

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

石斛品種分子標記的篩選

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC91-2317-B-038-001-

執行期間：91年08月01日至92年07月31日

執行單位：臺北醫學大學生物化學科

計畫主持人：鄭可大

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 92 年 10 月 28 日

石斛品種分子標記的篩選

計畫類別： 個別型計畫 整合型計畫

計畫編號： NSC91-2621-Z-038-001

執行期間： 91年 8月 1日至 92年 7月 31日

計畫主持人：鄭 可 大

共同主持人：

計畫參與人員：

成果報告類型(依經費核定清單規定繳交)： 精簡報告 完整報告

本成果報告包括以下應繳交之附件：

- 赴國外出差或研習心得報告一份
- 赴大陸地區出差或研習心得報告一份
- 出席國際學術會議心得報告及發表之論文各一份
- 國際合作研究計畫國外研究報告書一份

處理方式：除產學合作研究計畫、提升產業技術及人才培育研究計畫、列管計畫及下列情形者外，得立即公開查詢

涉及專利或其他智慧財產權， 一年 二年後可公開查詢

執行單位：臺北醫學大學生化學科

中 華 民 國 九 十 二 年 十 月 八 日

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

Preparation of NSC Project Reports

計畫編號：NSC91-2317-B-038-001

執行期限：91年8月1日至92年7月31日

主持人：鄭可大 臺北醫學大學生化學科

共同主持人：

摘要

正確而精準的分子鑑定基源是避免藥用植物誤用的必要步驟。石斛藥材自古即為著名的治眼疾中藥材；然而石斛藥材的種類繁多，品種紊亂，再加上加工處理，導致外形辨認不易。本研究以逢機擴增多型性去氧核糖核酸反應得到的遺傳標誌序列而設計的聚合酶連鎖反應引物，區分四個收集的石斛品種：粉花石斛(*Dendrobium loddigesii*)、束花石斛(*D. chrysanthum*)、鐵皮石斛(*D. candidum*)、黃草石斛(*D. denneanum*)、細葉石斛(*D. hancockii*)、紫瓣石斛(*D. parishii*)。並將這些石斛品種的核醣體內轉錄區序列，以限制酶 *Taq I* 分解，可將這四種石斛品種予以鑑別。我們運用逢機擴增多型性去氧核糖核酸反應篩選二十條引物，結果自其中 OPT-17 所擴增的六個產物的序列中，設計較長的六組聚合酶連鎖反應引物；結果僅其中兩組引物可將本研究的石斛材料擴增產生多型性圖譜，若兩組引物同時使用，更可將此四個石斛品種清處鑑別。由本研究的結果我們建議，運用逢機擴增多型性去氧核糖核酸反應的引子開發更多足以鑑別藥材品種的未知片段。再由這些片段的序列所設計而得的聚合酶連鎖反應引子，分析得到更可靠、更具再現性的結果。

關鍵詞：石斛，內轉錄區，逢機擴增多型性去氧核糖核酸，聚合酶連鎖反應

Abstract

Positive molecular identification of medicinal plants is necessary to avoid their misuse. *Dendrobium* Caulis is a famous Chinese herbal medicine traditionally used in ophthalmology. However, identifying the

species based on morphology is difficult. In this study, four *Dendrobium* species were collected and differentiated by RAPD (random amplified polymorphic DNA)-derived PCR (polymerase chain reaction) primers and by the fingerprints generated from their partial rDNA (ribosomal DNA) regions with restriction enzyme digestion. The *Dendrobium* species used, providing by Dr. Tsay in Taiwan Agricultural Research Institute, included *Dendrobium loddigesii*, *Dendrobium chrysanthum*, *Dendrobium candidum*, *Dendrobium denneanum*, *Dendrobium hancockii* and *Dendrobium parishii*. The rDNA fragments of these samples are to be amplified in PCR reaction, which followed by sequence determination.

The sequences of the rDNA region, containing partial 18S, ITS-I, 5.8S, and ITS-II, of the *Dendrobium* species used in the study was revealed as approximately 850 bp in length. The relationship between *D. denneanum* and *D. hancockii* show the closest. *D. parishii* is the most far with the others species in genetic relationship. The rDNA sequence similarity of the five *Dendrobium* species used showed range from 87% to 91%.

Keywords: *Dendrobium*, RAPD, RFLP, rDNA, ITS

一、前言

台灣為因應中藥規格化的品質要求，藥材基源的確認，是開發中藥的基礎，分子識別遂成為重要的鑑定工具之一。在 DNA 一級結構層次上，檢測多型性最直接的方法是進行 DNA 序列的分析；近幾年中藥材的指紋分析技術甚多，這些生物技術的應用，因藥材性質的不同，可靈活運用，以解決中藥材基源品

管的問題。

石斛屬(*Dendrobium*)為蘭科植物之大屬之一，約 1500 種，主要分佈於亞洲熱帶地區及太平洋島嶼，其中絕大多數集中於東南亞一帶，中國有 80 種之多，大多為名貴中藥；石斛為多年生附生草本，主產於大陸四川、雲南、貴州、廣西、廣東及福建等省分。過去該屬植物的分類，主要依據花器的構造加以鑑別，但因石斛品種混雜，在未開花期間，無法根據外部形態及內部構造加以明確區分。在中藥材市場，偽品更是充斥，無法辨識。

本研究以農業試驗所蔡新聲博士收集的粉花石斛(*Dendrobium loddigesii*)、束花石斛(*Dendrobium chrysanthum*)、鐵皮石斛(*Dendrobium candidum*)、黃草石斛(*Dendrobium denneanum*)、細葉石斛(*Dendrobium hancockii*)、紫瓣石斛(*Dendrobium parishii*)，rDNA ITS (包括完整的 5.8S 片段)經 PCR 擴增後，加以定序。以瞭解其親緣關係，並作為中藥 DNA 資料庫的參考。

二、研究目的

本計劃的目的在於建立石斛分子鑑定技術的模式，以釐清其基源；所希望達成的目標包括(1)設計足以區別各品種的專一性引子，以 PCR 產生的多型性片段(分子標誌)迅速且有效的達到鑑別的目的；或是(2)解讀石斛品種的部分 DNA 序列，作為分類的依據。

三、研究方法

甲、品種收集：

粉花石斛(*Dendrobium loddigesii* 廿 DL)、束花石斛(*Dendrobium chrysanthum*, DCH)、鐵皮石斛(*Dendrobium candidum*, DC)、黃草石斛(*Dendrobium denneanum*, DD)、細葉石斛(*Dendrobium hancockii*, DH)、紫瓣石斛(*Dendrobium parishii*, DP)

乙、DNA 的抽取

先取石斛葉片 0.1 克，加 1 毫升 urea extraction buffer (50mM Tris-HCl, pH8.0; 50mM NaCl; 20mM EDTA; 2.5M urea; 1% sarcosine)，在研鉢中予以研磨，再將研磨液倒入 1.5ml eppendorf 中，靜置於室溫 10 分鐘後加入一倍體積 phenol/chloroform/isoamyl alcohol = 25:24:1，混勻並以 13000 x g，離心 10 分鐘；取上層液，加入 0.1 倍體積的 4.4M NH₄OAc；再以 phenol/chloroform/isoamyl alcohol=25:24:1 抽取一次，離心，留下 DNA pellet，並以 70% 酒精清洗之；最後溶於 1/10 TE buffer 中。

丙、RAPD 分析

本研究以二十條經過挑選，較易顯現多型性之僅含十個核苷的引子(primer)，對石斛進行 RAPD 分析。每一 PCR (polymerase chain reaction) 樣品反應總體積為 25 μl，其中包含 1X PCR buffer (ProTech, U.S.A.)，0.2 mM dNTP, 0.8 μM primer, 0.625 U Taq polymerase (ProTech) 和 5 ng DNA。以 Perkin Elmer Cetus 2400 反應器，進行 DNA 的擴增反應；反應條件為 45 次循環的 94°C, 1 分鐘; 40°C, 1 分鐘; 72°C, 1 分鐘。RAPD 的反應產物用 2% 的瓊脂膠體電泳，在 1X TAE buffer (40 mM Tris-acetate, 2 mM EDTA, pH 8.0) 中，予以分離。並以 ethidium bromide 染色，觀察之。

丁、PCR 分析

將各石斛品種以 PCR 擴增，反應條件為 1X PCR buffer (ProTech, U.S.A.) 0.2 mM dNTP, 0.8 μM primer, 0.625 U Taq polymerase (ProTech, U.S.A.) 和 40 ng DNA。10F: ACCCTATCTCGGTCT, 10R: CGATGGCATGACAGT, and 12F: CCTTTCTCGCCACGT, 12R: CCAGAAACGCTGGTG，以 Perkin Elmer Cetus 2400 反應器，進行 DNA 的擴增反應；反應條件為 30 次循環的 94°C, 1 分鐘; 55°C, 1 分鐘; 72°C, 45 秒。

四、結果與討論

本研究計劃針對所收集的六個石斛品種，進行 rDNA 多型性分析；我們以朝陽科技大學蔡新聲教授所提供的一、鐵皮石斛 *Dendrobium candidum*，二、疊鞘石斛 *Dendrobium denneanum*，三、細葉石斛 *Dendrobium hancockii*，四、東花石斛 *Dendrobium chrysomphu*，五、環草石斛 *Dendrobium loddigesii*，六、紫瓣石斛 *Dendrobium parishii*；其中東花石斛乾品材料，沒有做出來，其他材料均為鮮品，均可定出這六種石斛的 rDNA 的序列（圖一）。由結果顯示，它們的 ITS-I（約 115 bp）及 ITS-II（約 240 bp）區域，呈現較高度的差異性。其中以環草石斛和疊鞘石斛的 ITS-I 相似度最低，僅 71%；而以細葉石斛和鐵皮石斛的相似度達 86% 為最高；在 ITS-II 方面，鐵皮石斛分別與細葉石斛、環草石斛的相似度最低，均只有 78%，而以紫瓣石斛和環草石斛的相似度達 87% 為最高。就整段 ITS-I-5.8S-ITS-II 序列加以分析的結果顯示，疊鞘石斛和細葉石斛的親源關係最近（圖二），序列相似度為 91%，並與鐵皮石斛形成一群叢；該群叢再與環草石斛次相近；環草石斛與其他四種石斛的親緣關係最遠，序列相似度為 87%（表一）。

這些片段的在 ITS-I 及 ITS-II 區域，呈現較高度的差異性，但因樣品數難以收集完全，因此仍應繼續得到更多的品種序列資料，始可歸納出石斛品種內的序列具有一致性而品種之間具有差異性的關鍵片段，這些片段將可放在生物晶片上，作為快速、大量之藥材樣品品種鑑定的技術平台。本研究計劃在建立石斛及天麻品種的分子鑑定模式，我們成功地完成了石斛的鑑別，但因為藥材的 DNA 經常受污染或斷裂嚴重或太少，導致 RAPD、RFLP 或 AFLP 等分析結果的不穩定性高；因此，我們認為惟有 DNA 序列才

是鑑別藥材品種的最可靠工具；再者，中藥材積源鑑定分析的標準化，必須藉由 DNA 的序列資料，才可以達到國內外之標準的統一性，不會因為人為、藥品、儀器或其他因素而造成誤差。

四、參考文獻：

1. 徐紅等。1999。海南、廣東省石斛屬植物資源與種質保護研究。中國野生植物資源 5：24-26。
2. 王康正、高文遠。1997。石斛屬藥用植物研究進展。中草藥 28：633-635。
3. 李江陵、肖小河。1995。四川石斛屬藥用植物資源調查。中國中藥雜誌 20：9-12。
4. 徐國鈞等。中國藥材學(下)1686-1692。中國醫藥出版社。
5. 任仁安等。1986。中藥鑑定學 509-511。上海科學技術出版社。
6. 張潔等。1999。海南、廣東省石斛屬植物資源與種質保護研究。中國野生植物資源 5：1-3。
7. 楊世林等。2000。天麻的研究進展。中草藥 31：66-69。
8. Cheng^{*} KT, Tsay HS, Chen CF and Chou CW. 1998. Determination of the Components in a Chinese prescription, Yu-Ping-Feng San by RAPD analysis. *Plant Medica* 64: 563-565.
9. Nakai R, Shoyama Y, Shiraishi S. 1996. Genetic characterization of *Epimedium* species using random amplified polymorphic DNA (RAPD) and PCR-restriction fragment length polymorphism (RFLP) diagnosis. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*. 19(1): 67-70.
10. Negi MS, Singh A, Lakshmikumaran M. 2000. Genetic variation and

relationship among and within
Withania species as revealed by AFLP
markers. *Genome*. 43(6): 975-980.

11. Lanfranco L, Wyss P, Marzachi C, Bonfante P. 1995. Generation of RAPD-PCR primers for the identification of isolates of *Glomus mosseae*, an arbuscular mycorrhizal fungus. *Molecular Ecology*. 4(1): 61-86.
12. Shen, Y, Ford-Lloyd BV, Newbury HJ. 1998. Genetic relationships within the genus *Beta* determined using both PCR-based marker and DNA sequencing techniques. *Heredity*. 80 (5): 624-632.

DC GATCGCTGTGATGCGGGCGGTTCGCTGCTGCTGACTCTGCGAGAAGTCCA
DD GATCGCTGTGACGCGGGCGGTCCGCCGCCGCTGACTCTGCGAGAAGTCCA
DH GATCGCTGTGATGCGGGCGGTTCGCCGCCGCTGACTCTGCGAGAAGTCCA
DL GATCGCTGTGATGCGGGCGGTTCGCCGCCGCTGACTCTGCGAGAAGTCCA
DP GATCGCTGTGATGCGGGCGGTTCGCCGCCGCTGACTCTGCGAGAAGTCCA
Co GATCGCTGTGATGCGGGCGGTTCGCCGCCGCTGACTCTGCGAGAAGTCCA

DC TTGAACCTTATCATTAGAGGAAGGAGAAGTCGTAACAAGGTTCCGTAG
DD TTGAACCTTATCATTAGAGGAAGGAGAAGTCGTAACAAGGTTCCGTAG
DH TTGAACCTTATCATTAGAGGAAGGAGAAGTCGTAACAAGGTTCCGTAG
DL TTGAACCTTATCATTAGAGGAAGGAGAAGTCGTAACAAGGTTCCGTAG
DP TTGAACCTTATCATTAGAGGAAGGAGAAGTCGTAACAAGGTTCCGTAG
Co TTGAACCTTATCATTAGAGGAAGGAGAAGTCGTAACAAGGTTCCGTAG

DC GTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGAGACCGAAACACAAACGAGCGATT
DD GTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGAGACCGAAATGCATCGAGTGATCT
DH GTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGAGACCGAAATGCATCGAGCGATT
DL GTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGAGACCGAAATGCATCGAGCGATT
DP GTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGAGACCGAAATGCATCGAGCGATT
Co GTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGAGACCGAAATGCATCGAGCGATT

DC TGTGAACCTGTAAAATAAGCGGTGGCTTTGCTGCTGCGATAAA-ATCC
DD TGAGAACCCTCAAATAAGCGGTGGCCGCTGCTGCTGCGAAAAAGATCC
DH TGAGAACCCTCAAATAAGCGGTGGCTTTGCTGCTGCGATAAA-ATCC
DL TGAGAACCCTCAAATAAGCGATGGCTATAGTTGTCGAGATAAA-ATCC
DP TGAGAACCCTCAA- TAATCGGTGGCTATAGTTCCGAGATAAA-ATCC
Co TGAGAACCCTCAAATAAGCGGTGGCT TTGCTGCTGCGATAAA ATCC

DC ACCCGAGTCATTGCCTCATCCCTCTT-TGGGGT-GGGGACGTGATGAAG
DD AGCCGAGTCGTCGCTCGCCAGCCT-TGGGGC-GGGGACCGACGAAG
DH GTCTCAGTCGTCGCTCATCCCTCTT-TGGGGC-GGGGACCGATGAAG
DL ATCCGAGTCGTCATGTCATCCCTCTTTTGGGGGTTGGGACATGATGAAG
DP ATCCGATCTTGCCTCATCCCTCTT-CGGGGT-GTGGACGTGATGAAG
Co ATCCGAGTCGTCGCTCATCCCTCTT TGGGGT GGGGACGTGATGAAG

DC GATGGATGAACCTCAAATCGGCGCAGCGTTGCCCAAGGAAATCTTGAA
DD GACGGATGAACCTCAAACCGGCGCAGCGTCGCGCAAGGAAAATTGAA
DH GATGGATGAACCTCAAACCGGCGCAGCATCGCGCAAGGCAATATCGAA
DL GATGGATGAACCTCAAATCGGCGCAGCATCGCGCAAGGAAAATATGAA
DP GATGGATGAACCTCAAATCGGCGCAGCGTCGCGCAAGGAAAATCTGTA

Co GATGGATGAACCTCAAATCGGCGCAGCGTCGCGCAAGGAAATATTGAA

DC GCACAAGCCCATAAATGGGTTTCGTTGGGATGGGAGTGTGTGCGCACGCCA
DD ACACGAGACCTAAAAGGGCTCTGTGGCTTGGG-GTGCTGTGTCATGCCA
DH ACACGAGCCCTAAAATGGGTTTTATGGCATGGT-GTGCTTTTGACCGCCA
DL ATACGAGCCCTAAAATGGGTTTTATGAAATGGG-GTGTTGTGTCATTCCT
DP GCACAAGCCCTTAAATGGATTTG-TGGAAATGGG-TTGCTGTGTCATGCCA
Co ACACGAGCCCTAAAATGGGTTTT TGG ATGGG GTGCTGTGTCATGCCA

DC TATTGATTGACACGACTCTCGGCAATGGATATCTCGGCTCTCGCATCGAT
DD TATTGATTGACACGACTCTCGGCAATGGATATCTCGGCTCTCGCATCGAT
DH TATTGATTGACACGACTCTCGGCAATGGATATCTCGGCTCTCGCATCGAT
DL TATG-ATTGACATGACTCTCGGCAATGGATATCTCGGCTCTCGCATCGAT
DP TATTGATTGACACGACTCTCGGCAATGGATATCTCGGCTCTCGCATCGAT
Co TATTGATTGACACGACTCTCGGCAATGGATATCTCGGCTCTCGCATCGAT

DC GAAGAGCGCAGCGAAATGCGATATGTGGTGCGAATTGCAGAAATCCCGCGA
DD GAAGAGCGCAGCGAAATGTGATACGTGGTGCGAATTGCAGAAATCCCGCGA
DH GAAGAGCGCAGCGAAATGCGATACGTGGTGCGAATTGCAGAAATCCCGCGA
DL GAAGAGCGCAGCGAAATGCGATATGTGGTGCGAATTGCAGAAATCCCGCGA
DP GAAGAGCGCAGCGAAATGCGATATGTGGTGCGAATTGCAGAAATCCCGCGA
Co GAAGAGCGCAGCGAAATGCGATATGTGGTGCGAATTGCAGAAATCCCGCGA

DC ACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCGAGGCCAACCGGCCAAGGG
DD ACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCGAGGCCAACCGGCCAAGGG
DH ACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCGAGGCCAACCGGCCAAGGG
DL ACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCGAGGCCAACCGGCCAAGGG
DP ACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCGAGGCCAACCGGCCAAGGG
Co ACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCGAGGCCAACCGGCCAAGGG

DC CACGTCGCTGGGCGTCAAGCATTATCTACTCCGTGCTA-CTCTCCC
DD CACGTCGCTGGGCGTCAAGCGTTACGTCGCTCCATGCCAA-GTCACCC
DH CACGTCGCTGGGCGTCAAGCGTTACGTCGCTCCGTGTCAAAGTCCCCC
DL CACGTCGCTGGGCGTCAAGCATTATCTACTCCGTGCTA-GCTACCC
DP CACGTCGCTGGGCGTCAAGCATTATGTCGCTTCTGTGCTA-GCCACCC
Co CACGTCGCTGGGCGTCAAGCATTATGTCGCTCCGTGCCAA GTCACCC

DC ATCCATGGATGTTG-CTAAGGCTCGGATGTGCACGGTGGCTCGTCGTG
DD ATCCATGGATGGCCGGTGAAGGCTCGGATGTGCATAGTGGCTCGTCGTG
DH ATCCATGGATGGTTGGCGAAGGCTCGGACGTGCACAGTGGCTCGTCGTG
DL ATCCATGGATGTTGTTGGCGAAGGCTTGGATGTGCATATGGCTCATCGTG
DP ATCCATGGATGTTGTTGGCGAAGGCTCGGATGTGCATAGTGGCTCGTCGTG
Co ATCCATGGATGTTGTTGGCGAAGGCTCGGATGTGCAT GTGGCTCGTCGTG

DC CCCCTTGGTGGCGGGCTGAAGGGCGGTGCATCTTCTGTTGGCTGCCA
DD CCCCTGTTGGCGGGCTGAAGAGCGGGTGCATCTTCTGTTGGCTGCCG
DH CCCCTGGCGGGCGGGCTGAAGAGCGGGTGCATCTCTGTTGGATGCCG
DL CCCCTGGCGGGCGGGCTGAAGAGCGGGT-ATCATCTGTTGGCTGCCA
DP CCCCTGGCGGGCGGGCTGAAGAGCGGTGCATCTTCTGTTGGCTGCCA
Co CCCCTGGCGGGCGGGCTGAAGAGCGGGTGCATCTCTGTTGGCTGCCA

DC ACAATAAGGGTGGATT-AAATAGGCCTATGCTATTGTGTCAAGCGCGC
DD -CAATAATGGTGGATAAACCGGAGGCCTATGTTATTGTGTCGTGCATGC
DH ACAATAAGGGTGGATTAAAGTGAGGCCTATGTTATTGTGTCGTGCATGC
DL ACAATAAGGGTGGACTGAAGGGAGACCTATGCTATTGTGTGTCGTGCATGC
DP ACAATAAGGGTGGATTAAATAGGCCTATGCTATTGTGTGTCGTGCATGC
Co ACAATAAGGGTGGATT AAGTGAGGCCTATGCTATTGTGTGTCGTGCATGC

DC CCGAGAGATGGTGCATGCTTTTTAGGTGATCCCAATCATGCTGATGCCA
DD CTAAGATATGATTAACCTTTTTAGGTGATCCCAATCATGCTGATGCCA
DH CTAAGAGATGATAGTGTCTTTTTGGTGTATCCCAATCATGCTGATGCCA
DL CTAAGAGTTGATCATACTTTTGGAGAGATCCCAATCATGCTGATGCCA
DP CTAANAGATGATCACACTTTTGGTGTATCCCAATCATGTCGCGATCCN
Co CTAAGAGATGATCATACTTTTTAGGTGATCCCAATCATGCTGATGCCA

DC TGGATGGCGTATCGAATGTGACCCAGGATGGCGAGGCCACCCGCTGAG
DD CGGATGGCGTTTTGAATGCGACCCAGGATGGCGAGGCCACCCGCGAG
DH GAGATGGCGTTTTGAATGCGACCCAGGATGGCGAGGCCACCCGCGAG
DL TGGACGGCGTTTTGAATGCGACCCAGGATGGCGAGGCCACCCGCGAG
DP TGGATGGCGTTTTGAATGCGACCCAGGATGGCGAGGCCACCCGCGAG

Co TGGATGGCGTTTTGAATGCGACCCAGGATGGGCGAGGCCACCCGCCGAG

DC TTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAGAAGAACTTACGAGGATCCCTA

DD TTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAGAAGAACTTACGAGGATCCCTA

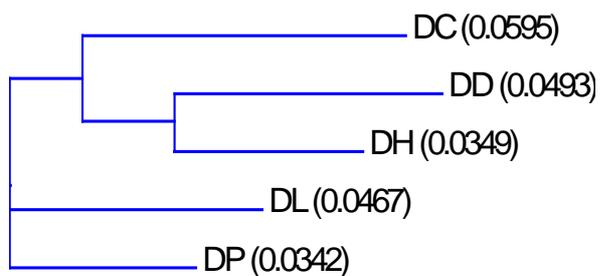
DH TTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAGAAGAACTTACGAGGATCCCTA

DL TTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAGAAGAACTTACGAGGATCCCTA

DP TTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAGAAGAACTTACGAGGATCCCTA

Co TTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAGAAGAACTTACGAGGATCCCTA

圖一、本研究之石斛樣品的rDNA序列



圖二、本研究之石斛樣品的親緣關係圖

表一、本研究之石斛樣品的rDNA相似度

	DC	DD	DH	DL	DP
DC	100	87	89	87	89
DD		100	91	87	88
DH			100	88	89
DL				100	91
DP					100