

毛细管多重电泳技术鉴定水稻种子纯度研究

范家萌, 王至严, 林慧慧, 周桂林, 王浩波

(合肥丰乐种业股份有限公司, 农作物种子新技术与新品种创制安徽省重点实验室, 安徽合肥 230088)

摘要 [目的]建立一种混合多个 PCR 产物的高效单色毛细管电泳技术。[方法]以杂交水稻丰两优 3305 和常规稻润稻 118 为试验材料, 结合品种指纹数据和 PCR 产物片段大小之间的差异, 筛选出适用于该品种纯度鉴定的 SSR 分子标记。通过单重和多重毛细管电泳结果比对, 验证多重电泳技术应用于 SSR 分子标记检测水稻纯度的实用性。[结果]片段差异 10 bp 及以上不同分子标记的 PCR 产物可以进行多重电泳。多重毛细管电泳技术既能降低检测成本, 又能提高试验效率, 可进一步提升毛细管电泳仪使用效能。[结论]该研究可为高效检测水稻种子纯度提供技术参考。

关键词 水稻; SSR 分子标记; 纯度鉴定; 多重电泳

中图分类号 S511 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2022)15-0090-05

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2022.15.024



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Preliminary Study on the Identification of Rice Seed Purity by Multiple Capillary Electrophoresis

FAN Jia-meng, WANG Zhi-yan, LIN Hui-hui et al (Hefei Fengle Seed Industry Co., Ltd., Key Laboratory of Anhui Province for New Techniques and Varieties of Crop Seeds, Hefei, Anhui 230088)

Abstract [Objective] To establish a high-efficiency single-color capillary electrophoresis technology for mixing multiple PCR products. [Method] The hybrid rice Fengliangyou 3305 and the conventional rice Rundao 118 were used as experimental materials, based on the difference between cultivar fingerprint data and PCR product fragment size, to screen the SSR molecular markers suitable for the purity identification of this variety. Comparison of singleplex and multiplex capillary electrophoresis results, to verify the practicability of multiplex electrophoresis technology applied to SSR molecular markers to detect the purity of rice. [Result] The results showed that PCR products with different molecular markers with a fragment difference of 10 bp or more can be multiplex electrophoresed. Multiple capillary electrophoresis technology can not only reduce the detection cost but also improve the experimental efficiency, it can further improve the performance of the capillary electrophoresis instrument. [Conclusion] The study can provide a technical reference for the efficient detection of rice seed purity.

Key words Rice; SSR molecular marker; Purity identification; Multiple electrophoresis

品种纯度是衡量种子质量的重要指标, 品种纯度鉴定包括田间鉴定和室内鉴定 2 种方法^[1]。田间鉴定是在作物生育期间, 结合检查病虫害杂草以及田间生育状况和倒伏情况对田间进行品种纯度检验, 耗时费力。室内纯度鉴定目前主要是 SSR 分子标记鉴定。SSR 分子标记技术是一种基于扩增 PCR 和微卫星定位的 DNA 特性的标记技术, 微卫星 DNA 的长度呈现高度变异, 但是其两侧的碱基序列高度保守, 因此可以根据保守序列, 设计引物对 DNA 进行 PCR 扩增, 通过扩增产物的长度多态性, 揭示不同的个体或品种间的遗传差异^[2]。该技术一直以高效、准确可靠、不受环境影响等优势而得到广泛应用。

分子标记鉴定的效率和成本主要取决于 PCR 产物电泳所用仪器及电泳方法^[3]。目前分子标记鉴定技术中电泳分析环节包括 3 种途径: ①聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PAGE); ② ZAG 单色毛细管电泳仪电泳; ③ DNA 分析仪的荧光电泳。其中 PAGE 操作复杂、分辨率不高、效率低; 在试验操作过程中会有试剂污染, 对实验员及实验室安全卫生都有不同程度的影响。DNA 分析仪的荧光电泳由于仪器和试剂价格昂贵, 运行成本高, 在商业化应用中受到极大限制^[4]。ZAG 单色毛细管电泳仪以进样量少、分析速度快、分离效率高、有机溶剂少、自动化程度高等特点被广泛应用于分子生物学、医药学、

高分子等领域, 但由于是单色荧光显色, 试剂耗材依靠厂家提供, 造成单重电泳的使用成本偏高^[5]。笔者拟采用混合不同片段大小的 PCR 产物进行多重电泳, 以提高试剂耗材的利用率, 进一步提升 ZAG 单色毛细管电泳仪的使用效能^[6]。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验品种。随机选用合肥丰乐种业股份有限公司 2021 年生产的杂交水稻品种丰两优 3305 与常规稻品种润稻 118。

1.1.2 试剂来源。PCR 反应所用 Buffer、DNTP 等试剂购于上海生工生物工程有限公司, 引物合成于安徽通用生物科技有限公司, Taq 酶购于艾科瑞生物科技有限公司, 试验耗材购于合肥舜田实验部。

1.1.3 主要仪器设备。T100 型梯度 PCR 仪, 美国伯乐 (Bio-Rad Laboratories, Inc.) 公司; Nanodrop 2000C 型核酸蛋白分析仪, 美国热电公司; ZAG-Z7576 毛细管电泳仪, Agilent 公司生产。

1.2 试验方法

1.2.1 DNA 快速提取及质量检测。每个品种随机取 96 株幼苗, 每株幼苗取 0.8 cm×0.8 cm 大小的样品, 放入 PCR 板中, 加入 0.25 mol/L NaOH 溶液 20 μL, 放进水浴锅中 99 °C 煮 2 min, 然后加入 0.25 mol/L Tris-HCl 溶液 30 μL 后冷却。用核酸蛋白分析仪检测 DNA 的浓度和质量, DNA 浓度在 15~50 ng/μL, DNA 质量 A_{260}/A_{280} 在 1.8~2.0。

1.2.2 PCR 反应体系及扩增程序。PCR 反应体系 (10 μL):

基金项目 合肥市关键技术“借转补”研发项目 (J2020G44); 农作物种子新技术与新品种创制安徽省重点实验室 (2017010205)。

作者简介 范家萌 (1989—), 女, 安徽宿州人, 助理农艺师, 硕士, 从事水稻分子标记辅助育种及检测工作。

收稿日期 2022-03-21; **修回日期** 2022-04-14

DNA 模板 2.0 μL , 上游引物 0.5 μL , 下游引物 0.5 μL , ddH₂O 4.5 μL , PCR Master Mix 2.5 μL 。PCR 扩增反应程序: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 4 min; 然后每个循环变性: 94 $^{\circ}\text{C}$ 15 s, 退火 55 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 延伸 72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s。循环次数 32 次, 72 $^{\circ}\text{C}$ 保温 10 min。

1.2.3 SSR 分子标记引物选择。根据 GB/T 39917—2021《主要农作物真实性和纯度 SSR 分子标记检测 稻》中推荐的 8 对候选引物^[7], 参照丰两优 3305 的指纹图谱, 找到丰两优 3305 双亲带型有差异的引物, 分别是 RM336、RM208、RM224、RM8277、RM19, 在 RM19 标记位点上的指纹是 245/251, 父母本差异偏小, 排除该标记位点, 用 RM224、RM8277、RM336、RM208 进行纯度鉴定并组合多重电泳。根据润稻 118 品种的 SSR 分子标记上的带型, 选择多态性较好且产物片段大小差异较大的 3 个引物 RM224、RM8277、RM19 进行 SSR 分子标记纯度鉴定(表 1)。

1.2.4 毛细管电泳。

1.2.4.1 普通单重毛细管电泳。将 96 孔 PCR 产物加 buffer 定容至 25 μL , 打开 ZAG 软件后, 选择样品托盘 Sample tray → 添加托盘 Add tray to queue → 选择跑胶模式(1 板费胶模式+8 板省胶模式) → 点击 Edit 更改电泳参数, 一般设置电压 4~5 kV, 室温高于 25 $^{\circ}\text{C}$ 时, 每板电泳时间在 50 min 左右, 温度越低, 电泳时间越长。更改参数后之后点击 OK, 在待电泳界面点击绿色运行标识即可进行电泳。

1.2.4.2 多重毛细管电泳。扩增产物采用单色 ZAG-Z7576 毛细管电泳仪。将 2~3 个不同引物的 PCR 扩增产物混合, 每个扩增产物取 5 μL 至新的 96 孔 PCR 扩增板, 然后加双蒸

水定容至 25 μL 。软件及仪器操作步骤与单重毛细管电泳一致。

表 1 水稻纯度鉴定 SSR 分子标记

Table 1 Rice purity identification of SSR molecular markers

引物 Primer	指纹数据 Fingerprint data		引物序列(5'-3') Primer sequence(5'-3')
	丰两优 3305 Fengliangyou 3305	润稻 118 Rundao 118	
RM224	159/185	132/132	正向: ATCGATCGATCTTCACGAGG 反向: TCGTATAAAAAGGCATTCGGG
RM8277	220/234	147/147	正向: AGCACAAGTAGGTGCATTTC 反向: ATTTGCCTGTGATGTAATAGC
RM336	133/159	154/154	正向: CTTACAGAGAAACGGCATCG 反向: GCTGGTTTGTTCAGGTTTC
RM208	143/164	182/182	正向: CGTCGGATGATGTAAAGCCT 反向: CATATCGGCATTCGCCTG
RM19	245/251	201/201	正向: CAAAAACAGAGCAGATGAC 反向: CTAAGATGGACGCCAAGA

1.2.5 纯度统计。

样品纯度 = (供检株数 - 杂株数) / 供检株数 × 100%

2 结果与分析

2.1 杂交种纯度检测单重电泳结果 丰两优 3305 在 RM224 标记位点上的纯度检测结果见图 1, 1 bp 和 500 bp 处是试剂盒 Marker 的范围, 即 PCR 产物片段在 1~500 bp。丰两优 3305 在 RM224 标记位点的片段是 159(母本带)/185(父本带)(表 1)。H2 孔没有扩增产物, 记为空, 供检株数 94 株, A8 孔的带型是母本带 159 和非父本带 196; H6 孔是仅一条母本带 159, H12 孔是标尺(图 1)。

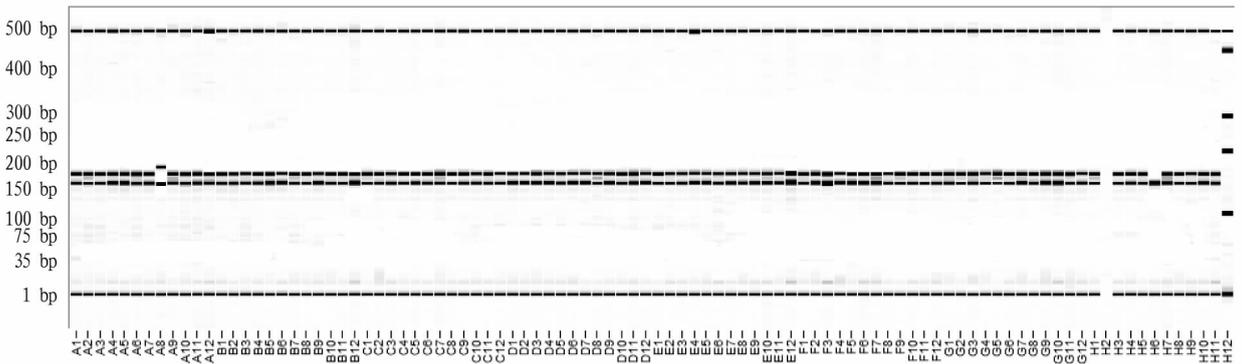


图 1 丰两优 3305 在 RM224 标记位点的带型

Fig. 1 The band pattern of Fengliangyou 3305 at the RM224 marker

丰两优 3305 在 RM8277 标记位点上的纯度检测结果见图 2, Marker 与图 1 一致。该产物片段是 220(父本带)/234(母本带)(表 1)。A8 和 H2 孔没有产物, 记为空, H12 孔是标尺。供检株数 93 株, 所有单株的 PCR 产物带型一致, 没有杂带(图 2)。

丰两优 3305 在 RM336 标记位点上的纯度检测结果见图 3, 产物片段是 133(父本带)/159(母本带)(表 1)。其中, A2、G1、G2、H4、H5 共 5 个孔没有扩增产物, 记为空, 供检株数 91 株, A4 和 H1 孔都是 1 条母本带 159, 其他孔带型一致。

丰两优 3305 在 RM208 标记位点上的纯度检测结果见图 4, 产物片段是 143(父本带)/164(母本带)(表 1)。供检

株数 96 株, H7 是一条母本带 164, 其他孔带型一致。

该试验对丰两优 3305 在 RM224、RM8277、RM336、RM208 标记位点进行纯度鉴定, 鉴定结果汇总见表 2。GB 4404.1—2008《粮食作物种子》标准中规定^[8], 水稻杂交种的大田用种纯度不低于 96.0%。由表 2 可知, 4 个标记位点的纯度结果均高于标准值。

2.2 杂交种纯度检测多重电泳结果 将丰两优 3305 的 RM224 和 RM8277 的 PCR 产物混匀到同一 96 孔板, 加水至 25 μL , 双重电泳结果见图 5。条带 159/185 是 RM224 标记的产物片段, 条带 220/234 是 RM8277 标记的产物片段。和单重电泳结果比较, 结果一致, 且 2 个标记的产物之间没有影响。

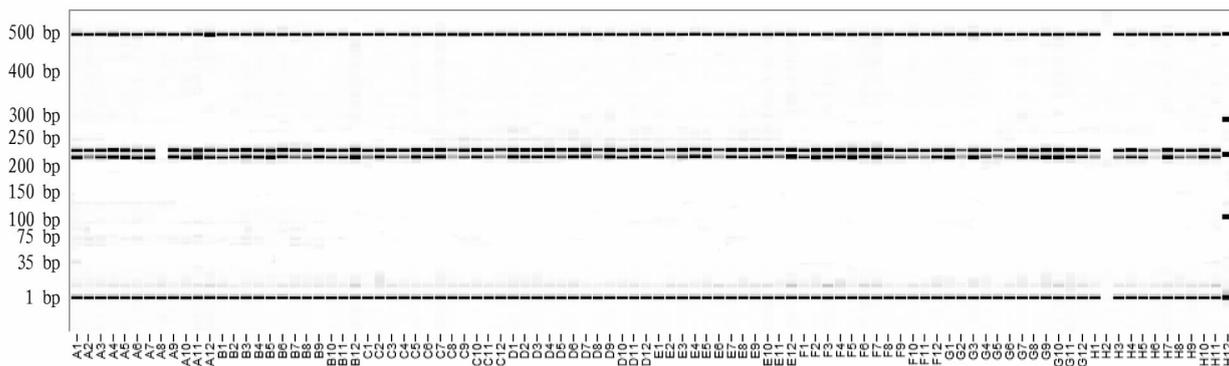


图2 丰两优 3305 在 RM8277 标记位点的带型

Fig. 2 The band pattern of Fengliangyou 3305 at the RM8277 marker

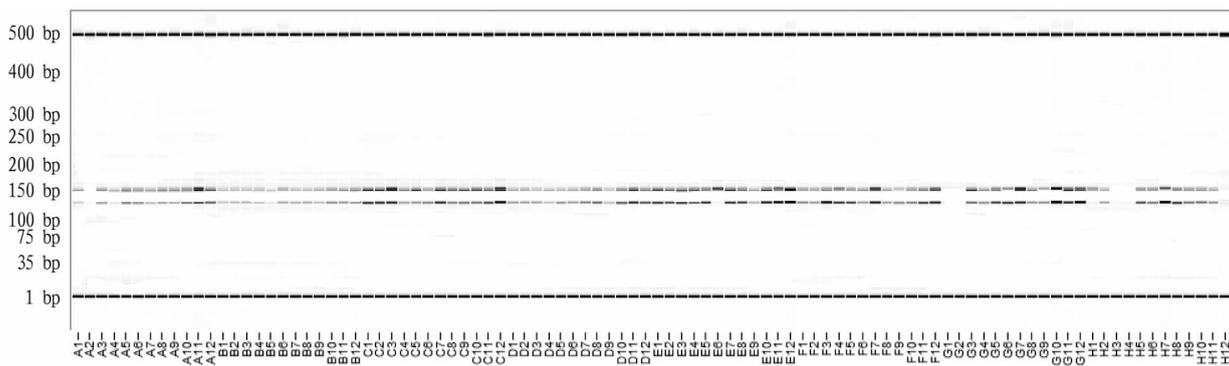


图3 丰两优 3305 在 RM336 标记位点的带型

Fig. 3 The band pattern of Fengliangyou 3305 at the RM336 marker

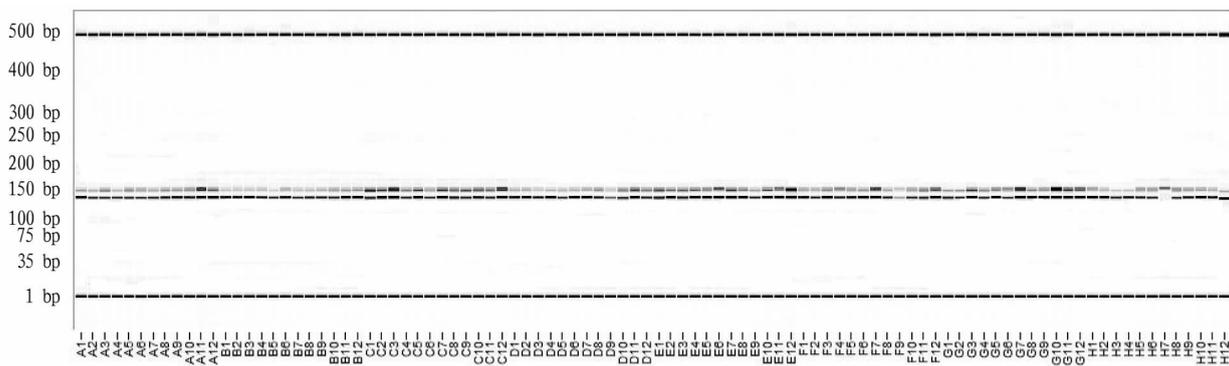


图4 丰两优 3305 在 RM208 标记位点的带型

Fig. 4 The band pattern of Fengliangyou 3305 at the RM208 marker

表2 丰两优 3305 的 SSR 分子标记纯度鉴定结果

Table 2 SSR molecular marker purity identification results of Fengliangyou 3305

引物 Primer	供检株数 Number of plants for inspection	株数 The number of plants	混杂株数 Number of mixed plants			纯度 Purity %
			♀	♂	其他杂株 Other miscellaneous plants	
RM224	94	92	1	0	1	97.9
RM8277	93	93	0	0	0	100
RM336	91	89	2	0	0	97.8
RM208	96	95	1	0	0	99.0

将丰两优 3305 的 RM336、RM208 的产物 PCR 产物混匀到同一 96 孔板,加水至 25 μL 后混合进行双重电泳。条带 133/159 是 RM336 标记的产物片段,条带 143/164 是 RM208

标记的产物片段。如图 6 所示,133 和 143 两个片段可以区分,而 159 和 164 两个片段相差 5 bp,带型有重合,无法判读结果。

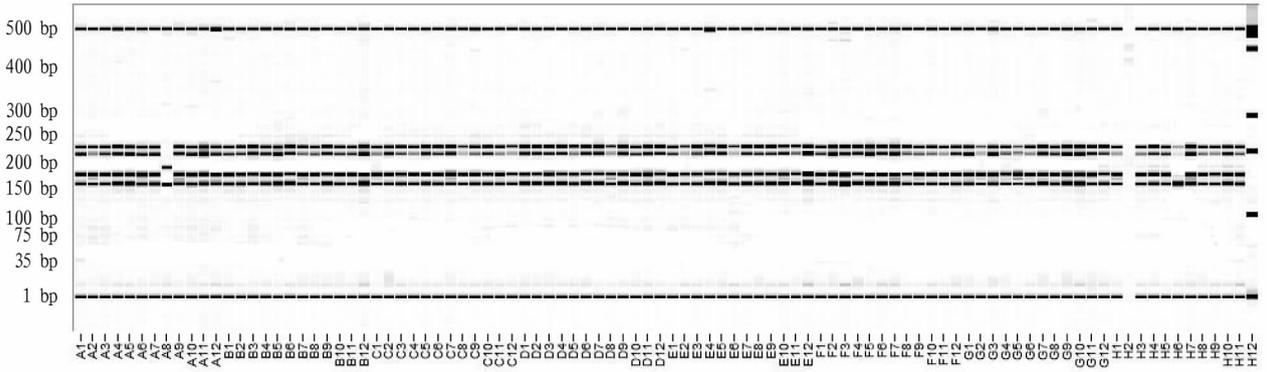


图 5 丰两优 3305 在 RM224、RM8277 标记位点的多重电泳

Fig. 5 Double electrophoresis of Fengliangyou 3305 at the marked sites of RM224 and RM8277

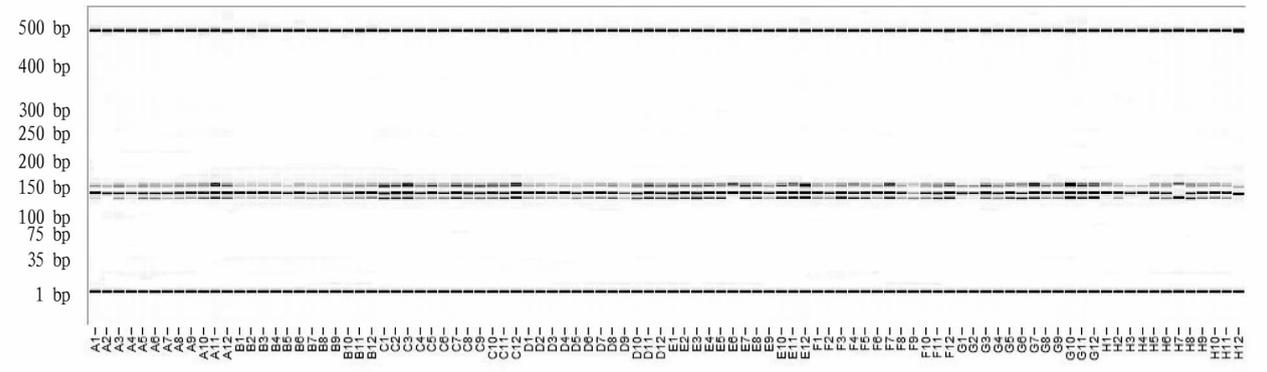


图 6 丰两优 3305 在 RM336、RM208 标记位点的多重电泳

Fig. 6 Double electrophoresis of Fengliangyou 3305 at the marked sites of RM336 and RM208

2.3 润稻 118 多重电泳结果验证 根据丰两优 3305 多重电泳结果可知,不同引物的产物片段差异超过 10 bp 可以进行混合电泳,产物之间没有影响,与单重电泳结果一致。润稻 118 纯度检测 RM224、RM8277、RM19 的片段大小分别是 132/132、147/147、201/201,之间相差均在 10 bp 以上,产物可以混合电泳。3 个标记产物多重电泳结果见图 7。在 RM224

标记位点上,F8 没有扩增产物,记为空,供检株数 94 株,其他带型一致没有杂带;在 RM8277 标记位点上没有杂带和空孔;在 RM19 标记位点上,H11 孔显示是杂带,其他带型一致。由表 3 可知,在 RM224、RM8277、RM19 标记位点上,润稻 118 的纯度分别为 100%、100%、98.9%。

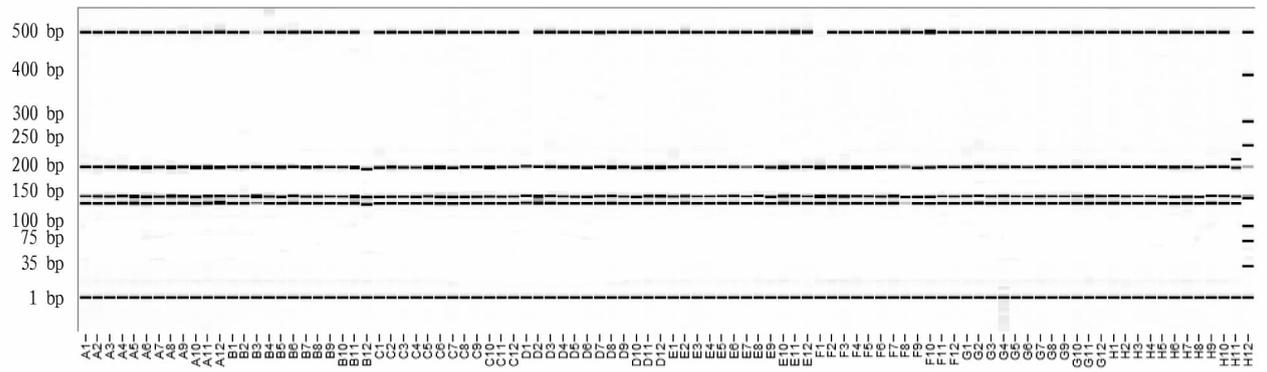


图 7 润稻 118 在 RM224、RM8277、RM19 标记位点的三重电泳

Fig. 7 Triple electrophoresis of Rundao 118 at marker sites of RM224, RM8277 and RM19

3 结论与讨论

该试验选用丰乐水稻杂交品种丰两优 3305 和常规稻品种润稻 118 的不同引物进行单重和多重电泳比对。结果表明,相差 10 bp 以上的 PCR 产物混合两重和三重电泳,对检测结果没有影响。该试验在鉴定水稻杂交品种纯度时,结合实际选用 2 个分子标记进行试验^[9]。今后在分子标记纯度

鉴定中可以根据需要混合更多引物,验证杂交种更多重的毛细管电泳效果。

根据 SSR 分子标记纯度鉴定结果可以看出,同一品种在不同标记位点上的纯度结果不同,如丰两优 3305 品种在 RM224 标记位点上纯度结果是 97.9%,在 RM8277 标记位点上 100%。可能是该品种的父母本在 RM224 标记位点上

轻微分离造成的^[10]。通过分子标记和田间纯度鉴定结果比较分析,父母本在某个位点轻微分离,但不会造成品种表现型的变化,分子标记纯度鉴定时应排除该标记位点^[11]。

表3 润稻 118 的纯度鉴定结果

Table 3 Purity identification results of Rundao 118

引物 Primer	供检株数 Number of plants for inspection	株数 The number of plants	混杂株数 Number of mixed strains	纯度 Purity %
RM224	94	94	0	100
RM8277	95	95	0	100
RM19	95	94	1	98.9

该试验研究的多重毛细管电泳检测技术,通过不同标记的产物进行混合多重电泳,即混合不同大小的 DNA 片段在一个毛细管上进行电泳,混合 3 个 PCR 产物成本可以从 2~3 元降低到 0.7~1.0 元,相应的电泳时间也缩短了 2 倍,多重毛细管电泳既降低检测成本又提高试验效率^[12],进一步提升了毛细管电泳使用效能,为分子标记鉴定技术更广泛的应用提供技术支撑。

安徽省地方标准 DB 34/T 3308—2018《两系杂交水稻种子纯度检测 分子标记法》规范了两系水稻分子纯度检测的流程^[13],针对的是 PAGE 电泳方法。国家标准 GB/T 39917—2021《主要农作物真实性和纯度 SSR 分子标记检测稻》^[7],该标准的纯度检测毛细管电泳部分主要是针对 DNA 分析仪的多色荧光毛细管电泳技术。该试验研究一种混合

(上接第 74 页)

生物量的增多、单尾体型增大、底栖杂食性鱼类占比加重三因素叠加引起的水体扰动是生态修复区水体透明度下降的主要驱动力,透明度降低导致深水区底部可利用光强的减少和草食性鱼类摄食的双重压力是贡湖湾生态修复区沉水植物群落覆盖度降低的主要诱因。因此,合理调控鱼类种群结构及时清除大规格鱼类有助于沉水植物群落的恢复和稳定。

参考文献

[1] VAN NES E H, SCHEFFER M, VAN DEN BERG M S, et al. Aquatic macrophytes: Restore, eradicate or is there a compromise? [J]. *Aquatic botany*, 2002, 72(3/4): 387-403.

[2] SCHEFFER M. Multiplicity of stable states in freshwater systems [J]. *Hydrobiologia*, 1990, 200/201: 475-486.

[3] 吴振斌, 邱东茹, 贺锋, 等. 沉水植物重建对富营养水体氮磷营养水平的影响 [J]. *应用生态学报*, 2003, 14(8): 1351-1353.

[4] 张聪. 杭州西湖湖西区沉水植物群落结构优化研究 [D]. 武汉: 武汉理工大学, 2012: 3-4.

[5] 李英杰, 胡小贞, 胡社荣, 等. 草、藻型湖泊水体生态及理化特性的实验对比 [J]. *生态环境学报*, 2009, 18(5): 1649-1654.

[6] 年跃刚, 宋英伟, 李英杰, 等. 富营养化浅水湖泊稳态转换理论与生态恢复探讨 [J]. *环境科学研究*, 2006, 19(1): 67-70.

[7] 秦伯强, 胡维平, 刘正文, 等. 太湖水源地水质净化的生态工程试验研究 [J]. *环境科学学报*, 2007, 27(1): 5-12.

[8] 李静泰, 闫丹丹, 戚丽萍, 等. 太湖湿地植被时空变化特征及其驱动机制 [J]. *北京师范大学学报(自然科学版)*, 2021, 57(1): 94-103.

[9] 刘向东, 侯志勇, 谢永宏, 等. 水位对洞庭湖湿地 4 种典型沉水植物的影响 [J]. *湖泊科学*, 2021, 33(1): 181-191.

单色多重 PCR 产物的电泳技术,综合了 PAGE 电泳与 DNA 分析仪的优点,既可以克服单重电泳成本高的问题,又进一步规范毛细管电泳的技术流程和操作细节,保证试验结果的稳定性。

参考文献

[1] 于守江. 水稻品种纯度鉴定方法及应用现状 [J]. *黑龙江农业科学*, 2015(8): 145-148.

[2] 郭承亮. SSR 分子标记在杂交稻种子纯度精确鉴定中的应用 [J]. *中国种业*, 2014(1): 21-23.

[3] 马建. 几种电泳技术在水稻品种鉴定上的比较研究 [D]. 延吉: 延边大学, 2005.

[4] 程本义, 夏俊辉, 龚俊义, 等. SSR 荧光标记毛细管电泳检测法在水稻 DNA 指纹鉴定中的应用 [J]. *中国水稻科学*, 2011, 25(6): 672-676.

[5] 潘振朝, 叶为果. 高效毛细管电泳在食品安全检测中的应用实践分析与研究 [J]. *现代食品*, 2017(13): 34-36.

[6] 刘宇奇, 黄艳智, 孙利伟, 等. 基于毛细管电泳多重 PCR 方法对小儿呼吸道感染病原分析 [J]. *中国小儿急救医学*, 2019, 26(10): 764-770.

[7] 国家市场监督管理总局, 国家标准化管理委员会. 主要农作物品种真实性和纯度 SSR 分子标记检测 稻: GB/T 39917—2021 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2021.

[8] 中华人民共和国质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 粮食作物种子 第 1 部分: 禾谷类: GB 4404. 1—2008 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.

[9] 涂藤, 尹清清, 张鹏飞, 等. 基于毛细管电泳的 7 种猪源性疫病的多重 PCR 检测方法的建立 [J]. *浙江农业学报*, 2021, 33(4): 618-631.

[10] 朱国奇, 陈静萍, 詹捷, 等. 不同引物鉴定同一杂交水稻种子样品纯度结果的差异及其原因分析 [J]. *杂交水稻*, 2015, 30(3): 81-84.

[11] 曹栋栋, 詹捷, 王洋, 等. 杂交水稻种子纯度鉴定方法对比研究 [J]. *浙江农业科学*, 2015, 56(5): 718-722.

[12] 孙宁, 于娟, 余柏增, 等. 多重 PCR 联合毛细管电泳技术检测碳青霉烯酶基因 [J]. *临床检验杂志*, 2021, 39(5): 340-345.

[13] 安徽省市场监督管理局. 两系杂交水稻种子纯度检测 分子标记法: DB 34/T 3308—2018 [S]. 安徽省市场监督管理局, 2018.

[10] 邹丽莎, 聂泽宇, 姚笑颜, 等. 富营养化水体中光照对沉水植物的影响研究进展 [J]. *应用生态学报*, 2013, 24(7): 2073-2080.

[11] 张运林, 秦伯强, 朱广伟. 过去 40 年太湖剧烈的湖泊物理环境变化及其潜在生态环境意义 [J]. *湖泊科学*, 2020, 32(5): 1348-1359.

[12] 徐德瑞, 周杰, 吴时强, 等. 夏季东太湖光合有效辐射衰减特征及其对沉水植物恢复的指示 [J]. *湖泊科学*, 2021, 33(1): 111-122.

[13] 田伟, 杨周生, 邵克强, 等. 城市湖泊水环境整治对改善水质的影响: 以蠡湖近 30 年水质变化为例 [J]. *环境科学*, 2020, 41(1): 183-193.

[14] 程琳, 叶少文, 李钟杰. 长江中游典型草型湖泊与藻型湖泊种群结构和生长比较 [J]. *水生生物学报*, 2012, 36(5): 957-964.

[15] 张曙光, 高珊珊, 刘阳, 等. 鲫 (*Carassius auratus*) 对沉水植物占优水体水质的影响 [J]. *安徽农业大学学报*, 2020, 47(6): 927-930.

[16] 姜霞, 王书航, 杨小飞, 等. 蠡湖水环境综合整治工程实施前后水质及水生生态差异 [J]. *环境科学研究*, 2014, 27(6): 595-601.

[17] 殷春雨. 沉水植物群落在修复后湖泊中演替趋势的研究 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2018.

[18] 王阳阳. 沉水植被恢复对贡湖水源地保护区河流污染削减技术研究 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2011.

[19] 孙志林, 郑佳去, 祝丽丽, 等. 沉水植物对水流结构与泥沙淤积的影响 [J]. *浙江大学学报(工学版)*, 2021, 55(1): 71-80.

[20] 刘凤茹, 雏翠, 张扬, 等. 沉水植物水生生态修复作用及应用边界条件 [J]. *安徽农业科学*, 2021, 49(9): 66-69, 94.

[21] 杨柳燕, 杨欣妍, 任丽曼, 等. 太湖蓝藻水华暴发机制与控制对策 [J]. *湖泊科学*, 2019, 31(1): 18-27.

[22] 孔繁翔, 高光. 大型浅水富营养化湖泊中蓝藻水华形成机理的思考 [J]. *生态学报*, 2005, 25(3): 589-595.

[23] 蔡杏伟, 熊鹰, 郭超, 等. 饮用水水源地盐龙湖鱼类群落结构特征及调控策略研究 [J]. *淡水渔业*, 2019, 49(2): 39-45.

[24] 戚义, 叶春, 李春华, 等. 太湖竺山湾缓带鱼类资源现状与调控措施研究 [J]. *南京师大学报(自然科学版)*, 2016, 39(4): 86-91.