

## • 药材与资源 •

## 罗汉果三倍体雌株与二倍体雄株遗传背景的 ISSR 分析

韦荣昌<sup>1,2</sup>, 白隆华<sup>1\*</sup>

1. 广西药用植物园, 广西 南宁 530023

2. 中国医学科学院 北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193

**摘要:** 目的 探索罗汉果 *Siraitia grosvenorii* 三倍体雌株与二倍体雄株的遗传背景, 为无籽罗汉果优良品种的选育提供分子生物学依据。方法 利用 ISSR 分子标记对 28 份罗汉果种质进行遗传背景分析, 用 AFLP-SURV 计算材料间遗传距离; 用 TSY-PC 和 GenAEx 分别进行聚类分析和主坐标分析。结果 从 100 条 ISSR 引物中筛选出 13 条用于扩增, 共获得 131 条清晰可辨条带, 其中多态性条带 99 条, 多态性位点百分率为 75.57%。聚类分析和主坐标分析表明罗汉果三倍体雌株和二倍体雄株的遗传背景存在一定的丰富性, 但大多遗传相似性系数较大, 遗传距离较近。结论 罗汉果三倍体雌株和二倍体雄株遗传背景的复杂性较低, 应该尽快采取相应措施, 进行种质创新, 丰富无籽罗汉果亲本的遗传背景。

**关键词:** 罗汉果; 二倍体; 三倍体; 遗传背景; ISSR

中图分类号: R282.12

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2015)06-0881-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.06.019

ISSR analysis of genetic background of triploid female and diploid male strains of *Siraitia grosvenorii*WEI Rong-Chang<sup>1,2</sup>, BAI Long-hua<sup>1</sup>

1. Guangxi Botanical Garden of Medicinal Plants, Nanning 530023, China

2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences &amp; Peking Union Medical College, Beijing 100193, China

**Abstract:** **Objective** To evaluate the genetic background of triploid female and diploid male strains of *Siraitia grosvenorii* and provide the biological reference for good varieties breeding of seedless *S. grosvenorii*. **Methods** Inter simple sequence repeats (ISSR) marker was developed to analyze the genetic background among 28 samples of *S. grosvenorii*, and cluster analysis and double principal coordinate analysis were revealed by the NTSYS-PC software and GenAEx software, respectively. **Results** Out of 100 ISSR primers selected, 13 primers were used for amplification and a total of 131 unambiguous bands were obtained, among which 99 (PPB = 75.57%) were polymorphic. The results of cluster analysis and double principal coordinate analysis showed that there was a certain rich of genetic background in triploid female and diploid male strains of *S. grosvenorii*. But the genetic similarity coefficients of majority were bigger and the genetic distance was closer. **Conclusion** The complexity of the genetic background in triploid female and diploid male strains of *S. grosvenorii* is lower and germplasm innovation strategies should be carried out to enrich the genetic background of the parents of seedless *S. grosvenorii*.

**Key words:** *Siraitia grosvenorii* (Swingle) C. Jeffrey ex A. M. Lu et Z. Y. Zhang; diploid; triploid; genetic background; inter simple sequence repeats

罗汉果 *Siraitia grosvenorii* (Swingle) C. Jeffrey ex A. M. Lu et Z. Y. Zhang 是雌雄异株的葫芦科 (Cucurbitaceae) 罗汉果属 *Siraitia* Merr. 多年生藤本

植物<sup>[1]</sup>, 为我国特有的珍贵药用和甜料植物, 主要产于广西的永福、临桂、龙胜等地<sup>[2]</sup>。罗汉果果实是传统中药, 可用于治疗气管炎、急慢性咽喉炎、

收稿日期: 2014-09-01

基金项目: 国家“十二五”科技支撑计划项目 (2011BAI01B03); 国家自然科学基金资助项目 (81373914); 广西自然科学基金资助项目 (2013GXNSFDA019021, 2013GXNSFBA019170)

作者简介: 韦荣昌 (1983—), 男, 广西梧州人, 助理研究员, 博士, 研究方向为分子生物学。Tel: (0771)2443056 E-mail: wrc830612@163.com

\*通讯作者 白隆华 (1967—), 男, 广西灌阳人, 研究员, 研究方向为中药资源学。Tel: (0771)2443056 E-mail: whitefh2008@126.com

哮喘和感冒等。此外,其果实中还含多种甜苷,其中甜苷 V 为世界上最强的非糖甜味物质之一,为蔗糖甜度的 300~400 倍,是一种综合性状极佳的天然甜味剂,广泛应用于食品、保健品、药品中,适合所有人群长期食用,是糖尿病人、肥胖者、高血压患者的理想糖替代品<sup>[3-4]</sup>,也是我国出口增长最快的植物提取物之一。多倍体罗汉果可大幅提高根、茎、叶、果实等部位的生物量和产量,增强抗逆性,提高活性成分的量,其中三倍体还具有无籽的特性,大大提高了整果利用率和甜苷提取收得率,对整个罗汉果产业具有里程碑的意义<sup>[5]</sup>。

罗汉果三倍体雌株经二倍体雄株授粉后所结的果实即为无籽罗汉果。本研究拟利用 ISSR 分子标记技术<sup>[6-8]</sup>探讨罗汉果三倍体雌株和二倍体雄

株的遗传背景,为无籽罗汉果优良品种的选育提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

材料采自广西桂林兴安县漠川乡的罗汉果种植基地,总共采集到 28 份材料:二倍体雄株 7 份;三倍体雌株 21 份,利用二倍体(或四倍体)父本花粉对四倍体(或二倍体)母本柱头进行人工授粉杂交获得(表 1)。每份材料选取生长状况良好的罗汉果单株 3~5 株,采集约 10 片健康成熟叶片混合成该份材料的样品,所有材料经广西药用植物园白隆华研究员鉴定为葫芦科植物罗汉果 *Siraitia grosvenorii* (Swingle) C. Jeffrey ex A. M. Lu et Z. Y. Zhang 的叶片,用硅胶干燥保存,带回实验室中待用。

表 1 材料来源、倍性和雌雄

Table 1 Material source, ploids, and male/female used in study

| 编号   | 材料            | 倍性 | 雌/雄 | 编号   | 材料                               | 倍性 | 雌/雄 |
|------|---------------|----|-----|------|----------------------------------|----|-----|
| M201 | Dongguagua    | 2x | ♂   | F308 | Keyan1 C×M202                    | 3x | ♀   |
| M202 | Qingpiguo     | 2x | ♂   | F309 | Keyan1 C×M204                    | 3x | ♀   |
| M203 | Male 1        | 2x | ♂   | F310 | Nongjia×M205                     | 3x | ♀   |
| M204 | Hongmaoguo    | 2x | ♂   | F311 | Nongjia×M206                     | 3x | ♀   |
| M205 | Dongguagua 2  | 2x | ♂   | F312 | Nongjia×M201                     | 3x | ♀   |
| M206 | Changtanguo   | 2x | ♂   | F313 | Nongjia×M202                     | 3x | ♀   |
| M207 | Hongmaoguo 2  | 2x | ♂   | F314 | Nongyuan B6×M205                 | 3x | ♀   |
| F301 | Bolin 3×M205  | 3x | ♀   | F315 | Nongyuan B6×M204                 | 3x | ♀   |
| F302 | Bolin 3×M206  | 3x | ♀   | F316 | Yongqing 1×M205                  | 3x | ♀   |
| F303 | Bolin 3×M204  | 3x | ♀   | F317 | Yongqing 1×M206                  | 3x | ♀   |
| F304 | Bolin 3×M202  | 3x | ♀   | F318 | Yongqing 1 (2n)×Dongguagua (4n)  | 3x | ♀   |
| F305 | Keyan1 C×M205 | 3x | ♀   | F319 | Yongqing 1 (2n)×Changtanguo (4n) | 3x | ♀   |
| F306 | Keyan1 C×M206 | 3x | ♀   | F320 | Keyan1 C (2n)×Dongguagua (4n)    | 3x | ♀   |
| F307 | Keyan1 C×M201 | 3x | ♀   | F321 | Keyan1 C (2n)×Changtanguo (4n)   | 3x | ♀   |

### 1.2 ISSR 分析

采用改良的 CTAB 法<sup>[9]</sup>提取罗汉果叶片的总 DNA。

**1.2.1 PCR-ISSR 反应体系及反应程序<sup>[10]</sup>** 25 μL PCR 扩增反应体系中含 10×缓冲液 2.5 μL, MgCl<sub>2</sub> 2.0 mmol/L, 脱氧核糖核苷酸(dNTP) 0.2 mmol/L(上海生工生物工程技术有限公司), ISSR 引物 0.5 μmol/L(上海生工生物工程技术有限公司), Taq DNA 聚合酶(MBI Fermentas 公司) 1.0 U, 模板 DNA 约 30~50 ng, 超纯水补至 25 μL。在 PCR 仪(美国 BIO-RAD 伯乐公司, 型号 PTC-200)上进行以下扩增反应程序: 94 °C 预变性 3 min, 接着进行 40 个循环(94 °C 变性 1 min, 52 °C 退火 52 s, 72 °C 延伸 2 min), 循环结束后 72 °C 延伸 7 min。

**1.2.2 引物筛选** 随机选出 6 份样品(包含二倍体和四倍体)进行引物筛选, 从 100 条 ISSR 引物中筛选出 13 条扩增反应稳定、条带清晰、具有多态性的引物, 并用于所有材料的扩增。13 个 ISSR 引物名称、序列(表 2)。

**1.2.3 琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物** 将扩增产物置于 1.5% 的琼脂糖凝胶中电泳, 凝胶上所加电压不超过 5 V/cm, 用 Lambda DNA/EcoR I+Hind III Marker(MBI Fermentas 公司)作为标准相对分子质量对照, 经溴化乙锭(EB)染色 20~30 min, 在凝胶成像系统上观察照相、记录。

ISSR 为显性标记, 同一引物的扩增产物中电泳迁移率一致的条带被认为具有同源性, 相同迁移位置上无扩增条带记录为“1”, 有扩增条带记录为“0”,

表 2 引物名称、序列及其对 28 份材料的扩增条带统计

Table 2 Primers, sequences, and amplification bands on 28 individuals

| 引物     | 引物序列 5'-3'                                                                                                                 | 扩增总条带数 | 多态性条带数 | 多态性百分比/% |
|--------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|--------|----------|
| UBC823 | (TC) <sub>8</sub> C                                                                                                        | 8      | 6      | 75.00    |
| UBC825 | (AC) <sub>8</sub> T                                                                                                        | 8      | 4      | 50.00    |
| UBC826 | (AC) <sub>8</sub> C                                                                                                        | 7      | 3      | 42.86    |
| UBC827 | (AC) <sub>8</sub> G                                                                                                        | 9      | 5      | 55.56    |
| UBC846 | (CA) <sub>8</sub> RT                                                                                                       | 10     | 7      | 70.00    |
| UBC850 | (GT) <sub>8</sub> YC                                                                                                       | 5      | 4      | 80.00    |
| UBC857 | (AC) <sub>8</sub> YG                                                                                                       | 8      | 5      | 62.50    |
| UBC873 | (GACA) <sub>4</sub>                                                                                                        | 15     | 13     | 86.67    |
| UBC881 | (G) <sub>3</sub> (TGGGG) <sub>2</sub> TG                                                                                   | 11     | 10     | 90.91    |
| UBC889 | DBD (AC) <sub>7</sub>                                                                                                      | 9      | 5      | 55.56    |
| UBC891 | HVH (TG) <sub>7</sub>                                                                                                      | 9      | 7      | 77.78    |
| UBC896 | AGGT (CG) <sub>2</sub> G CCGC(N) <sub>5</sub> ATG                                                                          | 11     | 10     | 90.91    |
| UBC900 | AC(T) <sub>2</sub> (C) <sub>3</sub> (CA) <sub>2</sub> (G) <sub>2</sub> (T) <sub>2</sub> (A) <sub>2</sub> (CA) <sub>2</sub> | 21     | 20     | 95.24    |
| 总计     |                                                                                                                            | 131    | 99     | 75.57    |

N = (A, G, C, T), R = (A, G), Y = (C, T), B = (C, G, T) (i. e. not A), D = (A, G, T) (i. e. not C), H = (A, C, T) (i. e. not G), V = (A, C, G) (i. e. not T)

构建“0”“1”原始矩阵。仅清晰、稳定、可分辨的并且长度在 400~2 000 bp 内的 ISSR 扩增条带才被记录。用 AFLP-SURV version 1.0<sup>[11]</sup>计算材料间遗传距离，并计算 Nei & Li 遗传相似性系数；用 NTSYS-pc version 2.02<sup>[12]</sup>软件的 UPGMA (unweighted pair group method using arithmetic average) 方法进行聚类分析；用 GenAIEx version 6.3<sup>[13]</sup>进行主坐标分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 多态性分析

用 13 个 ISSR 引物对 28 份材料的总 DNA 进行

PCR 扩增，重复 2 次，扩增产物重复性好且稳定，扩增得到的条带数及多态性条带见表 2。13 个引物扩增条带数的范围为 5~21 条，共同带在 1~4 条内，多态性条带数范围为 3~20 条，多态性百分比为 42.86%~95.24%，且由总计的结果可知，扩增总条带数为 131 条（平均每个引物 10.08 条），其中多态性总条带数为 99 条，多态性条带百分比为 75.57%。引物 UBC900 得到的条带数最多，为 21 条；引物 UBC850 得到的条带最少，为 5 条。其中引物 UBC873 的扩增图谱见图 1。此外，在不同罗汉果品种间存在的多态性条带可作为鉴定品种的特征带。

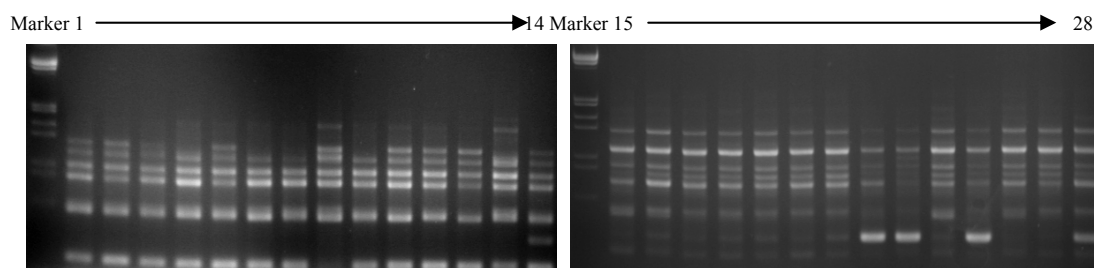


图 1 引物 UBC873 对 28 份材料的 ISSR 扩增图谱

Fig. 1 ISSR amplification from DNA of 28 individuals using Primer UBC873

### 2.2 遗传相似性系数及遗传距离

28 份材料间的相似性系数变化为 0.639 9~0.915 7，其中 F311 与 M205 间的相似性系数最低 (0.639 9)，遗传距离最高 (0.446 5)；而 F307 与 F318 间的相似性系数最高 (0.915 7)，遗传距离最小 (0.088 1)。

### 2.3 聚类分析

图 2 为 28 份材料的聚类树状图，从图 2 中可看

出：F307 和 F318 直接聚为一类，具有很高的相似性系数，两者距离最近，与上面的相似性系数及遗传距离的数值是一致的。

在相似性系数为 0.82 处，28 份三倍体雌株与二倍体雄株被分为 4 大类，第 1 类为 F301、F302；第 2 类为 F303、F304；第 3 类为 F305、F312、F313、F314、M201、M202、M203、F306、F307、

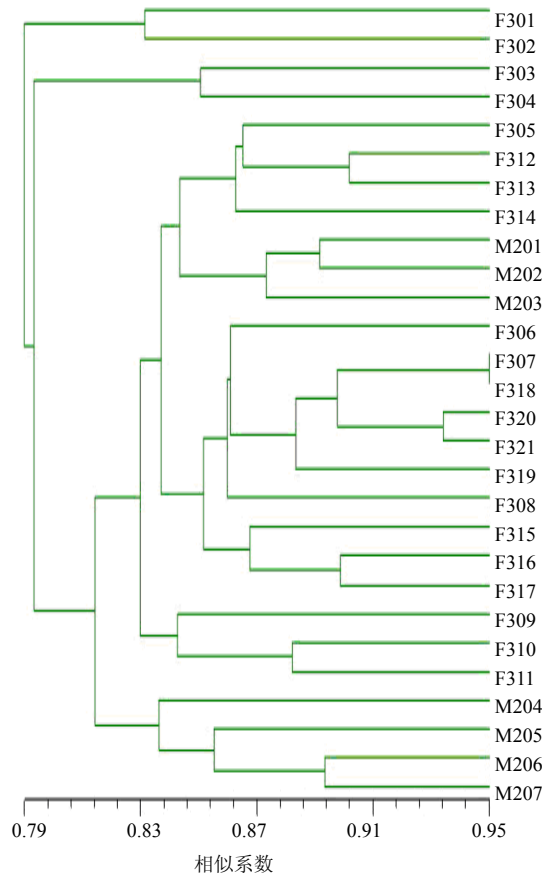


图 2 供试 28 份材料的 UPGMA 聚类图

Fig. 2 UPGMA dendrogram for 28 individuals

F308、F315、F316、317、F318、F319、F320、F321、F309、F310、F311；第 4 类为 M204、M205、M206、M207。

## 2.4 双变量主坐标分析

主坐标分析(principal coordinate analysis, PCoA)是基于 Nei & Li 遗传距离及相应的相似性系数进行的。因此,主坐标分析图中各个个体(品种)间的位置关系反映了它们在遗传上的相似性。由于每份试验材料都是通过选取生长状况良好的罗汉果单株 3~5 株,共采集约 10 张健康成熟叶片混合而成的,故此 28 份材料的主坐标分析可看作“双变量主坐标分析”(double principal coordinate analysis, DPCoA:一种将物种与物种之间差异考虑到群体间相互关系的测度之中的排序方法)<sup>[14-15]</sup>。通过 ISSR 标记对 28 份材料进行 DPCoA 排序,发现前 3 个主坐标的方差贡献率分别为 22.76%、19.70%和 18.21%,相对应的累积贡献率分别为 22.76%、42.46%和 60.67%。一般认为,如果前 3 个主要特征向量的方差占总方差的 40%以上,则排序效果是满意的<sup>[16]</sup>,本实验结果 28

份材料的前 3 个主要特征向量的方差累积贡献率高达 60.67%,说明了降维效果较好。因此,保留 DPCoA 的前二轴对 28 份材料进行排序分析,应用 GenAlEx version 6.3 获取坐标轴特征值及样品特征向量,并据此划分出 28 份不同材料在 DPCoA 前二轴空间中的排序(图 3)。

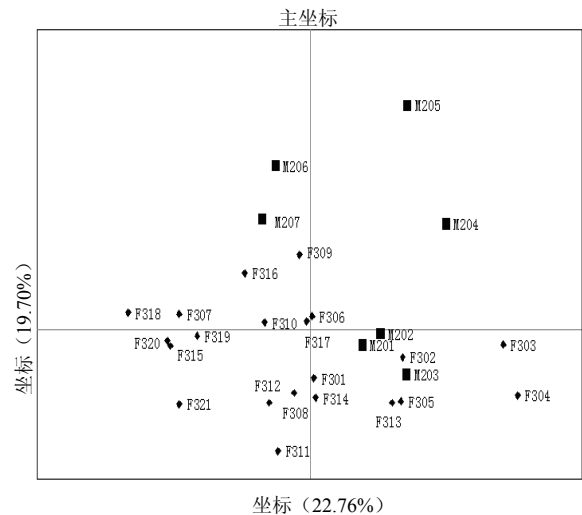


图 3 28 份材料的第 1、2 主坐标二维散点图

Fig. 3 Scatterplot of first and second double principal coordinates on 28 individuals

由 Proj 划分而得的 28 份材料在 PCoA 排序图中空间分布十分明显,除 F315 和 F320 有部分交叉重叠外,其余样品间均无交叉重叠现象。PCoA 排序图把 28 份材料分为 3 大类。

第 1 大类包括三倍体雌株 14 份(F301、F302、F303、F304、F305、F308、F311、F312、F313、F314、F315、F319、F320、F321),二倍体雄株 3 份(M201、M202、M203)。

第 2 大类包括三倍体雌株 7 份(F306、F307、F309、F310、F316、F317、F318),二倍体雄株 2 份(M206、M207)。

第 3 大类包括二倍体雄株 2 份(M204、M205)。

比较图 2 和图 3 可知,对 28 份材料所进行的亲缘关系聚类分析和双变量主坐标分析的结果基本上是一致的,雌雄株间距离相对较近的聚在一起,而双变量主坐标分析能从多个方向、多个层面更直观和准确地反映材料间的遗传关系。

## 3 讨论

### 3.1 ISSR 技术多态性分析及其应用

研究种质资源的遗传背景、遗传结构及亲缘关系,可以为优良品种的选育提供帮助,这就需要一

种甚至多种可靠的、鉴别力强的分子鉴定手段<sup>[17]</sup>。采用13个ISSR引物对28份罗汉果(三倍体雌株与二倍体雄株)进行PCR扩增,结果呈现出不同程度的多态性和共同性,这一方面说明罗汉果种质遗传背景的复杂性,另一方面也说明材料之间具有一定的共同性<sup>[18]</sup>。其中,某些种质的父本(或母本)是相同的,它们之间的距离相对较近,说明ISSR对于亲缘关系较近的材料能检测出较高的多态性。此外,在亲缘关系较远的种质间检测出数目不等的特征带,说明ISSR技术也可用于遗传距离较远的种质间鉴别。

### 3.2 罗汉果三倍体雌株与二倍体雄株的ISSR相关遗传分析

在ISSR结果分析中,遗传相似性系数和遗传距离的结果是一致的;而且系统聚类分析和主坐标分析的结果基本上也是一致的,虽然聚类分析和主坐标都能对样品进行聚类分析,但它们所反映的信息却有所不同,系统聚类分析对密切相关的个体间有很高的分辨率,其最终结果将所有的种质都聚为一类,而双变量主坐标分析却能在不同群体之间的距离上、从不同的方向和层面提供更多的信息,可以更加直观的揭示供试材料间的差异<sup>[19]</sup>。因此,两者并不重复,一般将主坐标分析和系统聚类分析结合起来使用,以便对聚类结果做更全面的解释<sup>[20]</sup>;所以,本研究将遗传相似性系数、遗传距离和聚类、双变量主坐标分析结合起来,全面分析罗汉果三倍体雌株与二倍体雄株的遗传背景。

根据ISSR分析结果,有的材料之间虽然是不同的种质,但遗传相似性系数较高,说明了它们的亲缘关系近;如:F313因为由Nongjia与M202株系杂交而成,所以与M202关系较近,其相似性系数高达0.8391。此外,在三倍体雌株中,如果其亲本相同或相似性系数较高,由于子代继承了亲本一定的遗传物质,从而子代间的相似性系数也会较高,如F305和F306、F320与F321,由于其母本都是Keyan 1 C,故它们的相似性系数分别高达0.9193和0.9004;而F305和F310也都为同一父本M205,所以其相似性系数也高达0.8556。

### 3.3 罗汉果三倍体雌株与二倍体雄株的合理组配

多倍体育种,主要利用多倍体效应和杂交优势,就后者来说,要求亲本的优良性状能互补,并且亲缘关系较远。本研究根据陈受良等<sup>[21]</sup>提出的结合线

法,将28份罗汉果材料的ISSR聚类结果进行了划分,认为无籽罗汉果亲本间的相似性系数以0.82较为合适,这是因为:相似性系数过低,亲本间的同源性随之降低,容易向远缘杂交方向偏移,尤其是栽培种和野生种间的杂交,经常会伴随部分野生性状,降低杂种优势的利用效率,从而难以获得生产上需要的新类型;反之,相似性系数过高,亲本间趋于同源,杂种优势减弱。

在本实验中,F311与M205间的相似性系数仅为0.6399,F321与M204、F321与M205间的相似性系数也都仅为0.6782,遗传距离较大;而且M205与其他27份材料间的相似性系数在0.6~0.7的有6个之多,其中母本5个。推测在罗汉果三倍体雌株与二倍体雄株中,最适合作雌雄组配的是F311和M205,其次是F321和M204、F321和M205。

值得指出的是,虽然罗汉果三倍体雌株和二倍体雄株的遗传背景存在一定的复杂性,但大多遗传相似性系数较大,遗传距离较近,应该尽快采取相应措施,进行种质创新,进一步丰富三倍体雌株和二倍体雄株的遗传背景,为无籽罗汉果优良品种的选育奠定坚实基础。

### 参考文献

- [1] 路安民,张志耘. 中国罗汉果属植物 [J]. 广西植物, 1984, 4(1): 27-33.
- [2] 周良才,张碧玉,覃良,等. 罗汉果品种资源调查研究和利用意见 [J]. 广西植物, 1981, 1(3): 29-33.
- [3] 李典鹏,张厚瑞. 广西特产植物罗汉果的研究与应用 [J]. 广西植物, 2000, 20(3): 270-276.
- [4] 农毅清,蒋林. 罗汉果甜苷的提取与药理作用研究概况 [J]. 广西中医药, 2008, 31(1): 6-8.
- [5] 李锋,蒋向军,蒋水元,等. 无籽(少籽)罗汉果培育成功(简报) [J]. 广西植物, 2008, 28(6): 727.
- [6] Zietkiewicz E, Rafalski A, Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification [J]. *Genomics*, 1994, 20(2): 176-183.
- [7] 张忠廉,李学兰,张丽霞,等. 叶下珠种质资源遗传多样性的ISSR分析 [J]. 中草药, 2012, 43(1): 159-163.
- [8] 李小侠,陶正明,吴志刚,等. 采用ISSR和SRAP技术评价浙南忍冬属药材遗传多样性 [J]. 中草药, 2012, 43(10): 2030-2035.
- [9] Doyle J J, Doyle J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue [J]. *Phytochem Bull*, 1987(19): 11-15.
- [10] 周俊亚,唐绍清,向悟生,等. 栽培罗汉果遗传多样性

- 的 ISSR 分析 [J]. 广西植物, 2005, 25(5): 431-436.
- [11] Vekemans X, Beauwens T, Lemaire M, *et al.* Data from amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers show indication of size homoplasy and of a relationship between degree of homoplasy and fragment size [J]. *Mol Ecol*, 2002, 11(1): 139-151.
- [12] Rohlf F J. *NTSYSpc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System* [M]. Version 2.02. New York: Exeter Publications, 1998.
- [13] Peakall R, Smouse P E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research [J]. *Mol Ecol Notes*, 2006(6): 288-295.
- [14] Pavoine S, Dufour A B, Chessel D. From dissimilarities among species to dissimilarities among communities: A double principal coordinate analysis [J]. *J Theoret Biol*, 2004(228): 523-537.
- [15] 熊 雄, 贺 强, 催保山. 黄河三角洲湿地草本植被的双变量主坐标排序 [J]. 生态学杂志, 2008, 27(9): 1631-1638.
- [16] Gauch H G. 群落生态学中的多元分析 [M]. 杨 持, 译. 北京: 科学出版社, 1982.
- [17] 唐美琼, 韦荣昌, 姚绍嫦, 等. 广西草珊瑚种质资源遗传多样性的 AFLP 分析 [J]. 中草药, 2012, 43(7): 1398-1402.
- [18] 徐 立, 余茂德, 鲁 成, 等. 人工三倍体新属桑品种嘉陵 20 号的 AFLP 分析 [J]. 云南植物研究, 2005, 27(2): 187-192.
- [19] 张大乐, 李锁平, 雷进生, 等. 利用 SSR 标记对 12 个啤酒大麦品种的聚类分析和主坐标分析 [J]. 河北农业大学学报, 2007, 30(3): 26-31.
- [20] 韦荣昌, 李 虹, 蒋建刚, 等. 多倍体无籽罗汉果及其亲本遗传背景的 ISSR 分析 [J]. 园艺学报, 2012, 39(2): 387-394.
- [21] 陈守良, 徐克学, 盛国英. 中国散生竹类数量分类和确定分类等级的探讨 [J]. 植物分类学报, 1983, 21(2): 113-119.