

技术主题

Technology Feature

鹅掌楸属植物高质量基因组 DNA 提取方法研究

王鹏凯[✉], 陈金慧[✉], 肖娇[✉], 施季森[✉]

南京林业大学, 国家林业局和江苏省林木遗传与基因工程重点实验室, 南京, 210037

✉ 通讯作者: jshi@njfu.edu.cn ✉ 作者

分子植物育种, 2011 年, 第 9 卷, 第 28 篇 doi: 10.5376/mpb.cn.2011.09.0028

收稿日期: 2010 年 12 月 05 日

接受日期: 2011 年 02 月 28 日

发表日期: 2011 年 03 月 10 日

这是一篇采用 Creative Commons Attribution License 进行授权的开放取阅论文。只要对本原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。

引用格式:

王鹏凯等, 2011, 鹅掌楸属植物高质量基因组 DNA 提取方法研究, 分子植物育种 Vol.9 No.28 (doi: 10.5376/mpb.cn.2011.09.0028)

摘要 以鹅掌楸、北美鹅掌楸、杂种鹅掌楸的萌动幼芽和幼叶为材料, 利用 CTAB 法、PEG 法、DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN)、新型快速植物基因组 DNA 提取试剂盒(BioTeke)提取基因组 DNA。同时使用 PEG 法中的 PEG 漂洗液配合另外三种方法提取。综合比较七种 DNA 提取方法表明: PEG 法中的 PEG 漂洗液可以有效去除材料中的次生代谢物提高 RnaseA 效率, 增加 DNA 纯度。配合 DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN)使用可获得高质量高浓度 DNA。检测结果显示 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 介于 1.84~1.86 之间, OD₂₆₀/OD₂₃₀ 介于 2.3~2.4 之间, DNA 得率为 180~200 μg/g, 琼脂糖凝胶电泳结果显示 DNA 完整性良好。

关键词 鹅掌楸属植物; 萌动芽; 叶片; 高质量 DNA 提取

Study on Extraction Methods of High Quality Genome DNA of Liriodendron

Wang Pengkai[✉], Chen Jinhui[✉], Xiao Jiao[✉], Shi Jisen[✉]

Nanjing Forestry University, The Key Laboratory of Forestry Genetics and Gene Engineering of the State Forestry Administration and Jiangsu Province, Nanjing, 210037, P.R. China

✉ Corresponding author, jshi@njfu.edu.cn; ✉ Authors

Abstract Genome DNA was extracted from the sprouting buds and leaves of *Liriodendron chinense*, *L. tulipifera* and their hybrids (*L. chinense* × *L. tulipifera*). The methods were CTAB, PEG, DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN), New Plant DNA Extraction Kit (BioTeke) and PEG washing buffer with CTAB, QIAGEN kit and BioTeke kit. The performances of seven extraction methods of genome DNA were compared in this report. The results showed the PEG washing buffer can increase the purity of DNA extraction through removing foreign material and enhancing RnaseA effect. The OD₂₆₀/OD₂₈₀ of DNA solution ranged between 1.84-1.86 and OD₂₆₀/OD₂₃₀ ranged between 2.3~2.4. The productivity was between 180~200 μg/g. The extracted DNA was complete by the result of agarose gel electrophoresis.

Keywords Liriodendron; Sprouting bud; Leaf; Extraction of high quality DNA

研究背景

木兰科鹅掌楸属(*Liriodendron*)植物现存两个种, 即鹅掌楸(*Liriodendron chinense*)和北美鹅掌楸(*L. tulipifera*)。1963年叶培忠先生成功培育出了鹅掌楸和北美鹅掌楸的种间杂交种(南京林产工业学院林学系育种组, 1973)。杂交鹅掌楸杂种优势明显, 具有生长快、树形美、抗性强等特点, 在园林观赏、道路绿化和用材造林方面有很高的利用价值(李周岐等, 2001)。随着对鹅掌楸属植物的关注度不断增加, 引种试验、生理生态学特性、杂种优势遗传学等基础研究也在不断跟进。以杂交鹅掌楸体细胞胚胎发生技术为代表的细胞培养方面研究也不断成

熟, 逐步形成完整的技术平台。在此平台的基础上发展的转基因、分子生物学等研究也不断发展(陈金慧等, 2003; 陈志等, 2007; 吴淳等, 2010)。这些研究要求使用的Southern、AFLP、RFLP等技术对基因组DNA的质量、纯度要求较高。而鹅掌楸属植物叶片本身具有油细胞, 次生代谢物含量也极为丰富(蔡霞等, 2000; 陈茜文, 1995), 使DNA的大量提取具有一定的难度。传统鹅掌楸属植物分子遗传学中所使用的DNA一般采用CTAB-硅珠法提取, 该提取方法虽然可以达到DNA纯度要求, 但得率非常低, 且常常会有硅珠残留(Doyle et al, 1990; Rogstad, 2003; 胥猛等, 2008)。残留的硅珠会抑制多种酶的

活性从而在某些实验中无法应用。为此, 本实验采用鹅掌楸萌动芽和叶片为材料, 比较了CTAB法、PEG法、QIAGEN试剂盒和BioTeke试剂盒的提取效果。并根据PEG法中漂洗液的效果将其与CTAB和试剂盒方法配合使用, 以期找到一种提取鹅掌楸属植物基因组DNA的最佳方法。

1 结果与分析

1.1 不同方法提取的DNA纯度和得率比较

7种不同方法提取的基因组DNA用Nanodrop准确计算DNA的纯度和得率, 结果见表1。

高纯度DNA的 OD_{260}/OD_{280} 值应介于1.8~1.9之间。结果表明, 以上7种方法所提取的DNA纯度不同, OD_{260}/OD_{280} 在1.8~2.1之间。通过比较可以看出QIAGEN试剂盒所得的DNA纯度最好, BioTeke试剂盒次之, CTAB法和PEG法所得的样品中都有不同

程度的RNA污染。从DNA的得率上看, 用CTAB法和PEG+QIAGEN试剂盒法每克样品可以获得200 μg 左右的基因组DNA, 明显高于另外几个方法, 而且比木本植物DNA提取常用的CTAB-硅珠法要高许多(胥猛等, 2008)。RNA污染会影响DNA吸光度, 所以表中的 OD_{260}/OD_{280} 高于1.9的样品得率都应该比实际值偏高。 OD_{260}/OD_{230} 也是DNA纯度指标, 一般在2.0以上都符合要求。而表中数据显示BioTeke试剂盒所得的DNA OD_{260}/OD_{230} 在2左右偏移, 数值稳定性较低。

1.2 不同方法提取的DNA完整性分析

由于DNA提取过程有涡旋混匀和高温裂解等操作, 对DNA完整性有一定的损伤。因此在研究过程中使用1%琼脂糖凝胶电泳检测DNA的完整性, 同时检测 OD_{260}/OD_{280} 偏高的样品中RNA污染程度。

表1 不同提取方法提取鹅掌楸基因组DNA纯度与得率比较
Table 1 Comparison of purity and quantity among different methods

提取方法 Extraction method	材料 Material	OD_{260}/OD_{280}	OD_{260}/OD_{230}	得率($\mu\text{g}/\text{g}$) Yield ($\mu\text{g}/\text{g}$)
CTAB 法 CTAB method	芽 Bud	2.12	2.32	217.6
	叶 Leaf	2.1	2.43	209.9
	芽 Bud	2.06	2.16	122.4
PEG 法 PEG method	叶 Leaf	2.05	2.21	116.5
	芽 Bud	1.87	2.48	226.5
	叶 Leaf	1.85	2.33	235.8
QIAGEN 试剂盒 QIAGEN kit	芽 Bud	1.98	2.08	167.6
	叶 Leaf	1.96	2.02	146.3
	芽 Bud	1.98	2.4	177.5
BioTeke 试剂盒 BioTeke kit	叶 Leaf	1.95	2.33	188.7
	芽 Bud	1.84	2.29	187.4
	叶 Leaf	1.84	2.32	190.2
PEG+CTAB 法 PEG+CTAB method	芽 Bud	1.88	2.04	110.6
	叶 Leaf	1.86	1.99	101.1
	芽 Bud	1.84	2.32	190.2
PEG+QIAGEN 试剂盒 PEG+QIAGEN kit	叶 Leaf	1.84	2.32	190.2
	芽 Bud	1.88	2.04	110.6
	叶 Leaf	1.86	1.99	101.1
PEG+BioTeke 试剂盒 PEG+BioTeke kit	芽 Bud	1.88	2.04	110.6
	叶 Leaf	1.86	1.99	101.1
	芽 Bud	1.84	2.32	190.2

琼脂糖电泳检测显示CTAB法和PEG法可以较好的保存DNA的完整性(图1A, 1B), 而使用QIAGEN试剂盒和BioTeke试剂盒提取的DNA条带

有明显拖尾和丝状痕迹, 说明提取的DNA发生降解和存在次生代谢物残留, 无法保证其完整性和纯度(图1C, 1D)。CTAB法和PEG法虽然都有RnaseA消化

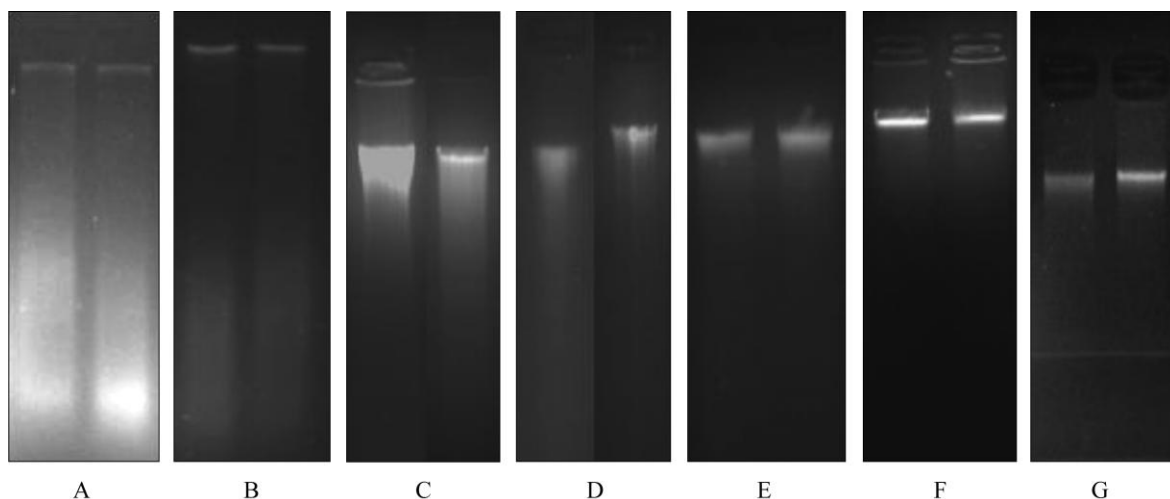


图1 不同方法提取DNA电泳图(左侧泳道为幼芽DNA, 右侧泳道为幼叶DNA)

注: A: CTAB法; B: PEG法; C: QIAGEN试剂盒; D: BioTeke试剂盒; E: PEG+CTAB法; F: PEG+QIAGEN试剂盒; G: PEG+BioTeke试剂盒

Figure 1 1% agarose gel electrophoresis of genome DNA extracted by different methods (Left lane: bud DNA, Right: leaf DNA)

Note: A: CTAB; B: PEG; C: DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN); D: New Plant DNA Extraction Kit (BioTeke); E: PEG washing buffer with CTAB; F: PEG washing buffer with DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN); G: PEG washing buffer with New Plant DNA Extraction Kit (BioTeke)

RNA的步骤, 但是无法完全消化RNA, 使DNA样品的纯度无法达到要求(图1A, B)。QIAGEN和BioTeke试剂盒在处理RNA污染方面具有良好的表现(图1C, 1D)。PEG漂洗液配合使用法得到的三个样品DNA完整性有较大提高的同时很好的解决了RNA污染的问题, 其中CTAB法提取的DNA条带稍有拖尾, 说明DNA发生轻微降解; QIAGEN试剂盒表现非常突出, 提取的DNA电泳条带整齐明亮, 说明DNA完整且得率较高; BioTeke试剂盒提取的DNA电泳条带较QIAGEN试剂盒稍暗, 但条带比较整齐, 说明该方法得到的DNA完整性良好但得率稍低(图1E, 1F, 1G)。

和杂交鹅掌楸基因组DNA无论在得率和纯度方面都符合要求, 同时也很好的保存了DNA的完整性。

1.3北美鹅掌楸和杂交鹅掌楸基因组DNA提取结果

根据七种不同提取方法的比较, 选择提取效果最好的PEG+QIAGEN试剂盒法提取北美鹅掌楸和杂交鹅掌楸基因组DNA, 用Nanodrop计算纯度和得率。结果如表2所示。1%琼脂糖凝胶电泳进行DNA完整性检测, 电泳结果如图2所示。从检测结果可以看出PEG+QIAGEN试剂盒法提取的北美鹅掌楸

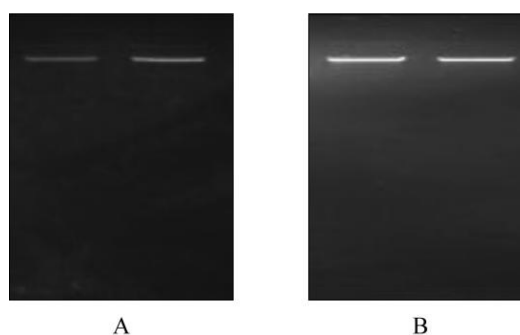


图2 北美鹅掌楸与杂交鹅掌楸基因组DNA电泳图(左侧泳道为幼芽DNA, 右侧泳道为幼叶DNA)

注: A: 北美鹅掌楸; B: 杂交鹅掌楸

Figure 2 Electrophoresis of genome DNA of *L. tulipifera* and *L. Hybrids* (*L. chinense* × *L. tulipifera*) (Left: bud DNA Right: leaf DNA)

Note: A: *L. tulipifera* B: *L. Hybrids* (*L. Chinense* × *L. tulipifera*) with 1% agarose gel

表 2 PEG+QIAGEN 试剂盒法提取北美鹅掌楸与杂交鹅掌楸基因组 DNA 纯度与得率

Table 2 Purity and quantity of DNA of *L. tulipifera* and their hybrids (*L. Chinense* × *L. tulipifera*) by PEG washing buffer with DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN)

种 Species	材料 Material	OD ₂₆₀ /OD ₂₈₀	OD ₂₆₀ /OD ₂₃₀	得率(μg/g) Yield (μg/g)
北美鹅掌楸 <i>L. Tulipifera</i>	芽 Bud	1.85	2.34	190.5
	叶 Leaf	1.86	2.34	189
	芽 Bud	1.86	2.27	200.6
杂交鹅掌楸 <i>L. Hybrids</i>	芽 Bud	1.86	2.27	200.6
	叶 Leaf	1.85	2.35	190.4
	叶 Leaf	1.85	2.35	190.4

2讨论

由以上研究结果可以看出鹅掌楸属植物DNA提取重点在于消除RNA污染和保证DNA完整性。CTAB法虽然得率和DNA完整性较好, 但无法完全消除RNA污染, DNA纯度无法达到要求。同时得到的DNA溶液呈浅褐色, 说明材料在提取过程中发生了氧化。为消除RNA污染, 实验过程中尝试了加大RNaseA用量、延长RNaseA消化时间和增加消化纯化次数。结果表明前两种处理都无法完全消化RNA, 多次消化纯化在完全消化RNA的同时也使DNA损耗严重, 最终得率和CTAB-硅珠法接近, 所以舍弃了这种方法。在以往的研究中, 木兰科木兰属植物提取DNA时大多采用CTAB法(王亚玲等, 2003; 徐凤霞, 2003)。陈永华比较了CTAB法和SDS法提取广玉兰基因组DNA, 同时对两种方法进行了改进, 即在研磨样品时加入了抗氧化剂PVP(陈永华等, 2008)。结果表明PVP可以有效防止样品氧化, 所得的DNA样品可用于ISSR-PCR, 但从电泳结果来看仍然存在严重的RNA残留。虽然不影响PCR反应, 但是在对DNA纯度要求高的实验中CTAB法提取的DNA无法使用。本文的实验结果也表明CTAB法不适合提取高质量高纯度的鹅掌楸基因组DNA。

PEG法对研磨后的样品先用PEG漂洗液进行漂洗, 然后用含有RNaseA的裂解液进行裂解, 最后得到的DNA无褐化, RNA污染较轻。但由于漂洗步骤中要进行数次涡旋混匀和高速离心, 难以保证DNA完整性。在实验过程中经过五次漂洗之后提取的DNA发生降解, 所以样品漂洗次数应严格控制在3次以内。漂洗液在防止样品褐化的同时也去除了

样品中的杂质, 使裂解液中RNaseA效率提高, 但DNA得率有所较低。所得DNA经RNaseA消化后纯化, 可使OD₂₆₀/OD₂₈₀略低于1.9, 但DNA得率进一步降低。PEG法得到的DNA虽然纯度有所提高, 但仍未达到要求。同时该方法在DNA得率上也没有明显优势, 所以不推荐使用PEG法。

QIAGEN和BioTeke两种DNA提取试剂盒虽然在DNA得率和去除RNA污染方面表现良好, 但是电泳结果显示DNA发生降解并且条带沿电泳方向存在丝状痕迹(图1C, 1D), 说明在保持DNA完整性和去除次生代谢物残留方面仍有不足。

单独使用CTAB法、PEG法、QIAGEN和BioTeke试剂盒法提取结果显示鹅掌楸中的杂质会严重影响DNA完整性和RNaseA效率, 而PEG法中的漂洗液则可以有效去除杂质。因此在CTAB法、QIAGEN、BioTeke试剂盒基础上配合PEG漂洗液使用。结果表明漂洗后三种提取方法的DNA得率和纯度都相应有所提高, QIAGEN试剂盒表现尤为突出。使用PEG漂洗液+QIAGEN试剂盒法提取北美鹅掌楸和杂交鹅掌楸的结果进一步说明此方法完全适用于鹅掌楸属植物基因组DNA的提取。

与动物组织相比植物组织中含有较多的多糖及单宁、酚、醌、花色苷类物质等次生代谢物质。这些物质化学性质与核酸相似, 严重影响植物核酸的提取效率和纯度, 甚至无法提取(Kiefer et al, 2000; Salzman et al, 1999; Southerton et al, 1998)。常用的提取植物核酸的方法如CTAB、SDS、异硫氰酸胍法、硅珠法等只适用于部分植物。虽然在这些方法的基础上进行了改进使其适用范围扩大, 但是仍然存在

局限性。随着提取技术的发展, 基于高效核酸吸附柱的核酸提取试剂盒出现, 大大提高了核酸提取效率。但是核酸吸附柱同样会受到次生代谢物质的干扰而降低吸附效率与特异性, 影响了核酸提取试剂盒的适用范围。本文使用的PEG漂洗液可以有效去除植物组织中的次生代谢物保证后续提取步骤顺利进行。PEG漂洗液可以加强常规提取方法的提取效果, 增加其适用性。同时该漂洗液与核酸提取试剂盒配合使用表现良好, 大大增加了试剂盒的性能和适用范围。结合本文结果和桉树(黄真池等, 2010)等植物DNA提取来看, PEG漂洗液与核酸提取试剂盒配合使用可从大部分富含次生代谢物的植物中提取高纯度的核酸, 使得植物提取核酸更加方便, 快捷, 省略了核酸提取方法的摸索过程, 提高了实验效率。

3材料与方法

3.1材料与试剂

鹅掌楸、北美鹅掌楸、杂交鹅掌楸萌动幼芽和幼叶。

2×CTAB提取液: 20 g/L CTAB, 1.4 mol/L NaCl, 20 mmol/L EDTA (pH=8.0), 100 mmol/L Tris-HCl (pH=8.0), 5 g/L PVP, 2% β-巯基乙醇(用前加入)。

PEG漂洗液: 5 mmol/L EDTA (pH=8.0), 50 mmol/L Tris-HCl (pH=8.0), 350 mmol/L山梨醇, 10% PEG8000, 1% β-巯基乙醇(用前加入)。

PEG法裂解液: 5 mmol/L EDTA (pH=8.0), 50 mmol/L Tris-HCl (pH=8.0), 350 mmol/L山梨醇, 710 mmol/L NaCl, 0.1%月桂酰基肌氨酸钠, 1% CTAB, 2% β-巯基乙醇(用前加入)。

DNeasy Plant Mini Kit (购于QIAGEN公司)。

新型快速植物基因组DNA提取试剂盒(购于BioTeke公司)。

其他试剂: 3 mol/L NaAc (pH=5.2), 5 mol/L KAc, 7.5 mol/L NH₄Ac无水乙醇, 异丙醇, 氯仿-异戊醇(24:1), 水饱和酚, 75%乙醇, 100 mg/ml RnaseA (sigma), 5×TBE, 琼脂糖, 无菌水。

3.2 DNA提取方法

CTAB法参照马明(马明等, 2007)文章中步骤进行。

PEG法参照Kobayashi N (Kobayashi N et al., 1998)等文章中步骤进行: 样品液氮研磨后加入PEG漂洗液洗涤三次, 离心收集沉淀加入裂解液65℃裂解45 min后离心取上清; 氯仿-异戊醇(24:1)抽提后加入体积异丙醇沉淀; 收集沉淀用75%乙醇洗涤沉淀两次, 风干后溶于水中。

DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN)和新型快速植物基因组DNA提取试剂盒(BioTeke)按试剂盒说明书进行。

3.3 PEG漂洗液配合使用法

将样品用PEG方法中的PEG漂洗液漂洗三次后再使用CTAB法、QIAGEN试剂盒和BioTeke试剂盒提取基因组DNA。

3.4 DNA溶液纯度、浓度测定及完整性分析

将得到的DNA溶液取2 μl用Nanodrop 2000c (Thermo)测定波长260 nm的OD值以及OD₂₆₀/OD₂₈₀和OD₂₆₀/OD₂₃₀比值; 用1%琼脂糖凝胶电泳检测DNA的完整性。

作者贡献

王鹏凯是本研究的实验设计和实验研究的执行人; 王鹏凯、陈金慧完成实验设计, 试验结果分析, 数据分析, 论文初稿的写作和修改; 肖娇参与实验过程; 施季森是项目的构思者及负责人, 指导实验设计, 数据分析, 论文写作与修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

致谢

本研究由本项目得到国家自然科学基金(30901156)、国家自然科学基金重点项目(30930077)、国家林业局948引进项目(20094-24-)资助。感谢两位匿名的同行评审人的评审建议和修改建议。本文中提到了我们实验中涉及的有关试剂供应商, 这并非我们为这些试剂供应商和测序服务商的产品和服务提供推荐或背书。

参考文献

- Breeding group of Nanjing Institute of Forest Products Industry, 1973, Breeding of *L. chinense* × *L. tulipifera*, *Linze Shiyong Jishu* (Forest Science and Technology), 12: 11-10 (南京林产工业学院林学系育种组, 1973, 亚美杂种马挂木的育成, 林业实用技术, 12: 11-10)
- Cai X., and Hu Z.H., 2000, Comparative studies on oil cell in the leaves of 14 species of magnoliaceae, *Wuhan Zhiwuxue Yanjiu* (journal of wuhan botanical research),

- 18(1): 10-14 (蔡霞, 胡正海, 2000, 木兰科14种植物叶片中油细胞的比较研究, 武汉植物学研究, 18(1): 10-14)
- Chen J.H., Shi J.S., Zhuge Q., and Huang M.R., 2003, studies on the somatic embryogenesis of liriodendron hybrids (*L. chinense* × *L. tulipifera*), *Linee Kexue (Scientia Silvae Sinicae)*, 39(4): 49-53 (陈金慧, 施季森, 诸葛强, 黄敏仁, 2003, 杂交鹅掌楸体细胞胚胎发生研究, 林业科学, 39(4): 49-53)
- Chen X.W., 1995, The Chemical Composition Analysis of the Wood of the Main Tree Species in Hunan Province, *Zhongnan Linxueyuan Xuebao (Journal of central south forestry universith)*, 15(2): 190-194 (陈茜文, 1995, 湖南主要树种木材的化学成分分析, 中南林学院学报, 15(2): 190-194)
- Chen Y.H., Xiang Y., Zhang D.L., Li Z.H., Chen L.M., Peng J., and Ma Q., 2008, Comparison of 4 Different Extraction Methods for *Magnolia grandiflora* DNA, *Journal of Central South University of Forestry & Technology*, 28(3): 45-48 (陈永华, 相阳, 张冬林, 李志辉, 陈亮明, 彭婧, 马倩, 2008, 4种不同广玉兰基因组DNA提取方法的比较, 中南林业科技大学学报: 自然科学版, 28(3): 45-48)
- Chen Z., Chen J.H., Li T.T., Wu C., and Shi J.S., 2007, Study on Factors Influencing Transformation of *Liriodendron* Hybrids (*L. chinense* × *L. tulipifera*) with Bivalent Disease Resistant Genes, *Molecular Plant Breeding*, 5(4): 588-592 (陈志, 陈金慧, 李婷婷, 吴淳, 施季森, 2007, 杂交鹅掌楸转双价抗病基因影响因子研究, 分子植物育种, 5(4): 588-592)
- Doyle J., and Doyle J.L., 1990, Isolation of plant DNA from fresh tissue, *Focus*, 12(1): 13-15
- Huang Z.C., Yu Q.M., Ou-yang L.J., and Zeng F.H., 2010, A Convenient Method of RNA and DNA Extraction from Woody Plant, *Hubei Agricultural Sciences*, 49(4): 773-774 (黄真池, 余秋梅, 欧阳乐军, 曾富华, 2010, 一种木本植物RNA和DNA的简捷提取方法, 湖北农业科学, 49(4): 773-774)
- Kiefer E., Heller W., and Ernst D., 2000, A simple and efficient protocol for isolation of functional RNA from plant tissues rich in secondary metabolites, *Plant Molecular Biology Reporter*, 18(1): 33-39
- Kobayashi N., Horikoshi T., and Katsuyama H., 1998, A simple and efficient DNA extraction method for plants, especially woody plants, *Plant Tiss Cult Biotech*, 4(2): 76-80
- Li Z.Q., and Wang Z.R., 2001, Variation and Selection of Interspecific Hybrid in *Liriodendron*, *Journal of Northwest Forestry College*, 16(2): 5-9 (李周岐, 王章荣, 2001, 鹅掌楸属种间杂种苗期生长性状的遗传变异与优良遗传型选择, 西北林学院学报, 16(2): 5-9)
- Ma M., Yang K.Q., and Guo Q.R., 2007, Studies on Genomic DNA Extraction of Forest Species with Improved CTAB Method, *Biotechnology*, 17(3):36-38 (马明, 杨克强, 郭起荣, 2007, 改良CTAB法提取林木树种基因组DNA的研究, 生物技术, 17(3): 36-38)
- Rogstad S., 2003, Plant DNA extraction using silica, *Plant Molecular Biology Reporter*, 21(4): 463-464
- Salzman R., Fujita T., and Zhu-Salzman K., 1999, An improved RNA isolation method for plant tissues containing high levels of phenolic compounds or carbohydrates, *Plant Molecular Biology Reporter*, 17(1): 11-17
- Southerton S., Strauss S., and Olive M., 1998, Eucalyptus has a functional equivalent of the *Arabidopsis* floral meristem identity gene *LEAFY*, *Plant Molecular Biology*, 37(6): 897-910
- Wang Y.L., Zhang S.Z., and Cui T.C., 2003, The utility of trnL intron and trnL-trnF IGS in phylogenetic analysis of Magnoliaceae, *Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica*, 23(2): 247-252 (王亚玲, 张寿洲, 崔铁成, 2003, trnL内含子及trnL-trnF间隔区序列在木兰科系统发育研究中的应用, 西北植物学报, 23(2): 247-252)
- Wu C., Chen J.H., Li T.T., and Shi J.S., 2010, Isolating Total RNA From Embryonal Cell in Somatic Embryogenesis of *Liriodendron* Hybrids, *Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding)*, 8(2): 393-398 (吴淳, 陈金慧, 李婷婷, 施季森, 2010, 杂交鹅掌楸体胚发生中胚性细胞总RNA提取, 分子植物育种, 8(2): 393-398)
- Xu F.X., 2003, The systematic relationship of the tribe Magnolieae and Micheliaeae-based on matK sequence analysis, *Xibei Zhiwu Xuebao (Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica)*, 23(7): 1169-1172 (徐凤霞, 2003, 木兰族和含笑族的系统学关系——基于叶绿体matK基因序列分析, 西北植物学报, 23(7): 1169-1172)
- Xu M., and Li H.G., 2008, Development and Characterization of Microsatellite Markers from Expressed Sequence Tags for *Liriodendron*, *Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding)*, 6(3): 615-618 (胥猛, 李火根, 2008, 鹅掌楸 EST-SSR引物开发及通用性分析, 分子植物育种, 6(3): 615-618)