

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201405043

黄夕洋, 闫海锋, 李虹, 等. 三倍体罗汉果及其亲本的同工酶比较研究[J]. 广西植物, 2015, 35(6):802—806

Huang XY, Yan HF, Li H, et al. Comparative study on triploid *Siraitia grosvenorii* and their parents by isozymes analysis[J]. *Guihaia*, 2015, 35(6): 802—806

三倍体罗汉果及其亲本的同工酶比较研究

黄夕洋¹, 闫海锋^{1,2,3}, 李虹¹, 蒋水元^{1*}, 李锋^{1,4}

(1. 广西壮族自治区广西植物研究所, 广西 桂林 541006; 2. 广西大学农学院, 南宁 530000; 中国科学院
中国科学院
3. 广西农业科学院能源作物研究所, 南宁 530007; 4. 广西科学院, 南宁 530003)

摘要: 为了加快三倍体罗汉果育种的进程和效率, 进一步提高其亲本选择性, 该文对 F1 代 3x 罗汉果与其 4x 和 2x 亲本的过氧化物酶(POD)同工酶和酯酶(EST)同工酶进行了比较。结果表明: F1 代 3x 罗汉果与其 4x 和 2x 亲本的 POD 和 EST 同工酶均有一定差异, 3x 和 4x 的 POD 和 EST 同工酶不同迁移率的平均酶带数目较 2x 多, 酶带活性也较强; 4x 的 POD 同工酶数目较 3x 的多, 但 EST 同工酶两者差异较小; F1 代 3x 罗汉果的同工酶均出现了与其 4x 和 2x 亲本不同的新酶带, 预示着其可能具有的杂种优势; 聚类分析结果显示, F1 代 3x 罗汉果与其 4x 母本的遗传距离更近, 并且当 4x 母本间亲缘遗传关系较近时, 其 F1 代 3x 在亲缘遗传上也相聚较近, 说明 F1 代 3x 在亲缘遗传上更倾向于其 4x 母本。由于三倍体罗汉果育种亲本间存在杂种优势, 且更倾向于其母本遗传, 因此通过该研究可以初步总结出三倍体罗汉果及其父本、母本的遗传规律, 并提出罗汉果三倍体良种选育的建议, 即在 3x 罗汉果育种时需要更加关注 4x 母本的优良性状表现, 并以亲本的遗传背景为基础, 选择遗传差异较为显著的父本和母本。

关键词: 三倍体罗汉果; 亲本; 同工酶; 遗传距离

中图分类号: Q943, S668.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2015)06-0802-05

Comparative study on triploid *Siraitia grosvenorii* and their parents by isozymes analysis

HUANG Xi-Yang¹, YAN Hai-Feng^{1,2,3}, LI Hong¹, JIANG Shui-Yuan^{1*}, LI Feng^{1,4}

(1. *Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and the Chinese Academy of Sciences*, Guilin 541006, China; 2. *College of Agriculture, Guangxi University*, Nanning 530000, China; 3. *Bio-energy Crop Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences*, Nanning 530007, China; 4. *Guangxi Academy of Sciences*, Nanning 530003, China)

Abstract: In order to accelerate the process and efficiency of breeding triploid *Siraitia grosvenorii* by artificial method, and further improve the correctness in parents' selection, in this article the triploid *S. grosvenorii* of F1 generation was studied and compared with its tetraploid and diploid by Peroxidase Isozyme and Esterase Isozyme analysis. The results showed that there were certain variations in Peroxidase Isozyme and Esterase Isozyme in different ploidy *S. grosvenorii*. Compared with the diploid, triploid and tetraploid had the more different mobility isozyme band and more active isozyme band in Peroxidase Isozyme and Esterase Isozyme. Tetraploid had more different mobility isozyme bands than triploid in Peroxidase Isozyme, but they had little difference in isozyme band of Esterase Isozyme. The genetic distance of triploid descendant of F1 generation

收稿日期: 2014-08-27 修回日期: 2014-12-21

基金项目: 国家“十二五”科技支撑计划项目(2011BAI01B03); 广西回国基金(2011GXNSFC018022); 广西科学研究与技术开发计划项目(桂科攻 11107010-2-10, 桂科重 1355001-2-6, 14124002-9, 桂科能 1598025-40)。

作者简介: 黄夕洋(1981-), 女, 广西南宁人, 硕士, 副研究员, 主要从事药用植物学和分子生物学研究, (E-mail)hxy@gxib.cn。

*通讯作者: 蒋水元, 研究员, 研究方向为药用植物栽培与良种繁育, (E-mail)jsy@gxib.cn。

was closer to its female parent and at the same time, the genetic distance of different triploid descendants of F1 generation were closer to each other when their female tetraploid parents were closer as revealed through sample clustering analysis based on euclidean square distance index according to the data of peroxidase isozyme and esterase isozyme, so that the triploid descendant of F1 generation was genetically closer to its tetraploid female parent. Because it had heterosis in the parents of triploid *S. grosvenorii* and was genetically closer to female parent, based on this genetic law we could propose the following suggestions about the breeding of improved varieties in triploid *S. grosvenorii*. The suggestion was that we needed to pay more attention on the excellent character performance of tetraploid female parent in the breeding of triploid *S. grosvenorii*, and selected the genetic distance was more remarkable between the male and female parent based on the genetic background.

Key words: triploid *Siraitia grosvenorii*; parents; isozymes; genetic distance

同工酶是基因表达的直接产物,是指分子结构不同但催化同一反应的酶。植物在不同的生长发育阶段所含同工酶的种类和比例都不尽相同,同工酶在植物体内的表达具有组织特异性,但同时却又具有相对的稳定性。过氧化物酶同工酶(Peroxidase Isoenzyme, POD)和酯酶同工酶(Esterase Isoenzyme, EST)在高等植物生长发育过程中广泛存在,过氧化物酶同工酶(POD)在植物体内活性较高,主要与植物的光合作用、呼吸作用、生长素的氧化以及抗逆性等密切相关(庞赫等,2009);酯酶(EST)是非特异性酶,是一种复杂的酶系,一般为单体酶,它与植物的异化、转酯、解毒以及磷代谢等密切相关(何克勤等,2008)。近年来,同工酶标记技术已经应用于包括植物雌雄鉴别(李惠敏等,2007)、F1代真伪鉴定(谷丽佳等,2012;周文招,2013)、植物生长变化规律(张惠等,2012)、亲缘关系分析(区炳庆等,2003;王世华等,2011;胡欢等,2013;史鹏辉等,2014;隋益虎等,2014)、种间和居群间进化关系(夏齐平,2011)、杂种优势分析(戴渺鸿等,2008)等许多方面,其中以过氧化物酶同工酶和酯酶同工酶的应用最广泛。

本文中的三倍体罗汉果是由四倍体雌株与二倍体雄株杂交得到的后代,所以要获得优良的杂交三倍体罗汉果,必须大量地选择亲本和在杂交后代中进行海量的筛选。因此,为了加快育种进程和效率,进一步提高三倍体罗汉果植株的亲本选择,本研究通过对三倍体罗汉果植株与其母本的过氧化物酶(POD)同工酶和酯酶(EST)同工酶酶谱的比较研究,初步总结出三倍体罗汉果及其父本、母本遗传规律,并据此提出了三倍体罗汉果植株良种选育的建议,为加速高产量、高甜苷含量的优良无籽罗汉果新品种的选育提供酶学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

所用的罗汉果均种植于桂林兴安县漠川乡由广西植物研究所和亦元生现代生物技术有限公司共建的罗汉果种植基地,栽培管理措施相同,具体见表1,其中4x由相同品种的2x染色体加倍,并经细胞染色体鉴定后得到。表1中相同编号的罗汉果植株随机选取5株挂牌标记,于盛花期选择天气晴朗的上午随机采取5片相同编号植株的健康成熟叶片,用冰盒保存后带回实验室,在-20℃保存用于同工酶分析。

1.2 方法

过氧化物酶(POD)和酯酶(EST)同工酶采用聚丙烯酰胺凝胶电泳方法,参照李慧敏(2007)的方法进行,重复2次。对F1代3x罗汉果植株与父本、母本之间POD及EST同工酶的酶谱,根据其各自酶带的分布,分别计算相对迁移率Rf值和分布频率(汤加勇等,2008);绘制同工酶模式图,在相同迁移率处有酶带的记为1,无酶带的记为0,逐一转换为二项数据表,进行聚类分析。数据均使用SPSS(11.5版)软件分析。

2 结果与分析

2.1 POD同工酶

POD同工酶酶带的Rf值及分布频率见表2,模式图谱见图1。F1代3x罗汉果植株与其亲本4x、2x共29份材料分离出10条不同Rf值的酶带,其中酶带最少的是M206、F311和F308,仅有5条不同迁移率的酶带,最多的是F402,有9条不同迁

表 1 4x、2x 亲本和 F1 代 3x 罗汉果材料

Table 1 Materials of tetraploid, diploid and the triploid *Siraitia grosvenorii* of F1 generation

编号 No.	品种 Variety	倍性 Ploid	雌/雄 Male/ Female
M202	青皮果 1(♀伯林 3 号×♂科研 1 号 C 株系) Qingpiguo1(♀bolin3×♂keyan1 C)	2x	♂
M205	冬瓜果 Dongguagua	2x	♂
M206	长滩果 Changtanguo	2x	♂
M208	雄株 3 号 Male 3	2x	♂
M209	雄株 4 号 Male 4	2x	♂
M210	雄株 5 号 Male 5	2x	♂
M211	雄株 6 号 Male 6	2x	♂
M212	雄株 7 号 Male 7	2x	♂
F401	农家品系 Nongjia	4x	♀
F402	农院 B6 Nongyuan B6	4x	♀
F403	伯林 3 号 Bolin3	4x	♀
F405	永青 1 号 Yongqing1	4x	♀
F406	科研 1 号 C 株系 Keyan1-C	4x	♀
F301	♀ F403(4n)×♂ M205(2n)	3x	♀
F302	♀ F403(4n)×♂ M206(2n)	3x	♀
F305	♀ F406(4n)×♂ M205(2n)	3x	♀
F306	♀ F406(4n)×♂ M206(2n)	3x	♀
F308	♀ F406(4n)×♂ M202(2n)	3x	♀
F310	♀ F401(4n)×♂ M205(2n)	3x	♀
F311	♀ F401(4n)×♂ M206(2n)	3x	♀
F313	♀ F401(4n)×♂ M202(2n)	3x	♀
F314	♀ F402(4n)×♂ M205(2n)	3x	♀
F316	♀ F405(4n)×♂ M205(2n)	3x	♀
F322	♀ F403(4n)×♂ M208(2n)	3x	♀
F323	♀ F401(4n)×♂ M209(2n)	3x	♀
F324	♀ F406(4n)×♂ M209(2n)	3x	♀
F325	♀ F406(4n)×♂ M212(2n)	3x	♀
F326	♀ F406(4n)×♂ M208(2n)	3x	♀
F327	♀ F406(4n)×♂ M210(2n)	3x	♀
F328	♀ F406(4n)×♂ M211(2n)	3x	♀
F329	♀ F401(4n)×♂ M211(2n)	3x	♀
F330	♀ F402(4n)×♂ M208(2n)	3x	♀
F331	♀ F405(4n)×♂ M208(2n)	3x	♀

注：F 代表雌株，M 代表雄株。

Note: F means female and M means male.

移率的酶带。从酶带分布频率看，P1 分布频率最高，为 100%，P9 分布频率最低，为 7%，说明 F1 代 3x 与其亲本 4x、2x 在 POD 同工酶间存在一定差异。

2.2 EST 同工酶

EST 同工酶酶带的 Rf 值及分布频率见表 3，酶带模式图见图 2。结果显示，F1 代 3x 罗汉果与其亲本 4x、2x 共分离出 12 条不同迁移率的酶带，其中酶带最少的是 M206，有 6 条不同迁移率的酶带，酶带最多的是 F301、F302、F326、F327 和 F328，均有 11 条不同迁移率的酶带。从酶带数目来看，F1 代 3x 罗汉果与其 4x 母本间差异较小，在 12 条不同迁

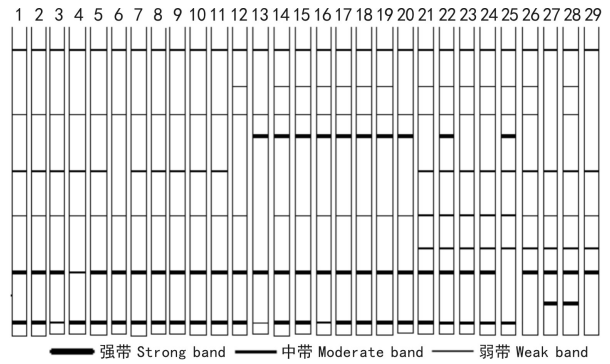


图 1 F1 代 3x 与其亲本 4x、2x 罗汉果 POD 同工酶模式
Fig. 1 Patterns of POD isozyme of the triploid of F1 generation, diploid and tetraploid *Siraitia grosvenorii* 1. F301; 2. F302; 3. F322; 4. F306; 5. F324; 6. F308; 7. F325; 8. F326; 9. F327; 10. F305; 11. F328; 12. F310; 13. F311; 14. F329; 15. F323; 16. F313; 17. F314; 18. F330; 19. F316; 20. F331; 21. F401; 22. F402; 23. F403; 24. F406; 25. F405; 26. M205; 27. M202; 28. M211; 29. M206.

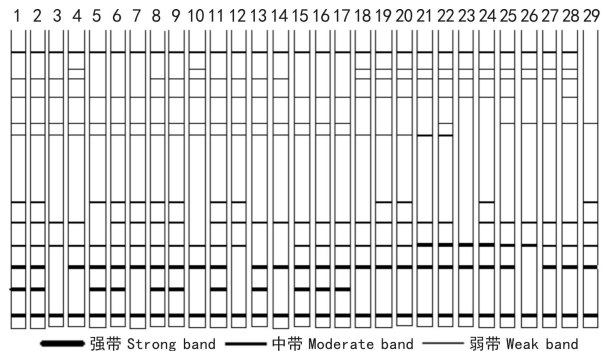


图 2 F1 代 3x 与其亲本 4x、2x 罗汉果 EST 同工酶模式
Fig. 2 Patterns of EST isozyme of the triploid of F1 generation, diploid and tetraploid *Siraitia grosvenorii* 1. F301; 2. F302; 3. 306; 5. F324; 6. F308; 7. F325; 8. F326; 9. F327; 10. F305; 11. F328; 12. F310; 13. F311; 14. F329; 15. F323; 16. F313; 17. F314; 18. F330; 19. F316; 20. F331; 21. F401; 22. F402; 23. F403; 24. F406; 25. F405; 26. M205; 27. M202; 28. M211; 29. M206.

移率的条带中，酶带 E12 为所有材料所共有，分布频率也最高，为 100%，带 E11 分布频率最低，为 37.9%。总体来看，F1 代 3x 罗汉果与其亲本 4x、2x 在 EST 同工酶间也存在一定差异。

2.3 同工酶聚类分析

依据 POD 同工酶与 EST 同工酶数据，采用基于欧式平方距离的样本聚类分析，不同样本间用最近距离法连接，结果见图 3。从图 3 可以看出，F301 [♀ F403(4n)×♂ M205(2n)]，F302 [♀ F403(4n)×♂ M206(2n)]，F305 [♀ F406(4n)×♂ M205

表 2 POD 同工酶酶带的 Rf 值及分布频率

Table 2 Rf value and distribution frequency of POD isozyme bands

酶带 Isozyme bands	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
Rf	0.021	0.35	0.41	0.45	0.6	0.65	0.68	0.7	0.72	0.74
频率 Distribution frequency (%)	100	48.3	93.1	34.5	65.5	96.6	31	96.6	7	75.9

表 3 EST 同工酶酶带的 Rf 值及分布频率

Table 3 Rf value and distribution frequency of EST isozyme bands

酶带 Isozyme bands	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12
Rf	0.06	0.11	0.2	0.22	0.32	0.4	0.7	0.8	0.8	0.88	0.91	0.94
频率 Distribution frequency (%)	96.6	44.8	76	89.7	79.3	76	45	90	93	86.2	37.9	100

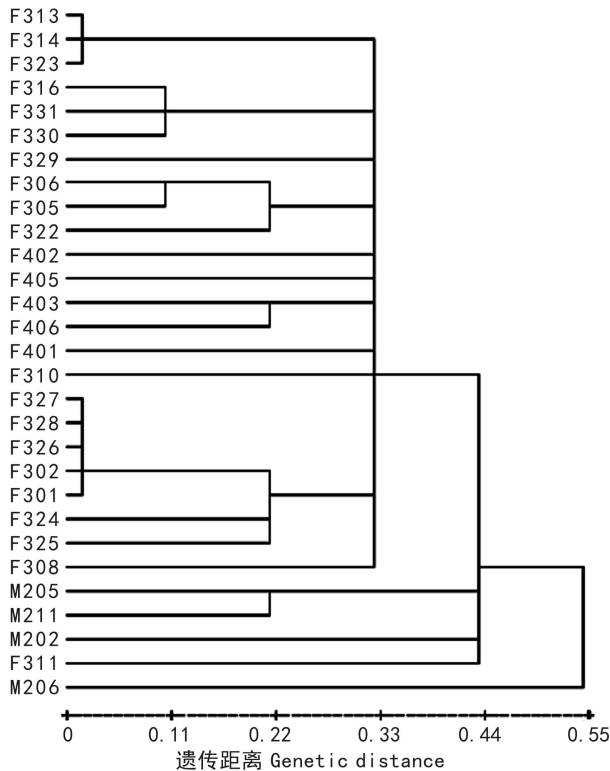


图 3 F1 代 3x 与其亲本 4x、2x 罗汉果同工酶聚类图
Fig. 3 Clustre graph of isozymes among the triploid of F1 generation, diploid and tetraploid *Siraitia grosvenorii*

(2n)], F306[♀ F406(4n) × ♂ M206(2n)], F308[♀ F406(4n) × ♂ M202(2n)], F310[♀ F401(4n) × ♂ M205(2n)], F311[♀ F401(4n) × ♂ M206(2n)], F313[♀ F401(4n) × ♂ M202(2n)], F314[♀ F402(4n) × ♂ M205(2n)], F316[♀ F405(4n) × ♂ M205(2n)], F328[♀ F406(4n) × ♂ M211(2n)], F329[♀ F401(4n) × ♂ M211(2n)], 此 12 个 F1 代 3x 均先于其 4x 母本相聚, 后再与其 2x 父本相聚, 说明此 12 个 F1 代 3x 罗汉果与其 4x 母本遗传距离更近, 其余 8 个 F1 代 3x 罗汉果由于缺少 2x 父本(死亡),

其相互间遗传距离在图中并未得到反映。

从图 3 还可看出, 四倍体 F403 与 F406 之间相聚最近, 说明其亲缘遗传关系较近, 其 F1 代 3x 聚类情况为 F301 [♀ F403(4n) × ♂ M205(2n)], F302 [♀ F403(4n) × ♂ M206(2n)], F326 [♀ F406(4n) × ♂ M208(2n)], F327 [♀ F406(4n) × ♂ M210(2n)], F328 [♀ F406(4n) × ♂ M211(2n)] 之间首先聚为一类, F305 [♀ F406(4n) × ♂ M205(2n)], F306 [♀ F406(4n) × ♂ M206(2n)] 和 F322 [♀ F403(4n) × ♂ M208(2n)] 之间也首先相聚, 说明当 4x 母本亲缘关系较近时其 F1 代 3x 的遗传和亲缘关系也较相近。综上可以初步推断, F1 代 3x 与其 4x 母本的遗传距离更近。

此外, 从图 3 还反映出 F1 代 3x 罗汉果之间亲缘遗传关系的远近, 如 F313 与 F314、F323 之间, F316 与 F330、F331 之间亲缘关系均较近。

3 讨论与结论

同工酶的差异来源于基因结构和数目的差异, 对于多倍体而言, 随着基因拷贝数的增加, 基因表达的产物-酶随之变化, 所以酶谱中不同迁移率的酶带数目和酶带强弱出现不同变化。通过对酶谱差异的研究可反映基因的表达规律, 从而可以在分子水平揭示出物种的遗传基础及变异变化情况。过氧化物酶同工酶, 特别是酯酶同工酶因其具有多态性强, 表达相对稳定, 与植物多种代谢活动和生长密切相关等特点而被广泛应用植物亲缘和遗传变异鉴定, 近年来在药用植物中的应用如谢贤明等(2009)、韩凤等(2011)、易刚强等(2012)应用 POD、EST 分别研究了白花前胡、半夏、栀子的遗传差异和遗传多样性, 李慧等(2011)对 8 个地区的药材续断进行过氧

化物同工酶的聚类分析,邓家彬等(2011)探讨姜黄属(*Curcuma*)6种郁金类药用植物的种间及其种内不同居群间的亲缘关系。

本研究通过对F1代3x罗汉果与其4x和2x亲本的POD和EST同工酶聚丙烯酰胺凝胶电泳结果分析得出,F1代3x罗汉果与其4x和2x亲本的POD和EST同工酶均有一定差异,3x和4x的POD和EST同工酶不同迁移率的平均酶带数目较2x多,酶带活性也较强;4x的POD同工酶数目较3x的多,但EST同工酶两者差异较小;F1代3x罗汉果的POD和EST同工酶均出现了与其4x和2x亲本不同的新酶带,预示着其可能具有的杂种优势(程昕昕等,2007);通过聚类分析结果显示出F1代3x罗汉果与其4x母本的遗传距离更近,说明3x在亲缘遗传上更倾向于其4x母本,这与韦荣昌(2010)对F1代3x罗汉果与其4x和2x亲本进行ISSR分子标记后得出的结论一致,因此说明通过POD和EST同工酶分析F1代3x罗汉果与其4x和2x亲本的遗传变异情况是可行的,并且同工酶电泳技术比分子标记技术更加方便、迅速,价格也更低廉。

同工酶的变化会引起植物外部形态特征的相应变化,植物外部形态特征变化与其同工酶具有一定相关性(雷春等,2005),通过之前的研究可知,3x罗汉果与其4x母本的农艺性状特征较为接近,这与同工酶分析得出的3x罗汉果在亲缘遗传上更倾向于其4x母本的结果一致。

3x罗汉果在亲缘遗传上更倾向于其4x母本,提示在3x罗汉果育种时要更加注重对4x母本的选择,具体育种时要以亲本的遗传背景作为基础,选择父母本间遗传差异较为显著,4x母本在营养生长、果实、果形、生殖、产量、叶柄长、子房横径因子等方面表现较好且开花结实较早、抗病性较强的品系作为杂交组合。

参考文献:

Cheng XX(程昕昕),Wei ZZ(魏治中). 2007. The application of esterase isoenzyme in tobacco distant hybridization(酯酶同工酶在烟草远缘杂种早代中的应用)[J]. *J Biol*(生物学杂志), **24**(1):59-61

Dai MH(戴渺鸿),Du KB(杜克兵),Xu L(许林),et al. 2008. Study on peroxidase isozyme of leaves between parents and progenies of *Populus L.* (杨树亲-子代叶片的过氧化物酶同工酶分析)[J]. *J Hubei For Sci & Technol*(湖北林业科技),**6**:1-6

Deng JB(邓家彬),Gou L(苟琳),Ding CB(丁春邦),et al. 2011. Analysis on three isozymes in plants of *Curcuma L.* (姜黄属药用植物的3种同工酶分析)[J]. *Chin Trad & Herb Drugs*(中

草药),**42**(2):342-352

Gu LJ(谷丽佳),Wang WH(王文和),Wang SD(王树栋),et al. 2012. Identification F1 hybrid of Lily by isozyme analysis(同工酶分析法鉴定百合杂种F1代)[J]. *Chin Agricul Sci Bull*(中国农学通报),**28**(01):148-152

Han F(韩凤),Wei P(韦波),Feng XL(封孝兰),et al. 2011. Analysis of isozyme in different leaf types of *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit(不同类型栽培半夏同工酶分析)[J]. *Hunan Agric Sci*(湖南农业科学),**(9)**:17-18,19

He KQ(何克勤),Cheng XX(程昕昕). 2008. The analysis of esterase isozyme in different maize species (不同玉米品种间酯酶同工酶的分析)[J]. *Chin Agric Sci Bull* (中国农学通报), **24**(4):221-224

Hu H(胡欢),Yang SZ(杨述章),Li ZF(李仲芳),et al. 2013. Analysis on peroxidase isoenzyme in 30 varieties of *Camellia* (30种茶花过氧化物酶同工酶分析)[J]. *J Sichuan Normal Univ:Nat Sci Ed* (四川师范大学学报·自然科学版),**36**(2):296-301

Lei C(雷春),Chen JF(陈劲枫),Zhang XQ(张晓青),et al. 2005. Morphologies and several physiological and biochemical indexes of cucumbers (*Cucumis sativus L.*) with different ploidy (不同倍性黄瓜的形态和生理生化指标比较)[J]. *Plant Physiol Comm*(植物生理学通讯),**41**(4):473-474

Li H(李慧),Ding L(丁莉),Wu Y(武芸),et al. 2011. Peroxidase isozyme analysis on different origin herbs of *Dipsacus asperoides* (不同产地逆地药材续断的过氧化物同工酶分析)[J]. *Jiangsu Agric Sci* (江苏农业科学),**(2)**:79-281

Li HM(李惠敏),Huang XY(黄夕洋),Gao CW(高成伟),et al. 2007. Sex identification of *Siraitia grosvenorii* by isozyme analysis (罗汉果雌雄株同工酶性别鉴定研究)[J]. *Guihaia* (广西植物), **27**(5):792-795

Liu H(刘辉),Chen CX(陈纯贤),Sun JS(孙敬三),et al. 1996. Electrophoretic survey of proteins and esterase isozyme in wheat × maize progenies(小麦×玉米杂交后代的蛋白质及酯酶同工酶分析)[J]. *Acta Bot Sin*(植物学报), **38**(5):357-361

Ou BQ(区炳庆),Ren JJ(任吉君),He LL(何丽烂). 2003. Comparative study of isozymes of peroxidase and polyphenol oxidase in the cultivars of pumpkin (不同品种南瓜POD及PPO同工酶的比较研究)[J]. *J Wuhan Bot Res*(武汉植物学研究), **21**(1):77-80

Pang H(庞赫),Guo TJ(郭太君). 2009. Analysis on classification by the peroxidase isozyme technique in filial generation of *Clivia Lindl.* (君子兰杂交后代过氧化物酶同工酶酶谱多样性分析)[J]. *Northern Hortic*(北方园艺),**(5)**:38-41

Shi PH(史鹏辉),Liu ZG(刘自刚),Zhang YS(张亚宏),et al. 2014. Analysis on antioxidant enzyme activities and peroxidase isozymes in 23 rape cultivars(23份油菜的抗氧化酶特性及过氧化物同工酶分析)[J]. *Acta Agric Boreal-Occident Sin*(西北农业学报),**23**(1):113-119

Sui YH(隋益虎),Li M(李敏),Hu NB(胡能兵),et al. 2014. Genetic diversity among 32 germplasms of the Genus *capsicum* by isozyme analysis(32份辣椒种质遗传多样性的同工酶分析)[J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*(西北植物学报),**34**(5):908-914

Tang JY(汤加勇),Li QM(李青苗),Yang RW(杨瑞武),et al. 2008. Study on isozymes in six species of *Curcuma* (6中郁金类药用植物的同工酶研究)[J]. *Chin J Chin Mat Med* (中国中药杂志), **33**(12):1381-1386

(下转第841页 Continue on page 841)