

栽培罗汉果遗传多样性的 ISSR 分析

周俊亚¹, 唐绍清^{1*}, 向悟生², 宾晓芸¹

(1. 广西师范大学生命科学院, 广西桂林 541004; 2. 广西壮族自治区广西植物研究所, 广西桂林 541006)
中国科学院

摘要: 应用 ISSR 分子标记对 62 份雌株和 13 份雄株栽培罗汉果样品进行了遗传多样性分析, 用 13 条 ISSR 引物进行扩增, 共得到 88 条扩增带, 其中 64 条是多态性的。计算了样品间的相似性系数, 分别对雌雄株做了主成分分析, 并用 UPGMA 法进行聚类分析。结果表明主要的栽培品种青皮果、红毛果和爆棚籽的遗传多样性很低, 它们的品种内样品间相似性系数平均值分别为 0.958、0.952 和 0.988, 但有少数形态差异较大的样品具有较大的遗传差异; 而茶山果和冬瓜汉具有较高的遗传多样性, 品种内样品间的相似系数平均值分别为 0.879 和 0.829; 雄株也具有较高的遗传多样性。

关键词: 罗汉果; 栽培品种; 遗传多样性; ISSR

中图分类号: Q943.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2005)05-0431-06

Genetic diversity of cultivated Luohanguo (*Siraitia grosvenorii*) based on ISSR marker

ZHOU Jun-ya¹, TANG Shao-qing^{1*},

XIANG Wu-sheng², BIN Xiao-yun¹

(1. College of Life Sciences, Guangxi Normal University, Guilin 541004, China; 2. Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuangzu Autonomous Region and Academia Sinica, Guilin 541006, China)

Abstract: Luohanguo (*Siraitia grosvenorii*), a liana species of Cucurbitaceae, is locally economic important cultivated plant, endemically distributing in Southern China. The genetic diversity was analyzed using inter-simple sequence repeat (ISSR) technique, that a total of 62 female from eight cultivars and 13 male individuals were collected. Employed with 13 ISSR primers, 88 scorable amplified bands were detected, of which 64 were polymorphic. Principal components analysis (PCA) was conducted for females and males respectively, and dendrogram was constructed using an unweighted pair-group method with arithmetical averages (UPGMA) method and Nei & Li similarity coefficient. The results demonstrated that a high degree of similarity among the major cultivars Qingpiguo, Hongmaoguo and Baopengzi, with 0.958, 0.952 and 0.988 of mean similarity coefficient of intra-cultivars respectively, which indicated that they were low genetic diversity. However, the cultivars Chashanguo and Dongguahan showed a relatively high genetic diversity, with mean similarity coefficient of 0.879 and 0.829. The male individuals also had a high level of genetic diversity.

Key words: *Siraitia grosvenorii*; cultivar; genetic diversity; ISSR

罗汉果 (*Siraitia grosvenorii* (Swingle) C. Jeffrey ex A. M. Lu et Z. Y. Zhang) 是单性、雌雄异株的

葫芦科 (Cucurbitaceae) 植物。它的果实是传统中药, 用于治疗支气管炎、急慢性咽喉炎、哮喘和感冒

收稿日期: 2004-04-20 修订日期: 2004-11-16

基金项目: 国家自然科学基金 (Supported by the National Natural Science Foundation of China, Grant No. 30260013)

作者简介: 周俊亚 (1979-), 女, 广西桂林人, 硕士生, 研究方向: 分子生态学。

* 通讯作者 (Author for Correspondence, E-mail: shaoqing@mailbox.gxnu.edu.cn)

等。罗汉果中所含甜度极高的甜味物质是一种低卡路里的理想天然甜味剂(李典鹏等,2000),对肥胖症、糖尿病患者是理想的糖替代品。广西北部的永福县、临桂县是传统的罗汉果产地,是栽培罗汉果的起源地(周良才等,1981),罗汉果是当地的经济支柱之一。近年来广西北部的融安县、融水县、龙胜县和灵川县的种植面积在逐步扩大,广东北部和贵州南部也有少量种植。

ISSR(inter-simple sequence repeat)是一种新型的分子标记(Zietkiewicz等,1994),具有很高的稳定性和多态性(Tsumuray等,1996;Fang等,1997),已成功应用于某些重要经济植物的遗传多样性研究(Blair等,1999;钱韦等,2000;Martins等,2003;马朝芝等,2003)。对罗汉果的研究主要集中在化学成分、甜味素提取、栽培技术和病毒防治等方面(李典鹏等,2000;斯建勇等,1996;余丽娟等,2003;杭玲等,2003;蔡健和等,2001),而缺乏在遗传多样性方面的研究报道。我们应用 ISSR 分子标记对 75 份栽培罗汉果样品进行了分析,目的在于研究栽培罗汉果的遗传多样性,为栽培罗汉果种质资源的保护和利用提供科学的依据。

1 材料与方 法

1.1 植物材料

实验材料采自广西永福县龙江乡、临桂县茶洞乡和融安县雅瑶乡。在每一栽培农户处取样避免品种重复(即每个品种只取一份样品),相同的采集地点同一品种的取样不超过 3 份。采集到的植株叶片,插入水中带回实验室,存放于 -70°C 超低温冰箱中备用。总共采集到 75 份样品:雌株样品 62 份,其中 61 份分属青皮果(Q)、红毛果(H)、爆棚籽(B)、茶山果(C)、冬瓜汉(D)、马铃薯(M)、长滩果(T)、拉江籽(La)8 个品种,另有 1 份样品系不确定,以当地习惯花皮籽(Ha)命名;雄株(Y)样品 13 份。各样品的编号和采集地见表 1。

1.2 总 DNA 提取、引物筛选与 PCR 扩增

采用 CTAB 法(Doyle 等,1987)提取罗汉果叶总 DNA。

实验所用 ISSR 引物均由上海生工公司合成,引物序列参照加拿大哥伦比亚大学(UBC)公布的第九套 ISSR 引物序列。从 69 个引物中选出 13 个扩增条带清晰、多态性带明显、背景清晰、反应稳定

的引物用于全部 75 份 DNA 样品的扩增,各 ISSR 引物名称及序列见表 2。

ISSR 扩增反应条件经过比较和优化确定为 25 μL 的 PCR 反应液内含:约 30~50 ng 模板 DNA,1U Taq 酶,1 \times PCR 缓冲液,2.0 mmol/L MgCl_2 ,4 种 dNTPs 各 0.2 mmol/L,0.5 $\mu\text{mol/L}$ 引物。PCR 扩增程序为 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 50 s, 72°C 延伸 2 min,循环结束后 72°C 延伸 7 min。扩增产物用 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳分离,用 Lambda DNA/*EcoRI*+*Hind* III Marker 作为标准分子量对照,溴化乙锭染色,复日 FR-980 凝胶成像仪上观察照相、记录。

1.3 数据分析

ISSR 是显性标记,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,按照相同迁移位置上有扩增带记为 1、无带记为 0 的方法记录电泳谱带,仅清晰、可重复的并且长度在 400~2 000 bp 范围内的扩增带才被记录。用 NTSYS-pc version 2.02 软件(Rohlf,1998)计算了 Nei 等(1979)相似性系数,通过该软件的 Eigen 程序分别对雌株和雄株做主成分分析(PCA),并进行单株的 UPGMA 聚类分析。

2 结果与分析

2.1 所有样品的多态性分析

用 13 个 ISSR 引物对 75 份样品的总 DNA 进行扩增,所有扩增反应均重复两次,两次 PCR 扩增产物重复性好且稳定,扩增得到的条带数及多态性带数见表 2。总共记录到了 88 条扩增带(平均每个引物 6.7 条),其中 64 条是多态性的,多态条带比率(PPB)为 72.73%。引物 UBC811 得到的条带数最少,为 3 条;引物 UBC840 得到的条带数最多,为 10 条。其中引物 UBC866 扩增得到的带型见图版 I。

2.2 品种及雄株的遗传多样性分析

根据得到的 0,1 矩阵,计算样品间的 Nei 和 Li 相似性系数。品种及雄株的平均相似性系数见表 3。结果表明青皮果、红毛果、爆棚籽的样品间相似性系数很高,平均值分别为 0.958、0.952 和 0.988。这三个品种的品种内存在多个样品间没有遗传差异的情况:青皮果 Q3 等 5 个样品之间、Q8 等 4 个样品之间、Q1 与 Q16 及 Q11 与 Q15 之间,红毛果 H3 等 12 个样品之间以及爆棚籽 B2 等 4 个样品之间的

相似性系数为 1.0,即无遗传差异。茶山果、冬瓜汉和雄株的遗传差异较大,相似性系数平均值分别为 0.879、0.829 和 0.877;两个长滩果样品间的相似性系数为 0.969,而两个马铃果样品间无差异。

表 1 实验材料的名称和来源

Table 1 List of materials used in the study

编号 Code	品种 Name	采集地 Places of collection	编号 Code	品种 Name	采集地 Places of collection
Q1	青皮果	龙江乡周村 Zhoucun, Longjiang	B1	爆棚籽	龙江乡周村 Zhoucun, Longjiang
Q2	Qingpiguo	龙江乡周村 Zhoucun, Longjiang	B2	Baopengzi	龙江乡驿马村 Yimacun, Longjiang
Q3		龙江乡周村 Zhoucun, Longjiang	B3		茶洞乡保和村 Baohecun, Chadong
Q4		茶洞乡保和村 Baohecun, Chadong	B4		龙江乡佳祥村 Jiaxiangcun, Longjiang
Q5		茶洞乡保和村 Baohecun, Chadong	B5		龙江乡保安村 Bao'ancun, Longjiang
Q6		茶洞乡保和村 Baohecun, Chadong	B6		龙江乡其竹村 Qizhucun, Longjiang
Q7		茶洞乡仁义村 Renyicun, Chadong	B7		龙江乡龙隐村 Longyincun, Longjiang
Q8		茶洞乡仁义村 Renyicun, Chadong	B8		龙江乡上维村 Shangweicun, Longjiang
Q9		茶洞乡仁义村 Renyicun, Chadong	C1	茶山果	龙江乡驿马村 Yimacun, Longjiang
Q10		茶洞乡仁义村 Renyicun, Chadong	C2	Chashanguo	龙江乡驿马村 Yimacun, Longjiang
Q11		茶洞乡仁义村 Renyicun, Chadong	C3		龙江乡驿马村 Yimacun, Longjiang
Q12		龙江乡其竹村 Qizhucun, Longjiang	C4		龙江乡龙隐村 Longyincun, Longjiang
Q13		龙江乡其竹村 Qizhucun, Longjiang	C5		雅瑶乡大琴村 Daqincun, Yayao
Q14		龙江乡龙隐村 Longyincun, Longjiang	D1		冬瓜汉
Q15	龙江乡上维村 Shangweicun, Longjiang	D2	Dongguahan	茶洞乡保和村 Baohecun, Chadong	
Q16	龙江乡佳祥村 Jiaxiangcun, Longjiang	D3		茶洞乡白石口 Baishikou, Chadong	
Q17	龙江乡拉江村 Lajiangcun, Longjiang	D4		龙江乡佳祥村 Jiaxiangcun, Longjiang	
Q18	龙江乡保安村 Bao'ancun, Longjiang	D5		龙江乡龙隐村 Longyincun, Longjiang	
Q19	雅瑶乡大琴村 Daqincun, Yayao	D6		雅瑶乡大琴村 Daqincun, Yayao	
H1	Hongmaoguo	龙江乡周村 Zhoucun, Longjiang	M1	马铃果	龙江乡其竹村 Qizhucun, Longjiang
H2		龙江乡周村 Zhoucun, Longjiang	M2	Malingguo	龙江乡其竹村 Qizhucun, Longjiang
H3		龙江乡驿马村 Yimacun, Longjiang	T1	长滩果	龙江乡龙隐村 Longyincun, Longjiang
H4		龙江乡佳祥村 Jiaxiangcun, Longjiang	T2	Changtanguo	龙江乡其竹村 Qizhucun, Longjiang
H5		龙江乡拉江村 Lajiangcun, Longjiang	Ha	花皮籽 Huapizi	龙江乡其竹村 Qizhucun, Longjiang
H6		龙江乡保安村 Bao'ancun, Longjiang	La	拉江籽 Lajiangzi	龙江乡龙舌村 Longshecun, Longjiang
H7		龙江乡其竹村 Qizhucun, Longjiang	Y1	雄株 Male	龙江乡周村 Zhoucun, Longjiang
H8		龙江乡安民村 An'mincun, Longjiang	Y2		龙江乡周村 Zhoucun, Longjiang
H9		龙江乡龙隐村 Longyincun, Longjiang	Y3		龙江乡驿马村 Yimacun, Longjiang
H10		龙江乡龙隐村 Longyincun, Longjiang	Y4		茶洞乡保和村 Baohecun, Chadong
H11		龙江乡上维村 Shangweicun, Longjiang	Y5		龙江乡佳祥村 Jiaxiangcun, Longjiang
H12		龙江乡下龙院 Xialongyuan, Longjiang	Y6		龙江乡拉江村 Lajiangcun, Longjiang
H13		龙江乡下龙院 Xialongyuan, Longjiang	Y7		茶洞乡仁义村 Renyicun, Chadong
H14		雅瑶乡大琴村 Daqincun, Yayao	Y8		茶洞乡仁义村 Renyicun, Chadong
H15		雅瑶乡大琴村 Daqincun, Yayao	Y9		龙江乡保安村 Bao'ancun, Longjiang
H16		雅瑶乡黄金村 Huangjincun, Yayao	Y10		龙江乡龙隐村 Longyincun, Longjiang
H17		雅瑶乡黄金村 Huangjincun, Yayao	Y11		龙江乡上维村 Shangweicun, Longjiang
H18		雅瑶乡黄金村 Huangjincun, Yayao	Y12		雅瑶乡大琴村 Daqincun, Yayao
		Y13	雅瑶乡黄金村 Huangjincun, Yayao		

为了进一步分析品种及雄株的遗传分化程度,利用相似矩阵,对雌株的各个品种和雄株进行了主成分分析,第一和第二主成分之和分别解释总变异的 13.59%和 41.23%。得到的二维关系见图 1、图 2。从图 1 可以看出:青皮果、红毛果和爆棚籽的大部分样品集中分布在各自的区域,样品间的差异较

小。但是红毛果的 H1、H12、H13 和 H15 以及青皮果的 Q4 和 Q7 独立于各自的集中区外,说明与品种内其他样品的遗传差异较大。红毛果集中分布的区域较之其他品种距离远,说明其遗传关系较远;青皮果(除 Q4 和 Q7)和爆棚籽各自集中在相对距离较近的区域,说明两者关系靠近。而茶山果和冬瓜汉

的分布松散、范围较广,样品间的差异明显,遗传多样性较高。图 2 显示:13 份雄株样品分布松散,彼此之间的差异明显,具有较高的遗传多样性。

表 2 引物名称、序列及其对 75 份样品的扩增条带统计
Table 2 Primers, their sequences and the amplification on 75 individuals

引物 Primers	引物序列 5'-3' 5'-3'	扩增总 条带数 No. of total bands	多态性 条带数 No. of polymor- phic bands	多态百分比 Percentage of polymorphic bands (%)
UBC808	(AG)8C	5	2	40.00
UBC811	(GA)8C	3	1	33.33
UBC826	(AC)8C	7	4	57.14
UBC827	(AC)8G	8	8	100
UBC840	(GA)8YT	10	6	60.00
UBC846	(CA)8RT	7	5	71.43
UBC852	(TC)8RA	6	4	66.67
UBC857	(AC)8YG	4	2	50.00
UBC866	(CTC)5	7	4	57.14
UBC873	(GACA)4	8	7	87.50
UBC874	(CCCT)4	8	8	100
UBC890	VHV(GT)7	6	5	83.33
UBC891	HVH(TG)7	9	8	88.89
总计 Total		88	64	72.73

H=(A,C 或 T); V=(A,C 或 G); R=(A 或 T); Y=(C 或 G).

表 3 品种及雄株的遗传相似性

Table 3 Brief summary of genetic similarities within cultivars and males

品种 Name	个体数 Sample size	遗传相似性系数 Genetic similarity		
		最小值 Min	最大值 Max	平均值 Mean
青皮果 Qingpiguo	19	0.776	1.00	0.958
红毛果 Hongmaoguo	18	0.854	1.00	0.952
爆棚籽 Baopengzi	8	0.970	1.00	0.988
茶山果 Chashanguo	5	0.825	0.989	0.879
冬瓜汉 Dongguahan	6	0.717	0.989	0.829
马铃薯 Malingguo	2	—	—	1.00
长滩果 Changtanguo	2	—	—	0.969
雄株 Male	13	0.780	0.980	0.877

2.3 单株的 UPGMA 聚类分析

根据 Nei 和 Li 相似性系数应用 UPGMA 法进行聚类分析,得到的单株遗传关系见图 3。结果表明:青皮果(除 Q4 和 Q7)、红毛果(除 H1、H12、H13 和 H15)、爆棚籽各自聚为一支,这三分支的节点具有很高的相似性系数;茶山果、冬瓜汉及雄株的样品没有聚类在一起;两个马铃薯样品无差异且与两个青皮果样品聚在一起,表明它们有较近的遗传关系;两个长滩果样品形成分支聚在一起;拉江籽、花皮籽

取样数少,它们各自独立出来。

3 讨论

据周良才等(1981)的调查,当时的主要罗汉果栽培品种有青皮果(占总产量的 75%)、长滩果、拉

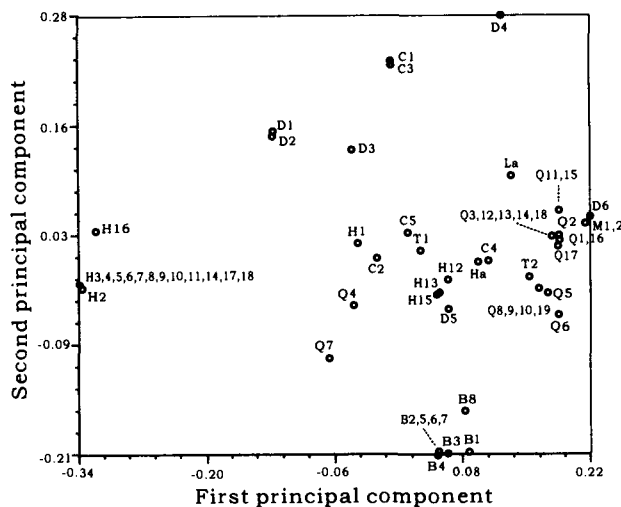


图 1 罗汉果雌株的主成分分析图

Fig. 1 Principal components analysis for females
图中字母代表的品种见表 1; 第一主成分(7.60%)和
第二主成分(5.99%)变异占总变异的 13.59%。
The first(7.60%)and second(5.99%)principal components
account for 13.59% of the total variation.

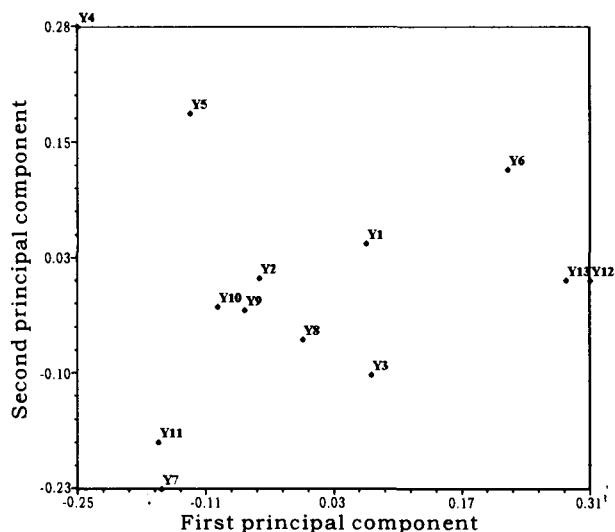


图 2 罗汉果雄株的主成分分析图

Fig. 2 Principal components analysis for males
第一主成分(24.46%)和第二主成分(16.77%)
变异占总变异的 41.23%。
The first(24.46%)and second(16.77%)principal components
account for 41.23% of the total variation.

江籽、冬瓜汉和红毛果,半野生的品种有茶山果和马铃果。我们 2003 年对永福县龙江乡、临桂县茶洞乡和融安县雅瑶乡的调查发现,现栽培面积最大的仍是青皮果,红毛果的栽培面积次之,这两个品种的栽培面积占 95% 以上。爆棚籽是近几年才栽培的一个新品种,它的果形与青皮果相似,其果皮薄而易爆裂,果实的罗汉果甜甙含量相对较低,因其结实率高、抗病性强而被一些果农栽培,栽培面积居第三位。茶山果和冬瓜汉仅有少量栽培。拉江籽和长滩

果已很难找到。相对而言,罗汉果的栽培品种资源较为贫乏。

ISSR 分析结果表明罗汉果的主要栽培品种青

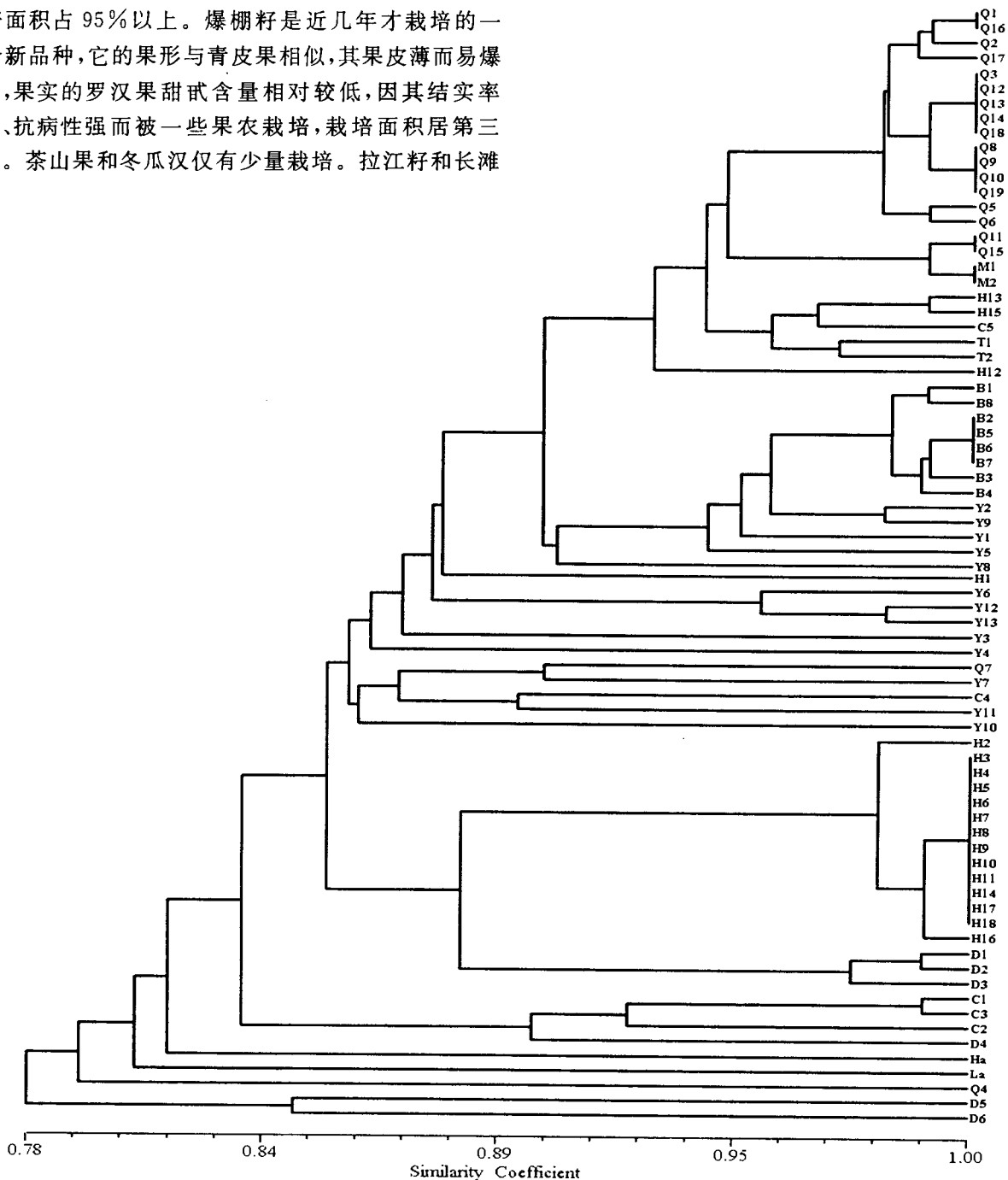


图 3 75 份栽培罗汉果样品间基于遗传相似性系数(Nei 和 Li 系数)的 UPGMA 聚类图

Fig. 3 UPGMA dendrogram for 75 individuals based on Nei & Li similarity coefficient

皮果、红毛果和爆棚籽的品种内样品间的遗传相似性系数高,即遗传多样性很低。它们的遗传多样性

很低的现状与罗汉果的繁殖方法有关。罗汉果用种子繁殖,其幼苗雄株占 70%,且难以鉴别雌雄,产区

果农一般不采用。目前普遍采用的繁殖方法是压蔓繁殖(钟仕强,1990),压蔓繁殖是营养繁殖方法,结果使得许多植株之间没有遗传差异。来源于4个村(属永福县)的5个青皮果样品之间和另4个取自2个村(分属临桂县和融安县)的样品之间无遗传差异,它们最终应是分别源自同一罗汉果母株;来自9个村(分属永福县和融安县)的12个红毛果样品之间也没有遗传差异。压蔓繁殖的结果使得主要栽培品种青皮果、红毛果和爆棚籽的遗传多样性很低,加速了品种的退化。但也有少量的青皮果和红毛果植株存在较大的遗传差异,如样品 Q3 和 Q7(青皮果)及 H1、H12、H13 和 H15(红毛果)。这些遗传差异较大的样品往往在形态上有较大的差异,如 Q7 的果型较大,被果农称为大罗汉果, H12 的果呈梨形, H13 的果特别长,纵径可达 9 cm。这些形态上差异较大的植株是有用的遗传资源。

茶山果和冬瓜汉具有相对较高的遗传多样性。茶山果是指栽培于油茶林中,能自然授粉的罗汉果,属半野生类型,各地的茶山果是野生移栽,因此在遗传上它们之间并没有特别的关系。果实为冬瓜型的类型统称为冬瓜汉,我们所调查采集到的6个冬瓜汉样品,样品 D1、D2、D3 是引自临桂县茶洞的野生植株, D4 是引自永福县龙江的野生植株, D5 是引自贵州省黎平县, D6 是引自贵州省三江县。从图 2 可以看出它们之间的遗传关系与产地有关,同一地区的关系较近,而不同地区的样品间差异明显。

雄株在产地不分品种,ISSR 分析结果表明雄株的平均相似性系数较低(0.877),聚类分析雄株样品也未聚在一起,说明它们之间存在较大的遗传多样性。

参考文献:

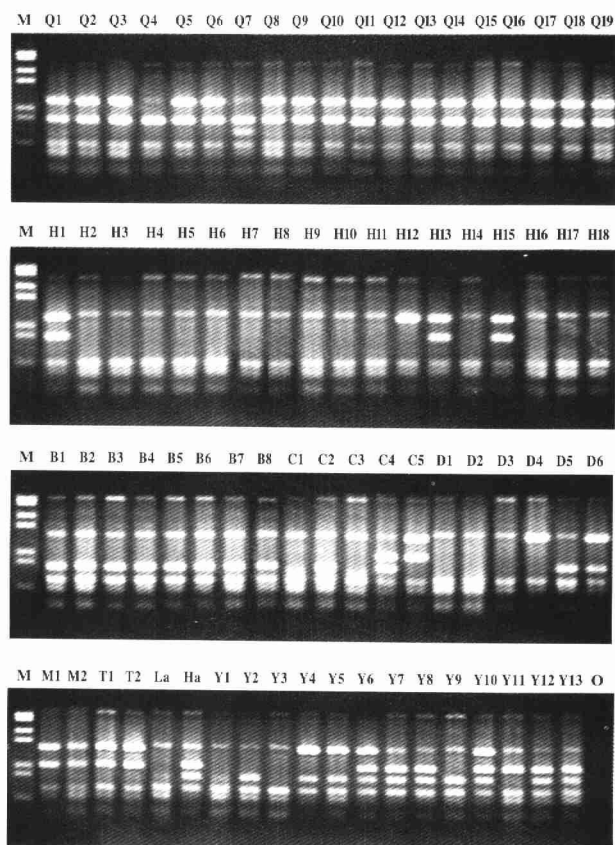
- 周良才,张碧玉,覃良,等. 1981. 罗汉果品种资源调查研究和利用意见[J]. 广西植物,1(3): 29-33.
- 钟仕强. 1990. 罗汉果的研究现状[J]. 广西农业科学, (4): 164-166.
- Blair MW, Panaud O, McCouch SR. 1999. Inter-simple sequence repeat (ISSR) amplification for analysis of microsatellite motif frequency and fingerprinting in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Theor Appl Genet*, **98**: 780-792.
- Cai JH(蔡健和), Qin BX(秦碧霞), Yu YB(余玉冰), et al. 2001. Virus identification of Luohanguo mosaic diseases(罗汉果花叶病原病毒鉴定) [J]. *Guangxi Sciences* (广西科学), **8**(1): 66-69.
- Doyle JJ, Doyle JL. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue [J]. *Phytochem Bull*, **19**: 11-15.
- Fang D Q, Roose ML. 1997. Identification of closely related citrus cultivars with inter-simple sequence repeat markers [J]. *Theor Appl Genet*, **95**: 408-417.
- Hang L(杭玲), Su GX(苏国秀), Xia YS(夏阳升), et al. 2003. Cultivation of tissue cultured seedlings of *Momordica grosvenori* (罗汉果组培苗栽培技术) [J]. *Guangxi Agr Sci* (广西农业科学), (6): 70-72.
- Li DP(李典鹏), Zhang HR(张厚瑞). 2000. Studies and uses of Chinese medicine Luohanguo—a special local product of Guangxi(广西特产植物罗汉果的研究与应用) [J]. *Guihaia* (广西植物), **20**(3): 270-276.
- Ma CZ(马朝芝), Fu YD(傅廷栋), Stine Tuevesson, et al. 2003. Genetic diversity of Chinese and Swedish rapeseed (*Brassica napus* L.) analysed by Inter-simple Sequence Repeats (ISSRs) (用 ISSR 标记技术分析中国和瑞典甘蓝型油菜的遗传多样性) [J]. *Sci Agr Sin* (中国农业科学), **36** (11): 1403-1408.
- Martins M, Tenreiro R, Oliveira MM. 2003. Genetic relatedness of Portuguese almond cultivars assessed by RAPD and ISSR markers [J]. *Plant Cell Rep*, **22**: 71-78.
- Nei M, Li WH. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, **76**: 5269-5273.
- Qian W(钱韦), Ge S(葛颂), Hong DY(洪德元). 2000. Assessment of genetic variation of *Oryza granulata* detected by RAPDs and ISSRs (采用 RAPD 和 ISSR 标记探讨中国疣粒野生稻的遗传多样性) [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), **42** (7): 741-750.
- Rohlf FJ. 1998. NTSYS-pc; Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Version 2.0 [M]. New York: Exeter Software.
- Si JY(斯建勇), Chen DH(陈迪华), Chang Q(常琪), et al. 1996. Isolation and determination of cucurbitaneglycosid from fresh fruits of *Siraitia grosvenorii* (罗汉果中三萜类的分离与结构测定) [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), **38**(6): 489-494.
- Tsumura Y, Ohba K, Strauss SH. 1996. Diversity and inheritance of inter-simple sequence polymorphisms in Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) and sugi (*Cryptomeria japonica*) [J]. *Theor Appl Genet*, **92**: 40-45.
- Yu LJ(余丽娟), Chen QB(陈全斌), Yi XH(义祥辉), et al. 2003. Preparation of mogrosin V from fresh fruits of Luohanguo by High Performance Liquid Chromatography (高效液相色谱法制备罗汉果甜甙 V 标准品) [J]. *Chinese Journal of Chromatography* (色谱), **21**(4): 397-399.
- Zietkiewicz E, Rafalski A, Labuda D. 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification [J]. *Genomics*, **20**: 176-183.

周俊亚, 等: 栽培罗汉果遗传多样性的 ISSR 分析

ZHOU Jun-ya, *et al.*: Genetic diversity of cultivated Luohanguo (*Siraitia grosvenorii*) based on ISSR marker

图版 I

Plate I



引物 UBC866 对 75 份样品的 ISSR 扩增图谱

M. 代表 DNA 标准分子量; O. 代表空白对照。

ISSR profiles amplified from DNA of 75 individuals using primer UBC866

M. represents DNA Marker(Lambda DNA/EcoR I + Hind III Marker); O. represents control