

兰花诱变育种研究进展

罗维宇¹, 宿庆连², 曾瑞珍¹, 袁 赞², 魏 倩¹, 张志胜^{1,3*}

1. 华南农业大学林学与风景园林学院, 广东广州 510642; 2. 广州花卉研究中心, 广东广州 510360; 3. 国家植物航天育种工程技术研究中心, 广东广州 510642

摘要: 诱变育种是一种快速有效的育种方法, 对观赏植物品种改良具有特别重要的意义。兰花具有很高的观赏价值、药用价值、食用价值和/或文化价值, 市场前景广阔。已有研究表明, 诱变可以引起兰花株型、叶部性状、花朵数、花朵大小、花型、花色、开花期、观赏期、抗虫性、抗病性、抗逆性等性状的变化, 迄今至少已获得 930 个突变体和 16 个新品种。本文对兰花诱变育种研究进行综述, 旨在明确兰花诱变育种现状和影响兰花诱变育种效果的因素, 总结兰花诱变机理, 找出进一步提高兰花诱变育种效率和效果的方法, 为更好地利用诱变育种技术培育兰花新品种, 深入阐明兰花诱变机理提供参考。

关键词: 兰花; 诱变育种; 突变体; 品种; 研究进展

中图分类号: S682.31 文献标识码: A

Advances in Mutagenesis Breeding Research of Orchids

LUO Weiyu¹, SU Qinglian², ZENG Ruizhen¹, YUAN Yun², WEI Qian¹, ZHANG Zhisheng^{1,3*}

1. College of Forestry and Landscape Architecture, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China; 2. Guangzhou Flower Research Center, Guangzhou, Guangdong 510360, China; 3. National Engineering Research Center of Plant Space Breeding, Guangzhou, Guangdong 510642, China

Abstract: Mutagenesis breeding is a fast and effective breeding method, which has special important significance for the improvement of ornamental plant varieties. Orchids have important ornamental, medicinal, edible and/or cultural value, and broad market prospects. Studies have shown that mutagenesis causes the character changes including plant type, leaf character, flower number, flower size, flower type, flower color, flowering time, ornamental period, insect resistance, disease resistance, stress resistance in orchids, and to date, at least 930 mutants and 16 new orchid cultivars have been generated. This paper reviews the achievements of mutagenesis breeding research in orchids, clarifies current situation and factors affecting the effect of orchid mutation breeding, summaries mutation mechanism of orchids, and finds the methods to further improve the efficiency and effect of orchid mutation breeding. It would provide references for creating new varieties of orchids by better utilizing mutation breeding technology and further clarifying the mutation mechanism of orchids.

Keywords: Orchidaceae; mutagenesis breeding; mutant; cultivar; research progress

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.11.001

兰花是兰科 (Orchidaceae) 的总称, 具有很高的观赏价值、药用价值、食用价值和/或文化价值, 深受世界各国人们的喜爱。迄今, 已鉴定出兰科植物 27 801 种, 899 属^[1], 在英国皇家学会登录的集体杂种超过 15 万个。在我国, 传统意义

上的兰花是指兰科兰属 (*Cymbidium*) 植物, 特别是其中的地生种类, 也就是今天的国兰。兰花是中国传统十大名花之一, 是世界著名的观赏植物, 也是当今生物学领域研究生命和进化的理想模式植物。

收稿日期 2023-08-15; 修回日期 2023-10-07

基金项目 广州市农业农村局项目 (No. 23105372); 广州市科技计划项目 (No. 2023B03J1376, No. 2023B03J1309)。

作者简介 罗维宇 (1998—), 男, 硕士研究生, 研究方向: 兰花育种。*通信作者 (Corresponding author): 张志胜 (ZHANG Zhisheng), E-mail: zszhang@scau.edu.cn。

新品种选育是兰花产业高质量发展的基础。兰花新品种选育的主要方法有引种驯化、选择育种、杂交育种、诱变育种和倍性育种等。诱变育种是指通过人为控制化学、物理因素诱导植物,使其发生遗传变异,从可遗传变异性状中挑选出有利目标性状,最终培育出新品种或种质资源的方法^[2],具有育种年限短、突变方向不确定、突变范围广、可以产生特殊变异等特点。自 1979 年 KOZLOWSKA-KALISZ^[3]使用 γ 射线辐照兰花以来,兰花诱变育种取得了巨大进步,获得了一批叶色叶型、花色花型改变以及抗性提升等特性的突变体。本文对兰花诱变育种研究进行综述,旨在明确兰花诱变育种现状和影响兰花诱变育种效果的因素,总结兰花诱变机理,找出进一步提高兰花诱变育种效率和效果的方法,为更好地利用诱变育种技术培育兰花新品种,深入阐明兰花诱变和进化机理提供参考。

1 兰花诱变方法

兰花诱变方法主要包括物理诱变、化学诱变、空间诱变,这 3 类诱变方法在兰花育种中均有研究报道,其中物理诱变的研究报道最多,成效最大。

1.1 物理诱变

物理诱变育种是指利用物理因素诱导动植物的遗传特性发生变异,再从变异群体中选择符合人们某种要求的单株或个体,进而培育成新的品种或种质的育种方法^[4]。迄今,至少已在兰属、蝴蝶兰属、石斛兰属等 13 个属 44 种兰花中开展了物理诱变育种研究,获得突变体 716 个,培育

出小兰屿蝴蝶兰飞兰等兰花新品种 12 个(表 1),其中 5 个来自突变体库(The Mutant Varieties Database of the International Atomic Energy Agency, IAEA)。

用于兰花辐照的辐照源有 γ 射线^[3, 5-66]、重离子束^[55, 67-74]、快中子^[75-76]和紫外线^[77]等。⁶⁰Co- γ 射线是最常用的辐照源,近年来,采用重离子束辐照逐渐增多,与 γ 射线辐射相比,碳重离子辐照的植株突变频率更高,突变谱更宽^[78]。LUAN 等^[55]分别使用 ⁶⁰Co- γ 射线和 ¹²C⁶⁺重离子辐照 2 种蝴蝶兰,在 ⁶⁰Co- γ 射线辐照的 2 种蝴蝶兰中均未发现变异系,而在 ¹²C⁶⁺重离子(3 Gy)辐照的 2 种样本中筛选出 24 个变异系。

除了辐照源外,辐照材料、剂量和剂量率也是影响兰花辐照效果的重要因素。在兰花诱变育种中,多数研究人员将半致死剂量(LD₅₀)作为最佳诱变剂量,采用的诱变材料多为原球茎、类原球茎和根状茎。不同种、品种、辐照材料的 LD₅₀ 不同,因此在兰花诱变育种中,确定辐照材料的 LD₅₀ 值十分重要。兰花根状茎辐照后,有时不同剂量处理后的材料均能存活,但生长停滞。因此,当无法用半致死量对辐射诱变效果进行评估时,有使用半减少剂量(the 50% reduction dose, RD₅₀)作为最佳诱变剂量的报道^[21, 23]。

物理诱变引起兰花株型、株高、分蘖性,叶数、叶形、叶色、花序、花数、花型、花色、花期,抗病性、抗虫性、组培快繁特性等性状的变化(表 1)。其中叶色突变出现的频率最高,表明通过物理诱变选育兰花叶色变异新品种的成功率高。

表 1 物理诱变在兰花育种中的应用
Tab. 1 Application of physical mutagenesis in orchid breeding

辐照源 Radiation source	种类 Species	辐照材料 Irradiated material	辐照结果 Radiation result	参考文献 Reference
γ 射线	春剑 <i>Cym. longibracteatum</i>	根状茎	RD ₅₀ 为 20 Gy; 再生植株主要表现为叶色失绿变淡, 获得 1 个叶艺突变体	[5-6]
γ 射线	寒兰 <i>Cym. kanran</i>	根状茎	LD ₅₀ 为 80.30 Gy; 再生植株叶片数减少、植株瘦弱低矮黄化、叶片黄化等	[7]
γ 射线	墨兰 <i>Cym. sinense</i>	根状茎	RD ₅₀ 为 10 Gy; 低剂量(5 Gy)增加可溶性蛋白质含量和 POD 活性、促进根状茎的生长, 高剂量(10 Gy 以上)则抑制其生长甚至导致死亡	[8]
γ 射线	春兰 <i>Cym. goeringii</i>	根状茎	LD ₅₀ 为 20 Gy; 高剂量(30 Gy 以上)抑制增殖与分化, 获得 4 株叶片边缘白化苗	[9]
γ 射线	建兰 <i>Cym. ensifolium</i>	幼芽	LD ₅₀ 为 16~18 Gy; 再生植株矮化变粗, 叶片短小、扭曲等, 获得矮小和叶片嵌有金色线条的变异单株	[10]
γ 射线	春兰 <i>Cym. goeringii</i>	成熟植株	产生斑缟艺、片缟艺、中斑艺、粉斑艺等叶艺突变体	[11]
γ 射线	建兰 <i>Cym. ensifolium</i>	成熟植株	新叶生长趋缓, 出现扭曲、旋转, 叶色变浓; 花葶缩短或加长、颜色变深; 花朵出现并蒂花、多花等性状	[12]
	墨兰 <i>Cym. sinense</i>			
	蕙兰 <i>Cym. faberi</i>			

续表 1 物理诱变在兰花育种中的应用
Tab. 1 Application of physical mutagenesis in orchid breeding (continued)

辐照源 Radiation source	种类 Species	辐照材料 Irradiated material	辐照结果 Radiation result	参考文献 Reference
γ 射线	墨兰 <i>Cym. sinense</i> 建兰 <i>Cym. ensifolium</i> 杂交兰 <i>Cym. hybrid</i>	成熟植株	LD ₅₀ 为 10~20 Gy; 出现叶片短小、叶片旋转、线艺、并蒂花、多花、匍匐茎等不同的变异类型	[13]
γ 射线	春兰 <i>Cym. goeringii</i> 蕙兰 <i>Cym. faberi</i> 建兰 <i>Cym. ensifolium</i> 寒兰 <i>Cym. kanran</i>	成熟植株	LD ₅₀ 为 5~20 Gy; 辐照后导致叶片枯黄、死亡和抑制花芽分化	[14]
γ 射线	冬凤兰 <i>Cym. dayanum</i> 竹叶兰 <i>Arundina graminifolia</i> 碧玉兰 <i>Cym. lowianum</i> 西藏虎头兰 <i>Cym. tracyanum</i>	组培苗	冬凤兰、竹叶兰、碧玉兰和西藏虎头兰的 LD ₅₀ 分别为 20.72、26.31、29.88、41.04 Gy; 出现植株矮化、变粗, 叶变宽、叶尖分叉、叶上有淡绿斑、叶扭曲等变化	[15]
γ 射线	兰属 <i>Cymbidium</i>	-	得到 1 个叶艺矮化新品种 Dong-i	[16]
γ 射线	兰属 <i>Cymbidium</i>	类原球茎/ 芽/植株	类原球茎、芽和植株的 LD ₅₀ 分别为 35.0、41.0、83.1 Gy; 出现叶艺、矮化、叶片变大等变异	[17]
γ 射线	玉女兰 <i>Cym. Yunv</i>	类原球茎	LD ₅₀ 为 60 Gy	[18]
γ 射线	兰属 <i>Cymbidium</i>	分生组织	8 Gy 促进原球茎形成和生长, 200 Gy 完全抑制生长, 700 Gy 致死	[3]
γ 射线	杂交兰 <i>Cym. tracyanum</i> × <i>Cym. iridioides</i>	组培苗	得到 2 个叶艺突变体, 其植株矮化, 但根数不减, 叶片数增多, 气孔特征和染色体结构发生了变化	[19-20]
γ 射线	杂交兰(<i>Cym. sinense</i> × <i>Cym. goeringii</i>) × <i>Cym. spp.</i>	类原球茎	RD ₅₀ 为 40 Gy	[21]
γ 射线	杂交兰 <i>Cym. sinense</i> × <i>Cym. goeringii</i>	根状茎	基于植株高度的 RD ₅₀ 为 51.2 Gy, 基于植株鲜重的 RD ₅₀ 为 48.0 Gy	[22]
γ 射线	杂交兰 <i>Cym. sinense</i> × <i>Cym. goeringii</i>	根状茎	再生植株出现多种黄色线艺、黄色斑艺、叶色变淡、矮化、叶卷曲等变异	[23-24]
γ 射线	杂交兰(<i>Cym. sinense</i> × <i>Cym. goeringii</i>) × <i>Cym. spp.</i>	类原球茎	LD ₅₀ 分别为 1 h 辐照 16.1 Gy, 4 h 辐照 23.6 Gy, 8 h 辐照 37.9 Gy, 16 h 辐照 37.9 Gy, 24 h 辐照 40.0 Gy	[25]
γ 射线	蝴蝶兰 <i>Phalaenopsis aphrodite</i>	盆栽组培苗	出现花瓣缺失、重瓣花等花型变异	[26]
γ 射线	蝴蝶兰 <i>Phal. aphrodite</i>	-	辐照处理后植株叶长、叶宽改变, 有 2 株提前开花	[27]
γ 射线	蝴蝶兰 <i>Phal. aphrodite</i>	原球茎	LD ₅₀ 为 50~68 Gy; 低剂量辐射对原球茎生长影响不明显, 高剂量辐照后其存活率、增殖系数和分化率均明显下降	[28, 34]
γ 射线	蝴蝶兰 <i>Phal. amabilis</i>	盆栽苗	出现花型变异	[29]
γ 射线	蝴蝶兰 <i>Phal. amabilis</i>	盆栽组培苗	最佳辐射诱变剂量为 15 Gy; 植株和花梗明显矮化, 叶片增厚, 花期推迟且花量减少	[30]
γ 射线	蝴蝶兰 <i>Phal. equestris</i>	盆栽实生苗	产生花瓣表型突变体, 得到蝴蝶兰迅兰、飞兰、繁兰 3 个新品种	[31]
γ 射线	蝴蝶兰 <i>Phal. violacea</i>	植株	出现叶片变异, 叶片颜色较深且狭长, 厚度增加, 茎基部出现侧枝	[32]
γ 射线	蝴蝶兰属 <i>Phalaenopsis</i>	花粉	LD ₅₀ 为 60~80 Gy; 选育出 1 个株形、叶形、花形和花色变异优良株系	[33]
γ 射线	蝴蝶兰属 <i>Phalaenopsis</i>	原球茎	出现生长量减小、叶片增厚、叶近圆形的变异苗和金色叶缘的变异苗	[35]
γ 射线	蝴蝶兰属 <i>Phalaenopsis</i>	原球茎/小苗	出现较多的株型变异	[36]
γ 射线	蝴蝶兰属 <i>Phalaenopsis</i>	盆栽组培苗	辐照植株花期提前或延迟、花梗分枝增多、矮化、花型变异等	[37]
γ 射线	石斛 <i>Dendrobium Sonia</i>	离体再生芽	LD ₅₀ 为 15~30 Gy; 单色光显著影响辐照后苗的成活率和生长; 黄光和红光处理显著增加辐照后芽的鲜重、芽长度和叶绿素含量	[38]
γ 射线	石斛 <i>Den. Sonia</i>	类原球茎	出现花型、花色突变体, 得到 6 个石斛新品种 KeenaOval、KeenaRadiant、KeenaHiengDing、KeenaAhmadSobri、KeenaPearl、KeenaPastel	[39-43]
γ 射线	石斛 <i>Den. Sonia</i>	类原球茎	LD ₅₀ 为 43 Gy; 低剂量辐照促进再生植株根、茎、叶的发育; 高剂量辐照后, 再生植株气孔显著变小	[44]
γ 射线	石斛 <i>Den. Sonia</i>	幼苗	LD ₅₀ 为 30~60 Gy; 不同品种间 LD ₅₀ 存在差异; 辐照剂量对叶片宽度影响不明显, 对株高、假鳞茎长、叶片长均有抑制作用, 品种间有一定的差异	[45]
γ 射线	石斛 <i>Den. Sonia Kai</i>	类原球茎	再生植株花变大或变小, 花色出现纯白色, 出现畸形花等	[46]
γ 射线	石斛 <i>Den. candidum</i>	种子	种子 LD ₅₀ 为 62 Gy, 与不同胶膜菌属菌株共生萌发的 LD ₅₀ 为 69 Gy 和 63 Gy; 低剂量促进萌发、高剂量抑制萌发	[47]

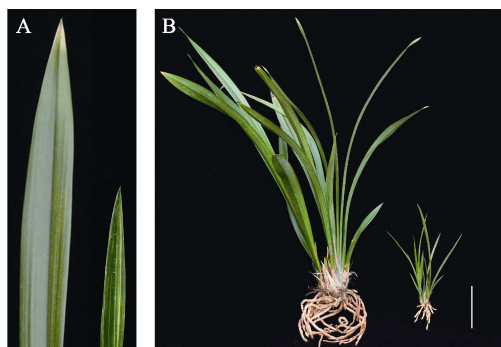
续表 1 物理诱变在兰花育种中的应用
Tab. 1 Application of physical mutagenesis in orchid breeding (continued)

辐照源 Radiation source	种类 Species	辐射材料 Irradiated material	辐射结果 Radiation result	参考文献 Reference
γ 射线	石斛 <i>Den. Emma White</i>	类原球茎	GR ₅₀ 为 25.52 Gy; 突变体植株出现花期提前、叶色变黄、叶片形态不对称和卵圆形到心形的变异	[48]
γ 射线	石斛 <i>Den. lasianthera</i>	类原球茎	LD ₃₀ 为 19.7697 Gy, LD ₅₀ 为 67.3504 Gy; 再生植株出现叶宽增加、叶片卷曲等变异	[49]
γ 射线	石斛 <i>Den. bigibbum</i>	芽	出现紫色叶片突变	[50]
γ 射线	石斛 <i>Den. lodoardi</i>	-	得到 1 个叶艺新品种 Hwancho	[51]
γ 射线	石斛 <i>Den. lodoardi</i>	植株	突变植株株高增加, 叶增宽, 根数和根长减少, 叶形改变, 叶色改变等	[52]
γ 射线	石斛 <i>Den. officinale</i>	原球茎	LD ₅₀ 为 86.4 Gy	[53]
γ 射线	石斛 <i>Den. officinale</i>	原球茎	LD ₅₀ 为 67.23 Gy; 变异苗出现茎分叉、叶片缺绿或白绿相间等现象, 其倍性发生改变, 出现非整倍体	[54]
γ 射线	杂交石斛 <i>Den. hybrid</i>	-	得到 1 个叶艺新品种 Seolhwa	[51]
γ 射线	兜兰 <i>Paphiopedilum delenatii</i>	类原球茎/芽/植株	<i>Paph. delenatii</i> 类原球茎、芽、植株的 LD ₅₀ 分别为 20.0、23.7、38.0 Gy;	[55]
γ 射线	兜兰 <i>Paph. callosum</i>	芽/植株	<i>Paph. callosum</i> 类原球茎、芽、植株的 LD ₅₀ 分别为 23.0、27.1、40.4 Gy	[56]
γ 射线	兜兰属 <i>Paphiopedilum</i>	种子/不定芽/幼苗/小苗	种子 LD ₅₀ 为 6.92 Gy; 种子萌发、芽苗阶段的最佳辐照剂量分别为 5 Gy 和 20 Gy; 再生苗矮化、花叶、卷曲或裂叶等	[57]
γ 射线	树兰 <i>Epidendrum secundum</i>	蒴果	种子 LD ₅₀ 为 78.08 Gy; 20 Gy 促进种子萌发; 增加辐照剂量对株高、叶长有显著抑制作用, 叶片数次之	[57]
γ 射线	蕾丽兰 <i>Laelia autumnalis</i>	原球茎	LD ₅₀ 为 53 Gy, RD ₅₀ 为 28 Gy; 5 Gy 促进幼苗生长, 20~30 Gy 促进叶绿素形成, 高剂量抑制原球茎存活	[58]
γ 射线	杂交卡特兰 <i>Cattleya hybrid</i>	类原球茎	LD ₅₀ 为 20~60 Gy	[59]
γ 射线	紫花苞舌兰 <i>Spathoglottis plicata</i>	原球茎	突变植株白化、叶色加深、叶分叉、分枝增多等	[60]
γ 射线	苞舌兰 <i>Spath. kimballiana</i>			
γ 射线	苞舌兰 <i>Spath. tomentosa</i>			
γ 射线	紫花苞舌兰 <i>Spath. plicata</i>	幼苗	LD ₅₀ 为 14.3 Gy; 突变植株矮化、分蘖少、花序变短、花形改变、花香变浓等	[61]
γ 射线	短足兰 <i>Brachypeza indusiata</i>	类原球茎	20 Gy 可提高移栽成活率, 降低株高; 剂量越高, 植株越小	[62]
γ 射线	文心兰 <i>Oncidium lanceanum</i>	类原球茎	再生植株花出现突变	[63]
γ 射线	指甲兰 <i>Aerides crispa</i>	原球茎	LD ₅₀ 为 2 Gy; 再生植株出现叶斑、叶尖变圆、株高增加、根变粗变长等变异	[64]
γ 射线	白及 <i>Bletilla striata</i>	种子	LD ₅₀ 为 150 Gy; 叶绿素含量降低, 植株矮化, 出现叶艺	[65]
γ 射线	香荚兰 <i>Vanilla planifolia</i>	离体再生芽	LD ₅₀ 为 60 Gy; 低剂量 (20 Gy) 促进新芽形成, 高剂量 (60~100 Gy) 造成死亡; 用 ISSR 评估 γ 射线辐照剂量方面未观察到聚类趋势	[66]
重离子束	春兰 <i>Cym. goeringii</i>	根状茎	根状茎白化, 再生植株出现叶艺	[67]
	寒兰 <i>Cym. kanran</i>			
重离子束	文心兰 <i>Oncidium lanceanum</i>	类原球茎	再生植株出现叶片变窄、叶片分布不均匀等变异	[68]
重离子束	君豪兰 <i>Cym. Junhao</i>	根状茎	植株粗壮, 矮小瘦弱或徒长, 颜色变浅或加深, 叶片挺立、叶数增多、叶宽增加、叶线艺、畸形等	[69]
重离子束	小凤兰 <i>Cym. Xiaofeng</i>	根状茎	LD ₅₀ 为 60 Gy; 当辐照剂量超过 60 Gy 时, 根状茎失去芽分化能力	[70]
重离子束	玉女兰 <i>Cym. Yunv</i>	类原球茎	LD ₅₀ 为 49 Gy; 获得抗茎腐病突变体 3 个抗性系	[71]
重离子束	石斛 <i>Den. mirbelianum</i>	类原球茎	<i>Den. mirbelianum</i> 的 LD ₅₀ 为 2.55 Gy; 再生植株出现叶形变异、抗鳞突变体;	[72-74]
	石斛 <i>Den. crumenatum</i>		<i>Den. crumenatum</i> 的再生植株中出现叶艺、花朵宽度增加、花梗变长等变异	
重离子束	兜兰 <i>Paph. delenatii</i>	类原球茎	再生植株出现叶艺、叶片变大、叶片变窄、芽变大等变异	[55]
	兜兰 <i>Paph. callosum</i>			
质子束	杂交兰 <i>Cym. hybrid</i>	根状茎	基于植株鲜重的 RD ₅₀ 为 35 Gy	[22]
快中子	蝴蝶兰火鸟 <i>Doritaenopsis Taisuco Firebird</i>	原球茎	LD ₅₀ 为 $2.5 \times 10^{11} \sim 3.5 \times 10^{11} \cdot \text{cm}^{-2}$; 过高剂量 ($> 3.5 \times 10^{12} \cdot \text{cm}^{-2}$) 的辐照使原球茎生长完全受到抑制甚至大量死亡	[75]
快中子	蝴蝶兰火鸟 <i>Dorit. Taisuco Firebird</i>	原球茎 / 幼苗茎段	火鸟品种原球茎和茎段的 LD ₅₀ 分别为 $3.3 \times 10^{11} \cdot \text{cm}^{-2}$ 和 $2.2 \times 10^{11} \cdot \text{cm}^{-2}$; 内山姑娘品种原球茎和茎段的 LD ₅₀ 分别为 $4.1 \times 10^{11} \cdot \text{cm}^{-2}$ 和 $2.3 \times 10^{11} \cdot \text{cm}^{-2}$	[76]
	蝴蝶兰内山姑娘 <i>Dorit. Ney-shanguniang</i>			
紫外线	春兰 <i>Cym. goeringii</i>	原球茎	再生植株出现部分植株变矮, 叶片增宽增厚, 少数叶片出现艺兰的形状	[77]

注: -表示不详。

Note: - indicates unknown.

一般认为诱变育种对改变植物个别性状是有效的，但越来越多的研究表明，辐照能改变兰花的多个性状。主要原因是辐照能够引起染色体数目和结构变异，导致多个基因的改变，此外一因多效等也会导致多个性状发生改变。耿庆芝^[69]采用重离子辐照君豪兰根状茎，获得了株型、叶数、叶色变异等多个突变体，其中叶艺突变体植株生长缓慢、植株矮小、适应性差（图 1）。



A: 君豪兰（左）及其重离子辐照处理叶艺突变体（右）叶片；
B: 君豪兰（左）及其重离子辐照处理叶艺突变体（右）植株。
标尺=10 cm。

A: *Cym. Junhao* (left) and its mutant with leaf color and pattern from heavy ion irradiation (right) leaves; B: *Cym. Junhao* (left) and its mutant with leaf color and pattern from heavy ion irradiation (right) plants. Scale bar=10 cm.

图 1 君豪兰及其重离子辐照处理叶艺突变体

Fig. 1 *Cym. Junhao* and its mutant with leaf color and pattern from heavy ion irradiation

1.2 化学诱变

化学诱变是指利用化学药剂与遗传物质发生生物化学反应，引起基因发生点突变^[2]，具有容易操作、剂量易控制、对基因组损伤小、突变率高等特点^[79]。迄今，至少已在兰属、石斛兰属、蝴蝶兰属等 6 个属 13 个兰花种中开展了化学诱变育种研究。已有结果表明，化学诱变可导致兰花株高、叶数、叶色、叶宽、抗病性、抗逆性等性状的变化，至少已获得叶色改变、矮化、抗病、抗寒等突变体 206 个，其中叶色改变和矮化突变体是常见的变异类型（表 2）。

在兰花上使用的化学诱变剂有烷化剂[甲基磺酸乙酯（EMS），硫酸二乙脂（DES）]、呼吸抑制剂[叠氮化钠（NaN₃）]、碱基类似物[5-溴尿嘧啶（5-BU），马来酰肼（MH）]以及其他诱变剂如亚硫酸钠（Na₂SO₃）和咖啡碱等。其中烷化剂是最常用的化学诱变剂，占 65.4%；其次是叠氮化钠，占 19.2%（表 2）。不同诱变剂对兰花的诱变效率不同。李夏^[80]使用多种化学诱变剂对寒兰原球茎进行诱变处理，结果表明，诱变效率从高到低的排序为 EMS>DES>MH>Na₂SO₃>咖啡碱>5-BU。陈超等^[81]用 EMS 和 NaN₃ 对蝴蝶兰类原球茎（PLB）进行处理，结果发现 EMS 的诱变效果比 NaN₃ 好。

表 2 化学诱变在兰花育种中的应用

Tab. 2 Application of chemical mutagenesis in orchid breeding

诱变剂 Mutagen	种类 Species	诱变材料 Mutagenic-material	诱变结果 Mutagenic result	参考文献 Reference
EMS	春兰 <i>Cym. goeringii</i>	根状茎	再生植株出现矮化、白化、网纹斑艺和线艺突变体	[82]
EMS	寒兰 <i>Cym. kanran</i>	根状茎	再生植株产生黄色线艺和白化植株等变异	[83]
EMS	寒兰 <i>Cym. kanran</i>	根状茎	LD ₅₀ 为 0.607% EMS 处理 1 d, 0.237% EMS 处理 2 d, 0.145% EMS 处理 3 d, 0.119% EMS 处理 4 d	[84]
EMS	寒兰 <i>Cym. kanran</i>	原球茎	LD ₅₀ 为 0.038% EMS 处理 6 d, 0.018% EMS 处理 11 d, 0.012% EMS 处理 16 d; 再生植株叶色变淡, 瘦弱矮矮, 白化	[80]
EMS	君豪兰 <i>Cym. Junhao</i>	根状茎	LD ₅₀ 为 0.2% EMS 处理 4 d; 再生植株出现颜色变浅、瘦弱、矮壮, 叶宽增加、畸形、叶色加深等	[69]
EMS	玉女兰 <i>Cym. Yunv</i>	类原球茎	LD ₅₀ 为 0.3% EMS 处理 4 d	[18]
EMS	蝴蝶兰属 <i>Phalaenopsis</i>	花梗	再生苗叶尖部出现锯齿, 对持续低温抵抗能力高	[85]
EMS	蝴蝶兰属 <i>Phalaenopsis</i>	类原球茎	LD ₅₀ 为 0.4% EMS 处理 6~8 h; 细胞体积增大, 形状改变; 较高浓度 EMS 处理后的细胞中出现微核等异常现象	[81]
EMS	石斛 <i>Den. friederickianum</i>	类原球茎	LD ₅₀ 为 0.8% EMS 处理 90 min; 再生植株白化, 具白绿或黄绿嵌合叶片	[86]
EMS	石斛 <i>Den. officinale</i>	原球茎	LD ₅₀ 为 1.0% EMS 处理 6 h; 获得抗炭疽病植株	[87]
EMS	石斛 <i>Den. Earsakul</i>	类原球茎	LD ₅₀ 为 1.8% EMS 处理 4 h; 获得抗炭疽病植株	[88]
EMS	石斛 <i>Den. Sonia</i>	类原球茎	再生植株生长快, 叶片增大, 根系增粗, 气孔密度降低	[89]
EMS	文心兰金西 <i>Onc. Kinsei</i>	类原球茎	LD ₅₀ 为 0.8% EMS 处理 4 d; 类原球茎生长受到抑制, 再生苗数量减少, 出现多叶丛生变异植株	[90]

续表 2 化学诱变在兰花育种中的应用
Tab. 2 Application of chemical mutagenesis in orchid breeding (continued)

诱变剂 Mutagen	种类 Species	诱变材料 Mutagenic- material	诱变结果 Mutagenic result	参考文献 Reference
EMS	白及 <i>Ble. striata</i>	愈伤组织	LD ₅₀ 为 0.6% EMS 处理 6 h	[91]
EMS	指甲兰 <i>Aerides crispa</i>	原球茎	LD ₅₀ 为 0.05% EMS 处理 5 d	[64]
NaN ₃	蝴蝶兰霍娅淑女 <i>Phal. Tsuei Foa Lady</i>	类原球茎	LD ₅₀ 为 4~8 mmol/L NaN ₃ 处理 6 h; 出现白化苗	[92]
NaN ₃	蝴蝶兰属 <i>Phalaenopsis</i>	类原球茎	LD ₅₀ 大约为 5 mmol/L NaN ₃ 处理 8 h。NaN ₃ 处理可使细胞体积增大、形状改变。高浓度 NaN ₃ 处理细胞中出现双核等现象	[81]
NaN ₃	石斛 <i>Den. Earsakul</i>	类原球茎	LD ₃₀ 和 LD ₅₀ 分别为 0.1、0.5 mmol/L NaN ₃ 处理 1 h; 得到抗黑腐病的再生植株, 均为混倍体	[93-95]
NaN ₃	文心兰金西 <i>Onc. Kinsei</i>	类原球茎	LD ₅₀ 为 3 mmol/L NaN ₃ 处理 4 d, 6 mmol/L NaN ₃ 处理 2 d, 12 mmol/L NaN ₃ 处理 1 d; 再生试管苗普遍矮小	[96]
NaN ₃	白及 <i>Ble. striata</i>	愈伤组织	LD ₅₀ 为 6 mmol/L NaN ₃ 处理 6 h	[91]
DES	寒兰 <i>Cym. kanran</i>	原球茎	LD ₅₀ 为 0.040% DES 处理 6 d, 0.026% DES 处理 11 d, 0.014% DES 处理 16 d; 再生植株叶片黄化或细长	[80]
DES	铁皮石斛 <i>Den. officinale</i>	原球茎	LD ₅₀ 为 0.3%~0.4% DES 处理 2 h; 得到抗寒突变体	[97]
咖啡碱	寒兰 <i>Cym. kanran</i>	原球茎	LD ₅₀ 为 0.135% 咖啡碱处理 6 d, 0.094% 咖啡碱处理 11 d, 0.078% 咖啡碱处理 16 d	[80]
5-BU	寒兰 <i>Cym. kanran</i>	原球茎	LD ₅₀ 为 0.083% 5-BU 处理 6 d, 0.068% 5-BU 处理 11 d, 0.037% 5-BU 处理 16 d	[80]
MH	寒兰 <i>Cym. kanran</i>	原球茎	LD ₅₀ 为 0.075% MH 处理 6 d, 0.048% MH 处理 11 d, 0.036% MH 处理 16 d	[80]
Na ₂ SO ₃	寒兰 <i>Cym. kanran</i>	原球茎	LD ₅₀ 为 10.46% Na ₂ SO ₃ 处理 6 d, 9.41% Na ₂ SO ₃ 处理 11 d, 7.58% Na ₂ SO ₃ 处理 16 d	[80]

诱变剂浓度、诱变方法和材料选择是影响兰花化学诱变效率的主要因素。根状茎、原球茎和类原球茎等中间繁殖体是常用的诱变材料, 浸泡法是最常用的处理方法。不同材料和不同诱变剂, 其诱变剂量和处理时间不同, 诱变效率也不同。对兰花中间繁殖体, EMS 的常用浓度为 0.05%~1.00%, NaN₃ 浓度为 2.0~8.0 mmol/L。EMS 能在溶液中和细胞内部水解产生强酸, 不仅使溶液中的 EMS 浓度降低, 而且酸性水解产物对细胞有毒害作用, 对处理材料造成生理损伤, 降低存活率, 从而降低了诱变效率^[98], 因此 EMS 溶液一般用浓度不超过 0.1 mol/L 的磷酸缓冲液 (pH 7.0) 配制, 但也有将 EMS 直接加入液体培养基进行诱变处理, 并得到较多突变体的报道^[82-83]。

1.3 空间诱变

空间诱变育种是指利用返回式卫星、宇宙飞船或高空气球将农作物种子带到太空, 利用太空特殊的环境 (空间宇宙射线、微重力、高真空、弱磁场等因素) 诱发植物产生变异, 再返回地面选育新品种的技术^[99], 该技术具有突变谱广、诱变频率高和对植株损伤小等特点^[100]。空间诱变至少已应用于石斛兰属和蝴蝶兰属 2 个属 4 个种中,

已获得 8 个突变体、选育出 4 个新品种。空间诱变导致金钗石斛矮化、茎变粗、分蘖多; 能促进铁皮石斛生长、提高产量; 使蝴蝶兰花变大、花朵数变多、观赏期延长、抗病性抗逆性增强 (表 3)。石斛种子经过空间诱变选出了矮化新品种 Uju^[51]。陈肖英等^[101]利用空间诱变技术, 培育出花大色艳、抗性强和适应性好的优良蝴蝶兰新品种航蝴 1 号。

2 兰花突变体的筛选鉴定

表型鉴定是兰科植株突变体鉴定中简单、经济、实用的方法。在组培过程中或田间观察到有植株与对照植株在株型、叶色、叶型、花色、花形、花期、抗性等方面存在明显差异时, 该植株会被单独选出, 通过分株繁殖、扦插繁殖或组培快繁生产株系, 如果变异性状在株系内一致且稳定, 一般就认为该变异植株是突变体。采用分子标记对变异植株和对照植株进行分析, 如果变异植株和对照植株在 DNA 水平上存在差异, 则进一步证明变异植株是突变体^[105], 但是分子鉴定结果与植株表型性状的变化之间可能并不存在一一对应关系^[6]。

表 3 空间诱变在兰花育种中的应用

Tab. 3 Application of space mutagenesis in orchid breeding

种类 Species	诱变材料 Mutagenic material	诱变结果 Mutagenic result	参考文献 Reference
蝴蝶兰 <i>Phal. amabilis</i>	丛生芽块组织	获得花变大, 花朵数量增加, 花期延长, 耐热性和耐寒性增强以及抗病虫能力提升的蝴蝶兰新品种航蝴 1 号	[101]
蝴蝶兰 <i>Phal. amabilis</i>	-	获得花变大, 花朵数增加, 花色加深, 花期延长, 抗病虫性和抗逆性提升的蝴蝶兰新品种航蝴 2 号	[102]
石斛 <i>Den. moniliforme</i>	-	获得矮化叶艺新品种 Uju	[51]
石斛 <i>Den. officinale</i>	种子	获得生长加快, 产量提高的铁皮石斛新品种仙斛 3 号	[103]
石斛 <i>Den. nobile</i>	种子	大部分太空诱变的金钗石斛幼苗呈现矮化, 茎加粗, 分蘖多, 叶片变短的趋势	[104]

注: -表示不详。

Note: - indicates unknown.

兰花的营养生长期一般为 3~5 a。为了提早进行突变体筛选和鉴定, 对于肉眼不可见、不稳定或不容易鉴定的性状, 开发出新的育种目标性状突变体筛选和鉴定技术是十分重要的。在一些兰花上已建立分子标记辅助选择技术^[106]、试管花诱导技术体系^[107]、茎腐病抗性品种筛选和鉴定技术^[70]等, 有的已应用于突变体筛选。

3 兰花诱变机理

诱变可以引起兰花染色体数目和结构、基因结构和表达的变异, 从而导致性状改变。 γ 射线辐照能引起染色体数目改变, 形成非整倍体^[54], 也能引起核型改变^[19]。对叶艺隆昌素叶艺形成的分子机理研究表明, 编码尿嘧啶原脱羧酶基因 *HEME* 在叶艺隆昌素中表达下调, 而叶绿素生物合成中编码镁原卟啉 IX 甲基转移酶基因 *CHLM*、谷氨酸-tRNA 还原酶基因 *HEMA* 和叶绿素降解相关基因表达上调, 说明色素合成、叶绿体发育相关基因的差异表达可能是导致隆昌素叶艺形成的原因^[5, 108-109]。KIM 等^[24]对兰花黄叶突变体进行 RNA 测序分析, 发现叶绿素代谢或离子运输的改变有可能导致兰花叶色变黄。LIM 等^[50]对石斛紫叶突变体进行转录组分析, 发现突变体叶片变紫色与花青素生物合成途径中生物合成酶基因和 *MYB2* 等几个转录因子表达增加有关。卓志勇^[110]用 Illumina HiseqX 技术对君豪兰和重离子辐照诱变形成的线艺君豪兰叶片、根和茎混样进行转录组测序和基因表达分析, 筛选出 2 个与兰花线艺性状突变有关的候选基因, 分别为 *CYP76B10* 和 *PSBO*。

4 展望

兰花是中国的传统十大名花之一, 中国人赏

兰不仅赏花, 而且赏叶。诱变处理可以诱导兰花产生丰富的遗传变异, 特别是诱导兰花产生丰富的株型和叶部性状变异, 因此诱变育种非常适合我国兰花育种工作。随着我国经济发展和科技进步, 可以进一步提高诱变当代突变效率和突变谱的诱变新技术(重离子辐照、空间诱变等)的不断出现, 兰花诱变育种技术有望成为进一步加快我国兰花育种进程, 尽快缩小与国外在兰花育种上差距的关键技术之一。

进一步提高诱变育种效率和效果是今后兰花诱变育种研究的主要任务, 可以主要从以下几个方面深入系统地开展工作。首先是进一步提高诱变效率。筛选高效诱变剂、适宜的诱变材料和方法依然是建立高效诱变育种技术体系的基础性工作, 在此基础上, 可通过多种诱变技术的结合进一步提高诱变效率^[64]。其次是建立高效突变体筛选和鉴定技术体系。随着基因组测序和功能基因组学研究的不断深入, 兰花高密度分子遗传图谱的建立和主要育种目标性状关键基因的挖掘不断取得新进展^[111], 在此基础上, 建立高效分子标记辅助选择体系和定向诱导基因组局部突变 (Targeting Induced Local Lesions IN Genomes, TILLING) 等技术成为可能, 这些技术在兰花诱变育种上的应用将进一步提高突变体筛选和鉴定效率。再次是建立兰花快速高效育种技术。将杂交、诱变和细胞工程技术相结合, 建立多种育种技术相融合的兰花快速高效育种技术不仅可以提高兰花育种效率, 而且可以缩短兰花育种周期, 快速培育优良兰花新品种。最后是进一步明确兰花诱变育种的倍性效应。多数兰花商业化品种是多倍体^[112-113], 不同倍性兰花品种诱变效果可能有差异, 因此系统开展倍性对兰花诱变育种效果

的影响是非常有必要的。

诱变机理研究对进一步提高兰花诱变育种效率具有重要的促进作用。大量研究表明, 诱变通过引起染色体数目改变^[54]、染色体结构变异^[19]、基因结构变异和表达水平变化^[108-109]等改变植物性状。不同诱变剂诱导遗传物质改变的类型、频率和诱发植物变异的性状不完全相同, 不同类型遗传物质的改变导致兰花性状改变的机理也不同。诱变剂是如何引起遗传物质发生改变, 从而进一步导致性状改变的, 目前这些机理尚不清楚, 今后应进一步加强这方面的研究。

参考文献

- [1] BALILASHAKI K, VAHEDI M, HO T T, NIU S C, CARDOSO J C, ZOTZ G, KHODAMZADEH A A. Biochemical, cellular and molecular aspects of *Cymbidium* orchids: an ecological and economic overview[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2022, 44(2): 24.
- [2] 马晓宇, 王永斌, 张金波, 谭巍巍, 肖晖, 韩新春, 刘昭军, 王广金. 大豆诱变育种技术的研究进展[J]. *大豆科学*, 2023, 42(2): 245-252.
MA X Y, WANG Y B, ZHANG J B, TAN W W, XIAO H, HAN X C, LIU Z J, WANG G J. Research progress of mutation breeding technology in soybean[J]. *Soybean Science*, 2023, 42(2): 245-252. (in Chinese)
- [3] KOZLOWSKA-KALISZ J. The influence of ionizing radiation on biological activity of endogenous growth regulators in orchids / *Cymbidium* / in tissue culture[J]. *Acta Horticulturae*, 1979(91): 261-268.
- [4] 王安邦, 龚德勇, 许奕, 李羽佳, 王甲水, 臧小平, 井涛, 李敬阳. 物理诱变技术及其在香蕉育种中的研究进展[J]. *激光生物学报*, 2020, 29(1): 11-17.
WANG A B, GONG D Y, XU Y, LI Y J, WANG J S, ZANG X P, JING T, LI J Y. Physical mutation technology and its research progress in banana breeding[J]. *Acta Laser Biology Sinica*, 2020, 29(1): 11-17. (in Chinese)
- [5] 蒋彧. 一个国兰叶艺新材料的创制及叶艺形成机理研究[D]. 成都: 四川农业大学, 2019.
JIANG Y. Creation and study on mechanism of the leaf color variation of Chinese orchid[D]. Chengdou: Sichuan Agricultural University, 2019. (in Chinese)
- [6] 蒋彧, 何俊蓉, 刘菲, 王海娥, 卓碧萍. ⁶⁰Co- γ 辐射兰花春剑隆昌素根状茎分化苗的 ISSR 分析[J]. *核农学报*, 2013, 27(9): 1247-1252.
JIANG Y, HE J R, LIU F, WANG H E, ZHUO B P. ISSR analysis of *Cymbidium* 'Longchangsu' seedlings *in vitro* and mutagenic progenies by radiation[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2013, 27(9): 1247-1252. (in Chinese)
- [7] 李婧嫻. ⁶⁰Co- γ 射线对寒兰根状茎的辐射诱变效应研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2011.
LI J Y. Radiation-induced effects on the rhizomes of *Cymbidium kanran* Makino *in vitro* after ⁶⁰Co-gamma ray radiation[D]. Nanchang: Nanchang University, 2011. (in Chinese)
- [8] 傅雪琳, 张志胜, 何平, 欧秀娟, 何琼英. ⁶⁰Co- γ 射线辐照对墨兰根状茎生长和分化的效应研究[J]. *核农学报*, 2000, 14(6): 333-336.
FU X L, ZHANG Z S, HE P, OU X J, HE Q Y. The effect of ⁶⁰Co- γ ray irradiation on the growth and regeneration of *Cymbidium sinense* rhizome[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2000, 14(6): 333-336. (in Chinese)
- [9] 褚云霞, 张永春, 靖相密. 春兰离体根状茎辐射及 EMS 诱变方法建立[J]. *北方园艺*, 2009(1): 49-52.
CHU Y X, ZHANG Y C, JING X M. The method for radiation and EMS induced mutation on *Cymbidium goeringii* rhizomes *in vitro*[J]. *Northern Horticulture*, 2009(1): 49-52. (in Chinese)
- [10] 林兵, 陈诗林, 黄敏玲, 钟淮钦, 陈源泉, 吴建设, 叶秀仙. ⁶⁰Co- γ 射线辐照对 3 种国兰生长的影响[J]. *核农学报*, 2009, 23(2): 244-247.
LIN B, CHEN S L, HUANG M L, ZHONG H Q, CHEN Y Q, WU J S, YE X X. Effects of ⁶⁰Co γ -rays irradiation on growth and development of three varieties of Chinese *Cymbidium*[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2009, 23(2): 244-247. (in Chinese)
- [11] 孙叶, 刘春贵, 李风童, 马辉, 张靓, 陈秀兰, 包建忠. ⁶⁰Co- γ 射线辐照对春兰‘雪山’的诱变效应[J]. *分子植物育种*, 2016, 14(10): 2762-2768.
SUN Y, LIU C G, LI F T, MA H, ZHANG L, CHEN X L, BAO J Z. Mutagenic effects of ⁶⁰Co- γ irradiation on *Cymbidium goeringii* 'Xueshan'[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2016, 14(10): 2762-2768. (in Chinese)
- [12] 包建忠, 孙叶, 刘春贵, 马辉, 陈秀兰. 兰辐照诱变新种质选育研究初报[J]. *江苏农业科学*, 2010(6): 269-270.
BAO J Z, SUN Y, LIU C G, MA H, CHEN X L. Preliminary report on the breeding of new germplasm by irradiation mutagenesis of orchid[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2010(6): 269-270. (in Chinese)
- [13] 陈华, 林兵, 潘宏. 国兰辐射诱变效应研究初报[J]. *福建农业科技*, 2005(4): 24-25.
CHEN H, LING B, PAN H. Initial research of irradiation breeding on Chinese orchids[J]. *Fujian Agricultural Science and Technology*, 2005(4): 24-25. (in Chinese)
- [14] 黄焱, 李方, 夏宜平, 柴明良, 陈昆松. ⁶⁰Co 对国兰生长及生理变化的影响: 中国球根花卉年会交流论文集[C].

- 北京: 中国学术期刊电子出版社, 2009: 8-16.
- HUANG Y, LI F, XIA Y P, CHAI M L, CHEN K S. Growth and physiology of Chinese *Cymbidium* induced by ^{60}Co : Collected Papers of Chinese Bulbous Flowers Conference Communication[C]. Beijing: China Academic Journal Electronic Publishing House, 2009: 8-16. (in Chinese)
- [15] 彭绿春, 黄丽萍, 余朝秀, 王玉英, 李枝林. 四种兰花辐射育种研究初报[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2007, 22(3): 332-336.
- PENG L C, HUANG L P, YU C X, WANG Y Y, LI Z L. Initial research of irradiation breeding on orchid[J]. Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science), 2007, 22(3): 332-336. (in Chinese)
- [16] Mutant Variety Database. *Cymbidium* sp-Dong-i[DB/OL]. [2023-07-20]. <https://nucleus.iaea.org/sites/mvd/SitePages/Search.aspx?MVID=3240>.
- [17] DUONG H X, LUAN L Q. *In vitro* mutagenesis of *Cymbidium la bell* "Anna Belle" by γ -rays irradiation and oligochitosan interaction[J]. International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology, 2017, 2(3): 1540-1550.
- [18] 张腾. '玉女兰'抗茎腐病突变体筛选[D]. 广州: 华南农业大学, 2015.
- ZHANG T. Selection of mutant resistant to disease in *Cymbidium 'Yunv'*[D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2015. (in Chinese)
- [19] 苏畅, 李枝林, 付永恒, 李夏媛, 王玉英. 叶艺兰辐射突变体的气孔特征与染色体核型分析[J]. 西部林业科学, 2016, 45(6): 89-94.
- SU C, LI Z L, FU Y H, LI X Y, WANG Y Y. Leaf stomatal and chromosome karyotype of Ye-yi orchid mutant induced by radiation[J]. Journal of West China Forestry Science, 2016, 45(6): 89-94. (in Chinese)
- [20] 苏畅, 李枝林, 任智慧, 王玉英. 辐射诱发叶艺兰形态特征和生理特性差异的研究[J]. 西部林业科学, 2016, 45(3): 38-43.
- SU C, LI Z L, REN Z H, WANG Y Y. Morphology and physiological characteristics of *Cymbidium tracyanum* \times *C. iridioides* D. Don with variegation leaves induced by irradiation[J]. Journal of West China Forestry Science, 2016, 45(3): 38-43. (in Chinese)
- [21] LEE Y M, LEE H J, KIM Y S, KANG S Y, KIM D S, KIM J B, AHN J W, HA B K, KIM S H. Evaluation of the sensitivity to ionising gamma-radiation of a *Cymbidium* hybrid[J]. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 2016, 91(2): 109-116.
- [22] KIM S H, KIM S Y, RYU J, JO Y D, CHOI H I, KIM J B, KANG S Y. Suggested doses of proton ions and gamma-rays for mutation induction in 20 plant species[J]. International Journal of Radiation Biology, 2021, 97(11): 1624-1629.
- [23] KIM S H, KIM S W, AHN J W, RYU J, KWON S J, KANG B C, KIM J B. Frequency, spectrum, and stability of leaf mutants induced by diverse γ -ray treatments in two *Cymbidium* hybrids[J]. Plants-Basel, 2020, 9(4): 546.
- [24] KIM S H, KIM S W, LIM G H, LYU J I, CHOI H I, JO Y D, KANG S Y, KANG B C, KIM J B. Transcriptome analysis to identify candidate genes associated with the yellow-leaf phenotype of a *Cymbidium* mutant generated by γ -irradiation[J]. PLoS One, 2020, 15(1): e0228078.
- [25] KIM S H, JO Y D, RYU J, HONG M J, KANG B C, KIM J B. Effects of the total dose and duration of γ -irradiation on the growth responses and induced SNPs of a *Cymbidium* hybrid[J]. International Journal of Radiation Biology, 2019, 96(5): 1-27.
- [26] 杨静坤, 黄丽萍, 唐敏, 余朝秀, 李金益, 李枝林. 碧玉兰试管植株辐射诱变初探[J]. 现代园艺, 2008(10): 6-9.
- YANG J K, HUANG L P, TANG M, YU C X, LI J Y, LI Z L. The study of radiation mutagenesis *in vitro* plants of *Cymbidium lowianum*[J]. Modern Horticulture, 2008(10): 6-9. (in Chinese)
- [27] MAGDALITA P M, PASCUAL A O S, VILLAREAL R L. Characterization and flowering behavior of eleven Philippine native *Phalaenopsis* species and gamma irradiation effects on *Phalaenopsis aphrodite*[J]. Philippine Journal of Science, 2020, 149 (Suppl. 1): 1-10.
- [28] 张相锋. 蝴蝶兰原球茎诱导及辐射对原球茎增殖和分化的影响[D]. 长春: 东北师范大学, 2007.
- ZHANG X F. Induction of protocorm-like bodies and effects of irradiation on multiplication and differentiation of PLBs derived from *Phalaenopsis aphrodite* Rchb. F. *in vitro*[D]. Changchun: Northeast Normal University, 2007. (in Chinese)
- [29] 马丽娅. 蝴蝶兰 ^{60}Co - γ 射线辐照植株组织培养及性状遗传的研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2011.
- MA L Y. Study on the tissue culture and inheritance of traits of butterfly orchid (*Phalaenopsis* sp.) radiated by ^{60}Co γ -ray[D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2011. (in Chinese)
- [30] 孙晓莉, 章铁, 刘秀清. 蝴蝶兰 ^{60}Co - γ 射线辐照材料的 RAPD 分子标记研究[J]. 中国农学通报, 2009, 25(1): 156-159.
- SUN X L, ZHANG T, LIU X Q. Study on the radiation of the ^{60}Co γ -ray for variation induction in *Phalaenopsis aphrodite* by using of RAPD-PCR technique[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2009, 25(1): 156-159. (in Chinese)
- [31] 李威. ^{60}Co - γ 射线辐射育种小兰屿蝴蝶兰的种质创新与机制探索[D]. 上海: 上海师范大学, 2022.
- LI W. Germplasm innovation and mechanism exploration of

- Phalaenopsis equestris* in ^{60}Co - γ -ray radiation[D]. Shanghai: Shanghai Normal University, 2022. (in Chinese)
- [32] 强继业, 陈宗瑜, 李佛琳, 范莉莉. ^{60}Co - γ 射线辐射对滇特色花卉生长速率及叶绿素含量的影响[J]. 中国生态农业学报, 2003(4): 21-23.
 QIANG J Y, CHEN Z Y, LI F L, FAN L L. Effects of ^{60}Co - γ ray radiation on the growth speed and chlorophyll content of *Begonia tuberhybrida* Voss., *Ph. violacea* Rchb., *Cyclamen persicum* Mill., *Dahlia pinnata* Chlav[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2003(4): 21-23. (in Chinese)
- [33] 张永柏, 廖福琴, 钟淮钦, 黄萍萍, 刘添锋, 刘智成. 蝴蝶兰花粉辐射诱变育种初报[J]. 福建农业学报, 2009, 24(3): 237-240.
 ZHANG Y B, LIAO F Q, ZHONG H Q, HUANG P P, LIU T F, LIU Z C. A preliminary study on pollen irradiation for *Phalaenopsis* breeding[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2009, 24(3): 237-240. (in Chinese)
- [34] 张相锋, 任艳丽, 尚天翠, 张维. ^{60}Co - γ 射线辐照对蝴蝶兰原球茎生长的影响[J]. 北方园艺, 2009(3): 177-180.
 ZHANG X F, REN Y L, SHANG T C, ZHANG W. Effect of ^{60}Co - γ ray irradiation on protocorm-like bodies growth of *Phalaenopsis*[J]. Northern Horticulture, 2009(3): 177-180. (in Chinese)
- [35] 徐晓薇, 林绍生, 姚丽娟, 曾爱平. 蝴蝶兰 ^{60}Co - γ 辐射诱变育种初报[J]. 广西热带农业, 2008(2): 1-2.
 XU X W, LIN S S, YAO L J, ZENG A P. Preliminary study on radioactive breeding of *Phalaenopsis*[J]. Guangxi Tropical Agriculture, 2008(2): 1-2. (in Chinese)
- [36] 章宁, 苏明华, 刘福平, 林清洪. 蝴蝶兰 ^{60}Co γ 射线诱变育种研究(简报)[J]. 亚热带植物科学, 2005, 34(2): 63.
 ZHANG N, SU M H, LIU F P, LIN Q H. Study on ^{60}Co γ radiate mutation in breeding of *Phalaenopsis*[J]. Subtropical Plant Science, 2005, 34(2): 63. (in Chinese)
- [37] 孙晓莉. 蝴蝶兰 ^{60}Co γ 射线诱变育种初步研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2009.
 SUN X L. Primery study on mutation induced by ^{60}Co γ -ray radiation in breeding of butterfly orchid (*Phalaenopsis* sp.)[D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2009. (in Chinese)
- [38] BILLORE V, MIRAJKAR S J, SUPRASANNA P, JAINC M. Gamma irradiation induced effects on *in vitro* shoot cultures and influence of monochromatic light regimes on irradiated shoot cultures of *Dendrobium* Sonia orchid[J]. Biotechnology Reports, 2019, 22: e00343.
- [39] ARIFFIN S, MOHAMAD A, HASSAN A A, AHMAD Z, MOHD N B. Flower morphology of *Dendrobium* Sonia mutants[C]//Research and Development Seminar, Bangi: Malaysian Institute for Nuclear Technology Research, 2012: 122.
- [40] Mutant Variety Database. *Dendrobium* Sonia-KeenaRadiant [DB/OL]. [2023-07-20]. <https://nucleus.iaea.org/sites/mvd/SitePages/Search.aspx?MVID=4828>.
- [41] Mutant Variety Database. *Dendrobium* Sonia-KeenaPearl [DB/OL]. [2023-07-20]. <https://nucleus.iaea.org/sites/mvd/SitePages/Search.aspx?MVID=4827>.
- [42] Mutant Variety Database. *Dendrobium* Sonia-KeenaPastel [DB/OL]. [2023-07-20]. <https://nucleus.iaea.org/sites/mvd/SitePages/Search.aspx?MVID=4826>.
- [43] Mutant Variety Database. *Dendrobium* Sonia-KeenaAhmad Sobri[DB/OL]. [2023-07-20]. <https://nucleus.iaea.org/sites/mvd/SitePages/Search.aspx?MVID=4825>.
- [44] DEHGAHI R, JONIYASA A. Gamma irradiation-induced variation in *Dendrobium* Sonia-28 orchid protocorm-like bodies (PLBs)[J]. Fungal Genomics & Biology, 2017, 7(2): 1-11.
- [45] 任羽, 张银东, 徐世松, 黄少华, 张志群. ^{60}Co γ 射线对石斛兰辐照效应的影响[J]. 热带作物学报, 2013, 34(9): 1672-1675.
 REN Y, ZHANG Y D, XU S S, HUANG S H, ZHANG Z Q. Effect of ^{60}Co γ -ray irradiation in *Dendrobium* cultivar[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2013, 34(9): 1672-1675. (in Chinese)
- [46] ARIFFIN S, BASIRAN M N. Induced mutation of *Dendrobium* orchid[C]//Research and Development Seminar, Bangi: Malaysian Institute for Nuclear Technology Research, 2000: 17-19.
- [47] 王淑华, 马艳军, 姚娜, 范可可, 胡晓萌, 江泽慧, 胡陶. 菌根真菌对 ^{60}Co - γ 辐射后铁皮石斛种子萌发的影响[J]. 核农学报, 2023, 37(5): 889-896.
 WANG S H, MA Y J, YAO N, FAN K K, HU X M, JIANG Z H, HU T. Effect of mycorrhizal fungi on the germination of *Dendrobium candidum* seeds after ^{60}Co - γ irradiation[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2023, 37(5): 889-896. (in Chinese)
- [48] SHERPA R, DEVADAS R, BOLBHAT S N, NIKAM T D, PENNA S. Gamma radiation induced *in-vitro* mutagenesis and isolation of mutants for early flowering and phenomorphological variations in *Dendrobium* 'Emma White'[J]. Plants-Basel, 2022, 11(22): 3168.
- [49] CAHYO F A, DINARTI D. Pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap pertumbuhan protocorm like bodies anggrek *Dendrobium lasianthera* (J.J. Smith) secara *in vitro*[J]. Jurnal Hortikultura Indonesia, 2015, 6(3): 177-186.
- [50] LIM G H, KIM S W, RYU J, KANG S Y, KIM J B, KIM S H. Upregulation of the MYB2 transcription factor is associated with increased accumulation of anthocyanin in the

- leaves of *Dendrobium bigibbum*[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(16): 5653.
- [51] RYU J, KIM W J, IM J, KANG K W, KIM S H, JO Y D, KANG S Y, LEE J H, HA B K. Single nucleotide polymorphism (SNP) discovery through genotyping-by-sequencing (GBS) and genetic characterization of *Dendrobium* mutants and cultivars[J]. Scientia Horticulturae, 2019, 244: 225-233.
- [52] FATHIN T S, HARTATI S, YUNUS A. Diversity induction with gamma ray irradiation on *Dendrobium odoardi* orchid[C]//The 7th International Conference on Sustainable Agriculture and Environment, Surakarta, 2021.
- [53] 谢小波, 孙崇波, 宋仙水. 铁皮石斛 γ 射线诱变及后代变异研究[J]. 浙江农业科学, 2016, 57(5): 687-690.
- XIE X B, SUN C B, SONG X S. Study on γ -ray mutagenesis and progeny variation of *Dendrobium officinale*[J]. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 2016, 57(5): 687-690. (in Chinese)
- [54] 詹忠根, 徐程, 席玛芳. ^{137}Cs γ 射线辐照对铁皮石斛种胚原球茎的诱变研究[J]. 核农学报, 2009, 23(5): 816-819.
- ZHAN Z G, XU C, XI Y F. Study mutagenesis of *Dendrobium officinale* protocorm from embryo irradiated by ^{137}Cs γ -rays[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2009, 23(5): 816-819. (in Chinese)
- [55] LUAN L Q, UYEN N H P, HA V T T. *In vitro* mutation breeding of *Paphiopedilum* by ionization radiation[J]. Scientia Horticulturae, 2012, 144: 1-9.
- [56] 孙音, 郝军, 房义福, 张谦, 姜楠南. ^{60}Co - γ 辐射对兜兰组培苗的诱变效应[J]. 中国农学通报, 2022, 38(15): 45-52.
- SUN Y, HAO J, FANG Y F, ZHANG Q, JIANG N N. Mutagenic effect of ^{60}Co - γ on tissue culture seedlings of *Paphiopedilum*[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2022, 38(15): 45-52. (in Chinese)
- [57] 周亚倩, 姚娜, 魏莉, 李潞滨, 刘蕾. ^{60}Co - γ 射线对树兰蒴果辐照生物学效应研究[J]. 核农学报, 2017, 31(9): 1693-1699.
- ZHOU Y Q, YAO N, WEI L, LI L B, LIU L. Effect of ^{60}Co - γ irradiation on capsule of *Epidendium secundum*[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2017, 31(9): 1693-1699. (in Chinese)
- [58] HERNANDEZ-MUOZ S, PEDRAZA-SANTOS M E, LOPEZ P A, CRUZ-TORRES E D L, FERNANDEZ-PAVIA S P, MARTINEZ-PALACIOS A, MARTINEZ-TRUJILLO M. DL_{50} and GR_{50} determination with gamma rays (^{60}Co) on *in vitro* *Laelia autumnalis* protocorms[J]. Agrobiencia, 2017, 51(5): 507-524.
- [59] THAMMASIRI K. Effects of gamma irradiation on protocorm-like bodies of *Cattleya* alliances[C]//The Sixth Conference on Nuclear Science and Technology, Bangkok: Office of Atomic Energy for Peace, 1996: 18-30.
- [60] GONZALES M A. Radiosensitivity of three species of ground orchids (*Spathoglottis plicata*, *S. kimballiana* var. *angustifolia* and *S. tomentosa*) to acute gamma radiation[D]. Nueva Ecija: Central Luzon State University, 2007.
- [61] SURANINPONG P. Acute effect of gamma radiation on stable characteristics of *Spathoglottis plicata* Blume[J]. Acta Horticulturae, 2012, 953: 173-180.
- [62] WARDHANI M U D, PUSPITANINGTYAS D M, DINARTI D D. Pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap variasi pertumbuhan anggrek *Brachyepiza indusiata* (Reichb.f) garay secara *in vitro*[J]. Buletin Kebun Raya Indonesia, 2007, 10(2): 53-59.
- [63] ARIFFIN S, BASIRAN M N. Mutagenesis of *Oncidium lanceanum*[C]//Research and Development Seminar, Bangi: Malaysian Institute for Nuclear Technology Research, 2004: 57-62.
- [64] SRIVASTAVA D, GAYATRI M C, SARANGI S K. *In vitro* mutagenesis and characterization of mutants through morphological and genetic analysis in orchid *Aerides crispera* Lindl.[J]. Indian Journal of Experimental Biology, 2018, 56(6): 385-394.
- [65] LEE K H. γ -ray radiation on *Bletilla striata* R. seeds and occurrence of variation in the seedlings[D]. Korea: Chonbuk National University, 2005.
- [66] SERRANO-FUENTES M K, GOMEZ-MERINO F C, CRUZ-IZQUIERDO S, SPINOSO-CASTILLO J L, BELLO-BELLO J J. Gamma radiation (^{60}Co) induces mutation during *in vitro* multiplication of *Vanilla* (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews)[J]. Horticulturae, 2022, 8(6): 503.
- [67] BAE C H, LYU J I, ABE T, YANO Y, YOSHIDA S, LEE Y I, LEE H Y. Effect of heavy-ion beam irradiation on *in vitro* cultured plant organisms[C]//Proceedings of APAC, Gyeongju, Korea, 2004: 444-445.
- [68] AHMAD Z, HASSAN A A, IDRIS N A, BASIRAN M N, TANAKA A, SHIKAZONO N, OONO Y, HASE N. Effects of ion beam irradiation on *Oncidium lancianum* orchids[J]. Journal of Nuclear and Related Technologies, 2015, 3: 1-8.
- [69] 耿庆芝. 君豪兰诱变技术体系的建立和突变体筛选[D]. 广州: 华南农业大学, 2015.
- GENG Q Z. Establishment of technique system of mutation breeding and mutant creation of *Cymbidium* 'Junhao'[D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2015. (in Chinese)
- [70] 袁红丽. 兰花茎腐病抗性鉴别和资源创新[D]. 广州: 华南农业大学, 2017.
- YUAN H L. Evaluation on resistance to stem rot and creation of germplasm resource in *Cymbidium*[D]. Guangzhou:

- South China Agricultural University, 2017. (in Chinese)
- [71] 郭和蓉, 张腾, 袁红丽, 曾瑞珍, 张志胜, 谢利. 利用 $^{12}\text{C}^{6+}$ 重离子辐射和尖孢镰刀菌毒素筛选杂交兰抗茎腐病突变体[J]. 核农学报, 2021, 35(12): 2688-2695.
- GUO H R, ZHANG T, YUAN H L, ZENG R Z, ZHANG Z S, XIE L. Screening mutants resistant to stem rot using $^{12}\text{C}^{6+}$ heavy ion beam irradiation and crude toxin of *Fusarium oxysporum* in hybrid *Cymbidium*[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2021, 35(12): 2688-2695. (in Chinese)
- [72] HASSAN A A, ARIFFIN S, AHMAD Z, BASIRAN M N, OONO Y, HASE Y, SHIKAZONO N, NARUMI I, TANAKA A. Mutation induction of orchid plants by ion beams[C]//Japan Atomic Energy Agency Review, Ibarakiken, 2015: 3-18.
- [73] AFFRIDA A H, SAKINAH A, ZAITON A, MOHD NAZIR B, TANAKA A, NARUMI I, OONO Y, HASE Y. Mutation induction in orchids using ion beams[C]//Japan Atomic Energy Agency Takasaki Annual Report, Ibarakiken, 2008: 61.
- [74] AHMAD Z, ARIFFIN S, HASSAN A A, AHMAD RAMLI R A, BASIRAN M N, IBRAHIM R. Induction of insect resistance in *Dendrobium mirbelianum* using ion beam irradiation[J]. Acta Horticulturae, 2015(1087): 499-505.
- [75] 张银洁, 李杰, 郑春. 快中子辐射对蝴蝶兰的诱变效应[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(5): 158-159.
- ZHANG Y J, LI J, ZHENG C. Mutagenesis effect of fast neutron radiation on *Phalaenopsis*[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2014, 42(5): 158-159. (in Chinese)
- [76] 张银洁, 李杰, 王芝娜, 郑春. 快中子辐射对蝴蝶兰原球茎和茎段增殖分化的影响[J]. 核农学报, 2014, 28(3): 440-445.
- ZHANG Y J, LI J, WANG Z N, ZHENG C. Effect of fast neutron radiation on the proliferation and differentiation of protocorm-like bodies and seedlings stem segments of *Phalaenopsis*[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2014, 28(3): 440-445. (in Chinese)
- [77] 林芬, 邓国础. 春兰人工诱变的研究[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 1997, 23(4): 337-340.
- LIN F, DENG G C. Studies on the inductive mutation of spring orchid[J]. Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences Edition), 1997, 23(4): 337-340. (in Chinese)
- [78] OKAMURA M, YASUNO N, OHTSUKA M, TANAKA A, SHIKAZONO N, HASE Y. Wide variety of flower-color and -shape mutants regenerated from leaf cultures irradiated with ion beams[J]. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B, 2003, 206: 574-578.
- [79] 刘子瑜, 黄先群, 唐章林, 黄团, 李丽. 马铃薯诱变育种研究进展[J]. 西南农业学报, 2010, 23(6): 2124-2128.
- LIU Z Y, HUANG X Q, TANG Z L, HUANG T, LI L. Progress in mutation breeding of potato[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2010, 23(6): 2124-2128. (in Chinese)
- [80] 李夏. 寒兰离体化学诱变研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2007.
- LI X. The research on chemical mutation *in vitro* of *Cymbidium kanran* Makino[D]. Nanchang: Nanchang University, 2007. (in Chinese)
- [81] 陈超, 王桂兰, 乔永旭, 张莉敏. 蝴蝶兰类圆球茎的化学诱变试验[J]. 核农学报, 2006, 20(2): 99-102.
- CHEN C, WANG G L, QIAO Y X, ZHANG L M. The PLB chemical induced mutagenesis and regeneration of *Phalaenopsis*[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2006, 20(2): 99-102. (in Chinese)
- [82] SUN H J, KANG S Y, LEE H Y. Development of leaf mutant cultivars of *Cymbidium goeringii* by ethyl-methanesulfonate (EMS) treatment[J]. Korean Journal of Plant Resources, 2011, 24(1): 17-22.
- [83] LEE H Y, JUNG J S, LEE J S. Induction of chlorophyll deficient mutant plant of *Cymbidium kanran* by EMS treatment[J]. Korean Journal of Plant Tissue Culture, 1998, 25(3): 183-187.
- [84] 王朝雯. EMS 和秋水仙素对寒兰根状茎化学诱变的研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2012.
- WANG C W. Research on the mutation effects of the rhizomes of *Cymbidium kanran* Makino *in vitro* after EMS and colchicine treatment[D]. Nanchang: Nanchang University, 2012. (in Chinese)
- [85] 龚妮. 蝴蝶兰的组织培养和 EMS 诱变的初步研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2007.
- GONG N. Preliminary studies on tissue culture and EMS induction mutation in *Phalaenopsis*[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2007. (in Chinese)
- [86] SIRINYA M, SOMPONG T C. Use of EMS to induce mutation in *Dendrobium friederickianum* Rchb.f.[J]. Journal of Agriculture, 2008, 24(2): 153-164.
- [87] 闫小巧. 铁皮石斛抗病突变体筛选及基于 RNA-seq 的抗病机理初步研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2018.
- YAN X Q. Primary screening of disease-resistance mutants of *Dendrobium officinale* and preliminary study on resistance mechanism based on RNA-seq[D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2018. (in Chinese)
- [88] KHAIRUM A, HUALSAWAT S, CHUEAKHUNTHOD W, THARAPREUKSAPONG A, TOMSANTIA B, YENCHON S, PAPAN P, TANTASAWAT P A. Selection and characterization of *in vitro*-induced mutants of *Dendrobium* 'Earsakul' resistant to black rot[J]. In Vitro Cellular & Develop-

- mental Biology-Plant, 2022, 58(4): 577-592.
- [89] SAINIYA S, SOMPONG T C, SUREERAT Y. Effect of ethyl methanesulphonate (EMS) on *Dendrobium Sonia*[J]. Khon Kaen Agriculture Journal, 2014, 42(3): 506-511.
- [90] 崔广荣, 张子学, 张从宇, 胡能兵, 隋益虎, 李杰勤. 文心兰 EMS 离体诱变及再生苗 RAPD 检测[J]. 热带作物学报, 2011, 32(2): 261-268.
- CUI G R, ZHANG Z X, ZHANG C Y, HU N B, SUI Y H, LI J Q. Mutation induction of EMS *in vitro* cultured *Oncidium* and RAPD analyzing of regenerated plantlets[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2011, 32(2): 261-268. (in Chinese)
- [91] 钟程, 田鑫, 王天钊, 陈约约. 白及愈伤组织诱导及 EMS、NaN₃ 诱变对其干旱胁迫响应的影响[J]. 黑龙江农业科学, 2022(2): 63-69.
- ZHONG C, TIAN X, WANG T Z, CHEN Y Y. Induction of the callus of *Bletilla* and the effect of EMS and NaN₃ mutagenesis on its response to drought stress[J]. Heilongjiang Agricultural Sciences, 2022(2): 63-69. (in Chinese)
- [92] 马玉涵, 赵岩, 张强, 孙玉军, 周正义. 叠氮化钠诱变对离体蝴蝶兰类原球茎生理的影响[J]. 核农学报, 2010, 24(2): 411-414.
- MA Y H, ZHAO Y, ZHANG Q, SUN Y J, ZHOU Z Y. Effect of azide sodium in mutagenesis on physiological traits of *Phalaenopsis* protocorm-like body *in vitro*[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2010, 24(2): 411-414. (in Chinese)
- [93] HUALSAWAT S, KHAIRUM A, CHUEAKHUNTHOD W, THARAPREUKSAPONG A, TANTASAWAT P A. Profiling of black rot resistant *Dendrobium* 'Earsakul' induced by *in vitro* sodium azide mutagenesis[J]. European Journal of Horticultural Science, 2022, 87(2):1-13.
- [94] WANNAJINDAPORN A, KATIVAT C, TANTASAWAT P A. Mutation induction of *Dendrobium* 'Earsakul' using sodium azide[J]. Hortscience, 2016, 51(11): 1363-1370.
- [95] WANNAJINDAPORN A, POOLSAWAT O, CHAOWISET W, TANTASAWAT P A. Evaluation of genetic variability in *in vitro* sodium azide-induced *Dendrobium* 'Earsakul' mutants[J]. Genetics and Molecular Research, 2014, 13(3): 5333-5342.
- [96] 崔广荣, 张子学, 张从宇, 胡能兵, 隋益虎, 李杰勤. 文心兰 NaN₃ 离体化学诱变及 RAPD 检测[J]. 广西植物, 2011, 31(6): 836-843.
- CUI G R, ZHANG Z X, ZHANG C Y, HU N B, SUI Y H, LI J Q. Study on NaN₃ chemical induction for *Oncidium* in *in vitro* culture and RAPD screening[J]. Guihaia, 2011, 31(6): 836-843. (in Chinese)
- [97] 胡松梅, 周永胜, 康和英. 硫酸二乙酯诱变筛选铁皮石斛耐寒突变体的研究[J]. 江西农业, 2019(18): 114-115.
- HU S M, ZHOU Y S, KANG H Y. The research of *Dendrobium officinale* cold-tolerant mutants induced by diethyl sulfate[J]. Jiangxi Agriculture, 2019(18): 114-115. (in Chinese)
- [98] 夏英武. 作物诱变育种[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997: 56.
- XIA Y W. Crop mutagenesis breeding[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1997: 56. (in Chinese)
- [99] 温贤芳, 张龙, 戴维序, 李春华. 天地结合开展我国空间诱变育种研究[J]. 核农学报, 2004(4): 241-246.
- WEN X F, ZHANG L, DAI W X, LI C H. Study of space mutation breeding in China[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2004(4): 241-246. (in Chinese)
- [100] 王艳芳, 王世恒, 祝水金. 航天诱变育种研究进展[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2006, 34(1): 9-12.
- WANG Y F, WANG S H, ZHU S J. Advance in the space flight mutation breeding[J]. Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition), 2006, 34(1): 9-12. (in Chinese)
- [101] 陈肖英, 郑平, 徐明全, 赵贵林, 刘敏. 航翅 1 号蝴蝶兰选育研究初报[J]. 热带农业科学, 2011, 31(11): 23-27.
- CHEN X Y, ZHENG P, XU M Q, ZHAO G L, LIU M. Space breeding research on Hanghu No. 1 of *Phalaenopsis amabilis*[J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2011, 31(11): 23-27. (in Chinese)
- [102] 陈肖英, 彭宝富, 徐明全, 赵贵林, 郑平, 刘敏. 蝴蝶兰新品种航翅 2 号选育结果与分析[J]. 卫星应用, 2013(1): 61-65.
- CHEN X Y, PENG B F, XU M Q, ZHAO G L, ZHENG P, LIU M. Breeding results and analysis of a new variety of *Phalaenopsis* 'Hanghu No.2'[J]. Satellite Application, 2013(1): 61-65. (in Chinese)
- [103] 徐靖, 王晓彤, 胡凌娟, 李明焱, 邵清松, 贾宸. 铁皮石斛新品种“仙斛 3 号”的选育及特征特性研究[J]. 中国现代中药, 2017, 19(3): 337-341.
- XU J, WANG X T, HU L J, LI M Y, SHAO Q S, JIA C. Breeding of *Dendrobium officinale* var. "Xianhu 3" and its characteristics[J]. Modern Chinese Medicine, 2017, 19(3): 337-341. (in Chinese)
- [104] 彭曦, 叶庆生. 太空诱变对金钗石斛光合特性和生长的影响[J]. 热带亚热带植物学报, 2017, 25(5): 480-488.
- PENG X, YE Q S. Effects of space mutation on photosynthetic characteristics and growth of *Dendrobium nobile*[J]. Journal of Tropical and Subtropical Botany, 2017, 25(5): 480-488. (in Chinese)
- [105] 高祥云. 重离子辐照对杂交兰的组培和诱变效应[D]. 广州: 华南农业大学, 2018.

- GAO X Y. Effects of heavy ion irradiation on tissue culture and mutagenesis in hybrid *Cymbidium*[D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2018. (in Chinese)
- [106] 肖文芳, 李佐, 陈和明, 吕复兵. 基于 SLAF-BSA 技术的蝴蝶兰花底色关联 SNP 分子标记开发与验证[J]. 中国农业大学学报, 2021, 26(9): 92-100.
- XIAO W F, LI Z, CHEN H M, LYU F B. Identification and validation of single nucleotide polymorphism markers linked to flower ground color in *Phalaenopsis* by using combined specific-locus amplified fragment sequencing and bulked segregant analysis[J]. Journal of China Agricultural University, 2021, 26(9): 92-100. (in Chinese)
- [107] 陈如梦, 彭梦萱, 魏倩, 曾瑞珍, 宿庆连, 张志胜. 影响兰花试管花诱导和发育的因素[J/OL]. 分子植物育种, 2022. [2023-07-23]. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220829.1026.002.html>.
- CHEN R M, PENG M X, WEI Q, ZENG R Z, SU Q L, ZHANG Z S. Factors influencing on the induction and development of test-tube flower in *Cymbidium*[J/OL]. Molecular Plant Breeding, 2022. [2023-07-23]. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220829.1026.002.html>. (in Chinese)
- [108] 蒋彧, 涂勋良, 何俊蓉. 国兰叶色突变体叶片差异表达基因分析[J]. 园艺学报, 2023, 50(2): 371-381.
- JIANG Y, TU X L, HE J R. Analysis of differential expression genes in leaves of leaf color mutant of Chinese orchid[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2023, 50(2): 371-381. (in Chinese)
- [109] 蒋彧, 何俊蓉. 国兰叶色突变体根状茎差异表达基因分析[J]. 核农学报, 2022, 36(3): 497-508.
- JIANG Y, HE J R. Analysis of differential expression genes in rhizome of leaf color mutant of Chinese orchid[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2022, 36(3): 497-508. (in Chinese)
- [110] 卓智勇. 兰花重离子辐照效应与叶片线艺突变机理研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2020.
- ZHUO Z Y. Study on effect of heavy ion irradiation and mechanism of thread art mutation on leaf in *Cymbidium*[D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2020. (in Chinese)
- [111] LI C R, DONG N, ZHAO Y M, WU S S, LIU Z J, ZHAI J W. A review for the breeding of orchids: current achievements and prospects[J]. Horticultural Plant Journal, 2021, 7(5): 380-392.
- [112] 吴婷, 贾瑞冬, 杨树华, 赵鑫, 于晓南, 国圆, 葛红. 蝴蝶兰多倍体育种研究进展与展望[J]. 园艺学报, 2022, 49(2): 448-462.
- WU T, JIA R D, YANG S H, ZHAO X, YU X N, GUO Y, GE H. Research advances and prospects on *Phalaenopsis* polyploid breeding[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2022, 49(2): 448-462. (in Chinese)
- [113] 罗远华, 方能炎, 樊荣辉, 黄敏玲. 兰科植物多倍体诱导研究进展[J]. 江苏农业科学, 2022, 50(1): 6-13.
- LUO Y H, FANG N Y, FAN R H, HUANG M L. Research progress of polyploid induction in orchids[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2022, 50(1): 6-13. (in Chinese)