

## 不同方法从大豆不同组织中提取基因组 DNA 效果的比较

王振东, 孙 仓, 王 惠

(沈阳农业大学生物科学技术学院, 辽宁沈阳 110161)

**摘 要:**从大豆组织中获得高质量和足够产量的基因组 DNA, 是进行大豆分子生物学研究的基础。为进行大豆基因组的 PCR, RAPD, SSR 等分子生物学研究, 分别以大豆种子和其叶片为实验材料, 采用改良的 SDS 法和 CTAB 法对大豆基因组 DNA 进行了提取。对 DNA 的提取效果, 采用紫外分光光度检测、琼脂糖凝胶电泳分析及 DNA 的限制性内切酶图谱分析进行了综合比较。结果表明, 在以叶片为材料时, SDS 法和 CTAB 法的大豆基因组 DNA 的提取效果差别不大, SDS 法稍好于 CTAB 法。在以大豆种子为材料时, SDS 法的提取效果明显优于 CTAB 法, SDS 法可从大豆种子中提取到能够充分满足各种分子操作的高质量 and 数量的大豆基因组 DNA。

**关键词:**大豆基因组 DNA; 提取; SDS 法; CTAB 法

## Comparison of the Genomic DNA Extraction Methods From Soybean Different Tissues

WANG Zhen-dong, SUN Cang, and WANG Hui

(Science and Technology Department of Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, Liaoning, China)

**Abstract:** It is important to extract high quality and sufficient yield of genomic DNA for soybean molecular biological research. In order to study the soybean genome by PCR, RAPD, SSR etc., improved SDS and CTAB method were used to extract the soybean genomic DNA from the soybean seeds and leaves. The DNA extraction effect of two different methods was compared by ultraviolet spectrophotometry, agarose electrophoresis and the restriction enzyme digestion. The results showed that the extraction effect of the SDS method and the CTAB method to soybean genomic DNA was not obviously different for soybean leaves. However, the extraction effect of SDS method is much better than CTAB method for soybean seeds. The conclusion is that the SDS method is able to extract high quality and quantity soybean genomic DNA, which is suitable for various molecular operations.

**Key words:** Soybean genomic DNA; Extraction; SDS method; CTAB method

核酸提取是分子生物学实验的基础, 对于其下游工作是非常重要的。高质量的核酸是 PCR、实时 PCR、RAPD 分析、AFLP 分析、RFLP 分析、印迹实验、微卫星分析等实验的基础。因此选择好的提取方法和试剂是非常重要的。尤其对于植物核酸的提取来说, 由于植物本身有一层细胞壁, 含有更多的多聚糖, 在核酸提取时有更多的注意事项。关于植物 DNA 提取方法虽有不少报道(刘杰等, 2001; 赖相红和王沛政, 2003; 田洁和罗科, 2004; 曾强成等, 2004), 但不同植物组织的组分各异, 提取 DNA 的难易程度不同。对于大豆, 由于其含有较多的蛋白质、

酚类、脂类、糖类、色素以及其他干扰物质, 需要采用合适的提取方法才能得到符合要求的 DNA(杨婉身等, 1996)。本研究旨在通过两种常用的 DNA 提取方法—SDS (Sodium dodecyl sulphate, 十二烷基硫酸钠) 法, 和 CTAB (Cetyltriethylammonium bromide, 十六烷基三甲基溴化铵) 法的改良方法, 以大豆种子和叶片为材料, 分别进行 DNA 的提取并对提取效果进行比较分析, 以求找到一个简便、快捷而又经济的高质量大豆基因组 DNA 提取方法, 为大豆分子生物学研究、大豆品种及品系的聚类分析、DNA 多态性分析及 DNA 分子标记辅助选择的研究提供技术

收稿日期 (Received): 2007-06-01; 接受日期 (Accepted): 2007-11-07

基金项目: 沈阳农业大学青年教师科研基金 (2005006)

作者简介: 王振东 (1956-), 男, 教授, 博士, 博士生导师, 从事生物技术教学与研究。Tel: 024-88487163; E-mail: zhendongwang1212@yahoo.com.cn

通讯作者 (Corresponding author): 王惠, 博士。Tel: 024-88487163; E-mail: wanghuisynd@yahoo.com.cn

基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

本研究室保存的大豆干种子和常规方法培育的大豆幼苗。

### 1.2 DNA 提取缓冲液及其成分

采用的两种不同提取方法的缓冲液及其浓度和成分如下:

SDS 提取缓冲液:2% (W/V) SDS, 150 mmol L<sup>-1</sup> NaCl, 100 mmol L<sup>-1</sup> Tris-HCl (pH8.0), 50 mmol L<sup>-1</sup> EDTA (Ethylene diamine tetraacetic acid, 乙二胺四乙酸二钠), 0.1% 和 2% (V/V)  $\alpha$ -巯基乙醇( $\alpha$ -hydroxy-1-ethanethiol), 2% (W/V) PVP (Polyvinylpyrrolidone, 聚乙烯吡咯烷酮)。

CTAB 提取缓冲液:2.0% (W/V) CTAB (Cetyltriethylammonium bromide), 100 mmol L<sup>-1</sup> Tris-HCl (pH8.0), 20 mmol L<sup>-1</sup> EDTA, 1400 mmol L<sup>-1</sup> NaCl, 0.1% 和 2% (V/V)  $\alpha$ -巯基乙醇, 2% (W/V) PVP。

### 1.3 DNA 提取方法

根据(杨少辉等, 2003; 周思君, 1999; 张永明等, 2000; 关荣霞等, 2003; 李维平等, 2002)的方法, 并有所改进。

1.3.1 SDS 提取法 其提取步骤为:a. 取两粒大豆干种子或幼嫩叶片, 用去离子水清洗干净, 用滤纸擦干。种子去掉种皮, 放在研钵中小心地研碎成粉末, 叶片用液氮研磨, 各称取 0.05 g 置于 1.5 mL Eppendorf 管中;b. 加入 500  $\mu$ L 经 65℃ 预热的 SDS 提取缓冲液, 小心混匀, 放入 65℃ 水浴锅中保温 20 min, 其间每隔 5 min 轻轻摇动 1 次;c. 12 000 r min<sup>-1</sup>, 于 4℃ 离心 20 min。d. 上清移入新的 1.5 mL Eppendorf 管中, 加入等体积的酚:氯仿(1:1), 轻轻旋转混匀, 静置片刻, 而后 12 000 r min<sup>-1</sup>, 于 4℃ 离心 10 min;e. 上清移入新的 1.5 mL Eppendorf 管中, 加入等体积的氯仿:异戊醇(24:1), 重新抽提一次;f. 上清移入到新的 1.5 mL Eppendorf 管中, 加入 2.5 倍体积的预冷的无水乙醇, 轻轻混匀, 在 -20℃ 条件下静置 30 min;g. 10 000 r min<sup>-1</sup>, 于 4℃ 离心 10 min, 去上清, 留沉淀;h. 用 500  $\mu$ L 70% 的乙醇洗涤沉淀, 4 000 r min<sup>-1</sup> 4℃ 离心 5 min (重复 2~3 次), 彻底吸弃上清;i. 将 Eppendorf 管倒扣在滤纸上自然干燥 1 h, 加入 200  $\mu$ L TE 缓冲液溶解干燥的 DNA, 加入 2  $\mu$ L (10 mg mL<sup>-1</sup>) RNase A 酶液, 在 37℃ 条件

下保温 30 min, 然后用氯仿抽提一次, 离心、沉淀、干燥、最后将 DNA 溶解在 50  $\mu$ L TE 缓冲液中, 于 -20℃ 保存备用。

1.3.2 CTAB 提取法 其提取步骤为:a. 每支 1.5 mL 的 Eppendorf 管加入 0.05 g 研碎的大豆粉末或叶片粉末, 迅速加入 500  $\mu$ L 65℃ 预热的 CTAB 提取缓冲液, 迅速混匀, 于 65℃ 条件下保温 30 min;b. 12 000 r min<sup>-1</sup> 4℃ 离心 10 min;c. 上清移入到新的 1.5 mL Eppendorf 管中, 加入等体积的酚:氯仿:异戊醇(25:24:1)混匀, 室温静置 5 min;d. 12 000 r min<sup>-1</sup>, 于 4℃ 离心 10 min;e. 用氯仿:异戊醇(24:1)重新抽提一次, 离心;f. 上清移入到新的 1.5 mL Eppendorf 管中, 加入 2.5 倍体积预冷的无水乙醇, 混匀, 于 -20℃ 条件下静置 30 min;g. 10 000 r min<sup>-1</sup>, 于 4℃ 离心 10 min;h. 用 70% 乙醇洗涤沉淀 2~3 次;i. Eppendorf 管倒扣在滤纸上自然干燥 1 h, 加入 200  $\mu$ L TE 缓冲液溶解干燥的 DNA, 加入 2  $\mu$ L (10 mg mL<sup>-1</sup>) RNase A 酶液, 在 37℃ 条件下保温 30 min, 然后用氯仿抽提一次, 离心、沉淀、干燥、最后将 DNA 溶解在 50  $\mu$ L TE 缓冲液中, 于 -20℃ 保存备用。

### 1.4 提取 DNA 的质量检测

1.4.1 紫外分光光度法检测 取 10  $\mu$ L DNA 提取液稀释 300 倍, 以 TE 作为空白对照, 测定各个样品在 260 nm、230 nm 及 280 nm 波长下的 OD 值, 根据 OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 和 OD<sub>260</sub>/OD<sub>230</sub> 吸光值的比率计算各样品中的 DNA 浓度并判断 DNA 的纯度。

1.4.2 琼脂糖凝胶电泳检测 吸取 8  $\mu$ L DNA 提取液, 加 2  $\mu$ L 上样缓冲液 (Loading buffer), 在 0.8% 的琼脂糖凝胶上进行电泳, 电压 70 V, 电泳时间 60 min, 电泳结果在紫外灯下观察, 拍照。

1.4.3 限制性内切酶酶切检测 吸取 10  $\mu$ L DNA 液, 在 20  $\mu$ L 反应体系中对各 DNA 样品分别进行限制性内切酶 EcoRI 和 Hind III 单酶切检测, 酶切反应体系包括 10  $\mu$ g DNA、5 U 酶, 酶切反应条件为 37℃ 保温 2 h。吸取 10  $\mu$ L 酶切反应液, 进行 1% 琼脂糖凝胶电泳检测。

## 2 结果和分析

### 2.1 DNA 的纯度和浓度检测结果

将用不同方法和不同材料提取的大豆总 DNA 的紫外分光光度检测数据列为表 1。

表 1 不同方法从不同材料中提取的总

DNA 的浓度和纯度

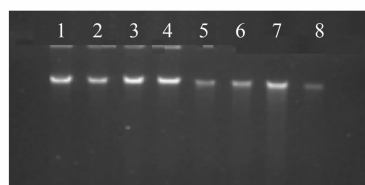
Table 1 Comparison of the density and purity of the genomic DNA from different materials and methods

	OD <sub>260</sub> /OD <sub>280</sub>		OD <sub>260</sub> /OD <sub>230</sub>		浓度 Concentration /μg μL <sup>-1</sup>	
	SDS	CTAB	SDS	CTAB	SDS	CTAB
种子 Seed	1.85	1.90	1.92	3.38	2.31	1.57
叶片 Leaf	1.75	1.73	2.02	1.81	2.465	2.235

从表 1 可以看出,以种子为材料提取时,取同样重量的材料,加入同样多的提取缓冲液,SDS 法提取出的 DNA 浓度为  $2.31 \mu\text{g} \mu\text{L}^{-1}$ ,而用 CTAB 法提取的浓度为  $1.57 \mu\text{g} \mu\text{L}^{-1}$ ,所以 SDS 法提取量远大于 CTAB 法提取的量,而且 SDS 法提到的 DNA 基本无 RNA 污染,OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 的值都在 1.85 左右,而 CTAB 法相对来说,稍稍有些 RNA 残留,OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 值为 1.90,在 OD<sub>230</sub>/OD<sub>260</sub> 的比值上看,用 SDS 法得到的值稍小于 2.0,为 1.92,而用 CTAB 法得到的值远大于 2.0,说明纯度较 SDS 高一些。在以叶片为材料提取时,两种方法提取的 DNA 浓度也有差别,用 SDS 法得到的浓度为  $2.465 \mu\text{g} \mu\text{L}^{-1}$ ,用 CTAB 法得到的浓度为  $2.235 \mu\text{g} \mu\text{L}^{-1}$ ,OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 的值分别是 1.75 和 1.73,OD<sub>260</sub>/OD<sub>230</sub> 的值分别是 2.02 和 1.81,无论是浓度还是纯度,SDS 法稍好于 CTAB 法。

## 2.2 琼脂糖凝胶电泳检测结果

用不同方法和不同材料提取的大豆总 DNA 的琼脂糖凝胶电泳检测结果如图 1、图 2。



1~4: SDS 提取的样品; 5~8: CTAB 法提取的样品

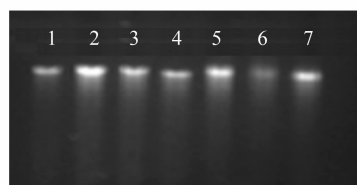
Lane 1-4: DNA from SDS extraction method;

Lane 5-8: DNA from CTAB extraction method

图 1 不同方法从大豆叶片中提取的基因组 DNA 的琼脂糖凝胶电泳图谱

Fig. 1 Electrophoresis pattern of the genomic DNA extracted from the soybean leaf by different extraction methods

从图 1 可以看出,从叶片中用两种方法得到的 DNA 的电泳条带明暗度差不多,这说明两种方法从大豆叶片中提取基因组 DNA 的效果无多大差异;而



1~4: SDS 法提取的样品; 5~7: CTAB 法提取的样品

Lane 1-4: DNA from SDS extraction method; Lane

5-7: DNA from CTAB extraction method

图 2 不同方法从大豆种子中提取的基因组 DNA 的琼脂糖凝胶电泳图谱

Fig. 2 Electrophoresis pattern of the genomic DNA extracted from soybean seed by the different extraction methods

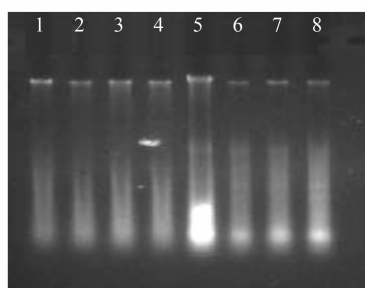
从图 2 来自种子 DNA 的电泳条带的明暗度可以看出,1~4 的条带较 5~7 的条带粗而且亮,这说明以种子为材料用 SDS 法提取大豆基因组 DNA 的效果要好于 CTAB 法的提取效果,同时也说明以种子为材料提取到的 DNA 的质量不比从叶片中提取到的差,只是 DNA 的浓度稍低而已。

## 2.3 RNase A 处理 DNA 样品时 RNA 的降解效果

图 1 和图 2 为经 RNase A 处理后的 DNA 样品的琼脂糖凝胶电泳图谱,图 3 为未经 RNase A 处理的 DNA 样品的琼脂糖凝胶电泳图谱。通过对图 1、图 2 中的电泳图谱与图 3 中的电泳图谱之比较可以明显看出,图 1 和图 2 中只有一条分子量较大的单一 DNA 条带,看不见图 3 中未经 RNase A 处理的样品中的小分子量呈弥散状态的 RNA 带。说明 RNase A 处理可有效地降解不同方法从不同大豆材料中提取的总 DNA 样品中混杂的 RNA 分子,从而获得纯净的、能够用于后续的大豆基因组 RAPD 及 SSR 等分子生物学研究所需要的高质量基因组 DNA。

## 2.4 不同方法和不同材料提取的大豆基因组 DNA 的限制性内切酶酶切检测结果

用不同方法从不同材料中提取的大豆总 DNA 的限制性内切酶酶切检测结果见图 4。从图 4 可以看出,经 Hind III 酶切的第 1、2 条带和经 Eco RI 酶切的第 3、4 条带中的 DNA 的琼脂糖凝胶电泳图谱,与未经酶切作为对照的第 5 条带中的 DNA 电泳图谱明显不同。与未经酶切的第 5 条带的 DNA 电泳图谱呈清晰的单一条带,而经酶切的第 1~4 条带中 DNA 图谱不呈条带而呈弥散状态。说明用不同方法从不同大豆材料中提取的总 DNA 都可被限制性



1~4: SDS 法提取的样品; 5~8: CTAB 法提取的样品

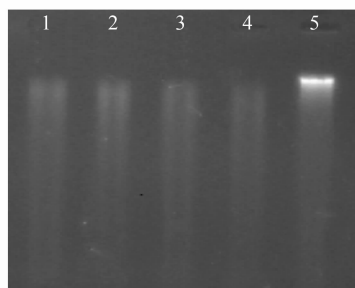
Lane 1~4: DNA from SDS extraction method;

Lane 5~8: DNA from CTAB extraction method

图3 未经 RNase A 处理的大豆基因组 DNA 的电泳图谱

Fig.3 Electrophoresis pattern of the soybean genomic

DNA not digested with RNase A



1~2: Hind III 酶切; 3~4: Eco RI 酶切; 5: 未酶切

Lane 1~2: Digested by Hind III Lane 3~4: Digested by

Eco RI; Lane 5: Not digested

图4 大豆基因组 DNA 的 Eco RI 和

Hind III 酶切电泳图谱

Fig.4 Electrophoresis pattern of the soybean genomic

DNA digested with Eco RI or Hind III

内切酶 Eco RI 和 Hind III 切断。同时此结果还暗示,本试验用不同方法从不同大豆材料中提取的总 DNA,完全可以用于 PCR 扩增的模板,以进行大豆基因组 RAPD 及 SSR 等的分析。

### 3 讨论

自发明了去除植物 DNA 上污染物的方法之后,可用分离动物组织 DNA 的方法分离植物 DNA。去除植物带电高分子污染物的方法有核分离、CTAB 分离和盐酸/SDS 分离等。在上述植物 DNA 分离方法中,CTAB 法和 SDS 法因其简便、快速而被广泛采用,但不同种类的或同一种类植物的不同组织及器官因其细胞结构及所含的成分不同,上述两种方法已被进行了多种改良(彭锁堂等,2002;王晓丹等,2004;王景雪等,2000;陶刚等,2004;陈庆山等,2004;王齐红等,2004;Doyle and Doyle,1990)。

关于大豆基因组 DNA 的提取虽有不少报道,但大都是用某种方法从大豆不同组织中提取基因组 DNA 效果比较的研究(周德银等,2005),而用不同方法从不同组织中提取基因组 DNA 效果之比较的研究报道尚少。本试验采用改良的 SDS 法和 CTAB 法,对从大豆种子和叶片中提取基因组 DNA 的效果进行比较分析,以求找到一个简单、快速、经济而又能满足后续的构建基因组文库、Southern 杂交及 PCR 等各种分子操作所需的高质量 DNA 的提取方法。

从结果看出,SDS 法优越于 CTAB 法,不失是一种高效、快速、经济的大豆基因组 DNA 提取法,从大豆种子中提取到的 DNA 的浓度和纯度都较高,能满足后续的各种分子生物学操作的要求。以大豆种子为材料提取基因组 DNA 时,可以避免以叶片为材料受季节、培育大豆幼苗消耗时间和物力及提取过程中需要液氮研磨等弊端。

在提取过程中,种皮要去除干净,减少种皮中杂质的污染并利于研磨,尽量在冰上研磨,加入样品的量不要太多,以防止蛋白和 RNA 去除不彻底,而导致污染,影响 DNA 的纯度。叶片尽量采用新鲜幼嫩的部位。在实际操作过程中应尽可能快速连续进行,以防其降解及尽量避免过多的溶液转移及剧烈的振荡等,以减少机械张力对 DNA 的损伤,因为 DNA 分子量较大,机械张力或高温很容易使 DNA 分子发生断裂。分离缓冲液的 pH 值应调到 8.0,因为 DNA 在偏碱的条件下比较稳定,RNA 不稳定。

抽提时先用酚:氯仿(1:1),再用氯仿:异戊醇(24:1)抽提,以求最大限度的去除酚和蛋白,另外在叶片 DNA 提取的缓冲液中要加入 2% 的  $\alpha$ -巯基乙醇和 2% 的 PVP,这样可以防止提出来的 DNA 呈现褐色,因为叶片中含有多酚物质易被氧化成醌, $\alpha$ -巯基乙醇防止酚被氧化,而 PVP 易于和多酚物质结合形成络合物而沉淀出来,以达到去除酚的目的。而在种子的提取缓冲液中无须加入那么高浓度的  $\alpha$ -巯基乙醇,0.1% 已足够。在配制 RNase A 酶液时,一定要在沸水浴中煮 30 min 左右,以去除 DNA 酶活性。本研究已经用 SDS 法以大豆种子为材料进行了数十份 DNA 的提取,结果可靠、理想。

### 4 结论

以大豆叶片为材料时,SDS 法和 CTAB 法的大豆基因组 DNA 的提取效果差别不大,SDS 法稍好于

CTAB 法。以大豆种子为材料时, SDS 法明显优于 CTAB 法, SDS 法可从大豆种子中提取到可用于各种分子操作的高质量大豆基因组 DNA。

## References

- Chen Q S, Liu C Y, Lü D, and He J X. 2004. The basic principle of DNA extraction from soybean. *Journal of Northeast Agricultural University*, 35(2):129-134 (陈庆山, 刘春燕, 吕东, 何建勋. 2004. 大豆 DNA 提取基本原理的探讨. *东北农业大学学报*, 35(2):129-134)
- Doyle J J, and Doyle J L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12:13-15
- Guan R X, Chang R Z, and Qiu L J. 2003. Rapid isolation of soybean DNA for SSR analysis. *Soybean Science*, 22(1):73-74 (关荣霞, 常汝镇, 邱丽娟. 2003. 用于 SSR 分析的大豆 DNA 的快速提取. *大豆科学*, 22(1):73-74)
- Lai X H, and Wang P Z. 2003. Comparison of total DNA extraction approaches and its utilization in RAPD-PCR of sunflower. *Journal of Xinjiang Agricultural University*, 26(1):24-27 (赖相红, 王沛政. 2003. 向日葵总 DNA 不同提取方法比较及在 RAPD 中的应用研究. *新疆农业大学学报*, 26(1):24-27)
- Li W P, Zhao W M, and Lei P. 2002. Rapid method for extracting DNA from plant tissues. *Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry*, 30(6):125-128 (李维平, 赵文明, 雷平. 2002. 一种少量提取植物组织 DNA 的快速方法. *西北农林科技大学学报*, 30(6):125-128)
- Liu J, Xiong Y W, Liu G S, Qi D M, Li F F, and Wang E H. 2001. DNA extraction from different part of oil sunflower mature seeds for PCR analysis. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 21(4):615-619 (刘杰, 熊艳文, 刘公社, 齐冬梅, 李芳芳, 汪恩华. 2001. 向日葵种子不同部位微量提取 DNA 用于 PCR 的研究. *西北植物学报*, 21(4):615-619)
- Peng S T, Yan Q C, Wang X D, and Zhang C R. 2002. DNA extraction from single seeds and optimizing RAPD procedure in rice. *Journal of Shanghai Jiaotong University*, 20(1):34-41 (彭锁堂, 颜启传, 王学德, 张春荣. 2002. 水稻单粒种子 DNA 提取及其 RAPD 程序优化研究. *上海交通大学学报*, 20(1):34-41)
- Tao G, Liu Z Y, Zhu Y, and Song J X. 2004. Modification for the method of genomic DNA extraction and purification of rice and maize. *Guizhou Agricultural Sciences*, 32(6):21-22 (陶刚, 刘作易, 朱英, 宋吉轩. 2004. 水稻玉米基因组 DNA 提取方法的改进. *贵州农业科学*, 32(6):21-22)
- Tian J, and Luo K. 2004. Fast and reliable extraction processes of total DNAs from rice. *Chinese Journal of Applied Environmental Biology*, 10(2):143-145 (田洁, 罗科. 2004. 水稻总 DNA 的快速制备. *应用与环境生物学报*, 10(2):143-145)
- Wang J X, Sun Y, and Gao W J. 2000. A simple of practical method for extracting plant total DNA. *Journal of Shanxi University*, 23(3):271-272 (王景雪, 孙毅, 高武军. 2000. 一种简便实用的植物总 DNA 提取方法. *山西大学学报*, 23(3):271-272)
- Wang Q H, Huang J, and Zhang H S. 2004. A rapid method for the isolation of small amount DNA from plant leave. *Letters in Biotechnology*, 15(5):479-480 (王齐红, 黄骥, 张红生. 2004. 一种快速微量提取植物叶片 DNA 的方法. *生物技术通讯*, 15(5):479-480)
- Wang X D, Lv H Y, and Zhang J. 2004. Comparative study on methods of extracting DNA from soybean leaf for PCR. *Molecular Plant Breeding*, 2(6):891-894 (王晓丹, 吕慧颖, 张敬. 2004. 以 PCR 为目的的大豆叶片 DNA 提取方法的比较研究. *分子植物育种*, 2(6):891-894)
- Yang S H, Zhang L J, and Duan H J. 2003. Rapid extraction of soybean DNA for PCR from dry seed. *Soybean Science*, 22(2):151-153 (杨少辉, 张丽娟, 段会军. 2003. 大豆种子 DNA 的提取方法. *大豆科学*, 22(2):151-153)
- Yang W S, Wang X Y, Gou L, and Pan G T. 1996. The modification of DNA purification for soybean and other plants and the research for the interfering mechanism. *Journal of Sichuan Agricultural University*, 14(2):153-156 (杨婉身, 王西瑶, 苟琳, 潘光堂. 1996. 大豆等植物材料 DNA 提取方法的改进及其干扰机制的探讨. *四川农业大学学报*, 14(2):153-156)
- Zeng Q C, Zheng S Y, and Shen L. 2004. Modification of DNA extraction protocol for Jisi Ziziphus jujuba. *Letters in Biotechnology* 15(2):152-153 (曾强成, 郑世英, 沈亮. 2004. 金丝小枣基因组 DNA 的优化提取方法. *生物技术通讯*, 15(2):152-153)
- Zhang Y M, Sun C Y, and Liang C Y. 2000. One step isolation of plant DNA for large-scale RAPD analysis. *Hereditas*, 22(2):106 (张永明, 孙彩云, 梁承邳. 2000. 一步法提取植物 DNA 用于大规模 RAPD 分析. *遗传*, 22(2):106)
- Zhou D Y, Zhou Y F, and Pan D R. 2005. DNA extraction from different soybean tissues. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University*, 34(4):417-419 (周德银, 周以飞, 潘大仁. 2005. 大豆不同组织材料的 DNA 提取. *福建农林科技大学学报*, 34(4):417-419)
- Zhou S J. 1999. Rapid isolation of soybean DNA for PCR with large numbers of small samples. *Soybean Science*, 18(4):318-321 (周思君. 1999. 小样品大批量模板 DNA 快速分离法. *大豆科学*, 18(4):318-321)