

• 药材与资源 •

矩唇石斛居群遗传多样性分析及 DNA 指纹图谱构建

殷文忆^{1,2}, 黄昌艳¹, 陆顺教³, 邓杰玲¹, 黄玉红⁴, 李 还², 崔学强^{1*}, 张自斌^{1*}

1. 广西壮族自治区农业科学院花卉研究所, 广西 南宁 530007

2. 广西大学林学院, 亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室, 广西 南宁 530004

3. 中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所, 海南 海口 571101

4. 南宁青秀山花卉有限责任公司, 广西 南宁 530000

摘要: 目的 采用 iPBS 分子标记技术, 分析 32 份不同地区矩唇石斛 *Dendrobium linawianum* 种质资源的遗传多样性及分化关系。方法 构建“0, 1”矩阵, 通过 NTSYS-pc 2.10e 计算遗传相似系数 (G_s) 并构建 UPGMA 聚类树状图, 利用 Popgene 1.32 计算各项遗传多样性指数。结果 6 条 iPBS 引物共扩增出 84 条清晰条带, 其中多态性条带 76 条, 多态性比率 90.48%, 平均多态信息含量 (polymorphism information content, PIC) 0.46; G_s 变化范围为 0.547 6~0.965 5, 平均值为 0.766 8, G_s 为 0.732 时, 32 份种质分为 4 个类群; 居群平均观测等位基因数 (observed number of alleles, N_a)、平均有效等位基因数 (effective number of alleles, N_e)、Nei's 基因多样性指数 (Nei's gene diversity index, h)、Shannon 多样性信息指数 (Shannon information index, I) 分别为 1.631 0、1.381 6、0.219 0、0.326 7; 居群遗传结构分析显示, 基因多样性 (total genetic diversity, H_t)、各居群基因分化系数 (gene diversity within population, H_s)、居群间遗传分化系数 (coefficient of gene differentiation, G_{st}) 分别为 0.281 3、0.219 0、0.221 3, 居群间遗传变异占总变异的 22.13%, 居群内遗传变异占总变异的 77.87%, 说明遗传变异主要来源于居群内。此外, 基于 6 条引物的 19 个多态位点成功构建了 32 份种质的 DNA 指纹图谱, 为矩唇石斛品种分类与鉴定提供了参考。结论 矩唇石斛居群内遗传多样性高于居群间, 遗传变异以居群内为主, 且种质资源的遗传分化特征与地理分布具有显著相关性。明确了矩唇石斛不同种质间的遗传关系及其居群遗传多样性特征, 可为该物种种质资源的科学保护与可持续利用提供理论依据。

关键词: 矩唇石斛; 种质资源; iPBS 标记; 亲缘关系; 遗传多样性

中图分类号: R282.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)09-3530-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.09.021

Genetic diversity analysis and DNA fingerprint construction of *Dendrobium linawianum* populations

YIN Wenyi^{1, 2}, HUANG Changyan¹, LU Shunjiao³, DENG Jieling¹, HUANG Yuhong⁴, LI Huan², CUI Xueqiang¹, ZHANG Zibin¹

1. Flower Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China

2. State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Subtropical Agro-Bioresources, College of Forestry, Guangxi University, Nanning 530004, China

3. Tropical Crops Genetic Resources Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China

4. Nanning Qingxiu Mountain Flowers Co., Ltd., Nanning 530000, China

Abstract: Objective This study employed iPBS molecular marker technology to analyze the genetic diversity and genetic differentiation relationships among 32 *Dendrobium linawianum* germplasm resources from different regions. **Methods** A “0, 1” matrix was constructed

收稿日期: 2025-12-02

基金项目: 广西重点研发计划项目 (桂科 AB21220056); 广西自然科学基金项目 (2020GXNSFBA297021); 设施与休闲农业产业科技先锋队 (桂农科盟 202512); 广西特色作物试验站建设 (TS202218)

作者简介: 殷文忆, 硕士研究生, 研究方向为园林植物资源与应用。E-mail: 172966801@qq.com

*通信作者: 崔学强, 硕士, 副研究员, 从事兰科植物遗传育种与分子生物学研究。E-mail: yncuixueqiang@126.com

张自斌, 博士, 研究员, 从事兰科植物育种研究。E-mail: candou154@126.com

using Excel 2016, and the genetic similarity coefficient (G_s) was calculated using NTSYS-pc 2.10e to construct a UPGMA cluster dendrogram. Additionally, various genetic diversity indices were calculated using Popgene 1.32. **Results** A total of 84 clear bands were amplified from the six selected iPBS primers, including 76 polymorphic bands, with a polymorphism rate of 90.48% and an average polymorphism information content (PIC) of 0.46, indicating high polymorphism of the iPBS primers. The genetic similarity coefficients ranged from 0.547 6 to 0.965 5, with an average of 0.766 8. At a genetic similarity coefficient of 0.732, the 32 germplasm samples were classified into four populations. The average observed allele number (N_a), average effective allele number (N_e), Nei's genetic diversity index (h), and Shannon diversity information index (I) were 1.631 0, 1.381 6, 0.219 0, and 0.326 7, respectively. Genetic structure analysis revealed that the genetic diversity (H_t), gene differentiation coefficients (H_s) among populations, and genetic differentiation coefficients (G_{st}) were 0.281 3, 0.219 0, and 0.221 3, respectively. Genetic variation among populations accounted for 22.13% of total variation, while genetic variation within populations accounted for 77.87%, indicating that genetic variation was primarily derived from within populations. Furthermore, DNA fingerprinting of 32 germplasm resources was successfully constructed based on 19 polymorphic loci with six primers, which provided a reference for the classification and identification of *D. linawianum*. **Conclusion** The genetic diversity of *D. linawianum* was significantly lower between populations than within populations, and the genetic variation was mainly within populations. The genetic differentiation characteristics of germplasm resources are significantly correlated with their geographical distribution patterns. This study not only elucidates the genetic relationships among different germplasm of *D. linawianum* and the characteristics of population genetic diversity, but also provides an important theoretical basis for the subsequent scientific conservation and sustainable utilization of *D. linawianum* germplasm resources.

Key words: *Dendrobium linawianum* Rchb. f.; germplasm resources; iPBS markers; phylogenetic relationships; genetic diversity

短唇石斛 *Dendrobium linawianum* Rchb. f. 是一种附生性兰科植物, 隶属于兰科石斛属^[1]。主要分布于中国广西、广东、台湾等地的中低海拔山区, 常生长在潮湿的森林树干或岩石上, 偏好温暖湿润、半阴的环境。其花被片基部呈白色, 末梢渐变为紫色并具弯曲形态, 这种显著的色彩过渡与形态特征增强了该物种的观赏性^[2]。石斛属植物在亚洲国家作为药用植物已有数千年的历史^[3]。石斛茎中含有多种次生代谢产物, 如生物碱和黄酮类化合物, 具有抗炎、抗菌、免疫调节、抗肿瘤和抗氧化等多种药理活性^[4-5]。短唇石斛作为石斛属的重要成员, 兼具药用潜力与观赏价值, 然而受栖息地碎片化、生境退化及长期过度采挖等因素影响, 其野生种群资源正面临严重的衰退和灭绝风险^[6]。因此, 开展短唇石斛种质资源遗传多样性分析及指纹图谱构建研究, 对其资源鉴定、保护与可持续利用具有重要的科学意义。

随着分子生物学技术的快速发展, 多种分子标记技术已被广泛应用于石斛属植物的系统分类、种质资源保护和遗传育种研究^[7-9]。本研究采用的 iPBS (inter-primer binding site) 分子标记技术是一

种基于反转录转座子的新型分子标记方法^[10], 其通过扩增植物基因组中广泛存在的反转录转座子保守序列, 可有效检测不同个体间的基因组多态性^[11-12]。该技术已在多种药用植物研究中展现出良好的应用价值, 如中国吴茱萸 *Tetradium ruticarpum* (A. Juss.) T. G. Hartley 种质资源遗传多样性评估^[13] 和山植属植物遗传结构分析^[14]。此外, 在观赏植物研究领域, iPBS 标记技术已成功应用于万代兰^[15]、石斛兰^[16]和牡丹^[17]等物种的遗传多样性分析、亲缘关系鉴定及遗传图谱构建等研究。这些研究成果为本研究开展短唇石斛种质资源遗传多样性分析及保护利用研究提供了可靠的技术支撑和理论依据。

1 材料与试剂

1.1 材料

本研究所使用的 32 份短唇石斛植株样品采集于广西的天等县、德保县和靖西县, 共 3 个局部居群, 居群编号见表 1。但由于短唇石斛分布较为局限, 本研究在广西 3 个主要分布县各选择了 1 个典型的、植株相对集中的野生分布点进行采样。每个采集点的样本视为 1 个取样单元, 用于初步探讨不

表 1 短唇石斛居群取样点地理位置信息

Table 1 Geographical location information of sampling point of *Dendrobium linawianum* populations

居群编号	采样点	经度 (E)	纬度 (N)	海拔/m	样本数
T1~T14	广西天等	107°14'	23°08'	450~650	14
D1~D11	广西德保	106°62'	23°33'	540~600	11
J1~J7	广西靖西	106°42'	23°13'	730~740	7

同分布点间的遗传差异。每个采样点取 7~14 株健康生长 3 年以上的植株幼嫩叶片，装入密封袋并做好标记，保存于冰盒中，及时带回实验室，采用液氮速冻，用于基因组 DNA 的提取。

1.2 仪器

EasyPure® Genomic DNA Kit 试剂盒(北京全式金生物技术有限公司), 2×EasyTaq® PCR SuperMix (康为世纪生物技术有限公司), Tra-ns 2K DNA Maker (北京全式金生物技术有限公司), 50×TAE 缓冲液(国拓生物技术有限公司), 琼脂粉(上海生物工程技术有限公司)。

H1650-W 型常温离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司), DYY-6D 型电泳仪(北京六一生物技术有限公司), GEL DOCXR 全自动凝胶成像系统(上海勤翔科学仪器有限公司), TC-96/G/H(b)C 型 LifeECO 基因扩增仪(杭州博日科技有限公司), HWS-26 型电热恒温水浴锅(上海一恒科学仪器有限公司), UV-5500 (PC) 型紫外分光光度计(上海元析仪器有限公司)。

2 方法

2.1 基因组 DNA 提取与检测

32 份样品基因组 DNA 采用 EasyPure Genomic DNA Kit (北京全式金生物技术有限公司) 试剂盒提取, 用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的完整性, 并用紫外分光光度计检测其浓度和纯度, 将提取的 DNA 用 TE 缓冲液稀释质量浓度至 20 ng/μL, 放-20 °C 冰箱保存备用。

2.2 引物筛选及 iPBS-PCR 扩增

试验采用的引物序列选用 Kalendar 于 2010 年发表的 83 个 iPBS 引物序列^[8], 引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。从中筛选出扩增条带清晰、多态性高、稳定性强的引物对供试样品进行 PCR 扩增(表 2)。PCR 反应总体系为 20 μL, 其中 2×EasyTaq® PCR SuperMix 10 μL、模板 DNA 1 μL、引物 1 μL、无菌水 8 μL。PCR 扩增程序为: 94 °C 预变性 4 min; 94 °C 变性 1 min, 50 °C (不同引物退火温度见表 2) 退火 45s, 72 °C 1 min, 35 个循环; 72 °C 延伸 7 min, 扩增产物放置于 4 °C

表 2 6 条 iPBS 引物的扩增结果

Table 2 Amplification results of six iPBS primers

引物	序列(5'-3')	退火温度/°C	总条带数	多态性条带	PPB/%	PIC
2076	GCTCCGATGCCA	44	15	12	80.00	0.48
2246	ACTAGGCTCTGTATACCA	44	14	13	92.86	0.47
2272	GGCTCAGATGCCA	44	13	12	92.31	0.48
2373	GAACCTTGCTCCGATGCCA	52	14	13	92.86	0.48
2383	GCATGGCCTCCA	44	14	12	85.71	0.41
2398	GAACCCTTGCCGATACCA	51	14	14	100.00	0.46
总计	-	-	84	76	-	-
平均值	-	-	14	12.67	90.48	0.46

冰箱中保存。取 10 μL PCR 扩增产物用 1.0% 琼脂糖凝胶进行电泳检测。

2.3 数据处理

根据扩增产物的电泳图谱, 同一迁移位置上有条带的记“1”, 无条带的记为“0”。将扩增引物记录的条带构建“0, 1”矩阵。采用 NTSYS-pc 2.1 统计软件进行数据分析, 采用 UPGMA 方法聚类, 建立树状图。利用 POPGENE 32 软件计算平均观测等位基因数 (observed number of alleles, N_a)、平均有效等位基因数 (effective number of alleles, N_e)、Nei's 基因多样性指数 (Nei's gene diversity index, h)、Shannon 多样性信息指数 (Shannon information index, I) 及遗传分化参数: 基因多样性 (total genetic diversity, H_T)、各居群基因分化系数 (gene diversity

within population, H_s)、总居群基因分化系数 (coefficient of gene differentiation, G_{st})、居群间基因流 (gene flow, N_m)、遗传一致度和无偏遗传距离, 分析其亲缘关系的远近。平均多态信息含量 (polymorphism information content, PIC) 根据 De Riek 等的方法计算, 其中 f 是标记的频率。

$$PIC = 1 - [f^2 + (1-f)^2]$$

扩增后的条带信息在 Excel 2016 中分别以“0”和“1”表示“无条带”和“有条带”, 形成一组 DNA 指纹图谱。

3 结果与分析

3.1 iPBS 引物筛选与多态性分析

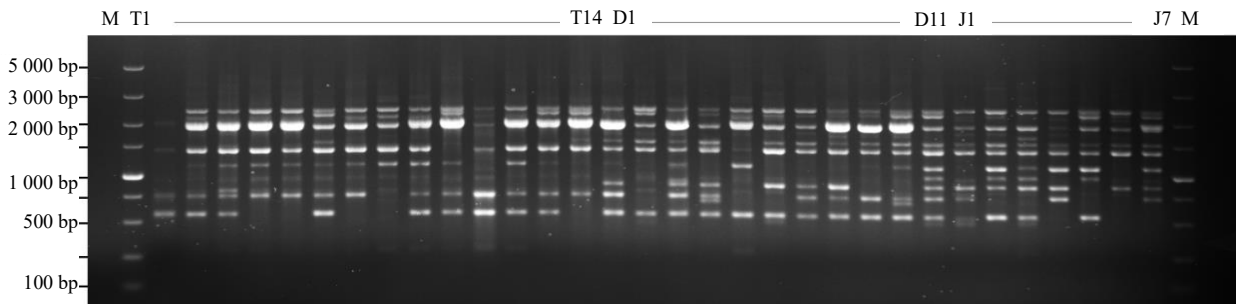
通过前期引物筛选实验, 本研究最终确定 2076、2246、2272、2373、2383 和 2398 共 6 个多态性高、

条带清晰的 iPBS 引物, 用于 32 份矩唇石斛样本的 PCR 扩增分析。如图 1 所示, 扩增产物经琼脂糖凝胶电泳检测显示良好的多态性特征。在表 2 中详细列出了各引物的扩增参数: 引物多态性百分率 (PPB) 介于 80.00%~100.00%, 其中 2398 引物表现出最高的多态性, 为 100.00%, 而 2076 引物多态性相对较低, 则为 80.00%。全部引物共扩增出 84 条清晰条带, 其中 76 条具有多态性, 总多态性条带比例达 90.48%。统计分析显示, 单个引物平均扩增条带数为 14 条, 平均多态性条带数为 12.67 条。各引物的 PIC 值分布

在 0.41~0.48 (平均 PIC=0.46), 变异幅度较小, 表明 iPBS 引物具有较高的多态性。

3.2 不同地区矩唇石斛居群聚类分析

基于 NTSYS 软件的 UPGMA 聚类分析结果表明 (图 2), 32 份矩唇石斛种质在遗传距离 0.732 处可划分为 4 大类群。第 I 类群包含 13 份天等居群种质 (T1~T13) 和 1 份德保居群种质 (D5); 第 II 类群由 9 份德保居群种质 (D1~D4, D7~D11)、1 份天等居群种质 (T14) 和 1 份靖西居群种质 (J7) 组成; 第 III 类群包括 5 份靖西居群种质 (J2~J6) 和 1 份德保居群种



M-Marker; T1~J7-编号同表 1。

M-Marker; T1~J7-Number same as table 1.

图 1 引物 2373 对 32 份种质资源基因组 DNA 扩增电泳图

Fig. 1 Electrophoresis of amplified genetic DNA for 32 germplasm resources using primer 2373

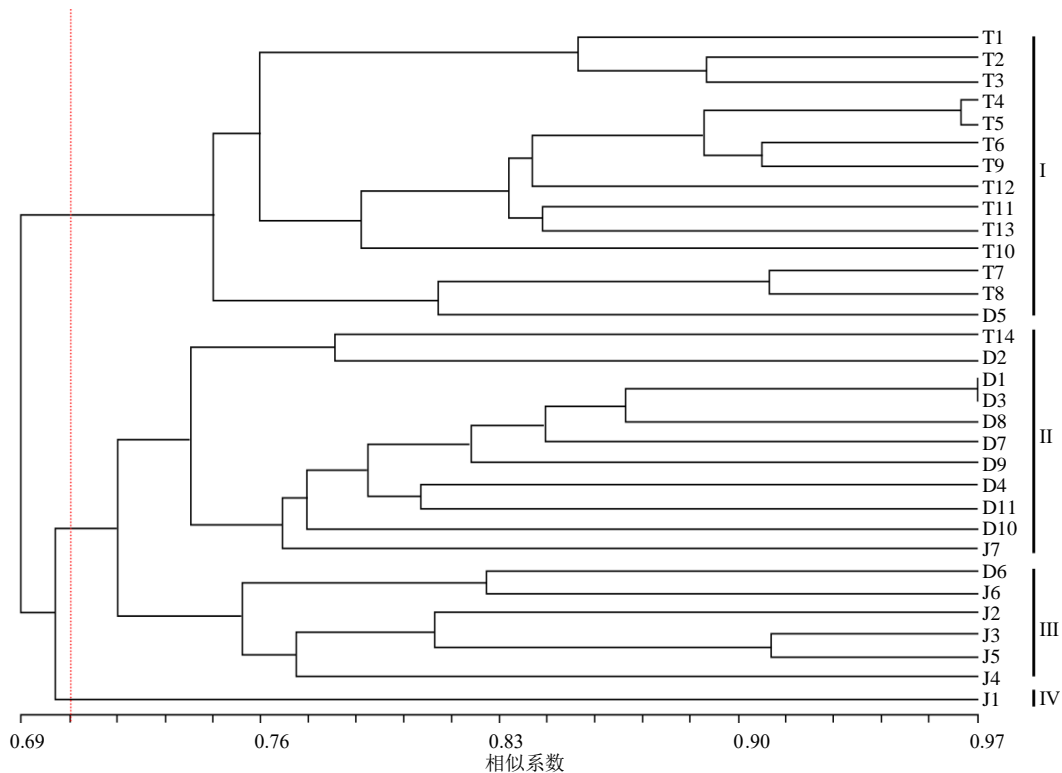


图 2 矩唇石斛居群树状聚类图

Fig. 2 Tree clustering diagram of *D. linawianum* populations

质(D6);第IV类群仅含1份靖西居群种质(J1)。聚类分析显示,种质资源的遗传聚类与其地理来源具有显著相关性,表现出明显的地理区域特性。

遗传多样性分析结果显示,32份矩唇石斛种质间的 G_s 为 0.547 6~0.965 5, 变异幅度达 0.417 9, 平均相似系数为 0.766 8, 表明供试材料具有较宽的遗传基础。在个体水平上,天等居群 T1 个体与靖西居群 J4 个体间的 G_{st} 最低(0.547 6), 亲缘关系最远;而德保居群 D1 与 D3 个体间的遗传相似系数最高(0.965 5), 亲缘关系最近。居群水平的分析表明,天等居群种质间的 G_s 为 0.623 4~0.961 0, 德保居群为 0.659 3~0.965 5, 靖西居群则为 0.659 1~0.907 2, 进一步证实了不同地理居群间存

在显著的遗传分化。

3.3 种质及居群间遗传分化

基于 Popgene 软件的遗传多样性分析结果(表3)显示,矩唇石斛3个居群的遗传多样性参数存在一定差异。在种群水平上,各居群 N_a 的分布范围为 1.571 4~1.631 0, 均值为 1.631 0, N_e 为 1.337 9~1.411 6, 均值为 1.381 6, h 为 0.195 0~0.232 9, 均值为 0.219 0, I 为 0.291 5~0.344 3, 均值为 0.326 7。进一步分析表明,德保和靖西居群表现出较高的遗传多样性水平,且两者间多样性水平相近;而天等居群的遗传多样性相对较低,但与前述2居群的差异幅度较小($\Delta h=0.03\sim 0.05$; $\Delta I=0.04\sim 0.05$)。这一结果揭示了矩唇石斛不同地理居群间存在细微但显著的遗传分化特征。

表3 矩唇石斛各居群遗传多样性指数

Table 3 Genetic diversity indices of each population of *D. linawianum*

居群	N_a	N_e	h	I
天等	1.571 4±0.497 8	1.337 9±0.385 3	0.195 0±0.204 3	0.291 5±0.289 8
德保	1.690 5±0.465 1	1.395 3±0.386 0	0.229 1±0.200 6	0.344 3±0.279 9
靖西	1.631 0±0.485 4	1.411 6±0.404 2	0.232 9±0.209 5	0.344 2±0.294 0

基于 Popgene 1.32 软件的遗传结构分析结果表明,矩唇石斛3个居群的 H_t 为 0.281 3, H_s 为 0.219 0。 G_{st} 分析显示,居群间遗传变异占总变异的 22.13%, 而居群内遗传变异占比达 77.87%, 表明矩唇石斛的遗传变异主要来源于居群内部,其变异程度约为居群间变异的 3 倍。基因流分析显示 N_m 值为 1.759 7 ($N_m > 1$), 证实居群间存在频繁的基因交流,遗传分化程度相对较低。

采用 Nei's 方法计算的居群间遗传关系参数(表4)显示,两两居群间的遗传一致度介于 0.872 5~0.909 9, 均值为 0.894 6, 相应的遗传距离范围为 0.094 4~0.136 4, 均值为 0.111 6。其中,靖西居群与德保居群表现出最高的遗传一致度($GI=0.909 9$)和最低的遗传距离($GD=0.094 4$), 表明二者具有较

近的亲缘关系;而靖西居群与天等居群则显示出最低的遗传一致度($GI=0.872 5$)和最大的遗传距离($GD=0.136 4$), 反映其相对较远的遗传关系。这一结果进一步证实了矩唇石斛不同地理居群间存在明显的遗传分化格局。

3.4 DNA 指纹图谱构建

经过前期实验筛选,选取出 2076、2246、2272、2373、2383、2398 共 6 个引物对矩唇石斛样本基因组 DNA 进行 iPBS-PCR 扩增,发现 6 个引物均不能单独鉴别 32 份种质,因此,采用引物组合法,选取各引物扩增多态性较高的 19 个多态位点共同构建矩唇石斛 DNA 指纹图谱。矩唇石斛 32 份种质 DNA 指纹图谱如图 3 所示。该图谱可有效区分矩唇石斛种质。

4 讨论

iPBS 标记技术是一种基于逆转录转座子的分子标记技术,它通过在基因组中逆转录转座子插入位点之间的区域进行扩增,从而检测基因组中的多态性^[10]。该方法不需要预先了解基因组序列信息,操作相对简便,成本较低,因此在植物遗传多样性研究中得到广泛应^[17-20]。

矩唇石斛是我国特有的珍稀濒危兰科植物,兼具重要的观赏和药用价值^[21]。在传统中药及广西、云南等地的民族医药实践中,石斛属植物因其滋阴

表4 矩唇石斛不同地理居群间遗传一致度与无偏遗传距离分析

Table 4 Analysis of GI and GD among different geographical populations of *D. linawianum*

居群	相似系数		
	天等	德保	靖西
天等	****	0.901 4	0.872 5
德保	0.103 9	****	0.909 9
靖西	0.136 4	0.094 4	****

对角线上方为遗传一致度(GI), 对角线下方为遗传距离(GD)。

Above the diagonal is GI, below the diagonal is GD.

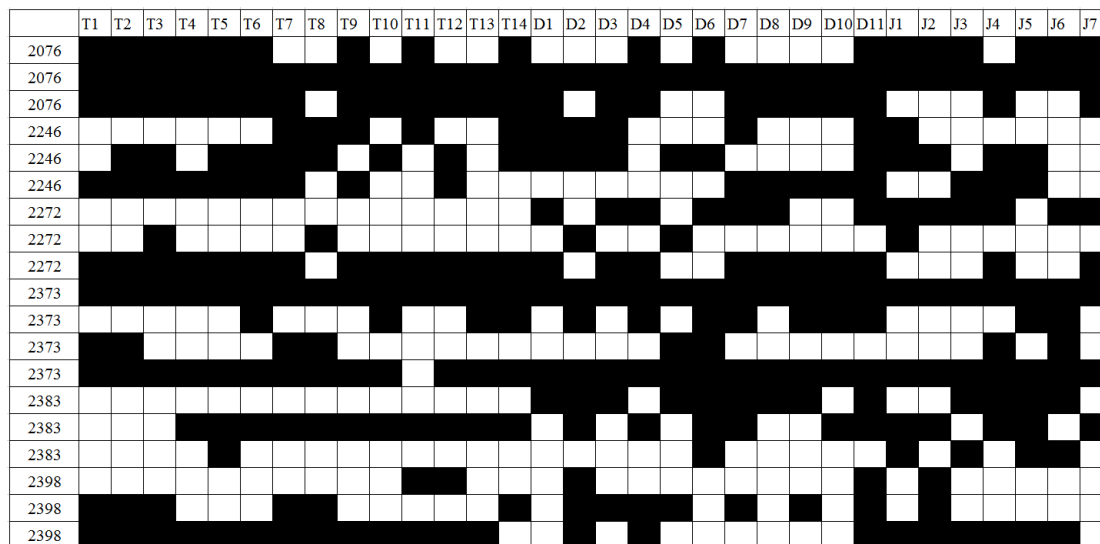


图3 基于 iPBS 标记构建的矩唇石斛指纹图谱

Fig. 3 Construction of fingerprints of *D. linawianum* based on iPBS markers

清热、益胃生津的功效而被广泛使用。虽然关于矩唇石斛专属性药理成分的现代研究相对有限，但作为石斛属的一员，其潜在的药用价值不容忽视，这也是对其遗传资源进行保护和深入研究的重要动因之一。本研究利用 iPBS 分子标记技术对 32 份来自 3 个不同地理居群的矩唇石斛种质资源进行了系统的遗传多样性分析。结果显示，从 83 条候选引物中筛选出的 6 条引物，表现出稳定的多态性，多态性比率高达 90.48%。这一结果显著高于刘贝宁等^[22]采用 RAPD 标记在观赏春石斛中获得的 63.89% 多态性比率，也优于马佳梅等^[23]使用 ISSR 标记对西双版纳流苏石斛分析得到的 89.74% 多态位点百分率，以及 Wahba 等^[24]应用 AFLP 标记对 81 种石斛兰样品检测获得的 78% 多态性。通过与其他分子标记技术的比较分析，证实了 iPBS 分子标记技术在矩唇石斛居群遗传研究中具有较高的适用性和有效性。

基于 NTSYS 软件的 UPGMA 聚类分析（图 3）在遗传相似系数 0.732 水平上将 32 份矩唇石斛种质划分为 4 个显著不同的类群。分析结果显示，种质资源的遗传分化与其地理分布呈现显著相关性^[25]，其中第 I 类群以 13 份天等居群种质为主体，仅包含 1 份德保居群种质；第 II 类群主要由 9 份德保居群种质构成，同时混杂 1 份天等和 1 份靖西居群种质；第 III 类群则以 5 份靖西居群种质为主，混有 1 份德保居群种质；而第 IV 类群为单独聚类的 1 份靖西居群种质。这种遗传结构不仅表明天等、德保和靖西 3 个居群在遗传上存在显著分化，形成相对独立的

遗传类群，同时也揭示了居群间存在有限的基因交流现象。已有研究表明，地理距离和环境异质性是导致植物居群遗传分化的重要因素。对中国南方三尖杉 *Cephalotaxus oliveri* L. 的研究发现，地理隔离和环境差异共同塑造了其遗传结构^[26]。类似地，对蓝扇棕榈 *Brahea armata* L. 的研究也证实，地理隔离和长距离基因流动共同影响了其遗传格局^[27]。此外，花粉扩散模式对植物居群的空间遗传结构具有重要影响^[28]，如风兰 *Phalaenopsis pulcherrima* L. 通过花粉介导的基因流动维持了空间离散亚居群间的遗传连通性^[29]。结合这些研究结果可以推测，矩唇石斛居群间的遗传分化可能主要源于长期的地理隔离和生态适应性差异等进化因素。考虑到石斛属植物普遍具有虫媒异花授粉的繁殖特性，类群间少量混杂的种质资源很可能反映了通过传粉昆虫介导的花粉传播所实现的有限基因交流。

基于 Popgene 1.32 软件的遗传结构分析表明，矩唇石斛具有较高的遗传多样性水平，其遗传变异主要来源于居群内部（77.87%），而居群间的遗传变异仅占 22.13% ($G_{st}=0.2213$)。这种遗传变异分布模式暗示该物种在适应环境变化方面具有较大潜力^[30]。基因流分析显示 N_m 值为 1.7597 ($N_m > 1$)，表明居群间存在频繁的基因交流^[31]，这种基因流动不仅有助于维持物种的遗传多样性^[32]，还能有效降低近交衰退的风险。然而，较低的居群间遗传分化也可能反映出该物种对环境变化的适应范围存在一定局限性，特别是在面临区域性环境胁迫时可能

表现出较低的适应性。

iPBS 标记技术是一种基于逆转录转座子的分子标记方法,可有效构建 DNA 指纹图谱用于品种鉴定和遗传多样性分析^[33-34]。DNA 指纹图谱技术通过提取个体 DNA 样本,利用 PCR 扩增特定 DNA 序列,经电泳分离和杂交分析获得特异性带型图谱,在个体识别和亲子鉴定等领域具有重要应用价值^[35]。该技术已在石斛属植物研究中得到成功应用,如赵秋菊等^[36]采用 iPBS 引物构建了 35 份金钗石斛种质的 DNA 指纹图谱,崔学强等^[37]也利用该方法完成了 48 份石斛兰的遗传分析。本研究选取 6 个多态性引物的 19 个多态位点成功构建了 32 份矩唇石斛种质的 DNA 指纹图谱,各引物组合均能有效区分不同种质资源。作为具有重要药用和观赏的珍稀植物,矩唇石斛的遗传多样性研究和 DNA 指纹图谱的构建,对其资源保护具有重要意义,通过深入解析该物种的遗传结构特征,可为制定科学保护策略、防止过度采挖和栖息地破坏提供理论依据^[38-39]。

本研究为矩唇石斛的后续研究与保护实践提供了若干重要启示:第一,在方法论上,证实了 iPBS 标记适用于该珍稀物种的快速、高效遗传评估,未来可应用于更广泛种质资源的鉴定和核心种质库构建。第二,在保护策略上,较高的居群内遗传多样性提示,在实施迁地保护(如建立种质圃)时,应在每个居群内尽可能多地收集不同个体以保存其遗传潜力;而显著的居群间分化则强调,就地保护必须覆盖多个具有代表性的地理居群,以维护其物种水平的进化潜能。第三,在资源利用上,清晰的遗传聚类与 DNA 指纹图谱为优良种质筛选、品种权保护和道地性研究奠定了基础。需要指出的是,本研究的取样策略存在一定局限。所有样品分别来自 3 个县内的单一地理坐标点,虽能在一定程度上反映点间差异,但未能涵盖各分布区内可能存在的多种生境与居群变异。因此,本研究结论主要基于这 3 个特定采集点的遗传特征,可视为该物种遗传背景的初步探索。未来研究应在各分布区内系统设置更多样化的采样点,结合海拔、微气候等环境因子,并整合基因组学与代谢组学手段,深入解析其遗传结构、适应性进化及药用成分形成机制,从而为该珍稀药用植物的科学保护与可持续利用提供更全面的理论依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Ketsa S, Warrington I J. The *Dendrobium* Orchid: Botany, horticulture, and utilization [J]. *Crop Sci*, 2023, 63(4): 1829-1888.
- [2] 马良, 陈松泉, 庄莉彬. 35 种石斛兰观赏价值评价 [J]. *亚热带植物科学*, 2019, 48(3): 269-273.
- [3] Mou Z M, Zhao Y, Ye F, et al. Identification, biological activities and biosynthetic pathway of *Dendrobium* alkaloids [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 605994.
- [4] Yuan Y D, Li C T, Qiu S M, et al. Exploring the medicinal potential of *Dendrobium*: Uncovering the spatial distribution of flavonoids and alkaloids in 15 species of *Dendrobium* using MALDI-MSI [J]. *Sci Hortic*, 2024, 338: 113738.
- [5] 黄丽乔, 李明帆, 赵志然, 等. 石斛化学成分及其胃肠道保护作用机制研究进展 [J]. *中草药*, 2025, 56(11): 4147-4157.
- [6] 何涛, 淳泽, 罗傲雪, 等. 四川石斛野生资源及其保护研究 [J]. *应用与环境生物学报*, 2008, 14(5): 710-715.
- [7] 崔学强, 唐璇, 黄昌艳, 等. 22 种石斛兰遗传多样性分析及 DNA 指纹图谱构建 [J]. *分子植物育种*, 2021, 19(9): 596-603.
- [8] 林榕燕, 罗远华, 樊荣辉, 等. 文心兰杂交后代的 EST-SSR 和 SRAP 分子标记鉴定 [J]. *福建农业学报*, 2021, 36(12): 72-86.
- [9] 黄佳维, 陈小玲, 陈前程, 等. ISSR 和 SRAP 分子标记在石斛属植物杂交育种上的应用效果 [J]. *现代农业科技*, 2025(12): 145-148.
- [10] Coutinho J P, Carvalho A, Martín A, et al. Molecular characterization of Fagaceae species using inter-primer binding site (iPBS) markers [J]. *Mol Biol Rep*, 2018, 45(2): 133-142.
- [11] Aydın F, Özer G, Alkan M, et al. The utility of iPBS retrotransposons markers to analyze genetic variation in yeast [J]. *Int J Food Microbiol*, 2020, 325: 108647.
- [12] Işık M İ, Türkoğlu A, Yaman M, et al. Understanding genetic diversity and population structure in forage pea (*Pisum sativum* var. *arvense* L.) using inter-primer binding site (iPBS) retrotransposon marker [J]. *Genet Resour Crop Evol*, 2025, 72(7): 8389-8403.
- [13] Xu J Y, Zhu Y, Yi Z, et al. Molecular diversity analysis of *Tetradium ruticarpum* (WuZhuYu) in China based on inter-primer binding site (iPBS) markers and inter-simple sequence repeat (ISSR) markers [J]. *Chin J Nat Med*, 2018, 16(1): 1-9.
- [14] Sagbas H I, Ercisli S, Aydın M, et al. Evaluation of genetic diversity using iPBS-SCoT marker methods in native hawthorn genetic resources and species identification by

- using DNA barcoding method [J]. *Cell Mol Biol*, 2023, 69(10): 43-55.
- [15] Yin W Y, Cui X Q, Zhao Q J, *et al.* Genetic relationship analysis and fingerprint construction of some species in the genus *Vanda* (Orchidaceae) by interprimer binding site (iPBS) markers [J]. *Genet Resour Crop Evol*, 2025, 72(1): 935-946.
- [16] 赵秋菊, 崔学强, 邓杰玲, 等. 石斛兰杂交后代 iPBS 标记鉴定及遗传分析 [J]. 中国农业大学学报, 2024, 29(9): 78-89.
- [17] Duan Y B, Guo D L, Guo L L, *et al.* Genetic diversity analysis of tree peony germplasm using iPBS markers [J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(3): 7556-7566.
- [18] Kalendar R, Antonius K, Smýkal P, *et al.* iPBS: A universal method for DNA fingerprinting and retrotransposon isolation [J]. *Theor Appl Genet*, 2010, 121(8): 1419-1430.
- [19] De Riek J, Calsyn E, Everaert I, *et al.* AFLP based alternatives for the assessment of distinctness, uniformity and stability of sugar beet varieties [J]. *Theor Appl Genet*, 2001, 103(8): 1254-1265.
- [20] Amiteye S. Basic concepts and methodologies of DNA marker systems in plant molecular breeding [J]. *Heliyon*, 2021, 7(10): e08093.
- [21] Zhang F P, Deng J J, Guo Y, *et al.* Comparative chloroplast genomic analysis of an important horticultural plant, *Dendrobium sulcatum* (Orchidaceae) and phylogenetic position in *Dendrobium* [J]. *Hortic Environ Biotechnol*, 2025, 66(1): 13-24.
- [22] 刘贝宁, 李刘敏, 陈发兴. 基于 RAPD 分子标记的观赏春石斛遗传多样性分析 [J]. 东南园艺, 2023, 11(4): 257-264.
- [23] 马佳梅, 殷寿华. 西双版纳地区流苏石斛遗传多样性的 ISSR 分析 [J]. 云南植物研究, 2009, 31(1): 35-41.
- [24] Wahba L E, Hazlina N, Fadelah A, *et al.* Genetic relatedness among *Dendrobium* (Orchidaceae) species and hybrids using morphological and AFLP markers [J]. *HortScience*, 2014, 49(5): 524-530.
- [25] 苑鹤, 林二培, 朱波, 等. 铁皮石斛人工栽培居群的遗传多样性研究 [J]. 中草药, 2011, 42(3): 566-569.
- [26] Liu H J, Wang Z, Zhang Y L, *et al.* Geographic isolation and environmental heterogeneity contribute to genetic differentiation in *Cephalotaxus oliveri* [J]. *Ecol Evol*, 2023, 13(3): e9869.
- [27] Pérez-Alquicira J, Wehncke E V, García-Loza G A, *et al.* Geographic isolation and long-distance gene flow influence the genetic structure of the blue fan palm *Brahea armata* (Arecaceae) [J]. *J Plant Res*, 2023, 136(3): 277-290.
- [28] Freeland J R, Biss P, Silvertown J. Contrasting patterns of pollen and seed flow influence the spatial genetic structure of sweet vernal grass (*Anthoxanthum odoratum*) populations [J]. *J Hered*, 2012, 103(1): 28-35.
- [29] Zhang Z, Gale S W, Li J H, *et al.* Pollen-mediated gene flow ensures connectivity among spatially discrete sub-populations of *Phalaenopsis pulcherrima*, a tropical food-deceptive orchid [J]. *BMC Plant Biol*, 2019, 19(1): 597.
- [30] White T L, Adams W T, Neale D B. Within-population variation - genetic diversity, mating systems and stand Structure [M]. CABI: Forest Genetics, 2007: 149-186.
- [31] Chiu M C, Nukazawa K, Resh V H, *et al.* Environmental effects, gene flow and genetic drift: Unequal influences on genetic structure across landscapes [J]. *J Biogeogr*, 2023, 50(2): 352-364.
- [32] Williams C, Waser N. Spatial genetic structure of *Delphinium nuttallianum* populations: Inferences about gene flow [J]. *Heredity*, 1999, 83 (Pt 5): 541-550.
- [33] Bhardwaj V, Patil V, Gopal K, *et al.* DNA fingerprinting for varietal identification and genetic fidelity [M]. Udaipur: Agrotech publishing academy, 2016: 62-65.
- [34] Yan D K, Zhu F, Wang H L, *et al.* Comprehensive duck DNA fingerprinting based on machine learning for breed identification [J]. *Poult Sci*, 2025, 104(8): 105359.
- [35] Gao S F, Peng J J, Wang Y, *et al.* Application of DNA fingerprint constructed by molecular marker technology in individual identification [J]. *Chin J Wildlife*, 30(5): 269-273.
- [36] 赵秋菊, 崔学强, 邓杰玲, 等. 金钗石斛居群遗传多样性分析及 DNA 指纹图谱构建 [J]. 中草药, 2023, 54(19): 6434-6442.
- [37] 崔学强, 唐璇, 黄昌艳, 等. 基于 iPBS 标记的石斛兰种质资源遗传多样性分析及 DNA 指纹图谱构建 [J]. 热带作物学报, 2021, 42(2): 317-324.
- [38] Ye M R, Hou B W, Luo J, *et al.* Genetic diversity and conservation of the endangered herb *Dendrobium moniliforme* based on amplified fragment length polymorphism markers [J]. *Sci Hortic*, 2015, 189: 51-58.
- [39] Pu S X, Yu H, Li G L, *et al.* Methods of *Dendrobium* rust detection and analysis on the genetic structure of *Dendrobium* rust populations [J]. *Int J Agric Biol*, 2025, 21(4): 58-63.

[责任编辑 时圣明]