

文章编号: 1004 - 7271(2008)01 - 0022 - 06

## 3 个奥利亚罗非鱼群体遗传多样性的 RAPD 分析和 SCAR 标记的转化

高风英<sup>1</sup>, 叶 星<sup>1</sup>, 卢迈新<sup>1</sup>, 黄樟翰<sup>1</sup>, 张 庭<sup>1,2</sup>

(1. 中国水产科学研究院珠江水产研究所, 广东 广州 510380;

2. 广东海洋大学水产学院, 广东 湛江 524025)

**摘 要:**应用 RAPD 技术对 3 个奥利亚罗非鱼 (*Oreochromis aureus*) 群体(奥利亚罗非鱼 83 系、新引进的红色奥利亚罗非鱼与奥利亚罗非鱼 02 系)进行遗传多样性分析。根据扩增结果统计获得群体内和群体间的遗传距离:奥利亚罗非鱼 83 系、红色奥利亚罗非鱼、奥利亚罗非鱼 02 系群体内的遗传距离分别为 0.021 0, 0.090 3 和 0.014 9;群体间的遗传距离以奥利亚罗非鱼 83 系与红色奥利亚罗非鱼群体间的最大,为 0.135 1,奥利亚罗非鱼 83 系与奥利亚罗非鱼 02 系的遗传距离最小,为 0.061 0,红色奥利亚罗非鱼与奥利亚罗非鱼 02 系群体间的遗传距离为 0.121 8。利用 MEGA3.1 软件进行聚类分析,奥利亚罗非鱼 83 系与奥利亚罗非鱼 02 系首先聚为一支,然后再与红色奥利亚罗非鱼聚为一支。3 个奥利亚罗非鱼群体总的 Shannon 多样性指数为:0.234 0,总的 Nei 基因多样性指数为 0.152 7,3 个群体的遗传分化指数 ( $G_{st}$ ) 为 0.507 1。上述结果说明这 3 个群体的群体内遗传变异较小,但群体间存在一定程度的遗传变异和遗传分化。对 RAPD 分析中所获得的 6 条特异带进行 SCAR 转化。S97<sub>800</sub> 和 S469<sub>1400</sub> 两个特异片段成功转化为 SCAR 标记。这些标记可作为鉴别 3 个奥利亚罗非鱼群体的遗传标记,并将为今后的选择育种提供分子标记。

**关键词:**奥利亚罗非鱼;遗传多样性;随机扩增多态 DNA;SCAR 标记

中图分类号:S 917 文献标识码:A

## RAPD analysis and SCAR transformation of three populations of *Oreochromis aureus*

GAO Feng-ying<sup>1</sup>, YE Xing<sup>1</sup>, LU Mai-xin<sup>1</sup>, HUANG Zhang-han<sup>1</sup>, ZHANG Ting<sup>1,2</sup>

(1. Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510380, China;

2. Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524025, China)

**Abstract:** Using RAPD technique, the genetic diversity of 3 populations of *Oreochromis aureus* (*O. aureus*, red *O. aureus* and blue *O. aureus*) was analyzed. The genetic distances of intrapopulation for *O. aureus*, red *O. aureus* and blue *O. aureus* were 0.021, 0.090, and 0.014 9. The genetic distances of interpopulation were 0.135 1, 0.060 7 and 0.121 8. The maximum occurred between red *O. aureus* and *O. aureus*, the minimum did between *O. aureus* and blue *O. aureus*. Clustering analysis with the methods of UPGMA and NJ in MEGA3.1 on the basis of genetic distances, the results showed the populations of *O. aureus* and blue *O. aureus*

收稿日期:2007-03-27

基金项目:国家科技支撑计划(2006BAD01A1201);广东省农业科技重大专项(2003A2010501);广东省重大科技兴渔项目(A200501B03, A200601B03);广东省农业攻关项目(2004A20105001);广东省农业攻关项目(2006B20201057)

作者简介:高风英(1976-),女,山东昌乐人,硕士,主要从事水产生物技术方面的研究。E-mail:fengyinggao2002@yahoo.com.cn

通讯作者:卢迈新, E-mail:mx-lu@163.com

assembled one branch first, then did red *O. aureus*. The results also showed that the 3 populations of *O. aureus* had a total Nei's value of 0.152 7 for gene diversity and the Shannon's information index of 0.234 0. The gene differentiation coefficient (*Gst*) is 0.507 1. There was a relatively low genetic diversity intrapopulation, but there was genetic differentiation of a certain degree among the 3 populations. On 6 population-specific RAPD bands SCAR transformation was performed. The results showed that the two specific bands S97<sub>800</sub> and S469<sub>1400</sub> were transformed into SCAR markers successfully. They could be used as specific marker for population identification, and will likely benefit future selective breeding programs as reliable and reproducible molecular markers.

**Key words:** *Oreochromis aureus*; genetic diversity; RAPD; SCAR marker

随机扩增多态性 DNA (random amplified polymorphic DNA, RAPD) 是建立在 PCR 基础上的检测 DNA 序列多态性和建立分子遗传标记的技术, 由于具有灵敏、快捷、简便、费用少等特点, 自 1990 年 Williams<sup>[1]</sup> 提出以来, 在动植物与微生物种属鉴定、亲缘关系划分、多态性分析以及遗传图谱的构建中得到广泛应用。SCAR (sequence characterized amplified regions) 标记一般是由 RFLP、RAPD、AFLP 等分子标记转化而来, 是一种稳定的分子标记, 在应用上具有快速、简便等特点, 适合样品的大量分析, 已应用在水产动物种质的鉴别研究上<sup>[2-4]</sup>。罗非鱼是联合国向全世界推广养殖的鱼类。目前在我国的养殖对象主要是奥尼鱼 (尼罗罗非鱼 ♀ × 奥利亚罗非鱼 ♂ 的杂交子一代), 该杂交子代具有生长快、雄性率高的优点。本研究利用 RAPD 技术, 对本所最近从国外引进的红色和蓝色 2 种体色表型的奥利亚罗非鱼, 以及原引进的奥利亚罗非鱼 83 系群体进行遗传多样性、群体间的遗传距离分析, 并将获得的 RAPD 标记转化为 SCAR 标记, 以区分这 3 个群体, 为奥利亚罗非鱼的选育提供简便稳定的分子标记, 并为获得优质尼奥杂交子一代奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

实验用奥利亚罗非鱼 (*Oreochromis aureus*) 均取自本所科研基地高要水产科技园, 新引进的体色表型为红色的奥利亚罗非鱼 (简称: 红奥) 取 40 尾, 蓝色表型的奥利亚罗非鱼 02 系 (简称: 蓝奥) 取 50 尾, 原引进奥利亚罗非鱼 83 系 (简称: 国奥) 取 66 尾。从上述三个群体中各随机抽取 20 尾进行 RAPD 分析。随机引物为 10bp 碱基引物, 共 85 条, 购自上海生物工程公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 基因组 DNA 的提取

采用 ACD 抗凝剂<sup>[5]</sup>, 实验鱼尾静脉活体取血, 按天为时代基因组提取试剂盒说明书所述方法提取其基因组 DNA, 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量和浓度, 并保存于 -20 °C 备用。

#### 1.2.2 RAPD-PCR 反应

采用经过优化的反应体系和条件, PCR 反应在 PTC-200 PCR 仪上进行。反应总体积 20 μL, 其中 10 × PCR buffer 2.0 μL, MgCl<sub>2</sub> (25 mmol/L) 1.6 μL, dNTP (10 mmol/L) 0.6 μL (上海生物工程公司), Taq DNA 聚合酶 (5U/μL) 0.3 μL (华美生物工程公司), 引物 (20 μmol/L) 0.8 μL, 模板 DNA 0.3 μL (40 ~ 100 ng/μL), 灭菌 ddH<sub>2</sub>O 14.4 μL。反应条件: 94 °C 预变性 2 min, 进入循环: 94 °C 变性 50 s, 36 °C 退火 50 s, 72 °C 延伸 1 min, 40 个循环后, 72 °C 延伸 7 min。将扩增产物在 1.5% 的 TAE 琼脂糖凝胶中电泳分离, 凝胶分析仪 (UV525-220K) 观察并拍照。

#### 1.2.3 数据分析

使用 RAPD1.04 软件分析群体内和群体间的遗传相似度和遗传距离<sup>[6-7]</sup>。依据遗传距离数据, 用 MEGA3.1 软件的 UPGMA 程序和 NJ 程序进行聚类分析。采用 Popgen3.2 软件统计各群的 Nei 基因多

样性指数( $h$ )、Shannon 多样性指数( $I$ )、群体平均杂合度( $H$ )和遗传分化指数( $Gst$ )。

### 1.2.4 RAPD 产物的克隆

利用 DNA 快速回收试剂盒(天为时代公司产品)从琼脂糖凝胶中回收 RAPD 特异片段,连接到克隆载体 pMD19 Vector(TAKARA 公司),并转化到大肠杆菌(*E. coli*) DH5 $\alpha$  菌株,测序由上海博亚公司完成。

### 1.2.5 SCAR 分析

根据特异带的序列结果设计包含原随机引物 10 bp 的总长 20~24 bp 的正、反向引物,先从每群体中抽取 10 个个体进行 PCR 反应条件优化,然后在三群体全部样品共 156 个个体中进行验证。将 MgCL<sub>2</sub> 浓度调整为 1.0 mmol/L,退火温度调整为 59 °C~65 °C,30 个循环,其他参数条件同上述 RAPD 分析。

## 2 结果

### 2.1 RAPD 扩增结果

在 85 条引物中筛选出 17 条扩增结果稳定、重复性佳的引物,对国奥、红奥和蓝奥进行 RAPD 分析。17 条引物产生的总标记数为 164 个,平均每条引物产生 9.64 个。标记的大小集中在 200~3 000 bp,多态性标记为 82 个,如果把每个标记作一位点计,则多态性位点占总位点的比例为 50%。17 条引物在 3 个群体中获得 6 条特异带。其中,S72<sub>1600</sub>,S469<sub>1400</sub>为国奥和蓝奥两群体共有,S81<sub>1200</sub>,S469<sub>800</sub>,S73<sub>1600</sub>,S97<sub>800</sub>为红奥群体特有。引物 S72 和 S469 扩增结果见图 1,图 2。

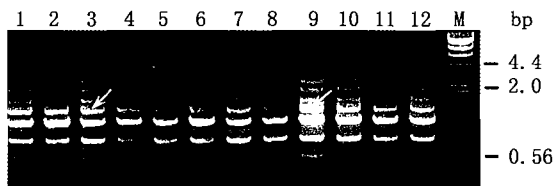


图 1 引物 S72 的扩增结果

Fig. 1 The amplification results of primer S72

M: Marker; 1-4: 国奥; 5-8: 红奥; 9-12: 蓝奥(箭头所指为特异带)

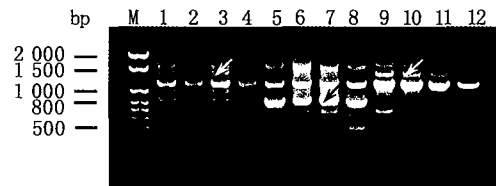


图 2 引物 S469 的扩增结果

Fig. 2 The amplification results of primer S469

M: Marker; 1-4: 国奥; 5-8: 红奥; 9-12: 蓝奥(箭头所指为特异带)

### 2.2 遗传多样性与聚类分析

3 个奥利亚罗非鱼群体内的遗传距离以红奥最大(0.090 0),国奥次之(0.021 0),蓝奥最小(0.014 9);群体间的遗传距离为红奥与国奥最大(0.135 1),红奥与蓝奥次之(0.121 8),国奥与蓝奥最小(0.061 0)(表 1)。可见 3 个群体的群体内遗传变异较小;红奥与蓝奥、国奥群体间的遗传差异较大,国奥与蓝奥间遗传差异较小。

表 1 3 个奥利亚罗非鱼群体内、群体间的遗传相似性及群体间遗传距离

Tab. 1 Inter- and intra-population genetic similarities and interpopulation genetic distances of three populations of *O. aureus*

遗传相似度和遗传距离	国奥	红奥	蓝奥
国奥 <i>O. aureus</i>	0.979 0	0.864 9	0.939 0
红奥 <i>red O. aureus</i>	0.135 1	0.910 0	0.878 2
蓝奥 <i>blue O. aureus</i>	0.061 0	0.121 8	0.985 1

注:数字矩阵中对角线为群体内的相似性,其右上方为群体间的遗传相似性,左下方为群体间的遗传距离

应用 MEGA3.1 中的 UPCMA 程序和 NJ 程序分别进行聚类分析,两种方法获得的结果一致(图 3 A 和 B):国奥与蓝奥群体首先聚为一支,然后再与红奥群体聚为一支。

3个奥利亚罗非鱼群体的 Nei 基因多样性指数 ( $H$ ) 值和 Shannon 多样性指数值 ( $I$ ) 均以红奥最大, 国奥次之, 蓝奥最小(表 2)。将 3 个不同来源的奥利亚罗非鱼看作一个总群体, 计算得总群体的基因多样性( $H_T$ ) 为 0.152 7, 3 个群体的群体内基因多样性平均值( $H_s$ ) 为 0.075 2。据此可计算得到 3 个奥利亚罗非鱼群体的遗传分化指数  $G_{st} = 0.507 1$ , 即有 50.71% 的遗传变异来自于群体间。

### 2.3 SCAR 标记的建立与验证

将上述 RAPD 产生的 6 条特异带 S72<sub>1600</sub>, S469<sub>1400</sub>, S81<sub>1200</sub>, S469<sub>800</sub>, S73<sub>1600</sub>, S97<sub>800</sub> 回收, 并克隆、测序。其中片段 S469<sub>1400</sub> 和 S97<sub>800</sub> 已登录于 GenBank, 其序列号分别为 DQ863103, DQ863104。根据序列结果设计包含原随机引物 10 bp 的总长 20~24 bp 的正、反向引物(表 3), 用上述引物先在各群体的 10 个个体中进行扩增和反应条件优化。其中, S469<sub>1400</sub> 在国奥和蓝奥中出现, 红奥中未出现此扩增带; S97<sub>800</sub> 仅在红奥中出现, 在国奥、蓝奥中未出现此扩增带(图 4, 图 5)。其他引物在 3 群体中未出现扩增结果的差异。

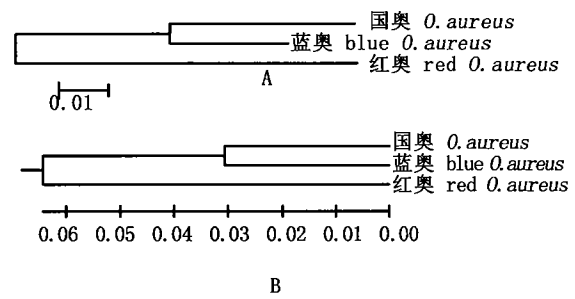


图 3 3 个奥利亚罗非鱼群体的聚类分析  
Fig. 3 Dendrogram of the three *O. aureus* populations

表 2 3 个奥利亚罗非鱼群体的基因多样性指数  
Tab. 2 Gene variety in each population of *O. aureus*

	Nei 遗传多样性指数 ( $H$ )	Shannon 信息指数 ( $I$ )
国奥	0.036 6	0.054 3
红奥	0.165 6	0.241 9
蓝奥	0.023 5	0.035 9
总群体	0.152 7	0.234 0

表 3 SCAR 标记的引物序列、退火温度及扩增片段大小

Tab. 3 Primer sequence, annealing temperature and the size of PCR band of SCAR marker

RAPD 引物	RAPD 标记带	SCAR 引物序列	退火温度	扩增片段 (bp)	SCAR 标记
S97	800 bp	5' -acgaccgacagcagagaggatg-3'	65 °C	790	S97 <sub>800</sub>
		5' -acgaccgacacttctatgggcc-3'			
S469	1400 bp	5' -gtggtccgacatgatgataattg-3'	62 °C	1423	S469 <sub>1400</sub>
		5' -gtggtccgacagattatggcgaaa-3'			
S469	800 bp	5' -gtggtccgaggaagccgaac-3'	59 °C	845	S469 <sub>800</sub>
		5' -gtggtccgcactttcgacce-3'			
S72	1600 bp	5' -tgtcatcccccttgcttcaattta-3'	61 °C	1550	S72 <sub>1600</sub>
		5' -tgtcatccccaatcagaggttta-3'			
S73	1600 bp	5' -aagcctcgtctctcatccggtta-3'	62 °C	1643	S73 <sub>1600</sub>
		5' -aagcctcgtcaccatcacaagt-3'			
S81	1200 bp	5' -ctacggaggagaaaaaataatc-3'	60 °C	1122	S81 <sub>1200</sub>
		5' -ctacggaggatcggttgtgtgat-3'			

应用 S469<sub>1400</sub> 和 S97<sub>800</sub> 两标记的特异引物, 在 3 个群体共 156 个样品中进行大样本验证。S97<sub>800</sub> 为红奥群体所特有, 40 个个体中出现该标记的频率为 70% (28/40), 而在国奥和蓝奥出现该标记的频率分别仅为 7.5% (5/66) 和 0% (0/50); S469<sub>1400</sub> 为国奥和蓝奥群体所特有, 国奥中出现该标记的频率为 95.5% (63/66), 蓝奥中出现该标记的频率为 94.0% (47/50), 在红奥个体中出现该标记的频率仅为 20% (8/40)。

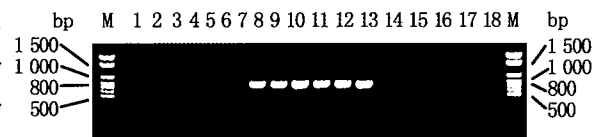
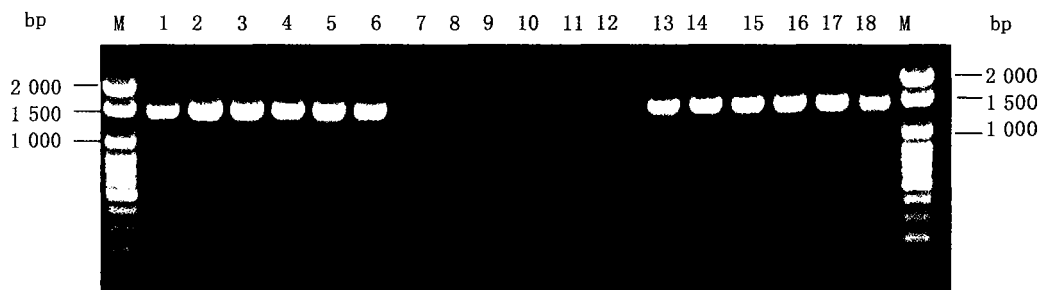


图 4 S97<sub>800</sub> 片段的 SCAR 转化带  
Fig. 4 SCAR band from S97<sub>800</sub> marker

M: Marker; 1-6: 国奥; 7-12: 红奥; 13-18: 蓝奥

图5 S469<sub>1400</sub>片段的 SCAR 转化带Fig. 5 SCAR band from S469<sub>1400</sub> marker

M: Marker; 1-6: 国奥; 7-12: 红奥; 13-18: 蓝奥

### 3 讨论

#### 3.1 3 个不同来源奥利亚罗非鱼的遗传多样性

RAPD 用于鱼类群体遗传多样性的研究已有较多报道<sup>[8-13]</sup>。多态位点数的多少,即遗传相似度的高低或 Shannon 多样性指数的大小反映了群体的遗传多样性的高低。本实验检测到国奥和蓝奥具有较高的遗传相似度,为 0.979 0 和 0.985 1,红奥的遗传相似度相对较低,为 0.910 0。夏德全等应用 RAPD 技术分析罗非鱼的遗传变异,发现其中的奥利亚罗非鱼(83 系)的遗传变异甚小,遗传相似度为 0.950。认为奥利亚罗非鱼是美国最先从以色列引进的,当时仅存活一雌三雄,已经意味着大量遗传变异的失去。1983 年从美国引进时经历了第二次瓶颈效应,使得奥利亚罗非鱼的遗传变异再一次丢失<sup>[9]</sup>。运用线粒体<sup>[14]</sup>,RAPD<sup>[15]</sup>等遗传标记对奥利亚罗非鱼遗传变异研究也表明其遗传变异较小。本实验检测到国奥群体的遗传多样性较低,这可能是由于本实验中的国奥群体是从奥利亚(83 系)引进的,在本单位又经过了数年的选育,遗传纯度更高。蓝奥群体在引进之前就已经是选育群体,所以遗传纯度较高。

Shannon 多样性指数是群体遗传学中根据基因频率、基因型频率来计算群体多样性的方法,该指数可用于评价群体的表型多样性。本实验检测到国奥、蓝奥群体的 Shannon 多样性指数为 0.036 6、0.023 5,红奥群体的 Shannon 多样性指数为 0.234 0,说明红奥群体遗传多样性较另两种罗非鱼丰富。

遗传分化指数是指利用基因多样性水平在群体内和群体间的分布来估测群体的遗传分化程度的方法,群体间的遗传分化指数越大表明群体间分化越明显,群体间的遗传差异也就越大。可以用 Shannon 指数来计算,也可以用 Nei 基因多样性指数来计算,二者的结果是一致的<sup>[8,11-12]</sup>。本实验分析得到 3 个奥利亚罗非鱼群体的遗传分化指数  $G_{st} = 0.507 1$ ,即有 50.71% 的变异来自于群体间,表明 3 个群体间具有较大程度的遗传变异。Shaklee 等<sup>[16]</sup>综合已发表的、基于蛋白电泳的研究结果,提出鱼类在属、种和种群三级水平上的遗传距离 D 值分别为 0.9,0.30 及 0.05 的分类判据。本实验统计结果表明,3 个奥利亚罗非鱼群体间的遗传平均距离为 0.05~0.15 之间,表明它们之间的遗传分化达到了种群的分化标准,但没有达到种或亚种的标准,说明红色奥利亚罗非鱼与蓝色奥利亚罗非鱼均属于奥利亚罗非鱼的不同种群。但此标准是根据同工酶分析建立,是否可应用于 RAPD 分析结果尚需进一步的分析。

#### 3.2 SCAR 标记的应用

SCAR 标记在植物的种质鉴定、与特殊经济性状或特殊基因的连锁分析等方面的研究应用较多<sup>[17-19]</sup>,在水产动物种质鉴别方面的研究也有报道<sup>[2-4]</sup>。Zhou 等<sup>[2]</sup>对 5 个雌核发育系银鲫的 SCAR 标记进行了研究,找到了可区分不同雌核发育系的 5 个 SCAR 标记。邹曙明等<sup>[3]</sup>将团头鲂“浦江 1 号”的一个 RAPD 标记转化为 SCAR 标记,该标记在团头鲂“浦江 1 号”养殖群体的分布频率高达 91.1%,而在淤泥湖原种群体中的分布频率仅为 14.3%。Bardakci 等依据特异带 OPA13590 设计的特异引物,在罗非鱼种间产生不同长度的扩增产物,在种内则无多态性出现<sup>[4]</sup>。本研究获得 2 个 SCAR 标记,其中

标记 S469<sub>1400</sub> 在国奥和蓝奥中的分布频率较高(95.5%,94%);而红奥特有的标记 S97<sub>800</sub> 在蓝奥和国奥中的分布频率极低(7.5%和0%),说明本实验中的两个标记得到成功转化,此 2 个标记可用于区分 3 个不同奥利亚罗非鱼群体,可应用于奥利亚罗非鱼的育种实践中。

### 参考文献:

- [1] Williams J G, Kubelik A R, Livak K J, *et al.* DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers[J]. *Nucleic Acids Res*, 1990, 18: 6531 - 6535.
- [2] Li Zhou, Yang Wang, Jian-Fang Gui. Molecular analysis of silver crucian carp (*Carassius auratus gibelio* Bloch) clones by SCAR markers [J]. *Aquaculture*, 2001, 201: 219 - 228.
- [3] 邹曙明, 李思发, 蔡完其. 团头鲂“浦江 1 号”一个 RAPD 标记的 SCAR 转化[J]. *水产学报*, 2005, 29(3): 296 - 299.
- [4] Bardakci F, Skibinski D O. A polymorphic SCAR-RAPD marker between species of tilapia (*Pisces: Cichlidae*) [J]. *Animal Genetics*, 1999, 30(1): 78.
- [5] 卢圣栋. 现代分子生物学实验技术(第二版)[M]. 北京: 中国协和医科大学出版社, 1999: 103.
- [6] Bardakci F, Skibinski D O. Application of the RAPD technique in tilapia fish; species and subspecies identification [J]. *Heredity*, 1994, 73: 117 - 123.
- [7] Lynch M. The similarity index and DNA fingerprinting [J]. *Mol Biol Evol*, 1990, 7: 478 - 484.
- [8] 张春霖, 陈大庆, 史健全, 等. 青海湖裸鲤繁殖群体遗传多样性的 RAPD 分析[J]. *水产学报*, 2005, 29(3): 307 - 312.
- [9] 夏德全, 曹莹, 吴婷婷, 等. 用 RAPD 分析对罗非鱼遗传变异的研究及其对杂交优势的应用[J]. *水产学报*, 1999, 23(1): 27 - 32.
- [10] 夏德全, 曹莹, 杨弘, 等. 罗非鱼杂交 F1 代与亲本的遗传关系及其杂种优势的利用[J]. *中国水产科学*, 1999, 6(4): 29 - 32.
- [11] 王剑伟, 王伟, 崔迎松. 野生和近交稀有鮠鲫的遗传多样性[J]. *生物多样性*, 2000, 8(3): 241 - 247.
- [12] 尹绍武, 李建中, 周工健, 等. 黄鳝野生群体和养殖群体遗传结构的 RAPD 分析[J]. *应用与环境生物学报*, 2005, 11(3): 328 - 332.
- [13] 张四明, 邓怀, 晏勇, 等. 中华鲟随机扩增多态性 DNA 及遗传多样性研究[J]. *海洋与湖沼*, 2001, 31(1): 1 - 7.
- [14] 曹莹, 夏德全, 吴婷婷, 等. 尼罗非鲫和奥利亚非鲫线粒体 DNA 遗传差异的研究[J]. *水产学报*, 1997, 21(4): 360 - 365.
- [15] Wabih T Q, Li Z Z, Xia D Q. Analysis of the Gene Polymorphism of *O. aureus* and *O. niloticus* by Using RAPD [J]. *Developmental & Reproductive Biology*, 1999, 18(2): 19 - 24.
- [16] Shaklee J B, Tamaru C S, Waples R S. Speciation and evolution of marine fishes studied by electrophoresis analysis of proteins [J]. *Pac Sci*, 1982, 36: 141 - 157.
- [17] 王彬, 张超良, 翁曼丽, 等. 玉米自交系 8112 特异 SCAR 标记的获得[J]. *高技术通讯*, 1999, 3: 45 - 47.
- [18] 高惠敏. 桃 (*Prunus Persica* (L.) Batsch) 白肉基因(Y)和离核基因(F)的 SCAR 标记转化[D]. 保定: 河北农业大学, 2002.
- [19] 阎乃红, 陈静, 马欣荣, 等. 小麦抗禾谷类根线虫基因 Rkn-mnl 的 SCAR 标记[J]. *应用与环境生物学报*, 2003, 9(3): 250 - 253.