

# 菊花 SRAP-PCR 反应体系的优化与确立

张 飞, 陈发棣<sup>①</sup>, 房伟民, 李风童, 刘浦生

(南京农业大学园艺学院, 江苏 南京 210095)

**摘要:** 采用  $L_{16}(4^5)$  正交实验设计, 对 SRAP-PCR 反应体系中  $Mg^{2+}$ 、dNTPs 和引物浓度以及 *Taq* DNA 聚合酶和模板 DNA 用量等 5 个因素进行了优化, 并确立了适合菊花 [*Dendranthema × grandiflorum* (Ramat.) Kitamura] SRAP-PCR 的反应体系。菊花的 SRAP-PCR 最佳反应体系为: 反应体系总体积 20  $\mu$ L, 含 3.125 mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup>  $Mg^{2+}$ 、187.5  $\mu$ mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> dNTPs、10.0  $\mu$ mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 引物、50 ng 模板 DNA、0.5 U *Taq* DNA 聚合酶及 1  $\times$  PCR buffer。各因素对菊花基因组 DNA SRAP-PCR 扩增结果的影响程度不同, 其中 dNTPs 浓度影响最大, *Taq* DNA 聚合酶用量的影响最小。运用菊花品种‘奥运含笑’和‘雨花落英’及二者的 F1 杂交后代单株的基因组 DNA 对优化的 SRAP-PCR 反应体系进行验证, 均获得了多态性丰富、条带清晰的扩增图谱, 表明所确立的菊花 SRAP-PCR 反应体系稳定可靠。

**关键词:** 菊花; SRAP-PCR; 正交实验设计; 反应体系优化

中图分类号: S682.1<sup>+</sup>1; Q523<sup>+</sup>.8 文献标志码: A 文章编号: 1004-0978(2009)03-0044-06

## Optimization and establishment of SRAP-PCR reaction system of *Dendranthema × grandiflorum*

ZHANG Fei, CHEN Fa-di<sup>①</sup>, FANG Wei-min, LI Feng-tong, LIU Pu-sheng (College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2009, 18(3): 44-49

**Abstract:** By the orthogonal experiment design  $L_{16}(4^5)$ , five factors including  $Mg^{2+}$  concentration, dNTPs concentration, primer concentration, *Taq* DNA polymerase amount and template DNA amount in SRAP-PCR reaction system were optimized, and the optimization SRAP-PCR reaction system suitable for genomic DNA from *Dendranthema × grandiflorum* (Ramat.) Kitamura were also established. The optimal SRAP-PCR reaction system is as follows: total volume 20  $\mu$ L, containing 3.125 mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup>  $Mg^{2+}$ , 187.5  $\mu$ mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> dNTPs, 10.0  $\mu$ mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> primer, 50 ng template DNA, 0.5 U *Taq* DNA polymerase and 1  $\times$  PCR buffer. The effects of five factors on amplification result of SRAP-PCR are different, in which, the effect of dNTPs concentration is the greatest, but that of *Taq* DNA polymerase amount is the least. The optimal SRAP-PCR reaction system is identified by means of genomic DNA from ‘Aoyunhanxiao’, ‘Yuhualuoying’ and their F1 progenies, and the amplification pattern with rich polymorphism and clear band is obtained. It is concluded that this SRAP-PCR reaction system used for genomic DNA from *Dendranthema × grandiflorum* is steady and reliable.

**Key words:** *Dendranthema × grandiflorum* (Ramat.) Kitamura; SRAP-PCR; orthogonal experiment design; optimization of reaction system

菊花 [*Dendranthema × grandiflorum* (Ramat.) Kitamura] 系菊科 (Compositae) 菊属 [*Dendranthema* (DC.) Des Moul.] 宿根花卉, 在中国已有约 1 500 年的栽培历史, 是中国传统的十大名花之一, 在切花生

产和园林绿化中占有重要地位。随着分子生物学的发展, 分子标记技术作为一种有效的技术手段, 已经广泛应用于遗传多样性分析、遗传图谱构建、种质鉴定及基因定位等研究领域。由于菊花的分子生物学

收稿日期: 2008-09-18

基金项目: 教育部新世纪优秀人才支持计划 (NCET-06-0489); “十一五”国家科技支撑计划项目 (2006BAD01A18)

作者简介: 张 飞 (1982—), 男, 安徽泗县人, 博士研究生, 主要从事观赏植物种质资源与遗传育种研究。

<sup>①</sup>通信作者 E-mail: chenfd@njau.edu.cn

研究相对滞后,目前已报道应用的分子标记仅有 RAPD<sup>[1-2]</sup>、ISSR<sup>[3-4]</sup>和 AFLP<sup>[5]</sup>等,涉及的研究领域主要集中在遗传多样性分析、指纹图谱构建及亲缘关系鉴定等方面。

相关序列扩增多态性(sequence-related amplified polymorphism, SRAP)分子标记是一种基于 PCR 的新型标记,具有简便、快捷、稳定、高效、共显性高及在基因组中分布均匀等特点<sup>[6]</sup>。该分子标记的引物设计简单,上、下游引物分别对外显子区域及内含子和启动子区域进行特异扩增,根据不同个体和物种的内含子、启动子及间隔区长度的不同而产生多态性,并且 17 bp 的正向引物、18 bp 的反向引物以及 50 ℃ 的退火温度保证了扩增结果的稳定性。目前,该分子标记已经成功应用于植物的遗传多样性分析<sup>[7-10]</sup>、遗传连锁图谱构建<sup>[11-13]</sup>及比较基因组学<sup>[13]</sup>等方面研究。迄今为止,SRAP 标记在观赏植物研究中的应用甚少,仅在石斛(*Dendrobium nobile* Lindl.)<sup>[14]</sup>、石蒜[*Lycoris radiata* (L'Hér.) Herb.]<sup>[15]</sup>、百合[*Lilium brownii* F. E. Brown ex Mieliez var. *viridulum* Baker]<sup>[16]</sup>、牡丹(*Paeonia suffruticosa* Andr.)<sup>[17-19]</sup>及桂花[*Osmanthus fragrans* (Thunb.) Lour.]<sup>[20]</sup>中有相关报道,在菊花研究中尚未见报道。

鉴于此,作者以菊花品种‘奥运含笑’(‘Aoyunhanxiao’)和‘雨花落英’(‘Yuhualuoying’)及二者的 F1 杂交后代为研究对象,采用正交实验设计,对影响菊花 SRAP-PCR 反应体系的 Mg<sup>2+</sup> 浓度、dNTPs 浓度、Taq DNA 聚合酶用量、引物浓度和模板 DNA 用量等 5 个因素进行优化实验,旨在建立适用于菊花的 SRAP-PCR 反应体系,为今后进一步利用 SRAP 标记技术开展菊花种质资源遗传多样性研究、品种鉴定和连锁遗传图谱构建等研究工作提供技术支持。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

供试材料为保存于南京农业大学中国菊花品种保存中心的夏菊品种‘奥运含笑’(母本)和秋菊品种‘雨花落英’(父本)及其 F1 杂交后代中随机选择的 12 个单株。

实验用的 Lambda DNA、Taq DNA 聚合酶、dNTPs 以及 100 bp DNA marker 均购自宝生物工程(大连)

有限公司,SRAP 引物由上海英俊生物技术有限公司合成,引物名称及序列见表 1。

表 1 用于菊花基因组 DNA 的 SRAP-PCR 反应的引物序列  
Table 1 The primer sequences used for SRAP-PCR of genomic DNA from *Dendranthema × grandiflorum* (Ramat.) Kitamura

正向引物 Forward primer	5'→3' 序列 5'→3' sequence	反向引物 Reverse primer	5'→3' 序列 5'→3' sequence
Me6	TGAGTCCAAACCGGTAG	Em8	GACTGCGTACGAATTAGC
Me12	TGAGTCCAAACCGGGAT	Em12	GACTGCGTACGAATTGTC
Me14	TGAGTCCAAACCGGGCT	Em16	GACTGCGTACGAATTCGG

实验中使用的主要仪器有 Eppendorf 5810 R 型高速冷冻离心机、PTC-100TM 型 PCR 仪(MJ Research 公司生产)、DYY-6C 型电泳仪及 JS-380 型凝胶成像分析仪(上海培清科技有限公司生产)。

### 1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 的提取与检测 参照邹喻苹等<sup>[21]</sup>的方法,取嫩叶采用 CTAB 微量法提取基因组 DNA,将基因组 DNA 和 Lambda DNA 用质量体积分数 1.0% 琼脂糖凝胶电泳,以检测基因组 DNA 的纯度和浓度,并用双蒸水稀释至 25 ng·μL<sup>-1</sup>, -20 ℃ 保存备用。

1.2.2 SRAP-PCR 反应体系的正交实验设计 以夏菊品种‘奥运含笑’的嫩叶为材料,采用 L<sub>16</sub>(4<sup>5</sup>) 正交表<sup>[22]</sup>,对 Mg<sup>2+</sup> 浓度、dNTPs 浓度、Taq DNA 聚合酶用量、引物浓度和模板 DNA 用量进行 5 因素 4 水平正交实验。其中, Mg<sup>2+</sup> 浓度分别为 1.250、1.875、3.125 和 4.375 mmol·L<sup>-1</sup>; dNTPs 浓度分别为 62.5、125.0、187.5 和 250.0 μmol·L<sup>-1</sup>; Taq DNA 聚合酶用量分别为 0.5、1.0、1.5 和 2.0 U; 引物浓度分别为 5.0、10.0、15.0 和 20.0 μmol·L<sup>-1</sup>; 模板 DNA 用量分别为 25、50、75 和 100 ng; 反应体系总体积为 20 μL,另含 1 × PCR buffer。选用 SRAP 正向引物 Me6 和反向引物 Em8 配对进行正交实验,3 次重复。

1.2.3 SRAP-PCR 扩增及检测 扩增程序参照 SRAP-PCR 反应通用程序<sup>[6]</sup>: 94 ℃ 预变性 5 min; 94 ℃ 变性 1 min, 35 ℃ 复性 1 min, 72 ℃ 延伸 1 min, 5 个循环反应; 94 ℃ 变性 1 min, 50 ℃ 复性 1 min, 72 ℃ 延伸 1 min, 35 个循环反应; 72 ℃ 延伸 10 min, 于 10 ℃ 保存备用。扩增反应结束后,分别加入 0.5 μL 6 × 溴酚蓝,离心混匀后,取 7 μL 扩增产物用质量体积分数 2.0% 的琼脂糖凝胶电泳,凝胶中含 0.05% 的溴化乙锭(EB)。电极缓冲液为 1 × TAE,电泳电

压  $5 \text{ V} \cdot \text{cm}^{-1}$ , 电泳时间 45 min, 电泳结束后, 在凝胶成像分析仪上观测并拍照。

1.2.4 SRAP-PCR 反应体系稳定性的检测 以菊花品种‘奥运含笑’和‘雨花落英’及其 F1 杂交后代中随机选择的 12 个单株的基因组 DNA 为模板, 随机选择 2 个 SRAP 引物组合 Me12-Em12 和 Me14-Em16, 按照上述 SRAP-PCR 扩增及检测方法, 对优化确定的菊花基因组 DNA 的 SRAP-PCR 反应体系的稳定性进行检测。

### 1.3 数据统计处理

采用 Excel 2003 软件对正交实验结果进行统计处理。

## 2 结果和分析

### 2.1 菊花基因组 DNA 的 SRAP-PCR 反应体系的确立

2.1.1 正交实验结果分析 参照穆立蕾等<sup>[23]</sup>的方法, 对菊花基因组 DNA 的 SRAP-PCR 反应体系中  $\text{Mg}^{2+}$  浓度、dNTPs 浓度、Taq DNA 聚合酶用量、引物浓度和模板 DNA 用量等 5 个因素 4 个水平组合的正交实验结果进行统计分析, 结果见表 2。由表 2 中的  $R$  值可以看出, 对菊花基因组 DNA 的 SRAP-PCR 扩增反应结果的影响由大到小依次为: dNTPs 浓度、模板 DNA 用量、引物浓度、 $\text{Mg}^{2+}$  浓度、Taq DNA 聚合酶用量。从  $k$  值来看,  $\text{Mg}^{2+}$  浓度为  $3.125 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、dNTPs 浓度为  $187.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、引物浓度为  $15.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 扩增结果最好; Taq DNA 聚合酶用量在  $0.5 \sim 1.5 \text{ U}$  范围内均较好, 模板 DNA 用量以  $50 \text{ ng}$  最好。该正交实验 3 次重复的结果相似, 表现稳定(数据未列出)。

根据正交实验结果, 初步确立菊花基因组 DNA 的 SRAP-PCR 反应的适宜反应体系应含  $3.125 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Mg}^{2+}$ 、 $187.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ dNTPs}$ 、 $15.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  引物、 $50 \text{ ng}$  模板 DNA 及  $0.5 \sim 1.5 \text{ U}$  Taq DNA 聚合酶。

采用不同的反应体系, 菊花基因组 DNA 的 SRAP-PCR 扩增电泳图谱见图 1。由图 1 可以看出, 采用 dNTPs 浓度、 $\text{Mg}^{2+}$  浓度、引物浓度、Taq DNA 聚合酶用量以及模板 DNA 用量不同的 16 个反应体系, 扩增结果存在明显差异。第 1、13 和 14 号反应体系的扩增效果较差, 条带弱而且多态性较低; 第 3、

7、8、9、10、12 和 15 号反应体系的扩增条带虽然丰富, 但是弥散现象严重; 第 4 号反应体系扩增条带的拖尾现象严重, 可能是引物浓度过高所致。第 2、5、6、11 和 16 号 5 个反应体系的扩增结果不仅多态性好, 且条带清晰。根据多态性条带的丰富性, 初步选定将第 11 号反应体系(含  $3.125 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Mg}^{2+}$ 、 $187.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ dNTPs}$ 、 $10.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  引物、 $100 \text{ ng}$  模板 DNA 及  $0.5 \text{ U}$  Taq DNA 聚合酶)作为菊花基因组 DNA 的 SRAP-PCR 反应体系。

表 2 菊花基因组 DNA 的 SRAP-PCR 反应的正交实验设计及结果  
Table 2 The design and result of orthogonal experiment of SRAP-PCR reaction system of genomic DNA from *Dendranthema × grandiflorum* (Ramat.) Kitamura

实验号 No.	因素和水平 <sup>1)</sup> Factor and level <sup>1)</sup>				
	A	B	C	D	E
1	1.250	62.5	0.5	5.0	25
2	1.250	125.0	1.0	10.0	50
3	1.250	187.5	1.5	15.0	75
4	1.250	250.0	2.0	20.0	100
5	1.875	62.5	1.0	15.0	100
6	1.875	125.0	0.5	20.0	75
7	1.875	187.5	2.0	5.0	50
8	1.875	250.0	1.5	10.0	25
9	3.125	62.5	1.5	20.0	50
10	3.125	125.0	2.0	15.0	25
11	3.125	187.5	0.5	10.0	100
12	3.125	250.0	1.0	5.0	75
13	4.375	62.5	2.0	10.0	75
14	4.375	125.0	1.5	5.0	100
15	4.375	187.5	1.0	20.0	25
16	4.375	250.0	0.5	15.0	50
$k_1$	7.25	5.75	7.25	6.00	5.75
$k_2$	6.50	6.00	7.25	7.50	8.00
$k_3$	7.75	9.25	7.25	8.25	7.00
$k_4$	6.50	7.00	6.25	6.25	6.25
$R$	1.25	3.50	1.00	2.00	2.25

<sup>1)</sup> A:  $\text{Mg}^{2+}$  浓度  $\text{Mg}^{2+}$  concentration ( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ); B: dNTPs 浓度 dNTPs concentration ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ); C: Taq DNA 聚合酶用量 Taq DNA polymerase amount (U); D: 引物浓度 Primer concentration ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ); E: 模板 DNA 用量 Template DNA amount (ng).

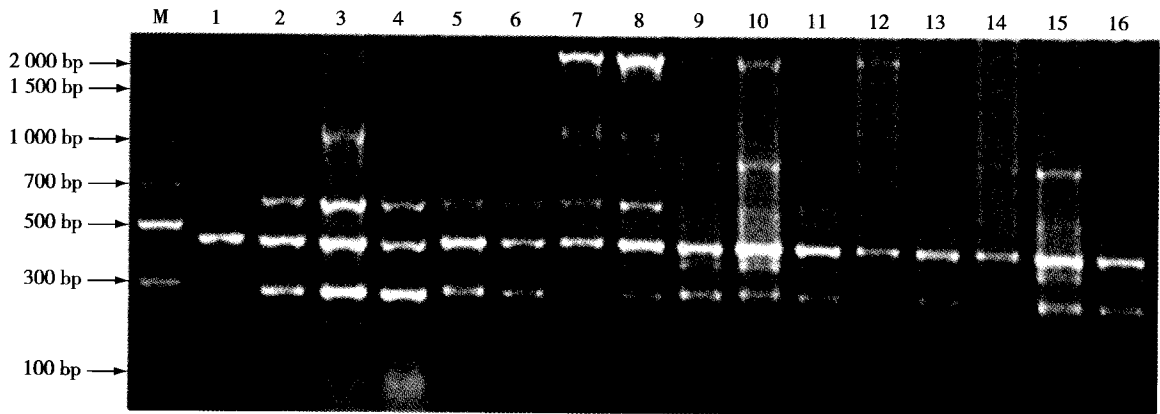
2.1.2 菊花 SRAP-PCR 反应体系的确定 对表 2 的统计分析结果及图 1 的直观分析结果进行综合分析, 结果显示, 根据正交实验结果筛选出的菊花基因组 DNA 的 SRAP-PCR 适宜反应体系与根据扩增图谱筛选出的第 11 号反应体系非常接近, 仅在引物浓度和模板 DNA 用量上存在差异。综合考虑实验成本及扩增效果, 将第 11 号反应体系的模板 DNA 用量由  $100 \text{ ng}$  调整为  $50 \text{ ng}$ , 引物浓度保持不变, 最终

确定菊花基因组 DNA 的 SRAP-PCR 的最佳反应体系为: 反应体系总体积 20  $\mu\text{L}$ , 含 3.125  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{Mg}^{2+}$ 、187.5  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  dNTPs、10.0  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  引物、50 ng 模板 DNA、0.5 U *Taq* DNA 聚合酶及 1  $\times$  PCR buffer。

### 2.2 SRAP-PCR 反应体系的稳定性分析

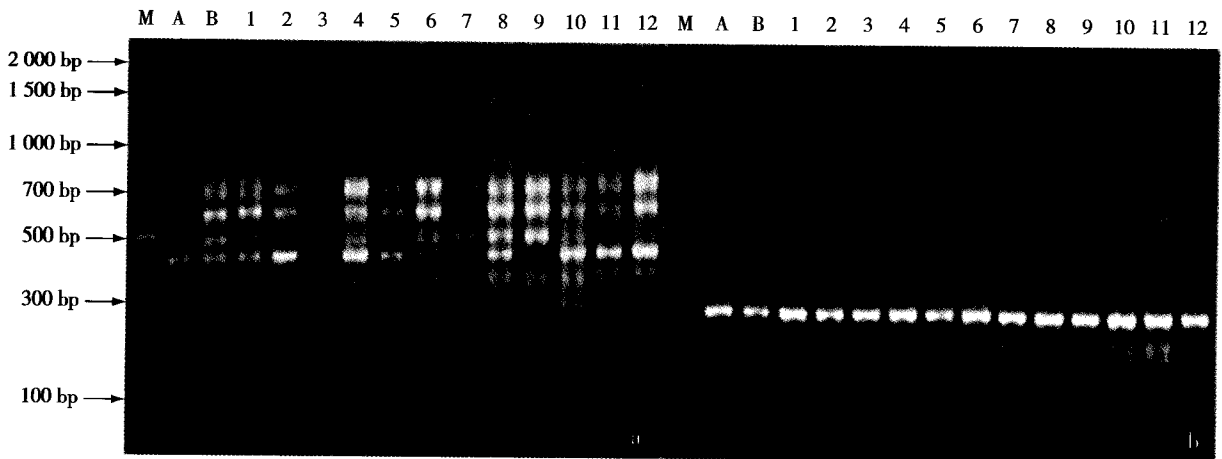
应用上述最佳反应体系, 随机选择 SRAP 引物

组合 Me12-Em12 和 Me14-Em16, 对夏菊品种‘奥运含笑’、秋菊品种‘雨花落英’及在其 F1 杂交后代中随机选择的 12 个单株进行 SRAP-PCR 扩增, 结果见图 2。由图 2 可以看出, 2 对 SRAP 引物组合对每份 DNA 样品均能扩增出多态性丰富、条带清晰的 DNA 片段, 说明该 SRAP-PCR 反应体系稳定可靠, 适用于菊花基因组 DNA 的 SRAP-PCR 扩增反应。



M: DNA 分子量标准 DNA ladder; 1-16: 反应体系编号 No. of amplification systems.

图 1 不同反应体系中菊花基因组 DNA 的 SRAP-PCR 扩增图谱(引物组合 Me6-Em8)  
Fig. 1 SRAP-PCR amplification pattern of genomic DNA from *Dendranthema × grandiflorum* (Ramat.) Kitamura in different reaction systems (primer combination Me6-Em8)



a: 引物组合 Me12-Em12 Primer combination Me12-Em12; b: 引物组合 Me14-Em16 Primer combination Me14-Em16.

M: DNA 分子量标准 DNA ladder; A: 品种‘奥运含笑’(母本) *Dendranthema × grandiflorum* ‘Aoyunhanxiao’ (female); B: 品种‘雨花落英’(父本) *Dendranthema × grandiflorum* ‘Yuhualuoying’ (male); 1-12: ‘奥运含笑’ $\times$ ‘雨花落英’的 12 个 F1 后代单株 Twelve individuals of F1 progenies of ‘Aoyunhanxiao’ $\times$ ‘Yuhualuoying’.

图 2 菊花基因组 DNA 的 SRAP-PCR 扩增图谱  
Fig. 2 SRAP-PCR amplification pattern of genomic DNA from *Dendranthema × grandiflorum* (Ramat.) Kitamura

### 3 结论和讨论

SRAP 分子标记技术基于 PCR 反应,其扩增条带虽然较 RAPD 和 ISSR 分子标记稳定,但同样受到反应条件和扩增程序变化及物种的影响。因此,对菊花基因组 DNA 的 SRAP-PCR 反应条件进行优化是非常必要的。正交实验设计不仅具有均衡分散、综合可比、伸缩灵活及效应明确的特点,而且可以考察各因素之间的相互效应,所以利用正交实验设计对影响 SRAP-PCR 反应的主要因素进行筛选,能较快地寻找到合适的反应参数,避免单因素实验结果的不足。笔者在分析菊花基因组 DNA 的 SRAP-PCR 正交实验结果时,从经济有效的角度,在对扩增图谱进行直观分析和对条带数目进行统计分析的基础上,对最优反应体系参数做了适当的调整,确定了菊花基因组 DNA 的 SRAP-PCR 的最佳反应体系为:反应体系总体积 20  $\mu\text{L}$ , 含 3.125  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{Mg}^{2+}$ 、187.5  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$   $d\text{NTPs}$ 、10.0  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  引物、50 ng 模板 DNA、0.5 U *Taq* DNA 聚合酶及 1  $\times$  PCR buffer。对该体系的验证结果证明,采用正交实验设计方法筛选获得的 SRAP-PCR 反应体系完全适用于菊花基因组 DNA 的 SRAP-PCR 反应。

本研究采用 SRAP 通用的 PCR 扩增程序,研究了影响菊花基因组 DNA 的 SRAP-PCR 反应的  $\text{Mg}^{2+}$  浓度、 $d\text{NTPs}$  浓度、引物浓度、*Taq* DNA 聚合酶用量和模板 DNA 用量等 5 个因素。袁菊红等<sup>[15]</sup>的研究结果表明,  $\text{Mg}^{2+}$  浓度对石蒜 SRAP 扩增结果的影响最明显,但  $d\text{NTPs}$  浓度对扩增结果影响不明显;而本研究结果显示,  $d\text{NTPs}$  浓度对菊花基因组 DNA 的 SRAP-PCR 反应体系的影响最大,与前者的研究结果有所不同,但与付立忠等<sup>[24]</sup>和郭大龙等<sup>[25]</sup>的研究结果一致,这可能与研究物种的不同有一定的关系。权俊萍等<sup>[26]</sup>认为,模板 DNA 用量对百里香属 (*Thymus* L.) 植物 SRAP-PCR 扩增产物有重要影响,这一结论与本实验结果一致。还有许多的研究结果表明, *Taq* DNA 聚合酶用量对 SRAP 扩增结果影响很小<sup>[24-25,27]</sup>,本研究也得出了相似的结果。由此可见,在不同物种的 SRAP-PCR 反应体系中,既有相似的影响因素,也有各自特殊的反应条件,因此,应针对不同的研究对象设计不同的 SRAP-PCR 反应体系。

在 SRAP-PCR 反应过程中,正向引物的 CCGG 和反向引物的 AATT 的核心序列使 SRAP 标记主要是对开放阅读框进行扩增,提高了扩增结果与表现型的相关性,可以将遗传标记和基因克隆直接结合起来,使其在分子生物学和遗传学等领域有广阔的应用前景<sup>[13,28]</sup>。

本研究以菊花品种‘奥运含笑’和‘雨花落英’及二者的 F1 杂交后代单株为实验材料,采用正交实验方法建立了适宜于菊花基因组 DNA 的 SRAP-PCR 反应体系,并利用 2 对不同的 SRAP 引物组合进行了稳定性检测。结果表明,本研究建立的菊花 SRAP-PCR 反应体系稳定、可靠,SRAP 标记可以进一步应用于菊花的遗传多样性研究、品种鉴定及连锁遗传图谱构建。

#### 参考文献:

- [1] 戴思兰,陈俊愉,李文彬. 菊花起源的 RAPD 分析[J]. 植物学报, 1998, 40(11): 1053-1059.
- [2] 赵宏波,陈发棣,郭维明,等. 菊属与亚菊属属间杂种的鉴定及其分类学意义[J]. 植物分类学报, 2007, 45(5): 661-669.
- [3] 缪恒彬,陈发棣,赵宏波. 85 个大菊品种遗传关系的 ISSR 分析[J]. 园艺学报, 2007, 34(5): 1243-1248.
- [4] 王艳芳,房伟民,陈发棣,等. 神马菊花的离体保存及遗传稳定性[J]. 西北植物学报, 2007, 27(7): 1341-1348.
- [5] 周春玲,戴思兰. 菊属部分植物的 AFLP 分析[J]. 北京林业大学学报, 2002, 24(5/6): 71-75.
- [6] Li G, Quiros C F. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in *Brassica* [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2001, 103: 455-461.
- [7] Ferriol M, Picó B, De Córdova P F, et al. Molecular diversity of a germplasm collection of squash (*Cucurbita moschata*) determined by SRAP and AFLP markers[J]. Crop Science Society of America, 2004, 44: 653-664.
- [8] 李严,张春庆. 西瓜杂交种遗传多态性的 SRAP 标记分析[J]. 园艺学报, 2005, 32(4): 643-647.
- [9] 林忠旭,张献龙,聂以春. 新型标记 SRAP 在棉花 F2 分离群体及遗传多样性评价中的适用性分析[J]. 遗传学报, 2004, 31(6): 622-626.
- [10] 郝玉民,郭兰,韩延闯,等. 甘薯品种的 SRAP 遗传多样性分析[J]. 武汉植物学研究, 2007, 25(4): 406-409.
- [11] 李媛媛,沈金雄,王同华,等. 利用 SRAP、SSR 和 AFLP 标记构建甘蓝型油菜遗传连锁图谱[J]. 中国农业科学, 2007, 40(6): 1118-1126.
- [12] 潘俊松,王刚,李效尊,等. 黄瓜 SRAP 遗传连锁图的构建及始花节位的基因定位[J]. 自然科学进展, 2005, 15(2): 167-172.

- [13] Li G, Gao M, Yang B, et al. Gene for gene alignment between the *Brassica* and *Arabidopsis* genomes by direct transcriptome mapping[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2003, 107: 168-180.
- [14] 樊洪泓, 李廷春, 邱 婧, 等. 石斛属植物 SRAP 反应体系的建立与优化[J]. *分子植物育种*, 2006, 4(6S): 153-156.
- [15] 袁菊红, 权俊萍, 胡绵好, 等. 石蒜 SRAP-PCR 扩增体系的建立与优化[J]. *植物资源与环境学报*, 2007, 16(4): 1-6.
- [16] 陈 琼, 穆 鼎, 义鸣放, 等. 不同倍性百合杂交后代的核型及分子标记鉴定[J]. *园艺学报*, 2007, 34(6): 1477-1484.
- [17] Han X Y, Wang L S, Liu Z A, et al. Characterization of sequence-related amplified polymorphism markers analysis of tree peony bud sports[J]. *Scientia Horticulturae*, 2008, 115: 261-267.
- [18] Han X Y, Wang L S, Shu Q Y, et al. Molecular characterization of tree peony germplasm using sequence-related amplified polymorphism markers[J]. *Biochemical Genetics*, 2008, 46: 162-179.
- [19] Hao Q, Liu Z A, Shu Q Y, et al. Studies on *Paeonia* cultivars and hybrids identification based on SRAP analysis[J]. *Hereditas*, 2008, 145(1): 38-47.
- [20] 李 梅, 侯喜林, 郝日明, 等. 桂花 SRAP-PCR 体系的确立及验证[J]. *植物资源与环境学报*, 2009, 18(2): 15-21.
- [21] 邹喻苹, 葛 颂, 王晓东. 系统与进化植物学中的分子标记[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 3-9.
- [22] 盖钧镒. 试验统计方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 294, 383.
- [23] 穆立藩, 刘赢男, 冯富娟, 等. 紫椴 ISSR-PCR 反应体系的建立与优化[J]. *林业科学*, 2006, 42(6): 26-31.
- [24] 付立忠, 魏海龙, 李海波, 等. 香菇 SRAP 扩增体系的建立与优化[J]. *食用菌学报*, 2006, 13(4): 10-15.
- [25] 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.
- [26] 权俊萍, 袁菊红, 穆红梅, 等. 百里香属植物 ISSR-PCR 和 SRAP-PCR 体系的确立和优化[J]. *植物资源与环境学报*, 2008, 17(2): 1-8.
- [27] 任 羽, 王得元, 张银东, 等. 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.
- [28] Pan Q H, Hu Z D, Tanisaka T, et al. Fine mapping of the blast resistance gene *Piz5*, linked to *Pü* on rice chromosome 9[J]. *Acta Botanica Sinica*, 2003, 45(7): 871-877.

## 《生物质化学工程》2010 年征订启事

《生物质化学工程》(双月刊)是由国家林业局主管、中国林业科学院林产化学工业研究所主办的面向国内外公开发行的全国生物质化工行业的技术类刊物。A4 开本,56 页,单月 25 日出版,邮发代号 28-205,国外发行代号 BM 2743。国内统一连续出版物号:CN 32-1768/S,国际标准连续出版物号:ISSN 1673-5854。《生物质化学工程》将突出技术类期刊的特点,注重稿件的时效性。本刊是美国《化学文摘》(CA)收录期刊,中国期刊全文数据库、中文科技期刊数据库、万方数据——数字化期刊群和 CEPS 中文电子期刊服务全文收录期刊,中国学术期刊综合评价数据库统计刊源期刊,《CAJ-CD 规范》执行优秀期刊及全国农业核心期刊。

办刊宗旨:认真执行国家的有关方针政策,为经济建设服务、为促进我国生物质化工产业的发展服务。办刊方针:理论与实践相结合,普及和提高相结合,引导技术潮流,促进行业发展。报道内容:可再生的木质和非木质生物质资源的化学加工与利用,包括生物质能源、生物质化学品、生物质新材料、生物质天然活性成分和制浆造纸等。主要报道内容为松脂化学、生物质能源化学、生物质炭材料、生物基功能高分子材料、胶黏剂化学、森林植物资源提取物化学利用、环境保护工程、木材制浆造纸为主的林纸一体化和林产化学工程设备研究设计等方面的最新研究成果。主要栏目:研究报告、综述评论、行业热点、国内外信息等。读者对象:适于在生物质化学工业、林产化学工业、林业、农业、森工、能源、轻工、化工、环保、医药、食品、土产、商检、外贸等行业从事科研、教学、生产、经营、设计工作的相关人士阅读。

订阅办法:邮局发行,每册定价 6.00 元,全年价 36.00 元;国外年定价 36 美元。也可直接汇款至本刊编辑部订阅。地址:南京市锁金五村 16 号 林产化工研究所内(邮编 210042);电话:025-85482492,传真:025-85482493;网址:<http://www.bce.ac.cn>;E-mail:[bce@vip.163.com](mailto:bce@vip.163.com)。

欢迎积极投稿、踊跃订阅或来人来函联系广告业务!