



赵秋菊, 崔学强, 邓杰玲, 黄昌艳, 殷文忆, 张自斌. 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.
ZHAO Qiuju, CUI Xueqiang, DENG Jieling, HUANG Changyan, YIN Wenyi, ZHANG Zibin. Identification of iPBS markers and genetic analysis of *Dendrobium* hybrid progeny[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2024, 29(9): 78-89.
DOI: 10.11841/j.issn.1007-4333.2024.09.07

石斛兰杂交后代 iPBS 标记鉴定及遗传分析

赵秋菊^{1,2} 崔学强¹ 邓杰玲¹ 黄昌艳¹ 殷文忆^{1,2} 张自斌^{1*}

(1. 广西壮族自治区农业科学院 花卉研究所, 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, 南宁 530004)

摘要 为获取性状优良的子代单株用于后续新品种培育和优质亲本的选配, 采用 iPBS 与形态学双标记鉴定方法, 对‘粉条纹’石斛(母本)与‘丹绒之星’石斛(父本)杂交组合进行遗传鉴定研究。结果表明: iPBS 标记鉴定 36 个子代植株均为真杂种, 在遗传距离 0.71 处, 亲本及 36 个子代可分为 3 大类群, 子代先与父本聚为一类再与母本聚合, 两亲本与子代的遗传相似系数父本(0.686 1) > 母本(0.510 5); 形态学鉴定显示两亲本在各个性状上均存在较大差异, 子代假鳞茎高度均值为 25.48 cm, 假鳞茎直径 1.14 cm, 叶片长度 14.17 cm, 叶片宽度 3.45 cm, 子代株型与叶型大小主要介于双亲间; 子代花横径均值为 4.96 cm, 花纵径均值为 5.75 cm, 两者优于双亲的比例分别为 16.67% 和 2.78%, 多数子代植株花型较父母本偏小; 在花部性状中, 上萼宽、侧萼长宽和侧瓣长 4 个性状表现出一定超亲优势, 唇瓣长和花梗数 2 个性状展现出较强的中亲优势, 其余性状均呈现出不同程度的衰退趋势; 子代在花色素遗传上以父本的白紫色系为主, 并在双亲花色色谱基础上展现梯度变化。综上, iPBS 分子标记可有效提高鉴定石斛兰杂种的效率, 形态学标记鉴定有助于高效选育性状优良的子代个体, 2 种标记方法均可有效缩短石斛兰杂交育种进程。

关键词 石斛兰; 子代鉴定; 表型性状; iPBS 标记; 遗传表现

中图分类号 S682.31

文章编号 1007-4333(2024)09-0078-12

文献标志码 A

Identification of iPBS markers and genetic analysis of *Dendrobium* hybrid progeny

ZHAO Qiuju^{1,2}, CUI Xueqiang¹, DENG Jieling¹, HUANG Changyan¹,
YIN Wenyi^{1,2}, ZHANG Zibin^{1*}

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

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

Abstract In order to obtain progeny with excellent traits for subsequent breeding of new varieties and selection of high-quality parents, using iPBS and morphological double marker identification to investigate the genetic identification of the hybrid combination of *Dendrobium* Fancy Pink Stripe (male parent) and *Den. parishii* ‘Damrong Star’ 3lip (female parent). The combination was genetically identified. The results showed that: The 36 progeny were identified true hybrids with iPBS markers. At the genetic distance of 0.71, the parents and 36 progeny could be divided into three groups, and the progeny were clustered with

收稿日期: 2023-12-07

基金项目: 广西重点研发计划项目(桂科 AB21220056); 广西农业科学院基本科研业务专项(桂农科 2023YM115, 桂农科 2021YT133); 广西自然科学基金项目(2020GXNSFBA297021)

第一作者: 赵秋菊(ORCID:0009-0000-1324-0597), 硕士研究生, E-mail: zqj2452961785@163.com

通讯作者: 张自斌(ORCID:0000-0002-2174-4936), 副研究员, 主要从事兰科植物育种研究, E-mail: candou154@126.com

the male parents first and then aggregated with the female parent and the coefficients of genetic similarity between the parents and the progeny were male parent (0.686 1) > female parent (0.510 5). Morphological identification showed significant differences in various traits between the two parents. The mean values of pseudobulb height, pseudobulb diameter, leaf length and leaf width in the hybrids generation were 25.48 cm, 1.14 cm, 14.17 cm and 3.45 cm, respectively. The size of plant and leaf type of the hybrid was mainly between the two parents; The mean values of transverse diameter and longitudinal diameter of the flower were 4.96 cm, and 5.75 cm respectively. The proportions of the two superior to their parents were 16.67% and 2.78%, respectively. And the majority of the hybrid plants had a smaller flower type than that of their parents. Among the floral traits, four traits (upper calyx width, lateral calyx length and lateral petal length) showed some supra-parental dominance, and two traits, labellum length and pedicel number, showed strong meso-parental dominance, while the rest of the traits showed different degrees of decline; The hybrid was dominated by the white-purple line of the parents in terms of the genetic inheritance of the floral colours, and showed gradient variations in the floral colours on the basis of the chromatograms of the two parents. In summary, iPBS molecular markers can effectively improve the efficiency of identifying *Den.* hybrids, and the morphological markers assists to efficiently select the hybrid individuals with excellent traits, and it can effectively shorten the breeding process of *Den.* crossbreeding by using these two types of marker.

Keywords *Dendrobium*; hybrids identification; phenotypic trait; iPBS marker; genetic performance

石斛属(*Dendrobium* Sw.)是兰科(Orchidaceae)中继石豆兰属(*Bulbophyllum* Thouars)之后的第二大属^[1],为多年生附生型草本植物^[2],是兰科植物中兼备观赏价值和药用价值的类群之一。作为四大观赏性洋兰之一,石斛兰相较于蝴蝶兰、文心兰和卡特兰受到的关注较少,但其药用价值却非常高。兰科植物的种子在自然状态下萌发率极低^[3],因此,人工杂交育种就成为了兰科植物育种的手段之一,更是繁育石斛兰新品种的主要方式^[4]。

石斛兰的杂交育种最初起源于国外,20世纪50年代后,石斛兰杂交育种工作开始大规模发展,90年代后,兰科植物基因工程学迅速成为研究重点^[5]。近年来,国外学者的石斛育种工作主要集中于诱变育种和遗传变异上。Fathin等^[6]通过射线辐照幼苗使石斛植株的形态特征产生了多样性变化,获取性状不同的植株;Yuhanna等^[7]使用分子标记分析石斛兰的多样性和类群化程度,结果显示石斛属植物具有丰富的遗传多样性。国内的石斛兰育种工作开始较晚,研究的侧重点一直在结实性、组织培养和快繁技术等方面。李守岭等^[8]对齿瓣石斛进行人工授粉,发现异花授粉结实率高、自花授粉结实率低;张娟^[9]研究发现最适于秋石斛兰组织培养的是不定苗诱导和生根壮苗培养基;莫远琪等^[10]将水莲石斛幼嫩假鳞茎放入不同培养基中,可使外植体快速分化并生根发芽,达到快速繁殖的目的。

但目前关于石斛兰子代的鉴别与观赏性状遗传却鲜有报道。

花径、花色和花朵数等观赏性状是育种时常关注的目标性状。杂交子代的早期鉴定对于育种工作的开展具有重要意义,可反应出子代植株在表型和基因型上的差异,帮助预选性状优良的子代单株。Inter-primer binding site (iPBS)是Kalendar等^[11]于2010年开发的一类基于反转录转座子新型分子标记。iPBS标记无需预先获得长末端重复反转录转座子(Long terminal repeat-retrotransposons, LTR)序列,具有使用成本低、步骤简单易操作以及普遍适用等优点^[12],目前已在多种农作物中得到应用。与其他分子标记相比,iPBS标记引物多态性丰富,在植物种质资源鉴定、亲缘关系分析和遗传多样性分析等研究中更具优势^[13],但该标记目前在石斛兰杂交育种子代鉴定方面还未获得广泛应用。形态学标记(Morphological marker)是最早期运用的鉴定方法,主要通过观察表型差异来判定子代植株更接近某一亲本^[14],该标记具有简单、直观和便捷的特点,被广泛应用于多个物种的鉴定^[15]。因此,本研究通过对秋石斛商品品种‘粉条纹’(*Den.* Fancy Pink Stripe)×春石斛商品品种‘丹绒之星’(*Den.* parishii ‘Damrong Star’ 3lip)杂交组合开展iPBS分子标记鉴定,同时以形态学标记辅助,鉴别杂交子代真实性,探究父母本及子代间表

型性状的遗传差异,研究观赏性状在子代中的遗传表现及其分离规律,旨在为石斛兰优良子代单株的预判及优质亲本选配提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验于广西农业科学院花卉研究所进行,试验材料均取自花卉研究所石斛兰种质资源圃。选取‘粉条纹’石斛为母本(P1),‘丹绒之星’石斛为父本(P2)。2020年6月,将‘丹绒之星’石斛与‘粉条纹’石斛进行杂交,经人工授粉(无套袋)培育子代;当年10月收获果荚后立即进行组织培养;2021年3月出瓶培养;2022年10月,子代集中开花,立即进行形态学和分子标记鉴定。本试验将两亲本以及子代中筛选的36个杂交后代株系(子代编号:1~36)作为试验材料,父母本及杂交后代株系均剪取健康的幼嫩叶片,装入自封袋并做好标记,保存于冰盒中及时带回实验室,液氮速冻后用于基因组DNA的提取。

1.2 主要试剂及仪器

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

试剂为北京全式金生物技术有限公司的EasyPure® Genomic DNA Kit试剂盒和Tra-ns® 2K DNA Maker,康为世纪生物科技有限公司的2xEasy Taq® PCR SuperMix,国拓生物科技有限公司的50×TAE缓冲液,上海生工生物工程有限公司的琼脂粉。

1.3 试验方法

1.3.1 植株性状测量

2022年8月,子代植株集中开花,对亲本及部分子代植株进行性状测量。子代植株筛选时,从生长周期一致、长势相近的植株中选取36个子代。父母本及36个子代植株均测量以下性状:假鳞茎高度、假鳞茎直径、叶片长度、叶片宽度、花梗长、花梗数(枝)、

花径(横径和纵径)、花萼(上萼片和侧萼片)长宽、花瓣(侧瓣和唇瓣)长宽、花色、花朵数和开花期。除花色、花朵数和开花期外的性状测量方法及表型性状的描述参照行业标准NY/T2758-2015《植物新品种特异性、一致性和稳定性测试指南 石斛属》^[16],测量时设置3次生物学重复,最终结果取均值。测量唇瓣长宽时,主要测量其展宽,植株花朵数采用直接计数法。

1.3.2 石斛花色测定

花萼、侧瓣和唇瓣颜色复杂且不相同,将3个部分分开分析。花色层级的区分参考殷涵泰等^[17]方法,依照英国皇家园艺学会RHS植物比色卡(RHSCC)对每个色系命名:白色系(白、淡粉白和淡紫白)、粉色系(浅粉、粉)、紫色系(浅紫、紫、紫红和深紫)和复色系(白紫、粉紫)等。

1.3.3 iPBS分子标记鉴定

参照崔学强等^[18]研究方法,供试样品基因组DNA提取采用EasyPure® Genomic DNA Kit试剂盒进行提取并检测其完整性,用紫外分光光度计检测其浓度和纯度,提取的DNA用TE缓冲液稀释浓度至20 ng/μL,置于-20℃条件下保存备用。引物选用Kalendar等^[11]于2010年发表的83条引物,将父母本DNA和从子代中随机选取的2份DNA作为样本对iPBS引物进行初步筛选,从合成引物中选取扩增条带清晰、稳定性强且多态性高的引物对供试样品DNA进行PCR扩增。扩增反应总体积为20 μL:包含10 μL 2xEasy Taq® PCR SuperMix,8 μL 无菌水,1 μL 引物,1 μL 模板。iPBS-PCR扩增程序为:94℃预变性4 min;94℃变性1 min,51℃(不同引物的退火温度见表1)退火45 s,72℃2 min,35个循环;72℃延伸10 min,扩增产物置于4℃冰箱保存备用。

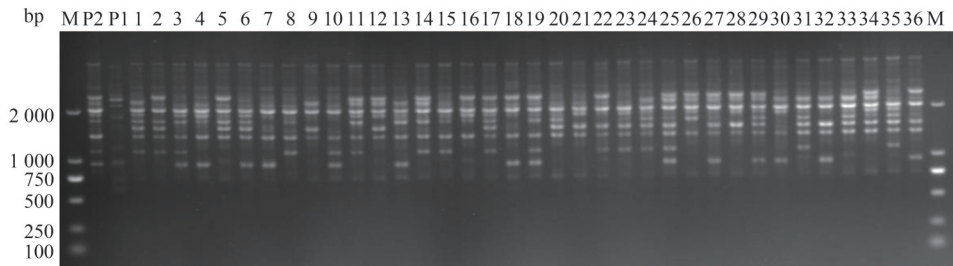
1.3.4 杂种子代真实性鉴定

利用筛选出的引物对父母本及杂交后代株系进行iPBS-PCR扩增,扩增产物用2.0%琼脂糖凝胶电泳检测。根据电泳图谱,对比父母本条带,鉴别杂种子代中的真杂种。参照林榕燕等^[19]研究标准,将子代电泳条带中含有父本特征带的植株鉴定为真杂种,反之为假杂种。为保证最终鉴定结果的准确性,依照彭婵等^[20]试验判定标准,在研究中至少有2个或2个以上的引物鉴定为真杂种才能判定该子代植株为真杂种。

1.3.5 数据统计及分析

观察各引物电泳图谱,统计 DNA 条带,通过 Excel 2010 将电泳谱图信息转化为“0,1”矩阵,利用 NTSYS-pc 2.10e 统计软件进行数据分析。采用 SHAN Clustering 程序进行算数平均数不加权对组法(UPGMA)聚类分析,构建树状聚类图;并用 DICE 法计算试供材料间的遗传相似系数,分析杂种间遗传关系。所测量的表型性状数据经 Excel 2010 进行整理,并使用 Origin 2021 软件画图,参考焦振斌等^[21]方法,对所测量的表型性状计算其变异系数(CV),评估各个性状的变异程度。变异系数计算公式如下:

变异系数=(标准偏差/平均值)×100%



M: DL 2 000 marker; P1: ‘粉条纹’石斛; P2: ‘丹绒之星’石斛; 1~36: 子代。下同。
M: DL 2 000 marker; P1: *Den. Fancy Pink Stripe*; P2: *Den. parishii* ‘Damrong Star’ 3lip; 1-36: Hybrids. The same below.

图 1 石斛兰基因组 DNA 的电泳扩增图谱

Fig.1 Electrophoretic amplification profiles of genomic DNA from *Dendrobium*

表 1 石斛兰 iPBS 引物的多态性分析

Table 1 Analysis of polymorphic in iPBS primers for *Dendrobium*

引物编号 Primer number	引物序列(5'-3') Sequence(5'-3')	退火温度/℃ Annealing temperature	总条带/条 Total bands	多态性条带/条 Polymorphic band	多态性比率/% Percentage of polymorphic band
2232	AGAGAGGCTCGGATACCA	51	17	15	88.24
2238	ACCTAGCTCATGATGCCA	50	14	14	100
2249	AACCGACCTCTGATACCA	48	11	11	100
2251	GAACAGGCGATGATACCA	48	10	10	100
2270	ACCTGGCGTGCCA	50	13	13	100
总计 Total			65	63	
平均 Average			13	12.6	96.92

2.1.2 杂合子代真实性鉴定

利用筛选的 5 条 iPBS 引物对 36 个子代株系进行真实性鉴定,观察对比亲本与子代扩增电泳图谱,判断真假杂种。验证杂交子代的真实性可保证后续研究建立在子代个体均为‘丹绒之星’石斛和

2 结果与分析

2.1 分子标记鉴定

2.1.1 iPBS 引物扩增多态性分析

引物 2232 对石斛兰杂交组合种质的扩增电泳图谱见图 1。从 83 条 iPBS 引物中筛选出 5 条清晰度高、多态性高以及重复性好的引物对石斛兰亲本及子代株系进行扩增(表 1)。结果显示:5 条引物共扩增出 65 条谱带,每条引物扩增条带数为 10~15 条,平均每条引物可扩增出 13 条谱带。其中多态性条带为 63 条,多态条带比率为 96.92%,各条带多态比率范围为 88.24%~100.00%;引物 2232 多态性比率最低,为 88.24%,其余 4 个引物的多态性均为 100%。扩增结果表明 iPBS 引物在石斛兰种质中的扩增多态性高。

‘粉条纹’石斛杂交子代的基础上。子代株系中,父本遗传信息渗入子代中,即子代扩增出父本特异性条带的株系为真杂种,未扩增出父本特异性条带或者只扩增出母本特异性条带的判定为假杂种。结果显示(表 2):5 条引物扩增出的父本特征带范围为

3~4条,引物 2238 鉴定出真杂种株系共 31 个,杂种率为 86.11%;引物 2249 鉴定出真杂种株系共 34 个,杂种率为 94.44%;引物 2270 鉴定出真杂种株系共 33 个,杂种率为 91.67%。在引物 2238、2249 和 2270 的鉴定中,6、8、10、12、18、19、20、28、32 和 35 号子代株系未扩增出父本特异性条带,而在引物

2232 和 2251 的扩增结果中发现,6、8、10、12、18、19、20、28、32 和 35 号子代株系均具有父本特异性条带,鉴定为真杂种。综合 5 条引物的鉴定结果,试供的 36 个子代株系均可扩增出父本特异性条带,皆鉴定为真杂种,子代杂种率为 100%,表明 iPBS 标记鉴定杂种效率较高。

表 2 36 株杂交子代鉴定结果
Table 2 Identification results of 36 hybrids progenies

引物编号 Primer number	父本特征带/条 Number of paternal characteristic bands	真杂种数/个 Number of the true hybrids	真杂种株系 True hybrids
2232	4	36	1~36
2238	4	31	1~5, 7, 9, 11, 13~31, 33~36
2249	3	34	1~27, 28~34, 36
2251	3	36	1~36
2270	4	33	1~17, 21~36

2.1.3 亲本与子代的聚类分析

利用 NTSYS-pc 2.10e 统计软件计算石斛兰杂交组合种质的遗传相似系数和遗传距离,以遗传距离为基础,构建石斛兰亲本及子代的 UPGMA 聚类图(图 2)。聚类结果显示,父母本间差异较大,在遗传距离 0.71 处,亲本及子代株系可划分为 3 大类群。第Ⅱ类群为最大的类群,包含 94.74% 的个体;第Ⅱ类群可划分为 2 个亚类,第 1 亚类包含父本和 7、

22、30、32、36 号子代株系,第 2 亚类包含 1~6、8~21、23~27、29、31、33~35 号子代株系。第Ⅲ类群仅有 1 个子代株系 28 号,第Ⅰ类群也仅有母本单个个体。在子代群体中,6 号与 10 号子代植株的遗传距离最近,2 号与 28 号子代的遗传距离最远,所有子代个体均聚类在父母本之间。

2.1.4 亲本及子代植株遗传相似系数分析

通过 DICE 法计算石斛兰亲本及子代间的遗传相似系数,整个遗传相似系数矩阵变化范围为 0.426 7~0.913 0,均值为 0.648 3。父本与子代间遗传相似系数为 0.591 5~0.773 3,其中最小值存在于父本与 26 号子代单株间,最大值存在于父本与 36 号子代单株间。母本与子代间遗传相似系数为 0.426 7~0.619 0,其中最小值存在于母本与 36 号子代单株间,最大值存在于母本与 10 号子代单株间。子代植株遗传相似系数范围为 0.594 6~0.913 0,遗传相似系数最小值存在于 2 号和 28 号子代单株间,最大值存在于 6 号和 10 号子代单株。在遗传相似系数矩阵的基础上,绘制石斛兰亲本及子代的遗传相似系数箱式图(图 3)。父本与子代间的遗传相似系数相对于母本与子代间系数较高,子代植株与父本植株的亲缘关系较母本更近。

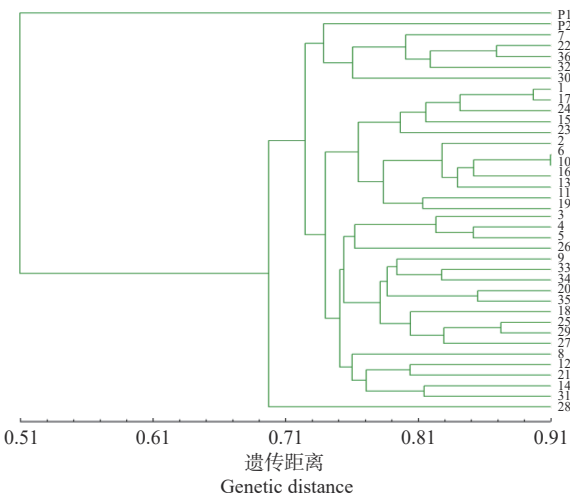


图 2 亲本及子代 UPGMA 聚类树状图

Fig.2 UPGMA clustering tree of parents and hybrids

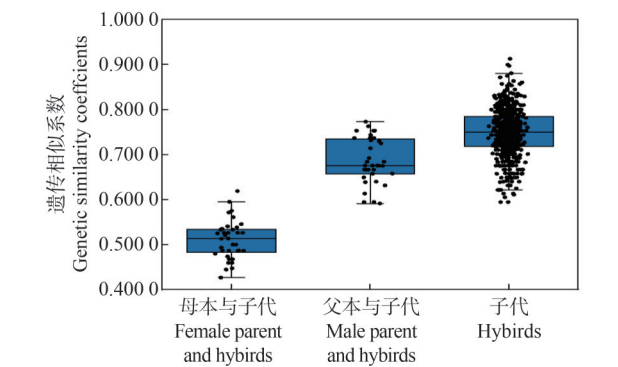


图 3 亲本与子代间遗传相似系数箱式图

Fig.3 Box plots of the genetic similarity coefficients between parents and their hybrids

2.2 形态学鉴定

2.2.1 主要植株性状分析

形态学鉴定分为主要植株性状和主要观赏性状两部分。对杂交组合的亲本及子代植株性状进行统计分析和对比(表 3),亲本及部分子代植株形态见图 4。母本的假鳞茎高度、茎直径和叶片长度均大于父本,叶片宽度较父本更小,两亲本在主要

植株性状上存在较大差异,子代植株在各性状上出现不同程度的分离。子代假鳞茎高度变幅在 15.80~38.80 cm,变异系数达 23.49%,变异程度中等,优于双亲值的杂种个体仅占 8.33%,为主要植株性状中的最低值。假鳞茎直径占中亲值的 95.40%,介于双亲间和低于双亲值的个体占全部子代植株的 86.11%,近半数的子代植株假鳞茎高度及茎直径均介于双亲值之间。叶片长度占中亲值的 100.50%,优于双亲的个体比例为 16.67%,介于双亲间个体比例为 72.22%,低于双亲值个体比例为 11.11%,中亲优势明显。而叶片宽度性状介于双亲间个体和低于双亲间个体占 80.55%,叶型相较于亲本呈减小趋势。总体上,子代植株同时表现出父母本双方的性状特征,中亲优势明显,部分子代的主要植株性状表现出一定程度的衰退。子代植株形态、叶片长度和叶片宽度性状更偏向母本,图 4 中也可看出叶姿态、叶片形状偏母本遗传,仅有茎高度、茎直径性状偏向父本,主要植株性状更偏向母本遗传。

表 3 亲本及子代主要植株性状遗传表现

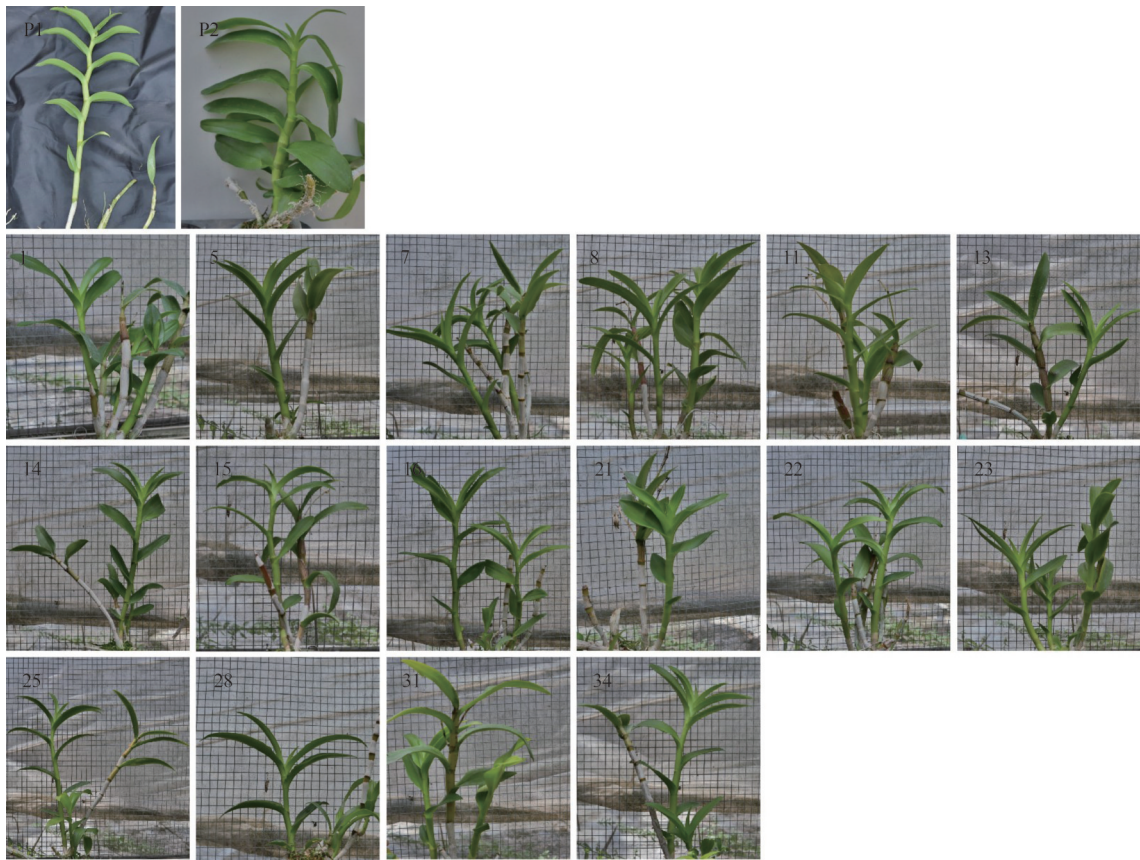
Table 3 Genetic performance of main plant traits of parents and hybrids

性状 Trait	母本 Male parent	父本 Female parent	子代 Hybrids			子代与亲本 Hybrids and parents			
	数值/ cm	数值/ cm	均值/ cm	变异系数/ %	变幅/ cm	占中亲 值/%	优于双亲 值/%	介于双亲 值/%	低于双亲 值/%
假鳞茎高度 Pseudobulb length	37.30	21.75	25.48±5.98	23.49	15.80~38.80	86.30	8.33	58.33	33.33
假鳞茎直径 Pseudobulb diameter	1.27	1.12	1.14±0.14	12.23	0.77~1.37	95.40	13.89	47.22	38.89
叶片长度 Blade length	15.70	12.50	14.17±1.56	10.98	10.08~16.83	100.50	16.67	72.22	11.11
叶片宽度 Blade width	3.35	3.95	3.45±0.53	15.36	2.02~4.43	94.52	19.44	33.33	47.22

2.2.2 主要观赏性状分析

花部性状是育种主要关注的目标之一,母本的花型较父本更大,花梗长且花朵数更多,双亲间各观赏性状存在一定差异。在统计的子代植株观赏性状中,母本、父本的花梗数分别为 2 和 1 枝,花朵

数分别为 10 和 7 朵,子代花梗数变幅在 1.00~3.00,优于双亲值的个体仅占 2.78%,97.22%的个体介于双亲值之间;子代的花朵数数量变幅在 4.00~16.00,其中优于双亲值和介于双亲值的个体各占 16.67%,小于双亲值的个体占 66.67%。花纵径和



P1: ‘粉条纹’石斛;P2: ‘丹绒之星’石斛;编号表示部分子代株系。
P1: *Den. Fancy Pink Stripe*; P2: *Den. parishii* ‘Damrong Star’ 3lip; Number indicates part of the hybrids.

图4 亲本及部分子代植株形态图

Fig. 4 Morphological map of parents and some hybrids plants

花横径的变异系数分别为11.76%和14.24%，两者的离散程度相差不大，相较于亲本，多数子代花大小呈减小趋势(表4)。子代植株的上萼长、侧瓣宽、唇瓣宽、花梗长和花朵数5个性状低于双亲值的个体超过半数，分别为52.78%、88.89%、94.44%、63.89%和66.67%，子代植株在这5个性状上呈衰退趋势；上萼宽、侧萼长、侧萼宽和侧瓣长4个指标优于亲本的个体占比分别为30.56%、30.56%、44.44%和30.56%，具有一定的超亲优势；唇瓣长和花梗数2个性状低亲值与高亲值均较低，中亲值分别为52.78%和97.22%，展现较强的中亲优势。除花梗长、花梗数和花朵数3个性状外，其余花部性状变异系数范围在6.68%~14.24%，子代植株花部性状分离程度不高。上萼宽、侧萼长、侧萼宽、侧瓣长、侧瓣宽和唇瓣宽等花部性状更倾向于母本遗传，同时，从图5中也可看出，子代花型、花展开状态、花瓣和萼片形态也更倾向于母本，剩余少部分

性状表现为倾父本遗传。

相较于亲本，杂交子代的花色更为丰富，表现出明显的杂种优势(表5和6)。在花色上，父本主要表现为紫色和白色混合的复色系，母本主要表现为粉紫色系，子代植株中不仅包含双亲的颜色，还出现了以白色为主的花朵。在子代花萼颜色中，纯色系占比83.33%，复色系占比16.67%，花萼颜色以纯色为主，其中白色花萼比例最高；子代侧瓣颜色分离均衡，纯色系与复色系占比均为50%，其中“白/浅紫”复色侧瓣占比最高；子代唇瓣颜色分离较广泛，纯色系仅有深紫色，占比为8.33%，复色系颜色丰富且占比达到了91.67%，其中“白/深紫”的唇瓣比例最大。在双亲花色遗传方面，父本植株的白色系与紫色系的遗传能力远大于母本植株浅粉紫色系的遗传能力，子代植株花色总体以紫色系与白色系为主，表现出明显的倾父本遗传的倾向。杂种花色虽分离广泛，但未出现双亲色谱之外的颜色，

表 4 亲本及子代主要观赏性状遗传表现									
Table 4 Genetic performance of main ornamental traits of parents and hybrids									
性状 Trait	母本	父本	子代			子代与亲本			
	Male parent	Female parent	Hybrids			Hybrids and parents			
	数值/cm	数值/cm	均值/cm	变异系数/%	变幅/cm	占中亲值/%	优于双亲值/%	介于双亲值/%	小于双亲值/%
花纵径									
Flower longitudinal diameter	5.95	5.02	4.96±0.58	11.76	3.88~6.38	90.43	2.78	50.00	47.22
花横径									
Flower transverse diameter	6.53	5.35	5.75±0.82	14.24	4.22~7.43	96.80	16.67	50.00	33.33
上萼长									
Upper calyx length	3.46	3.28	3.24±0.25	7.60	2.82~3.72	96.14	16.67	30.56	52.78
上萼宽									
Upper calyx width	1.35	1.40	1.37±0.11	8.25	1.13~1.60	89.84	30.56	27.78	41.67
侧萼长									
Lateral calyx length	3.40	3.58	3.42±0.26	7.52	2.95~4.03	97.99	30.56	22.22	47.22
侧萼宽									
Lateral calyx width	1.36	1.40	1.40±0.12	8.77	1.17~1.63	101.45	44.44	16.67	38.89
侧瓣长									
Lateral valve length	3.18	3.00	2.98±0.35	11.75	1.37~3.35	96.44	30.56	25.00	44.44
侧瓣宽									
Lateral valve width	2.75	3.00	2.49±0.22	8.70	2.07~3.05	85.13	5.56	5.56	88.89
唇瓣长									
Labial length	3.20	2.86	3.01±0.20	6.68	2.48~3.28	99.34	19.44	52.78	27.78
唇瓣宽									
Labial width	2.50	2.90	2.19±0.17	8.00	1.75~2.53	81.11	0	5.56	94.44
花梗长									
Pedicle length	19.88	15.35	15.10±3.60	23.83	8.95~24.30	85.72	13.89	22.22	63.89

花色深浅呈梯度变化,并未出现较大变异。

母本‘粉条纹’石斛和父本‘丹绒之星’石斛的着色模式分别为条纹和隐条纹,在子代群体中除了遗传父母本性状外,还出现了无线条个体。子代群体中花瓣表现为无线条的个体为 7 个,占总数的 19.44%;表现出线条特征的个体为 17 个,占 47.22%;表现隐线条的个体为 12 个,占 33.33%。结果表明,近一半的子代个体其花瓣着色模式遗传了母本的线条特征。

父本‘丹绒之星’石斛(春石斛)其花序于叶腋

表 5 子代花萼、侧瓣花色分布												
Table 5 Color distribution of calyx and lateral petals in hybrid												
性状 Trait	母本 Male parent	父本 Female parent	子代纯色系占比/%					子代复色系占比/%				
			Proportion of monochrome in hybrids					Proportion of multicolor in hybrids				
			白色	浅粉	浅紫	紫红	深紫	白/浅粉	白/浅紫	白/紫红	白/深紫	浅粉/浅紫
花萼 Calyx	浅粉	浅紫	52.78	13.89	13.89	2.78	0	5.56	5.56	0	0	5.56
侧瓣 Lateral petals	浅粉	浅紫/深紫	0	11.11	11.11	13.89	13.89	0	27.78	16.67	5.56	0



图5 子代的花朵外部形态对比

Fig.5 Comparison of flower external morphology of hybrids

表6 子代唇瓣花色分布

Table 6 Color distribution of labial petals in hybrid

性状 Trait	母本 Male parent	父本 Female parent	子代纯色系占比/% Proportion of monochrome in hybrids			子代复色系占比/% Proportion of multicolor in hybrids					
			浅粉	紫红	深紫	白/紫红	白/深紫	浅粉/紫红	浅紫/紫红	浅紫/深紫	紫红/深紫
唇瓣 Labial petals	浅粉/粉	白/深紫	0	0	8.33	2.78	41.67	11.11	2.78	11.11	22.22

抽出,开花期主要为每年的3—4月;母本‘粉条纹’石斛(秋石斛)其花序于假鳞茎顶端抽出,开花期为每年的8—10月。子代花序同样从茎顶端抽出,开花期为每年的9—11月。从花序位置及开花期来看,子代主要遗传母本植株,经主要植株性状和花部性状对比,子代大部分性状更倾向于母本遗传。

3 讨 论

3.1 iPBS 标记提高鉴定石斛兰杂种的效率

对杂交子代的真实性进行鉴定是育种中的关键一环,鉴别出真杂种是杂交育种工作的前提,可有效缩短石斛兰育种周期。形态学鉴定方法虽简单直观,但易受到环境影响^[22]。DNA 分子标记是目前进行植物种质鉴定、遗传关系和遗传多样性分

析的有效方法^[23],其准确、高效的特点已广泛应用于多个物种的杂种子代鉴定研究中。iPBS 标记作为一类新型分子标记,使用率对比其他分子标记来说较少。本研究中,5 条 iPBS 引物多态比例在 88.24%~100%,略高于 SRAP 标记^[24];36 个子代植株均为真杂种,表明 iPBS 引物在石斛兰中的扩增多态性较高,鉴别效果好,该标记适用于石斛兰杂交子代的鉴定工作。聚类图显示,母本与子代植株间遗传距离较远,子代植株先与父本聚类,后与母本聚合。从遗传学的角度上来说,子代植株的植株性状一般更偏向于母本遗传,而分子研究结果显示更偏向于父本,其原因可能为父本植株遗传能力大于母本。整个遗传相似系数矩阵变幅为 0.436 7~0.913 0,证明植株间遗传多样性较丰富,有利于具有杂种优势的个体出现,可在子代中选取性状优良的个体进行下一步杂交,利于得到优势个体。研究认为 iPBS 分子标记可有效应用于石斛兰杂交育种鉴定工作,分析物种遗传多样性。但不同分子标记其检测特点和灵敏度不同,对同一物种的鉴定结果可能存在差异,后续试验也可以采取其他的分子标记应用于石斛兰杂种子代鉴定,或者采用多标记联合鉴定,进行对比研究。

3.2 形态学标记鉴定有助于选育性状优良杂种子代

杂交育种有利于综合双亲的优良性状,是获取具有双亲优势子代个体的有效方法,分析亲本及子代间性状的遗传规律,发掘杂种优势个体,对选育性状优良的新品种具有重要意义。花部性状常用于植物种质的鉴定,对花性状的遗传评价有助于植物种质收集和新品种开发的多样性评价^[25]。以往研究中,对杂种子代表型性状遗传表现的研究主要集中在蝴蝶兰上^[26-27],对石斛杂交子代性状遗传表现的研究非常少,仅有陈和明等^[28]对秋石斛兰的 F₁ 代主要观赏性状的遗传进行研究以及刘靛等^[29]通过春石斛表型性状分析揭示各种质间的遗传关系。本试验通过对亲本及杂交子代的表型性状进行对比分析发现,子代的上萼长、侧瓣宽、唇瓣宽、花梗长和花朵数 5 个性状衰退趋势明显,表现为负向的超亲优势;假鳞茎高度、叶片宽度和花径性状的平均值较中亲值有所下降,在高山杜鹃和蝴蝶兰等观赏花卉中也存在类似情况。除上萼宽、侧萼长宽和侧瓣长 4 个性状表现出一定的超亲优势外,其余性

状均出现不同程度的衰退,原因可能与亲本有关,亲本高度杂合,经有性繁殖后杂种植株性状出现分离,导致子代群体的各性状整体下降。花色遗传方面,子代花瓣颜色主要遗传亲本色系,颜色深浅呈不同梯度变化,未有新颜色出现。俞继英等^[30]研究中,黄色系蝴蝶兰子代花瓣颜色基本遗传亲本特点;韦小莲等^[31]研究显示,香型多花蝴蝶兰杂交后代花色基本为亲本调和色,未出现双亲色谱范围外的颜色,这与前人研究结果基本一致。李娟娟等^[32]将植株性状遗传变异系数划分为 3 个等级,0~15%:变异程度较小;15%~30%:变异程度中等;>30%:变异程度较大,变异程度达中等及以上时可认为该性状具有育种的价值和潜力。本研究中,大部分性状的变异程度较小,茎高、叶宽和花梗长 3 个性状变异程度达中等,花梗数、花朵数和花色 3 个性状的变异程度较大,因此在子代中选育性状优良的石斛兰新品种是有可能的。

3.3 形态学标记与 iPBS 标记鉴定分析的差异

本研究中采用形态学标记和 iPBS 标记共同鉴定石斛兰杂交子代植株,形态学标记鉴定结果显示在主要植株性状和观赏性状上,子代更倾向于母本遗传。根据 iPBS 分子标记鉴定,子代个体在聚类分析和遗传相似系数等遗传分析上更倾向于父本遗传,形态学标记鉴定与 iPBS 标记鉴定结果不一致。前人研究中也存在形态学鉴定与分子鉴定结果不一致的情况^[33-34],原因可能是形态学标记是基于植株重要表型性状作为划分依据,而 iPBS 标记是基于整个植物基因组 DNA 多态鉴定结果,分组依据的不同导致结果出现差异^[35]。一方面,虽然基因控制性状,但生长环境也对子代个体的表型性状造成一定程度的影响^[36];另一方面,控制植株性状表达的基因片段可能与分子试验所标记基因位置不同有关^[36]。在后续研究中可使用其他不同的分子标记对杂交子代进行进一步鉴定,以期获得更准确的研究结果。

4 结 论

利用双标记对石斛兰杂交子代进行鉴定,iPBS 分子标记鉴定结果显示,36 个子代植株均为真杂种,子代群体遗传多样性较高,聚类分析与遗传相似系数分析表明子代与父本的亲缘关系相较于母本更近;形态学标记鉴定显示,子代植株在表型的

遗传上,同时显现出父母本双方的性状特征。形态学标记结果与分子标记结果既相同又存在差异,2种标记方法鉴定结果不完全一致。因此,形态学标记联合 iPBS 标记鉴定方法可以有选择性地应用于杂交子代个体中,可更高效选育父母本的优势性状,有利于石斛兰植株定向杂交育种工作的开展。

参考文献 References

- [1] 李和平, 何炎森, 余松金. 20份石斛兰资源形态学多样性研究[J]. 福建农业科技, 2021, 52(6): 15-21
Li H P, He Y S, Yu S J. Research on morphological diversity of 20 *Dendrobium nobile* resources [J]. *Fujian Agricultural Science and Technology*, 2021, 52(6): 15-21 (in Chinese)
- [2] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学技术出版社, 1999
Editorial Committee of Chinese Flora of Chinese Academy of Sciences. *Flora of China*[M]. Beijing: Science press, 1999 (in Chinese)
- [3] 姚昕, 兰芹英, 李枝林. 兰科植物种子及圆球茎的超低温保存研究进展[J]. 云南农业大学学报:自然科学, 2013, 28(6): 891-895
Yao X, Lan Q Y, Li Z L. Advances of cryopreservation of orchid seed and protocorm[J]. *Journal of Yunnan Agricultural University: Natural Science*, 2013, 28(6): 891-895 (in Chinese)
- [4] 邹成勇, 刘燕. 我国石斛属植物研究进展[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(12): 6164-6166, 6223
Zou C Y, Liu Y. Research advances in *Dendrobium* research in China[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2010, 38(12): 6164-6166, 6223 (in Chinese)
- [5] 朱胜蕾. 中国石斛属植物育种潜力研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2016
Zhu S L. Study on the breeding potential of Chinese *Dendrobium* [D]. Beijing: Chinese Academy of Forestry, 2016 (in Chinese)
- [6] Fathin T S, Hartati S, Yunus A. Diversity induction with gamma ray irradiation on *Dendrobium odoardi* orchid[J]. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 2021, 637(1): 012035
- [7] Yuhanna W L, Hartati S, Sugiyarto, Marsusi. Genetic variability of *Phaius* and *Dendrobium* orchids based on molecular markers [J]. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 2021, 637(1): 012036
- [8] 李守岭, 白燕冰, 高燕, 李泽生, 耿秀英, 周侯光. 齿瓣石斛人工授粉试验[J]. 热带农业科技, 2009, 32(2): 35-36
Li S L, Bai Y B, Gao Y, Li Z S, Geng X Y, Zhou H G. Experiment of hand-pollinate on *Dendrobium devonianum* [J]. *Tropical Agricultural Science & Technology*, 2009, 32(2): 35-36 (in Chinese)
- [9] 张娟. 秋石斛组织培养的研究[J]. 湖北林业科技, 2015, 44(3): 20-22
Zhang J. Tissue culture technique of *Dendrobium hybrida* [J]. *Hubei Forestry Science and Technology*, 2015, 44(3): 20-22(in Chinese)
- [10] 莫远琪, 李汉文, 江南, 郑枫, 房林, 李琳, 周依清, 吴坤林, 曾宋君. 水莲石斛的组织培养与快速繁殖[J]. 热带作物学报, 2020, 41(6): 1179-1188
Mo Y Q, Li H W, Jiang N, Zheng F, Fang L, Li L, Zhou Y Q, Wu K L, Zeng S J. Tissue culture and rapid propagation of *Dendrobium Hibiiki*[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2020, 41(6): 1179-1188 (in Chinese)
- [11] Kalendar R, Antonius K, Smýkal P, Schulman A H. iPBS: A universal method for DNA fingerprinting and retrotransposon isolation [J]. *TAG Theoretical and Applied Genetics Theoretische Und Angewandte Genetik*, 2010, 121(8): 1419-1430
- [12] 孙蕾倩, 马燕, 李哲, 王宝盛, 么燕君. iPBS分子标记研究进展[J]. 分子植物育种, 2022, 20(1): 232-238
Sun L Q, Ma Y, Li Z, Wang B S, Mo Y J. Research progress of iPBS molecular marker[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2022, 20(1): 232-238 (in Chinese)
- [13] Kalendar R, Flavell A J, Ellis T H N, Sjakste T, Moisy C, Schulman A H. Analysis of plant diversity with retrotransposon-based molecular markers[J]. *Heredity*, 2011, 106(4): 520-530
- [14] 李雅男, 袁迎迎, 梁云, 冯慧颖, 徐雷锋, 袁素霞, 刘春, 明军. 百合杂交子代真实性鉴定研究进展[C]//中国观赏园艺研究进展(2013). 北京: 张启翔, 2013, 6: 118-123
Li Y N, Yuan Y Y, Liang Y, Feng H Y, Xu L F, Yuan S X, Liu C, Ming J. Advances in hybridization identification of *Lilium* [C]. In: *Advances in Ornamental Horticulture of China(2013)*, Beijing: Zhang Q X, 2013, 6: 118-123 (in Chinese)
- [15] 马道承, 王凌晖, 梁机. 形态标记在植物中的应用研究进展[J]. 江苏农业科学, 2022, 50(8): 55-62
Ma D C, Wang L H, Liang J. Research progress on the application of morphological markers in plants [J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2022, 50(8): 55-62 (in Chinese)
- [16] NY/T 2758—2015. 中华人民共和国农业部. 植物新品种特异性、一致性和稳定性测试指南 石斛属[S]. 北京: 中国农业出版社, 2015
NY/T 2758—2015. Ministry of Agriculture of the People's Republic of China. Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability. *Dendrobium (Dendrobium Sw)* [S]. Beijing: China Agriculture Press, 2015 (in Chinese)
- [17] 殷涵泰, 尹俊梅, 廖易, 陆顺教, 李崇晖. 基于秋石斛花朵颜色、色素分布及表皮细胞形态的表型分类[J]. 园艺学报, 2021, 48(10): 1907-1920
Yin H T, Yin J M, Liao Y, Lu S J, Li C H. Phenotype classification based on flower color, pigment distribution and epidermal cell shape of *Dendrobium* hybrids[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2021, 48(10): 1907-1920 (in Chinese)
- [18] 崔学强, 唐璇, 黄昌艳, 邓杰玲, 李秀玲, 卢家仕, 张自斌. 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
Cui X Q, Tang X, Huang C Y, Deng J L, Li X L, Lu J S, Zhang Z B. Genetic diversity analysis and fingerprinting construction of *Dendrobium* germplasm resources by iPBS marker[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2021, 42(2): 317-324 (in Chinese)
- [19] 林榕燕, 陈艺莹, 钟淮钦, 林兵, 叶秀仙. SRAP 标记在秋石斛杂交后代鉴定中的应用[J]. 江苏农业科学, 2021, 49(22): 55-59
Lin R Y, Chen Y Q, Zhong H Q, Lin B, Ye X X. Application of SRAP molecular marker in identification of hybrid progenies of *Dendrobium* spp[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2021, 49(22): 55-59 (in Chinese)
- [20] 彭婵, 李振芳, 马林江, 黄国伟, 徐红梅, 杨彦伶. 紫薇属种间杂种 SSR 分子鉴定与遗传分析[J]. 北方园艺, 2020(13): 83-90
Peng C, Li Z F, Ma L J, Huang G W, Xu H M, Yang Y L. Identification and genetic analysis in *Lagerstroemia* interspecific hybrids using SSR markers[J]. *Northern Horticulture*, 2020(13): 83-90 (in Chinese)
- [21] 焦振彬, 罗毅波. 群体表型性状研究揭示环境与遗传因素对霍山石斛表型及物种分类的影响[J]. 生物多样性, 2021, 29(8): 1073-1086
Jiao Z B, Luo Y B. Effects of environmental and genetic factors on phenotypic traits and species classification of *Dendrobium huoshanense* [J]. *Biodiversity Science*, 2021, 29(8): 1073-1086 (in Chinese)
- [22] Jian S G, Tang T, Zhong Y, Shi S. Variation in inter-simple sequence repeat (ISSR) in mangrove and non-mangrove populations of *Heritiera littoralis* (Sterculiaceae) from China and Australia [J]. *Aquatic Botany*, 2004, 79(1): 75-86
- [23] Agarwal M, Shrivastava N, Padh H. Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences[J]. *Plant Cell Reports*, 2008, 27(4): 617-631
- [24] 李玉萍, 罗凤霞, 汤庚国, 史慧梅. 兰花杂交育种中杂种 F₁ 的早期鉴定[J]. 核农学报, 2016, 30(4): 676-684

- Li Y P, Luo F X, Tang G G, Shi H M. Early identification of hybrid F_1 in cross breeding of *Cymbidium* [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2016, 30(4): 676-684 (in Chinese)
- [25] Erpelding J E. Genetic analysis of the Asiatic cotton (*Gossypium arboreum*) petal spot phenotypes [J]. *Plant Breeding*, 2022, 141(1): 71-76
- [26] 陈和明, 吕复兵, 肖文芳, 李佐, 蒋明殿. 蝴蝶兰 *Phalaenopsis* 'sogo Vivien' 自交 S_1 代若干性状的遗传表现 [J]. 中国农业大学学报, 2018, 23(2): 29-35
- Chen H M, Lv F B, Xiao W F, Li Z, Jiang M D. Genetic performance of several traits in self-crossing S_1 generation of *Phalaenopsis* 'Sogo Vivien' [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2018, 23(2): 29-35 (in Chinese)
- [27] 朱娇, 吕晓惠, 王俊峰, 马蕾, 兰成云, 缪军, 孙杨, 张冀华, 韩伟. 蝴蝶兰黄色蜡质品种 *Phalaenopsis* 'C27' 与紫红纸质品种 *Phalaenopsis* '31' 杂交 F_1 代性状分离研究 [J]. 山东农业科学, 2019, 51(1): 22-27
- Zhu J, Lv X H, Wang J F, Ma L, Lan C Y, Miao J, Sun Y, Zhang J H, Han W. Study on character segregation of F_1 hybrids from yellow wax variety *Phalaenopsis* 'C27' and purplish red papery variety *Phalaenopsis* '31' [J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2019, 51(1): 22-27 (in Chinese)
- [28] 陈和明, 吕复兵, 李佐, 肖文芳, 尤毅. 秋石斛兰 F_1 代主要观赏性状的遗传表现 [J]. 热带作物学报, 2016, 37(9): 1664-1669
- Chen H M, Lv F B, Li Z, Xiao W F, You Y. Genetic performance of main ornamental traits in F_1 hybrids of *Dendrobium* hybrida [J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2016, 37(9): 1664-1669 (in Chinese)
- [29] 刘靓, 庄卫东, 马晓娟, 尤桂春, 汤红玲, 陈品品. 春石斛种质资源的表型性状及聚类分析 [J]. 热带农业科学, 2023, 43(3): 1-10
- Liu L, Zhuang W D, Ma X J, You G C, Tang H L, Chen P P. Phenotypic traits and clustering analysis of *Dendrobium* nobile germplasm resources [J]. *Chinese Journal of Tropical Agriculture*, 2023, 43(3): 1-10 (in Chinese)
- [30] 俞继英, 张阳, 郑锦凯, 王春, 徐宏磊. 蝴蝶兰黄花系品种 *Phalaenopsis* 'taipei gold' 和 P. 'Sara Gold' 杂交及其后代的遗传表现 [J]. 浙江林学院学报, 2010, 27(4): 550-553
- Yu J Y, Zhang Y, Zheng J K, Wang C, Xu H L. Inherited offspring characteristics from *Phalaenopsis* 'Taipei Gold' $\times$ *Phalaenopsis* 'Sara Gold' [J]. *Journal of Zhejiang Forestry College*, 2010, 27(4): 550-553 (in Chinese)
- [31] 韦小莲, 洪生标, 张佳霞, 曾宝瑞, 张秀珊, 郭英锋, 江秀娜, 汤楷. 香型多花蝴蝶兰杂交及优良单株选育 [J]. 广东农业科学, 2020, 47(4): 39-46
- Wei X L, Hong S B, Zhang J X, Zeng B D, Zhang X S, Guo Y D, Jiang X N, Tang K. Hybridization and breeding of superior individuals of *Phalaenopsis* with fragrance and multiple flowers [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2020, 47(4): 39-46 (in Chinese)
- [32] 李娟娟, 陈洪伟, 王红利, 刘克锋, 石爱平. 一串红若干观赏性状在 F_1 的遗传表现 [J]. 华北农学报, 2014, 29(6): 113-120
- Li J J, Chen H W, Wang H L, Liu K F, Shi A P. Genetic performance of several traits in F_1 hybrids of different cross combinations in *Salvia splendens* [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2014, 29(6): 113-120 (in Chinese)
- [33] Boczkowska M, Nowosielski J, Nowosielska D, Podyma W. Assessing genetic diversity in 23 early Polish oat cultivars based on molecular and morphological studies [J]. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2014, 61(5): 927-941
- [34] 李可峰, 韩太利, 董贵俊, 刘杰. 用形态与分子标记研究石刁柏种质资源遗传多样性 [J]. 植物遗传资源学报, 2006, 7(1): 59-65
- Li K F, Han T L, Dong G J, Liu J. Genetic diversity of *Asparagus* (*Asparagus officinalis* L.) cultivars detected by morphological and molecular markers [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2006, 7(1): 59-65 (in Chinese)
- [35] 侯小改, 尹伟伦, 李嘉钰, 王华芳. 牡丹矮化品种亲缘关系的 AFLP 分析 [J]. 北京林业大学学报, 2006, 28(5): 73-77
- Hou X G, Yin W L, Li J Y, Wang H F. Phylogenetic relationship of dwarf tree peony cultivars by AFLP analysis [J]. *Journal of Beijing Forestry University*, 2006, 28(5): 73-77 (in Chinese)
- [36] 丁刘慧子. 基于形态学和 SSR 标记的甜菜品种特异性鉴定 [D]. 哈尔滨: 黑龙江大学, 2021
- Ding L H Z. Specificity identification of sugarbeet varieties based on morphology and SSR markers [D]. Harbin: Heilongjiang University, 2021 (in Chinese)

责任编辑: 董金波



第一作者简介: 赵秋菊, 女, 硕士研究生, 现就读于广西大学林学院生态学专业, 主要研究方向为兰科植物分子育种。以第一作者身份在中文核心期刊发表3篇文章, 参与发表2篇文章。参与“兰科花寿命差异品种群开花维持机制研究-以春石斛和秋石斛为例”、广西重点研发计划项目(桂科AB21220056)等多个省级课题项目研究。曾获得2021年、2022年广西大学硕士研究生学业奖学金三等奖, 2023年广西大学硕士研究生学业奖学金二等奖, 连续2年获得“活动积极分子”荣誉称号, 并被评为2022—2023年度广西大学“优秀学生”。



通讯作者简介: 张自斌, 男, 1978年生, 博士, 硕士生导师。广西壮族自治区农业科学院副研究员, 广西标准化专家库专家、广西知识产权中青年专家、广西种业管理专家、广西科学传播专家。致力于兰科植物保育和开发应用研究。主持、参与国家及省部级项目20项, 研究成果“广西野生兰科植物资源收集保护与创新利用”获得广西科技进步三等奖; 发现兰科植物新种2个, 培育兰花新品种56个; 发表高质量科研论文50余篇, 包括SCI论文8篇; 出版专著3部; 制定颁布地方标准4项; 获授权专利15项。