arabidopsis genomes by direct transcriptome mapping [J]. Theor Appl Genet, 2003, 107(1): 168~180.

[5] 林忠旭,张献龙,聂以春. 棉花 SRAP 遗传连锁图构建[J]. 科学通报,2003,48(5):1676~1679.

[6] 任 羽,王得元,张银东. 辣椒 SRAP-PCR 反应体系的建立与优化[J]. 分子植物育种,2004,2(5):689~693.

[7] 武志朴,杨文香,刘大群. 小麦基因组 SRAP 扩增体系的初步研究[J]. 河北农业大学学报,2005,28(3):66~69.

[8] 郭大龙,罗正荣. 部分柿属植物 SRAP-PCR 反应体系的优化[J]. 果树学报,2006,23(1):138~141.

[9] WANG C X, ZHANG J C, YANG X D, *et al.* The Sequence-related Amplification Polymorphisms in Cultivated Peanut (*Arachis hypogaea* L.) [J]. Journal of Peanut Science, 2005, 34(3): 11~15.

[10] 梁景霞,祁建民. 烟草 DNA 的提取与 SRAP 反应体系的建立[J]. 中国烟草学报,2005,11(4):33~38.

[11] WU J, TAN W F, HE J R, *et al.* Construct on of SRAP Linkage Map and QTL Mapping for Starch Content in Sweet Potato[J]. Molecular Plant Breeding, 2005, 3(6): 841~845.

[12] 李永明,赵玉琪. 实用分子生物学方法手册[M]. 北京:科学出版社,2001. 173~178.

[13] 柳李旺,龚义勤. 新型分子标记—SRAP 与 TRAP 及其应用[J]. 遗传,2004,26(5): 777~781.

[14] 李 严,张春秋. 新型分子标记——SRAP 技术体系优化及应用前景分析[J]. 农业生物技术科学,2005,21(5): 108~112.

作者: 杨琦, 张鲁刚, YANG Qi, ZHANG Lu-gang
作者单位: 西北农林科技大学园艺学院, 陕西杨凌, 712100
刊名: 西北农业学报 
英文刊名: ACTA AGRICULTURAE BOREALI-OCCIDENTALIS SINICA
年, 卷(期): 2007, 16(3)
被引用次数: 28次

参考文献(14条)

1. [Lic G F Quiros Sequence-related amplified polymorphism \(SRAP\), a new marker system base on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in Brassica](#) 2001
2. [Ferriol M; Pico B; Nuez F Genetic diversity of a germplasm collection of Cucurbita pepo using SRAP and AFLP markers](#) 2003
3. [LIN Zhongxu, ZHANG Xianlong, Nie Yichun, HE Daohua, WU Maoqing Construction of a genetic linkage map for cotton based on SRAP](#) [期刊论文]-[科学通报\(英文版\)](#) 2003(19)
4. [Li G; Gao M; Yang B; Quiros CF Gene for gene alignment between the Brassica and Arabidopsis genomes by direct transcriptome mapping.](#) [外文期刊] 2003(1)
5. [林忠旭, 张献龙, 聂以春, 贺道华, 吴茂清 棉花SRAP遗传连锁图构建](#) [期刊论文]-[科学通报](#) 2003(15)
6. [任羽, 王得元, 张银东, 李颖, 王恒明 辣椒SRAP-PCR反应体系的建立与优化](#) [期刊论文]-[分子植物育种](#) 2004(5)
7. [武志朴, 杨文香, 刘大群, 张汀 小麦基因组SRAP扩增体系的初步研究](#) [期刊论文]-[河北农业大学学报](#) 2005(3)
8. [郭大龙, 罗正荣 部分柿属植物SRAP-PCR反应体系的优化](#) [期刊论文]-[果树学报](#) 2006(1)
9. [王传堂, 张建成, 杨新道, 徐建芝, 禹山林 花生序列相关扩增多态性 \(SRAP\) 标记的研究](#) [期刊论文]-[花生学报](#) 2005(3)
10. [梁景霞, 祁建民, 吴为人, 周东新, 陈顺辉, 王涛, 陶爱芬 烟草DNA的提取与SRAP反应体系的建立](#) [期刊论文]-[中国烟草学报](#) 2005(4)
11. [吴洁, 谭文芳, 何俊蓉, 蒲志刚, 王大一, 张正圣, 詹付凤, 阎文昭 甘薯SRAP连锁图构建淀粉含量QTL检测](#) [期刊论文]-[分子植物育种](#) 2005(6)
12. [李永明; 赵玉琪 实用分子生物学方法手册](#) 2001
13. [柳李旺, 龚义勤, 黄浩, 朱献文 新型分子标记--SRAP与TRAP及其应用](#) [期刊论文]-[遗传](#) 2004(5)
14. [李严, 张春庆 新型分子标记-SRAP技术体系优化及应用前景分析](#) [期刊论文]-[中国农学通报](#) 2005(5)

本文读者也读过(10条)

1. [张鲁刚, 郝东方. ZHANG Lu-gang, HAO Dong-Fang 结球白菜温度敏感细胞质雄性不育系CMS7311育性转换的研究](#) [期刊论文]-[植物学报](#) 2001, 43(11)
2. [王永飞, 马三梅, 张鲁刚, 王鸣, 郑学勤 大白菜细胞质雄性不育系RAPD特异扩增片段的克隆及其序列分析](#) [期刊论文]-[西北植物学报](#) 2003, 23(1)
3. [张鲁刚, 王鸣, 陈杭, 刘玲 中国白菜RAPD分子遗传图谱的构建](#) [期刊论文]-[植物学报](#) 2000, 42 (5)
4. [张战凤, 张鲁刚, 王绮, 惠麦侠, 张明科. ZHANG Zhan-feng, ZHANG Lu-gang, WANG Qi, XI Mai-xia, ZHANG Ming-ke 大白菜胞质雄性不育系育性相关线粒体DNA片断的克隆及序列分析](#) [期刊论文]-[西北农业学报](#) 2006, 15(3)
5. [张鲁刚, 惠麦侠, 张明科, ZHANG Lu-gang, HUI Mai-xia, ZHANG Ming-ke 彩色大白菜新品种“金冠2号”的选育](#) [期刊论文]-[西北农业学报](#) 2007, 16(1)
6. [柴丹丹, 陈书霞, 孟焕文, 程智慧, 李亚利, CHAI Dan-dan, CHEN Shu-xia, MENG Huan-wen, CHENG Zhi-hui, LI](#)

[Ya-li 黄瓜SRAP-PCR反应体系的建立\[期刊论文\]-西北农业学报2008, 17\(3\)](#)

7. [高丽霞, 刘念, 黄邦海, 张伟, GAO Li-Xia, LIU Nian, HUANG Bang-Hai, ZHANG Wei 姜花属SRAP-PCR体系的优化与建立\[期刊论文\]-广西植物2008, 28\(5\)](#)

8. [王惠哲, 李淑菊, 管炜, Wang Huizhe, Li Shuju, Guan Wei 应用SRAP标记分析黄花的遗传差异\[期刊论文\]-生物技术通报2009\(12\)](#)

9. [张鲁刚 白菜类作物雄性不育研究新进展\[会议论文\]-2004](#)

10. [张鲁刚, 王鸣, 陈杭, 刘玲, LIU Ling, Samuel S. M. Sun, ZHANG Lu-gang, ZHANG Lu-gang, WANG Ming, CHEN Hang, LIU Ling, Samuel S. M. Sun 白菜RAPD反应条件的优化\[期刊论文\]-西北农业大学学报2000, 28\(2\)](#)

引证文献(28条)

1. [王明霞, 严从生, 江海坤, 马绍鎔, 方凌 安徽白菜SRAP技术体系的优化\[期刊论文\]-中国瓜菜 2013\(02\)](#)

2. [刘恩英, 王源秀, 徐立安, 黄敏仁 基于SSR和SRAP标记的簸箕柳×绵毛柳遗传框架图\[期刊论文\]-林业科学 2011\(05\)](#)

3. [李媛, 姚雪琴, 谢祝捷, 龚义勤, 柳李旺 正交设计优化花菜类SRAP分子标记体系的研究\[期刊论文\]-上海农业学报 2010\(01\)](#)

4. [李向, 轩淑欣, 王彦华, 赵建军, 申书兴 不结球白菜SRAP反应体系的建立与优化\[期刊论文\]-华北农学报 2010\(04\)](#)

5. [赵光伟, 徐志红, 徐永阳 SRAP分子标记及其在蔬菜作物上的应用\[期刊论文\]-中国农学通报 2008\(08\)](#)

6. [闫建勋, 刘念, 黄邦海 姜花属SRAP反应体系的优化与建立\[期刊论文\]-广东农业科学 2011\(01\)](#)

7. [谭碧玥, 王源秀, 徐立安 杨树基因组SRAP扩增体系的建立与优化\[期刊论文\]-林业科技开发 2009\(02\)](#)

8. [刘畅, 祝朋芳, 房霞, 康耀海, 赵颖 羽衣甘蓝SSR反应体系的优化\[期刊论文\]-湖北农业科学 2014\(09\)](#)

9. [单晓政, 侯喜林, 李英, 吴海涛, 王枫, 李梅 不结球白菜SRAP体系优化与品种聚类分析\[期刊论文\]-江苏农业学报 2009\(03\)](#)

10. [郜旭芳, 时军霞 欧李SRAP反应体系的建立与优化\[期刊论文\]-山东农业科学 2013\(09\)](#)

11. [郭大龙, 侯小改, 张静, 韩璐 牡丹SRAP反应体系的建立及正交设计优化\[期刊论文\]-河南农业科学 2008\(12\)](#)

12. [金炳奎, 宗成文, 曹后男, 朴日子, 许雪 山葡萄SRAP技术体系的建立及其在品种鉴定中的应用\[期刊论文\]-吉林农业大学学报 2013\(02\)](#)

13. [覃嘉明 罗汉果品种资源花粉质量研究及遗传框架图构建\[学位论文\]硕士 2009](#)

14. [张晓蕾, 张凯旋, 杨传平, 曲冠证, 刘桂丰, 魏志刚 白桦SRAP反应体系的建立与优化\[期刊论文\]-东北林业大学学报 2010\(09\)](#)

15. [王新华, 陈火英 不结球白菜SRAP标记体系的建立与作图亲本筛选\[期刊论文\]-上海交通大学学报\(农业科学版\) 2010\(05\)](#)

16. [程长洪, 张敏莹, 刘凯, 徐东坡, 段金荣, 周彦锋, 施炜纲 暗纹东方鲀SRAP-PCR体系的建立与优化\[期刊论文\]-浙江农业学报 2011\(06\)](#)

17. [佟海申, 宋琳, 张志刚, 赵智中, 宋希云, 李巧云 大白菜EST-SSR反应体系优化及引物筛选\[期刊论文\]-科技导报 2010\(03\)](#)

18. [柴丹丹, 陈书霞, 孟焕文, 程智慧, 李亚利 黄瓜SRAP-PCR反应体系的建立\[期刊论文\]-西北农业学报 2008\(03\)](#)

19. [于娜娜, 张鲁刚, 孙希禄, 许小勇, 万恩梅, 张静 SCAR标记辅助的大白菜雄性不育系定向转育\[期刊论文\]-西北农业学报 2011\(07\)](#)

20. [郑轶琦, 王志勇, 郭海林, 薛丹丹, 刘建秀](#) [正交设计优化假俭草SRAP-PCR反应体系及引物筛选](#) [期刊论文] - [草业学报](#) 2008 (04)
21. [李亚利](#) [与黄瓜果皮绿色性状相关的SRAP分子标记](#) [学位论文] 硕士 2008
22. [张晓蕾](#) [利用RAPD, ISSR, SRAP标记方法对白桦遗传多样性的研究](#) [学位论文] 硕士 2011
23. [张静](#) [芥蓝种质资源多样性分析与品质评价](#) [学位论文] 硕士 2008
24. [单晓政](#) [不结球白菜遗传图谱的构建及Vc性状的QTL定位](#) [学位论文] 硕士 2009
25. [曹牧](#) [马尾松遗传图谱的初步构建](#) [学位论文] 硕士 2009
26. [刘恩英](#) [簸箕柳×绵毛柳遗传框架图谱的构建](#) [学位论文] 硕士 2008
27. [王源秀](#) [响叶杨×银白杨遗传图谱构建及杨属图谱比较研究](#) [学位论文] 博士 2008
28. [王源秀](#) [响叶杨×银白杨遗传图谱构建及杨属图谱比较研究](#) [学位论文] 博士 2008

引用本文格式: [杨琦, 张鲁刚](#). [YANG Qi, ZHANG Lu-gang](#) [大白菜SRAP反应体系的建立与优化](#) [期刊论文] - [西北农业学报](#) 2007 (3)