

中国二化螟不同地理种群的 AFLP 遗传分析*

韩光杰^{1, 2, 3**} 罗光华² 张志春² 王利华²
杨琼² 方继朝^{1, 2***}

(1. 南京农业大学植物保护学院 南京 210095; 2. 江苏省农业科学院植物保护研究所 南京 210014;
3. 江苏里下河地区农业科学研究所 扬州 225007)

摘要 利用 AFLP 标记对中国 11 省 13 个二化螟 *Chilo suppressalis* (Walker) 地理种群进行遗传多态性分析, 以揭示不同区域种群间遗传分化, 为建立较准确的二化螟发生区划及区域治理对策提供新的依据。选取 3 对引物, 共扩增出 445 个位点, 其中多态性位点数为 386, 多态性比率为 86.8%。种群间分化系数 (G_{st}) 为 0.74, 基因流仅为 0.176; 13 个地理种群间遗传一致度较高, 均大于 0.67。遗传距离聚类分析表明, 二化螟 13 个地理种群可区分为 4 类, 其中淮北平原类(赣榆、阜宁、阜南)、东南山区类(鄞县、闽侯)、荆湘川类(荆州、邵阳、德阳)三类种群分别具有较一致的地理气候特征或相对较近的距离。研究还表明, 与其他测试种群的遗传距离普遍较大、相对孤立的地理种群, 其聚类结果有一定的随机性, 因此, 取样点较多、且样点分布较均匀的聚类分析结果才有较高可信度。
关键词 二化螟, 地理种群, AFLP, 遗传多态性

Genetic diversity of different geographical populations of *Chilo suppressalis* in China as determined by AFLP

HAN Guang-Jie^{1, 2, 3**} LUO Guang-Hua² ZHANG Zhi-Chun² WANG Li-Hua²
YANG Qiong² FANG Ji-Chao^{1, 2***}

(1. College of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;
2. Institute of Plant Protection, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China;
3. Jiangsu Lixiahe Institute of Agricultural Science, Yangzhou 225007, China)

Abstract DNA molecular markers produced by amplified fragment length polymorphism (AFLP) were used to detect genetic variation in 13 geographical populations of *Chilo suppressalis* (Walker) collected from 11 Chinese provinces. A total of 445 distinct alleles were amplified by three AFLP primer pairs from genomic DNA, of which 386 (86.8%) were found to be polymorphic. The coefficient of gene differentiation between populations was 0.74. Genetic identity between the 13 populations was greater than 0.67. Cluster analysis showed that all the tested populations could be grouped into 4 clades. The northern Huai River plain clade was comprised of the GY, FN and FNING populations, the east-south region clade of the YX and MH populations, and the Jing-Xiang-Chuang plain clade of the JZ, SY and DY populations. This classification is credible in that the populations within each of the clades share similar climatic conditions and proximity. However, a single population with a relatively long genetic distance to all other populations probably belongs to a random clade. Investigations of genetic diversity between populations should use as many widely dispersed populations as possible.
Key words *Chilo suppressalis*, geographic population, AFLP, genetic diversity

二化螟 *Chilo suppressalis* (Walker) 属鳞翅目 (Lepidoptera)、螟蛾科 (Pyralidae)、禾草螟属 (*Chilo*), 俗称钻心虫, 是一种重要的钻蛀性水稻害虫, 广泛分布于我国各水稻生产区。二化螟的寄

* 资助项目: 现代农业产业技术体系岗位科学家项目 (CARS-001-25); 国家科技支撑计划课题 (2012BAD19B03); 江苏省农业科技自主创新资金项目 (cx (10) 418)。
** E-mail: hanguangjie177@163.com
*** 通讯作者, E-mail: fangjc@jaas.ac.cn
收稿日期: 2012-06-27, 接受日期: 2012-10-24

主除水稻外,还有茭白、玉米等(林炜等,2007;Li *et al.*,2007)。近年来,二化螟的发生有扩大与加重趋势,严重威胁水稻生产(Li *et al.*,2006)。

目前,国内外对二化螟遗传多样性的研究已经展开。薛进等(2007)利用 RAPD 对中国 5 个地区的二化螟进行多样性分析,结果发现,我国二化螟不同地理种群之间已经产生了一定程度的遗传分化,这种分化是和地理位置有密切关系的,可以看出各地理种群间的基因遗传差异比较明显,特别是南北地理种群间的差异较大。阮雪莲(2006)对二化螟同工酶的分析显示,地理差异产生的遗传分化程度大于由食物不同产生的遗传分化。Meng 等(2008)对中国 18 个地区的二化螟基于微卫星标记和线粒体 DNA 序列分析,把中国二化螟分为西南、华中、华北和东北 3 个分支,并提出 3 个地区之间的遗传分化很可能是迁徙-漂变平衡的

结果。在前人研究基础上,本研究重点对沿海、内陆不同类型地区进行较全面的分析比较,以进一步了解二化螟不同地理种群的遗传分化趋势及分化特点,分析各个地理种群发生的主要环境影响因子,为探讨二化螟种群分化成因及建立较准确的二化螟发生区划提供种群遗传学依据。对于丰富我国的生物系统地理学研究,掌握二化螟的成灾规律,并控制其危害具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

供试二化螟的越冬幼虫分别自 11 省市区 13 个稻区的稻田中采集(表 1)。其中,吉林公主岭的二化螟越冬幼虫由吉林省农科院植保所高月波博士采集提供。

表 1 供试二化螟的虫源地
Table 1 *Chilo suppressalis* overwintering larvae tested in this study

编号 No.	采集地点 Collected site	经度 Longitude (E)	纬度 Latitude (N)
1	吉林公主岭 Gongzhuling, Jiliin (GZL)	125. 233562°	43. 914728°
2	四川德阳 Deyang, Sichuan (DY)	104. 343338°	31. 132314°
3	安徽阜南 Funan, Anhui (FN)	115. 576172°	32. 613931°
4	江苏阜宁 Funing, Jiangsu (FNING)	119. 700701°	33. 769498°
5	江西赣县 Ganxian, Jiangxi (GX)	115. 034237°	25. 936203°
6	江苏赣榆 Ganyu, Jiangsu (GY)	119. 148102°	34. 792378°
7	安徽和县 Hexian, Anhui (HX)	118. 357086°	31. 717654°
8	重庆江津 Jiangjin, Chongqing (JJ)	106. 265259°	29. 141367°
9	湖北荆州 Jingzhou, Hubei (JZ)	112. 341471°	30. 280124°
10	福建闽侯 Minhou, Fujian (MH)	119. 065189°	26. 232801°
11	湖南邵阳 Shaoyang, Hunan (SY)	111. 469517°	27. 293463°
12	广西阳朔 Yangshuo, Guangxi (YS)	110. 391226°	24. 864711°
13	浙江鄞县 Yinxian, Zhejiang (YX)	121. 528702°	29. 807284°

1.2 DNA 的提取

对采集的二化螟越冬幼虫,每个地理种群随机抽取 15 头样本,每头样本 DNA 的提取根据 AxyPrep 基因组 DNA 小量试剂盒说明操作。用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测提取 DNA 浓度和纯度,经提纯合格的 DNA 样品于 -20℃ 冰箱内保存备用。

1.3 AFLP-PCR 扩增及其产物检测

AFLP 反应程序按 Vos 等(1995)方法稍加改进。样品 DNA 经 *Pst* I 和 *Taq* I 酶切后,与 *Pst* I 和 *Taq* I 特定接头连接,通过 *Pst* I 和 *Taq* I 引物进行

预扩增,PCR 反应体系:稀释的连接产物 2 μL,10 × PCR buffer (Mg²⁺ Free) 2.5 μL, MgCl₂ (25 mmol/L) 2 μL,dNTP Mixture (各 2.5 mmol/L) 2 μL,扩增引物 F/R (10 μmol/L) 各 1 μL,TaKaRa *Taq* (5 U/μL) 0.2 μL,ddH₂O 14.3 μL,反应程序为预变性 94℃ 30 s,56℃ 30 s,72℃ 60 s,20 个循环。预扩增产物稀释后用含 3 个选择性碱基的 *Pst* I 和 *Taq* I 引物(表 2)进行选择性扩增,PCR 反应程序为预变性 94℃ 30 s,65℃ 30 s,72℃ 60 s,12 个循环,每循环退火温度逐级降低 0.7℃,变性和延伸条件同上,接着以 94℃ 30 s,56℃ 30 s,

72℃ 60 s 进行 24 个循环。最后在扩增产物加 1/2 体积的 loading buffer,在 8% 的聚丙烯酰胺凝胶上加样 3 μL 进行电泳分离,并采用银染法染色(杨璞,2008),检测结果。

表 2 用于二化螟基因组 DNA AFLP 分析的引物序列
Table 2 Primer sequences used in AFLP analyses of *Chilo suppressalis* genomic DNA

Taq I	碱基序列 Sequence (5'-3')	Pst I	碱基序列 Sequence (5'-3')
T-ATC	GATGAGTCCTGAGCGAAATC	P-ATC	GACGGCCGTCATGCAGAATC
T-ACC	GATGAGTCCTGAGCGAAACC	P-AGC	GACGGCCGTCATGCAGAAGC
T-CAG	GATGAGTCCTGAGCGAACAG	P-ACG	GACGGCCGTCATGCAGAACC

1.4 数据统计

对试验取得的清晰可重复的 DNA 条带进行统计分析,在相同迁移率的位置有带记为 1,无带记为 0,构成遗传相似矩阵。

利用 PopGen 32 (population genetic simulator) 软件包分析多态位点比率 (PPB),Shannon 多样性指数 (i),Nei's 基因多样性指数 (h),群体内遗传多样性 (Hs),群体间的遗传分化水平 (Gst) 和基因流 (Nm)。按 Nei 和 Li (1979) 的方法计算材料间的遗传相似系数 (Gs) 值,计算公式为: $GS = 2 N_{ij} / (N_i + N_j)$,式中 N_{ij} 为材料 i 和 j 共有的扩增片段数目, N_i 为材料 i 中出现的扩增片段数目, N_j 为材料 j 中出现的扩增片段数目。按邻位相连法 (Neighbor-Joining, NJ) 利用 Phylip 3.69 软件进行遗传相似性聚类。

2 结果与分析

2.1 AFLP 扩增产物的多态性分析

利用 9 对引物对 13 地 195 份二化螟个体材料分别进行扩增,所得的扩增产物条带清晰。共获得 445 个位点,其中多态性位点为 386 个,平均每对引物的扩增位点为 49.44 个,扩增位点数变化范围为 37 ~ 58 个,平均每对引物的多态性位点为 42.9 个,变化范围为 30 ~ 51 个,多态性比率 (PPB) 平均为 86.8,不同引物 PCR 扩增产物的多态性比率变化范围为 75.5 ~ 95.9,Shannon's 多样性指数在 0.297 ~ 0.455 之间,平均为 0.375,有效等位基因介于 1.30 ~ 1.50 之间(表 3)。表明供试二化螟间 AFLP 变异大,多态性高,存在丰富的遗传多样性。

表 3 二化螟种群 AFLP 标记的多态性
Table 3 Amplification results from different pairs of primers

引物对 Primer pair	总位点数 Total number	多态性位点数 The number of polymorphic loci	PPB (%)				
				na	ne	h	i
P-ATC - T-ATC	37	30	81.1	1.81	1.30	0.186	0.297
P-ATC - T-ACC	43	37	86.1	1.86	1.46	0.267	0.405
P-ATC - T-CAG	49	47	95.9	1.96	1.50	0.299	0.455
P-AGC - T-ATC	51	47	92.2	1.92	1.41	0.255	0.398
P-AGC - T-ACC	55	51	92.7	1.93	1.41	0.244	0.378
P-AGC - T-CAG	50	42	84.0	1.84	1.36	0.220	0.343
P-ACG - T-ATC	58	50	86.2	1.86	1.39	0.242	0.376
P-ACG - T-ACC	49	37	75.5	1.76	1.32	0.194	0.299
P-ACG - T-CAG	53	45	84.9	1.85	1.45	0.269	0.409
总和 Total	445	386					
平均 Average	49.4	42.9	86.8	1.87	1.40	0.243	0.375
标准差 SD				0.340	0.347	0.178	0.243

注:PPB 为多态性比率,na 为观察等位基因数,ne 为有效等位基因数,h 为 Nei's 基因多样性,i 为 Shannon 信息指数。
PPB: percentage of polymorphic bands; na: observed number of alleles; ne: effective number of alleles; h: Nei's (1973) gene diversity; i: Shannon's information index.

2.2 种群间的遗传分化

假设 Hardy-Weinberg 平衡,用 PopGen 32 软件对所有种群进行分析,根据 Nei’s 的总基因多样性(Ht)和种群内的基因多样性(Hs)估测种群间的分化系数(Gst)为 0.74,即在总的遗传变异中,有 74% 存在于种群之间,种群内变异占 26%。用 PopGen32 估测的种群间基因流为 0.176(表 4),表明种群之间只有很少的基因交流。

表 4 二化螟不同地理种群间的遗传分化动态
Table 4 Analysis of genetic differentiation among the geographical populations in *Chilo suppressalis*

	Ht	Hs	Gst	Nm
平均 Average	0.247	0.064	0.740	0.176
标准差 SD	0.0325	0.0046		

注:Ht 为种内基因多样性,Hs 是种群内基因多样性,Gst 是种群间遗传分化系数,Nm 是基因流。
Ht: total gene diversity; Hs: gene diversity within a population; Gst: coefficient of gene differentiation between populations; Nm: estimate of gene flow from Gst.

2.3 种群间遗传距离

为明确各地理种群间的关系,利用 POPGENE 软件计算出各种群间的 Nei 氏遗传一致度和遗传距离的无偏估计值(表 5)。13 个地理种群间的遗

传一致度总体较高,遗传相似系数(Gs 值)均大于 0.67;最高为 0.911,存在于浙江鄞县种群(YX)与福建闽侯种群(MH)之间;其次为 0.88~0.90,存在于四川德阳(DY)、湖北荆州(JZ)和湖南邵阳(SY)3 个种群之间;而最低为 0.6715,存在于安徽和县种群(HX)与江苏阜宁种群(FNing)之间,且和县种群与其他所有测试种群间的遗传一致度均偏低(0.672~0.751),为遗传上相对孤立种群。

利用 phylip 软件进行聚类分析,则 13 个地理生态类群可区分为 4 支:德阳、邵阳、荆州种群聚为一支,其种群间遗传一致度为 0.880~0.894;闽侯、鄞县种群聚为一支,遗传一致度为 0.846~0.911;赣榆(GY)、阜南(FN)、阜宁种群聚为一支,其种群间遗传一致度较低,为 0.762~0.819;而江津(JJ)、赣县(GX)、公主岭(GZL)与县种群依次聚为另一个较松散的分支,其中 JJ、GX、GZL 3 个种群间遗传一致度较高,为 0.843~0.869,而 HX 与这 3 个种群的遗传一致度仅为 0.724~0.751,在测试的 13 个种群中实际上是一个遗传上相对孤立种群(图 1)。显然,种群间遗传距离的聚类结果与各种群所处的地理生态环境或季节一致性、以及相对距离有关,特别是前三类种群分别具有较一致的地理气候特征或相对较近的距离。

表 5 二化螟各种群间 Nei 氏遗传一致度和遗传距离的无偏估计值
Table 5 Nei’s unbiased measures of genetic identity and genetic distance between the thirteen geographical populations in *Chilo suppressalis*

	DY	JZ	SY	GX	JJ	GZL	FN	YS	YX	MH	GY	HX	FNing
DY	****	0.880	0.881	0.809	0.802	0.772	0.786	0.802	0.830	0.820	0.816	0.730	0.767
JZ	0.128	****	0.894	0.814	0.799	0.786	0.784	0.826	0.812	0.842	0.804	0.751	0.768
SY	0.127	0.112	****	0.828	0.789	0.774	0.780	0.822	0.821	0.853	0.770	0.731	0.769
GX	0.212	0.206	0.188	****	0.847	0.869	0.780	0.817	0.823	0.806	0.753	0.751	0.776
JJ	0.220	0.224	0.237	0.166	****	0.843	0.776	0.795	0.791	0.797	0.759	0.723	0.752
GZL	0.259	0.241	0.256	0.140	0.171	****	0.754	0.789	0.780	0.764	0.729	0.724	0.734
FN	0.241	0.243	0.249	0.249	0.254	0.282	****	0.800	0.814	0.799	0.819	0.718	0.762
YS	0.221	0.191	0.196	0.202	0.229	0.237	0.223	****	0.855	0.846	0.787	0.729	0.764
YX	0.187	0.208	0.197	0.195	0.235	0.248	0.206	0.156	****	0.911	0.787	0.711	0.767
MH	0.198	0.172	0.159	0.215	0.227	0.270	0.224	0.168	0.093	****	0.765	0.719	0.765
GY	0.203	0.218	0.261	0.284	0.275	0.316	0.200	0.240	0.240	0.268	****	0.717	0.784
HX	0.315	0.287	0.314	0.286	0.325	0.323	0.331	0.316	0.341	0.330	0.333	****	0.672
FNing	0.266	0.264	0.263	0.253	0.286	0.309	0.271	0.269	0.266	0.268	0.243	0.398	****

注:Nei 氏遗传一致度(对角线上方)和遗传距离(对角线下方)。采集地点代码同表 1。
Nei’s genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal). Code of collection site is same with Table 1.

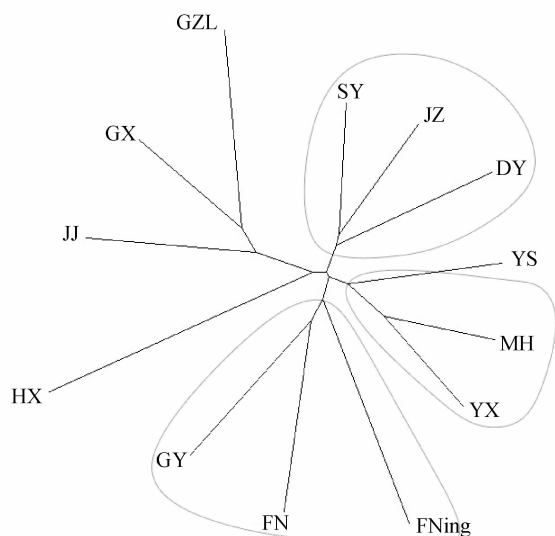


图 1 基于 AFLP 标记的 Nei 氏标准遗传距离构建的 13 种群距离邻接一致树

Fig. 1 Consensus tree based on Nei's standard genetic distances of 13 *Chilo suppressalis* populations derived from DNA AFLP

注:采集地点代码同表 1。

Code of collection site is same with Table 1.

3 讨论

种群间的遗传多样性是生物多样性的主要表现形式之一,AFLP 技术广泛应用于遗传连锁图谱的构建、亲缘关系和遗传多样性研究、种质资源鉴定、分子标记辅助选择育种、基因表达和基因克隆等领域(郭雄明等,2006;张振文等,2010)。研究表明,AFLP 是研究遗传多样性非常可靠、有效的分子标记技术(Aitken *et al.*, 2006; Selvi *et al.*, 2006; 闫龙等,2007; 徐爱遐等,2008)。Herrera 等(2011)基于 AFLP 技术分析西班牙东南部 91 种存在于花蜜中的酵母 *Metschnikowia gruessii*,发现其遗传多样性很高,多态性达 91%,从而有效的推测其自然种群中的遗传分化和地理差异。Rajkumar 等(2011)通过 AFLP 技术对印度喜马拉雅山地区蜘蛛香分析,揭示其种群间遗传多样性达 93%,而种群内遗传多样性只有 7%。

薛进等(2007)利用 RAPD 分析中国二化螟 5 个地理种群,初步推断各地理种群之间的基因遗传差异与纬度跨度呈正相关,而经度跨度对其没有必然影响。这与 Meng 等(2008)基于微卫星标

记和线粒体基因序列把二化螟划分为华中、西南、华北和东北分支不太吻合。本研究采用兼有高度多态性和稳定性的 AFLP 标记技术,对二化螟个体全基因组 DNA 进行遗传多态性分析,结果表明不同地理种群间存在明显的遗传分化。聚类结果进一步显示,四川德阳、湖南邵阳和湖北荆州种群,以及福建闽侯、浙江鄞县种群分别聚为荆湘川分支和东南山区分支,其分支内种群的遗传一致度均较高。其中广西阳朔种群与闽侯、鄞县种群相对距离较远,但聚类时归为一类,主要可能存在以下两种原因:一、阳朔种群和东南山区分支分别处于南岭与武夷山脉的丘陵地区,该地区气候特征相似,从而使它们具有相近的遗传背景、遗传分化相对较小,但应在福建闽侯和广西阳朔之间增加更多的取样点来验证此推断;二、它们之间是有遗传差异的,但是本研究使用的 3 对引物不足以对它们的遗传背景进行区分,今后应增加引物对它们的遗传差异进行详细分析;赣榆、阜南、阜宁种群聚类为淮北平原分支,但该分支种群间遗传一致度较低。这 3 个分支内种群分别具有相似的地理气候特征或季节特征及较近的距离,从而有利于种群间基因交流。但重庆江津种群并未与四川德阳种群聚类为一支,这与 Meng 等(2008)的西南分支划分不同,而他并没有对重庆稻区采样分析。江津和德阳分别位于四川盆地东西边缘的“盆壁”地区,可能由于地理气候因素如三峡山地和季节差异而造成两地二化螟种群间某种时空障碍。而江津种群与江西赣县、吉林公主岭种群的遗传一致度较高(0.843 ~ 0.869),其中公主岭种群是本研究唯一测试的东北种群,与其他两种群地理距离甚远,但种群间遗传一致度明显较高,具体原因不明,有待进一步分析及增加邻近取样点予以验证;公主岭种群与其他 10 个测试种群的遗传一致度则明显较低(0.724 ~ 0.789)。

安徽和县种群与其他测试种群的遗传一致度普遍较低(0.672 ~ 0.751),表明其遗传上相对孤立,显然,这种孤立种群的聚类结果具有随机性,通常与遗传一致度相对较高的其他种群聚类为较松散的分支。因此,必须增加和县邻近种群的取样点而将其归入可信的区划分支。

为分析不同地理种群的遗传多态性差异并据此作区划聚类分析,种群取样点应尽可能多、且分布较均匀,并充分考虑不同地理环境的取样代表

性。对于聚类结果中相对孤立的种群, 进一步增加其邻近取样点, 从而更准确地分析与建立中国二化螟地理种群发生区划。

参考文献 (References)

- Aitken KS, Li JC, Jackson P, Piperidis G, McIntyre CL, 2006. AFLP analysis of genetic diversity within *Saccharum officinarum* and comparison with sugarcane cultivars. *Aust. J. Agr. Res.*, 57(11):1167–1184.
- Herrera CM, Pozo MI, Bazaqa P, 2011. Clonality, genetic diversity and support for the diversifying selection hypothesis in natural populations of a flower-living yeast. *Mol. Ecol.*, 20(21):4395–4407.
- Li XT, Huang QC, Tang ZH, 2006. An review on the development of resistant mechanism in *Chilo suppressalis*. *World Pestic.*, 28:17–20.
- Li XT, Huang QC, Yuan JZ, Tang ZH, 2007. Fipronil resistance mechanisms in the rice stem borer, *Chilo suppressalis* Walker. *Pestic. Biochem. Phys.*, 89(3):169–174.
- Meng XF, Shi M, Chen XX, 2008. Population genetic structure of *Chilo suppressalis* (Walker) (Lepidoptera: Crambidae): strong subdivision in China inferred from microsatellite markers and mtDNA gene sequences. *Mol. Ecol.*, 17(12):2880–2897.
- Nei M, Li WH, 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *PNAS*, 76(10):5269–5273.
- Rajkumar S, Singh SK, Nag A, Ahuja PS, 2011. Genetic structure of Indian valerian (*Valeriana jatamansi*) populations in western himalaya revealed by AFLP. *Biochem. Genet.*, 49(9/10):674–681.
- Selvi A, Nair NV, Noyer JI, Singh NK, Balasundaram N, Bansal KC, Koundal KR, Mohapatra T, 2006. AFLP analysis of the phenetic organization and genetic diversity in the sugarcane complex, *Saccharum* and *Erianthus*. *Genet. Resour. Crop Evolution*, 53(4):831–842.
- Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, Lee T, Hornes M, Friters A, Pot J, Paleman J, Kuiper M, Zabeau M, 1995. AFLP; a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic. Acids Res.*, 23(21):4407–4414.
- 郭雄明, 薛霞, 陈华, 2006. AFLP 分子标记技术的研究进展. 中国比较医学杂志, 16(6):369–372.
- 林伟, 刘玉娣, 侯茂林, 黎家文, 2007. 不同地理种群二化螟滞育和解除滞育幼虫的抗逆性酶活性比较. 植物保护, 33(5):84–87.
- 阮雪莲, 2006. 二化螟不同类群之间的关系及其 RAPD 的研究. 硕士学位论文. 武汉:华中农业大学.
- 徐爱遐, 马朝芝, 肖恩时, 权景春, 马长珍, 田广文, 涂金星, 傅廷栋, 张改生, 2008. 我国西部地区荠菜的遗传多样性研究. 作物学报, 34(5):754–763.
- 薛进, 苏建伟, 黎家文, 陈秋芳, 2007. 中国水稻二化螟 5 个地理种群遗传差异的 RAPD 分析. 湖南农业大学学报, 33(2):160–163.
- 闫龙, 关建平, 宗绪晓, 2007. 小豆种质资源 AFLP 标记遗传多样性分析. 作物学报, 33(5):790–798.
- 杨璞, 2008. 稻水象甲地理型孤雌生殖形成对机理研究. 博士学位论文. 杭州:浙江大学.
- 张振文, 姚庆群, 许瑞丽, 李开绵, 2010. 我国主要木薯品种 AFLP 多态性分析. 西南农业学报, 23(5):1606–1609.