

蝴蝶兰组培苗携带建兰花叶病毒和齿兰环斑病毒情况调查

冯可婧¹, 许 丽¹, 杨春梅^{2,3}, 阮继伟^{2,3}, 吴丽芳^{2,3}, 瞿素萍^{2,3*}, 余蓉培^{2,3*}

1. 云南大学农学院, 云南昆明 650504; 2. 云南省农业科学院花卉研究所/云南省花卉育种重点实验室/国家观赏园艺工程技术研究中心, 云南昆明 650205; 3. 玉溪云星生物科技有限公司, 云南玉溪 653100

摘 要: 建兰花叶病毒 (Cymbidium mosaic virus, CymMV) 和齿兰环斑病毒 (Odontoglossum ringspot virus, ORSV) 是蝴蝶兰生产中的常见病毒, 对组培苗 CymMV 和 ORSV 的携带情况进行监测是生产蝴蝶兰优质健康种苗的前提。本研究以 20 个蝴蝶兰品种为研究对象, 从组培生产线上选取继代增殖周期间隔 10 个月的 2 个批次组培苗样品, 同时采用 RT-PCR 和 RT-qPCR 进行 CymMV 和 ORSV 检测。RT-PCR 检测结果显示, 第 1 批次和第 2 批次样品的 CymMV 阳性率分别为 25% 和 20%, ORSV 阳性率均为 15%。RT-qPCR 检测结果显示, 第 1 批次和第 2 批次样品的 CymMV 阳性率分别为 100% 和 91.67%, ORSV 阳性率分别为 50% 和 25%。与第 1 批次相比, 第 2 批次组培苗分别有 16 个和 9 个品种的 CymMV 和 ORSV 含量减少, 但 V3 的 ORSV 含量增加明显, 由阴性增加至 $6.85 \times 10^5 \sim 8.50 \times 10^5$ copies/ μ L。研究结果表明, CymMV 和 ORSV 广泛存在于蝴蝶兰组培苗中, 且病毒含量随批次存在差异, 检测为阴性的品种在继代增殖过程中亦存在病毒量增加的风险。因此, 在蝴蝶兰组培苗生产过程中应定期进行 CymMV 和 ORSV 监测, 以保证蝴蝶兰产业的优质种源。

关键词: 蝴蝶兰; 建兰花叶病毒; 齿兰环斑病毒; 组培苗

中图分类号: S436.8

文献标志码: A

Investigation of *in vitro* Seedlings Carrying Cymbidium Mosaic Virus and Odontoglossum Ringspot Virus in *Phalaenopsis*

FENG Kejing¹, XU Li¹, YANG Chunmei^{2,3}, RUAN Jiwei^{2,3}, WU Lifang^{2,3}, QU Suping^{2,3*}, YU Rongpei^{2,3*}

1. College of Agriculture, Yunnan University, Kunming, Yunnan 650504, China; 2. Institute of Flower Research, Yunnan Academy of Agricultural Sciences / Key Laboratory of Flower Breeding of Yunnan Province / National Engineering Research Center for Ornamental Horticulture, Kunming, Yunnan 650205, China; 3. Yunxing Biotechnology Co., Ltd., Yuxi, Yunnan 653100, China

Abstract: Cymbidium mosaic virus (CymMV) and Odontoglossum ringspot virus (ORSV) are common viruses in *Phalaenopsis* production, and monitoring CymMV and ORSV of *in vitro* seedlings is the foundation of high-quality and healthy seedling production in *Phalaenopsis*. In this study, 20 *Phalaenopsis* cultivars were used as the research objects. Two batches of *in vitro* seedlings selected from the production line with 10-month intervals between the subculture proliferation cycles, were investigated for CymMV and ORSV through RT-PCR (reverse transcription polymerase chain reaction) and RT-qPCR (real time quantitative polymerase chain reaction) at the same time. RT-PCR results showed that the positive rate of CymMV in the first and second batch was 25% and 20%, respectively, and the positive rate of ORSV was both 15% in the two batches. RT-qPCR results showed that the positive rate of CymMV in the first and second batch was 100% and 91.67%, respectively, and the positive rate of ORSV in the two batches was 50% and 25%, respectively. Comparing with the first batch, CymMV content of 16 cultivars and ORSV content of 9 cultivars decreased in the second batch, but ORSV content of *Phalaenopsis* Sogo Yukidian V3 increased significantly, which increased from negative to $6.85 \times 10^5 \sim 8.50 \times 10^5$ copies/ μ L. The results indicated that CymMV and ORSV widely existed in *in vitro* seedlings

收稿日期 2025-05-30; 接受日期 2025-07-08

基金项目 云南省种子种业联合实验室项目 (No. 202205AR070001-7); 云南省应用基础研究计划项目 (No. 202501AT070088); 云南省乡村振兴科技专项 (No. 202304BI090016)。

作者简介 冯可婧 (2000—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 观赏植物。*通信作者 (Corresponding author): 余蓉培 (YU Rongpei), E-mail: yrongpei@126.com; 瞿素萍 (QU Suping), E-mail: qsp@yaas.org.cn。

of *Phalaenopsis*, and the content varied with different batches. The cultivars detected as the negative also faced the risk of virus content increase. Thus, CymMV and ORSV should be investigated regularly in the production of *in vitro* *Phalaenopsis* seedlings to ensure the high-quality seedling source for *Phalaenopsis* industry.

Keywords: *Phalaenopsis*; Cymbidium mosaic virus; Odontoglossum ringspot virus; *in vitro* seedlings

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2025.11.017

蝴蝶兰 (*Phalaenopsis* spp.) 为兰科 (Orchidaceae) 蝴蝶兰属 (*Phalaenopsis*) 附生常绿草本植物, 因花型奇特、花色繁多、花期较长, 故素有“洋兰王后”之称, 是中国销量最大的年宵花, 也是世界范围内销量第一的盆栽观赏植物, 在世界花卉产业中占有极其重要的地位^[1-2]。

目前蝴蝶兰生产中广泛应用的繁殖方式主要是种子无菌播种及不定芽途径的组培繁殖方法, 其中以不定芽途径的组培繁殖方法应用最为广泛^[3]。长期无性繁殖会致使病毒逐代积累, 同时, 病毒也会通过汁液、蚜虫及组培操作时的器械接触等方式不断传递, 使得蝴蝶兰商品苗种和盆栽植株中病毒携带率较高, 直接影响蝴蝶兰的观赏价值和商品价值^[4]。感染病毒的蝴蝶兰植株, 其叶片常出现斑驳、皱缩、凹陷环斑等症状, 花器受害后表现出花变叶、花穗小、花期短、花色不均匀等现象, 给花卉产业造成严重的经济损失^[5]。

已知能感染兰花的病毒种类有 50 多种, 其中建兰花叶病毒 (Cymbidium mosaic virus, CymMV) 和齿兰环斑病毒 (Odontoglossum ringspot virus, ORSV) 是最常见、感染最严重的 2 种病毒^[1, 6]。蝴蝶兰 CymMV 感病植株会出现叶片黄色环斑以及花朵褪色等病症, ORSV 感病植株则会出现叶片条纹花斑以及花朵褪色等病症, 严重影响蝴蝶兰盆花产品的观赏价值和商品价值^[4]。

组培苗是蝴蝶兰盆花产品的种苗来源, 对蝴蝶兰盆花产品质量起到关键的决定性作用。目前蝴蝶兰组培苗生产中, 通常以花梗为外植体, 经花梗腋芽诱导、丛生芽诱导与增殖、组培苗壮苗及生根培养批量获得蝴蝶兰组培苗^[7-8]。目前对于蝴蝶兰组培苗研究主要集中于花梗外植体消毒方式^[9]、不定芽增殖^[10]、抑制组培褐化^[11]等繁育技术。同时, 蝴蝶兰 CymMV 和 ORSV 研究主要集中于病毒检测体系的构建^[4]。在现有研究中, 仅见采用 ELISA 方法对国产蝴蝶兰种苗携带 CymMV 和 ORSV 的初步探查^[12], 尚未见针对蝴蝶兰组培苗携带 CymMV 和 ORSV 情况的调查。

本研究以云南地区不同企业 20 个蝴蝶兰品种的组培苗为对象, 从组培生产线上选取继代增

殖周期间隔 10 个月的 2 个批次组培苗样品, 采用 RT-PCR 和 RT-qPCR 进行 CymMV 和 ORSV 检测, 并进行病毒含量变化的分析, 旨在初步探明蝴蝶兰组培苗携带 CymMV 和 ORSV 的情况, 研究结果将对蝴蝶兰组培苗生产中的病毒防控提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

从云南蝴蝶兰生产企业的组培生产线中选取 20 个蝴蝶兰品种, 接种培养基为 1/2 MS+3.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA+30 g/L 土豆+50 ml/L 椰子水, 培养条件: 温度(25±2)℃, 湿度(40±2)%, 光照强度 20 μmol/(m²·s) (16 h 光照/8 h 黑暗)。每个品种随机选取 3 瓶组培苗作为第 1 批次检测样品 (图 1)。第 1 批次检测样品取样后, 同批次的蝴蝶兰组培苗继续在企业组培生产线上进行继代扩繁, 10 个月继代增殖扩繁 5 次后, 再对 20 个蝴蝶兰品种进行取样, 每个品种随机选取 3 瓶组培苗作为第 2 批次检测样品。选取长势一致的蝴蝶兰组培苗, 取相同部位叶片作为 CymMV 和 ORSV 检测材料。

1.2 方法

1.2.1 总 RNA 提取及反转录 使用艾德莱生物科技有限公司的多糖多酚复杂植物 RNA 快速提取试剂盒进行蝴蝶兰组培苗叶片总 RNA 提取, 对检测合格的 RNA 采用 PrimeScript IV 1st strand cDNA Synthesis Mix 试剂盒 (TaKaRa) 进行反转录以获得 cDNA。

1.2.2 CymMV 和 ORSV 的检测 参照宋起萱等^[4]所述方法, 以水作阴性对照, 使用表 1 引物对蝴蝶兰组培苗分别进行 CymMV 和 ORSV 的 RT-PCR 和 RT-qPCR 检测。使用 EasyPure Quick Gel Extraction 试剂盒 (全式金生物技术有限公司) 对 RT-PCR 产物目的电泳条带进行切胶回收, 回收产物进行测序, 测序结果使用 DNAMAN 软件与 CymMV 和 ORSV 的外壳蛋白 (coat protein, CP) 基因序列进行比对。同时, 参考水 (对照) 的 Cq 值确定 RT-qPCR 病毒检测的阳性标准, 阴性样品视为病毒含量数值不存在。对检测为阳性的样品计算

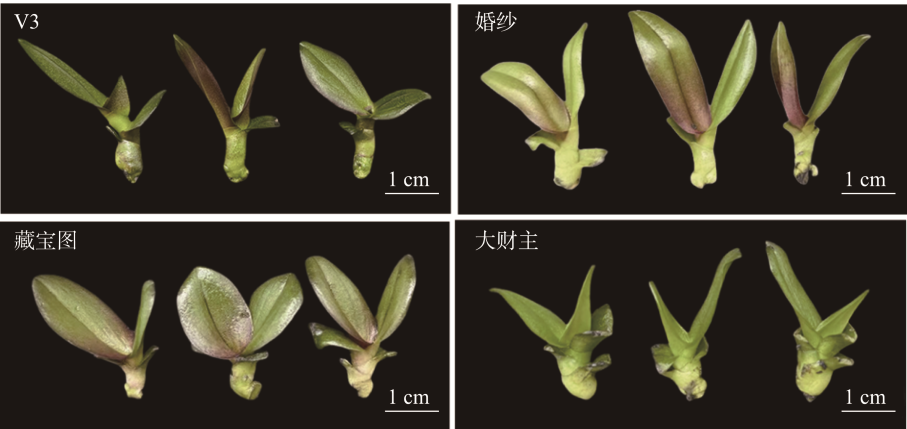


图 1 部分用于病毒检测的蝴蝶兰组培苗
Fig. 1 *In vitro* seedlings of *Phalaenopsis* used for virus detection

表 1 CymMV 与 ORSV 的 RT-PCR 和 RT-qPCR 病毒检测所用引物^[4]
Tab. 1 Primers used for RT-PCR and RT-qPCR virus detection of CymMV and ORSV^[4]

检测类型 Type of test	引物名称 Primer name	引物序列 (5'-3') Primer sequence (5'-3')	引物长度 Primer length/bp	产物长度 Product length/bp
RT-PCR	CymMV-F	CCGGTCACCTCATCAATCGCCA	22	561
	CymMV-R	TGCAGGCAGAGCATAGAGGGTG	22	
	ORSV-F	GCTTGGGCTGACCCCAATTCACT	23	
	ORSV-R	GGATTCTGCGGATTTTCTACCTCG	24	
RT-qPCR	CymMV-qF	GTGGTGTGGAATCTGATGCTGG	22	114
	CymMV-qR	GGAATCGACGGCATCGAAGAAG	22	
	ORSV-qF	GCTCGAACAACGTGTCAACAGC	22	122
	ORSV-qR	GGATCTAATATAGGATCATAGCG	23	

CymMV 和 ORSV 病毒含量, CymMV 病毒含量计算公式: $y=-3.459x+43.98$, ORSV 病毒含量计算公式: $y=-3.427x+48.42$, 其中, y 均为 RT-qPCR 的 C_q 值, x 为模板浓度的对数值 ($\lg C=x$)。各品种样品用于病毒检测的 cDNA 浓度相同。

1.3 数据处理

使用 Excel 2021 软件计算各品种 3 个样品重复 RT-qPCR 中 C_q 的平均值和病毒含量, 并对 2 个批次的组培苗数据进行比较, 若同一个品种 2 个批次检测结果均为阴性或 C_q 平均值差异 <0.5 , 则认为病毒含量基本保持不变, 若同一个品种 2 个批次 C_q 平均值差异 ≥ 0.5 , 则认为病毒含量发生变化。使用 GraphPad Prism 10.1.2 软件对统计数据绘图。

2 结果与分析

2.1 蝴蝶兰组培苗携带 CymMV 的 RT-PCR 和 RT-qPCR 检测

使用 RT-PCR 对 2 个批次的蝴蝶兰组培苗样

品进行 CymMV 检测, 检测结果显示, 在第 1 批次组培苗中, 明日之星、绿闪电、朝日、V3、婚纱 5 个品种的 3 个样品重复均为阳性 (图 2), 阳性率为 25%。在第 2 批次组培苗中, 明日之星的 3 个样品重复转为阴性, 绿闪电、朝日、V3、婚纱 4 个品种的 3 个样品重复仍为阳性, 阳性率为 20%。对目的电泳条带切胶回收测序后, 与 CymMV 的 CP 基因序列进行比对, 序列相似度为 96.62%, 说明目的电泳条带确定为 CymMV。

同时, 使用 RT-qPCR 再次对 2 个批次的蝴蝶兰组培苗样品进行 CymMV 检测, 以水 (对照) 的 C_q 值为参考, 确定 $C_q\geq 35$ 为阴性, $C_q<35$ 为阳性 (表 2)。检测结果显示, 除第 2 批次少数样品检测为阴性, 2 个批次的其他蝴蝶兰样品均不同程度地携带 CymMV, 说明 CymMV 在蝴蝶兰组培苗中广泛存在。第 1 批次组培苗中, CymMV 含量在 $1.32\times 10^3\sim 8.93\times 10^{10}$ copies/ μL 之间, 蓝宝石的病毒含量最低, 婚纱的病毒含量最高。第 2 批次组培苗中, 蓝宝石 2 个样品及宝贝检测为阴性,

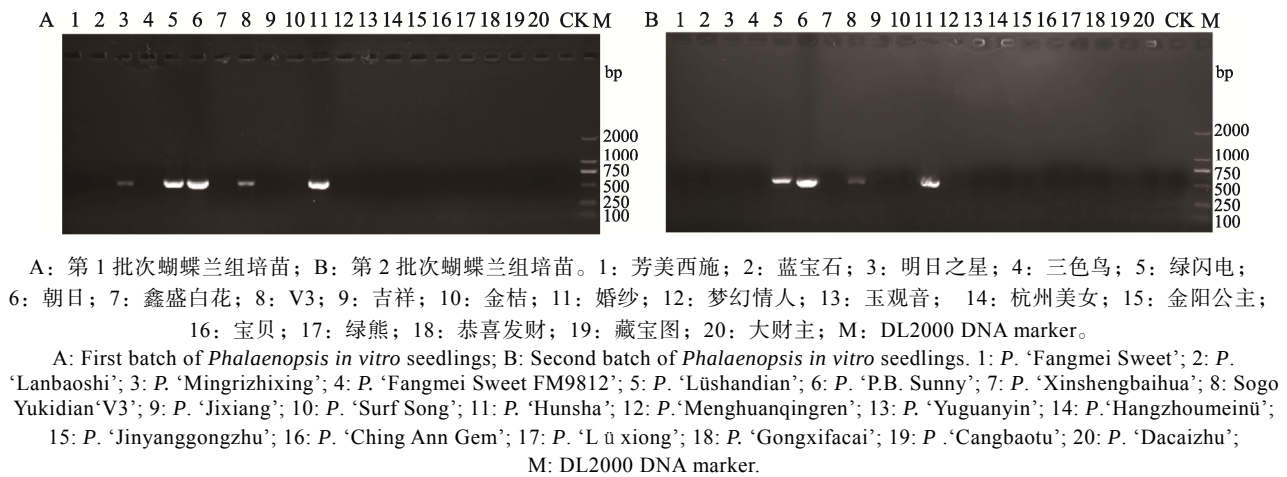


图 2 2 个批次蝴蝶兰组培苗 CymMV 检测的 RT-PCR 代表性电泳图

Fig. 2 Representative electrophoresis images of CymMV detection for two batches of *Phalaenopsis in vitro* seedlings via RT-PCR

表 2 20 个品种蝴蝶兰组培苗 CymMV 的 RT-PCR 和 RT-qPCR 检测结果

Tab. 2 RT-PCR and RT-qPCR detection results of CymMV for *in vitro* seedlings of 20 *Phalaenopsis* cultivars

样品编号 Sample No.	样品名称 Sample name	第 1 批次 The first batch				第 2 批次 The second batch			
		RT-PCR	Cq	RT-qPCR	病毒含量 Viral content/(copies·μL ⁻¹)	RT-PCR	Cq	RT-qPCR	病毒含量 Viral content/(copies·μL ⁻¹)
CK-1	水	—	35.20	—	/	—	36.84	—	/
CK-2	水	—	38.89	—	/	—	37.85	—	/
CK-3	水	—	/	—	/	—	/	—	/
1	芳美西施-1	—	30.22	+	9.51×10 ³	—	32.06	+	2.80×10 ³
2	芳美西施-2	—	30.33	+	8.84×10 ³	—	31.71	+	3.52×10 ³
3	芳美西施-3	—	30.36	+	8.66×10 ³	—	31.08	+	5.37×10 ³
4	蓝宝石-1	—	32.24	+	2.48×10 ³	—	34.47	+	5.62×10 ²
5	蓝宝石-2	—	32.53	+	2.05×10 ³	—	35.05	—	3.82×10 ²
6	蓝宝石-3	—	33.19	+	1.32×10 ³	—	35.60	—	2.65×10 ²
7	明日之星-1	+	23.62	+	7.69×10 ⁵	—	29.70	+	1.34×10 ⁴
8	明日之星-2	+	23.53	+	8.17×10 ⁵	—	28.96	+	2.20×10 ⁴
9	明日之星-3	+	23.65	+	7.54×10 ⁵	—	29.57	+	1.47×10 ⁴
10	三色鸟-1	—	32.38	+	2.26×10 ³	—	28.12	+	3.84×10 ⁴
11	三色鸟-2	—	32.18	+	2.58×10 ³	—	28.40	+	3.19×10 ⁴
12	三色鸟-3	—	33.16	+	1.34×10 ³	—	28.50	+	2.98×10 ⁴
13	绿闪电-1	+	12.04	+	1.71×10 ⁹	+	12.03	+	1.73×10 ⁹
14	绿闪电-2	+	11.98	+	1.78×10 ⁹	+	11.61	+	2.28×10 ⁹
15	绿闪电-3	+	11.93	+	1.84×10 ⁹	+	10.82	+	3.87×10 ⁹
16	朝日-1	+	7.20	+	4.29×10 ¹⁰	+	13.08	+	8.60×10 ⁸
17	朝日-2	+	6.82	+	5.55×10 ¹⁰	+	13.11	+	8.40×10 ⁸
18	朝日-3	+	6.97	+	5.01×10 ¹⁰	+	13.35	+	7.16×10 ⁸
19	鑫盛白花-1	—	26.53	+	1.11×10 ⁵	—	33.71	+	9.29×10 ²
20	鑫盛白花-2	—	26.65	+	1.02×10 ⁵	—	34.85	+	4.36×10 ²
21	鑫盛白花-3	—	26.51	+	1.12×10 ⁵	—	33.62	+	9.89×10 ²
22	V3-1	+	22.24	+	1.93×10 ⁶	+	23.31	+	9.44×10 ⁵
23	V3-2	+	22.14	+	2.05×10 ⁶	+	23.17	+	1.04×10 ⁶
24	V3-3	+	22.54	+	1.58×10 ⁶	+	22.40	+	1.73×10 ⁶

续表 2 20 个品种蝴蝶兰组培苗 CymMV 的 RT-PCR 和 RT-qPCR 检测结果

Tab. 2 RT-PCR and RT-qPCR detection results of CymMV for *in vitro* seedlings of 20 *Phalaenopsis* cultivars (continued)

样品编号 Sample No.	样品名称 Sample name	第 1 批次 The first batch				第 2 批次 The second batch			
		RT-PCR	Cq	RT-qPCR	病毒含量 Viral content/(copies·μL ⁻¹)	RT-PCR	Cq	RT-qPCR	病毒含量 Viral content/(copies·μL ⁻¹)
25	吉祥-1	—	25.50	+	2.20×10 ⁵	—	27.18	+	7.19×10 ⁴
26	吉祥-2	—	25.58	+	2.08×10 ⁵	—	27.74	+	4.95×10 ⁴
27	吉祥-3	—	26.10	+	1.48×10 ⁵	—	27.85	+	4.60×10 ⁴
28	金桔-1	—	28.03	+	4.08×10 ⁴	—	28.46	+	3.07×10 ⁴
29	金桔-2	—	28.52	+	2.95×10 ⁴	—	28.01	+	4.14×10 ⁴
30	金桔-3	—	27.98	+	4.22×10 ⁴	—	28.54	+	2.91×10 ⁴
31	婚纱-1	+	9.06	+	1.24×10 ¹⁰	+	15.69	+	1.51×10 ⁸
32	婚纱-2	+	8.61	+	1.68×10 ¹⁰	+	15.36	+	1.88×10 ⁸
33	婚纱-3	+	9.56	+	8.93×10 ¹⁰	+	16.02	+	1.21×10 ⁸
34	梦幻情人-1	-	29.50	+	1.54×10 ⁴	—	32.74	+	1.78×10 ³
35	梦幻情人-2	—	28.49	+	3.01×10 ⁴	—	32.52	+	2.06×10 ³
36	梦幻情人-3	—	29.31	+	1.74×10 ⁴	—	33.29	+	1.23×10 ³
37	玉观音-1	—	30.56	+	7.58×10 ³	—	33.93	+	8.04×10 ²
38	玉观音-2	—	30.45	+	8.16×10 ³	—	33.03	+	1.46×10 ³
39	玉观音-3	—	30.67	+	7.05×10 ³	—	34.28	+	6.37×10 ²
40	杭州美女-1	—	28.18	+	3.70×10 ⁴	—	34.08	+	7.28×10 ²
41	杭州美女-2	—	28.43	+	3.13×10 ⁴	—	34.19	+	6.77×10 ²
42	杭州美女-3	—	28.20	+	3.65×10 ⁴	—	32.10	+	2.72×10 ³
43	金阳公主-1	—	29.82	+	1.24×10 ⁴	—	32.74	+	1.78×10 ³
44	金阳公主-2	—	29.76	+	1.29×10 ⁴	—	32.49	+	2.10×10 ³
45	金阳公主-3	—	30.04	+	1.07×10 ⁴	—	31.66	+	3.65×10 ³
46	宝贝-1	—	28.49	+	3.01×10 ⁴	—	36.76	—	/
47	宝贝-2	—	28.53	+	2.93×10 ⁴	—	36.85	—	/
48	宝贝-3	—	28.31	+	3.39×10 ⁴	—	36.85	—	/
49	绿熊-1	—	28.36	+	3.28×10 ⁴	—	30.23	+	9.47×10 ³
50	绿熊-2	—	28.08	+	3.95×10 ⁴	—	30.12	+	1.01×10 ⁴
51	绿熊-3	—	28.58	+	2.83×10 ⁴	—	30.12	+	1.01×10 ⁴
52	恭喜发财-1	—	28.56	+	2.87×10 ⁴	—	32.02	+	2.87×10 ³
53	恭喜发财-2	—	28.76	+	2.51×10 ⁴	—	31.60	+	3.79×10 ³
54	恭喜发财-3	—	28.34	+	3.32×10 ⁴	—	32.19	+	2.55×10 ³
55	藏宝图-1	—	28.46	+	3.07×10 ⁴	—	27.30	+	6.65×10 ⁴
56	藏宝图-2	—	28.60	+	2.79×10 ⁴	—	27.41	+	6.18×10 ⁴
57	藏宝图-3	—	28.36	+	3.28×10 ⁴	—	27.41	+	6.18×10 ⁴
58	大财主-1	—	28.26	+	3.51×10 ⁴	—	32.70	+	1.83×10 ³
59	大财主-2	—	28.30	+	3.42×10 ⁴	—	34.04	+	7.49×10 ²
60	大财主-3	—	28.32	+	3.37×10 ⁴	—	34.04	+	7.49×10 ²

注：+代表 RT-PCR/RT-qPCR 检测结果为阳性，—代表 RT-PCR/RT-qPCR 检测结果为阴性；RT-qPCR 检测结果是参考水（对照）的 Cq 值确定标准，Cq≥35 判定为阴性（—），Cq<35 判定为阳性（+）；/代表病毒拷贝数不存在。

Note: + represents the positive result of RT-PCR/RT-qPCR detection, — represents the negative result of RT-PCR/RT-qPCR detection; Cq value of water (control) is used as the reference for RT-qPCR detection standard, Cq≥35 is regarded as negative (—), Cq<35 is regarded as positive (+); / represents the absence of viral copy number.

其他样品 CymMV 含量在 $4.36\times10^2\sim3.87\times10^9$ copies/ μL 之间,病毒含量最高的品种为绿闪电。

2.2 蝴蝶兰组培苗携带 ORSV 的 RT-PCR 和 RT-qPCR 检测

使用 RT-PCR 对 2 个批次的蝴蝶兰组培苗样品进行 ORSV 检测,检测结果显示,在第 1 批次和第 2 批次组培苗中,明日之星、绿闪电、大财主 3 个品种的 3 个样品重复均为阳性(图 3),阳性率均为 15%。对目的电泳条带切胶回收测序后,与 ORSV 的 CP 基因序列进行比对,相似度为 96.63%,说明目的电泳条带确定为 ORSV。结合 CymMV 的 RT-PCR 检测结果可知,在第 1 批次组培苗中,明日之星和绿闪电复合感染 CymMV 和 ORSV;在第 2 批次组培苗中,绿闪电复合感染 CymMV 和 ORSV。

同时,使用 RT-qPCR 再次对 2 个批次的蝴蝶

兰组培苗样品进行 ORSV 检测,以水(对照)的 Cq 值为参考,确定 $Cq\geq35$ 为阴性, $Cq<35$ 为阳性(表 3)。检测结果显示,朝日、金桔、婚纱等 9 个品种的 2 个批次样品均检测为阴性,芳美西施、蓝宝石、鑫盛白花等 6 个品种第 1 批次样品检测为阳性,第 2 批次样品检测为阴性,而 V3 则是第 1 批次样品检测为阴性,第 2 批次样品检测为阳性。除检测为阴性的样品外,在第 1 批次组培苗中,其他样品 ORSV 含量在 $1.02\times10^4\sim5.12\times10^9$ copies/ μL 之间,ORSV 含量最高的品种是大财主;在第 2 批次组培苗中,其他样品的 ORSV 含量在 $1.74\times10^4\sim1.72\times10^9$ copies/ μL 之间,ORSV 含量最高的品种是绿闪电(表 3)。此外,结合 CymMV 的 RT-qPCR 检测结果可知,明日之星、三色鸟、绿闪电、大财主 4 个蝴蝶兰品种的 2 个批次组培苗不同程度复合感染 CymMV 和 ORSV(表 2,表 3)。

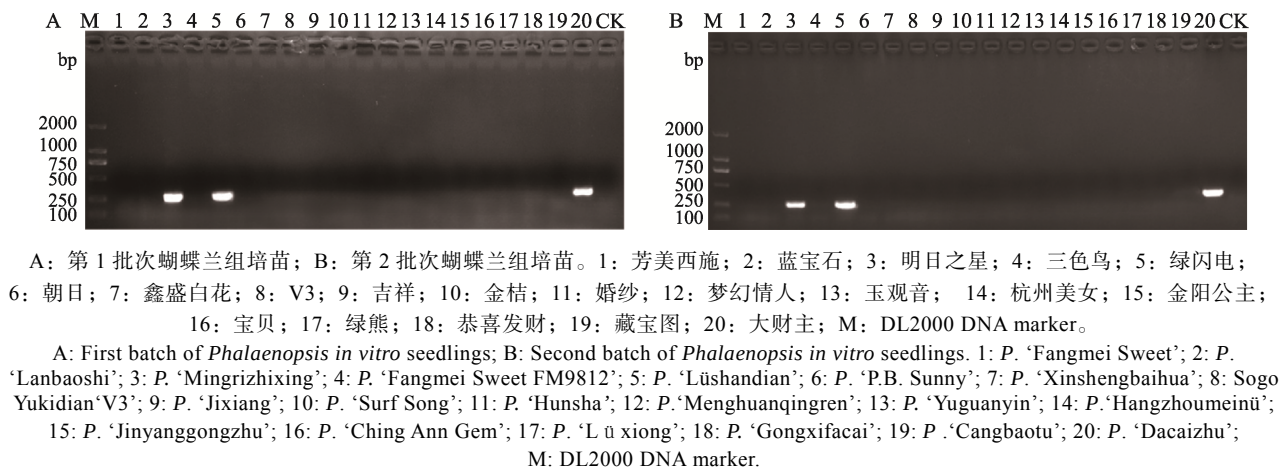


图 3 2 个批次蝴蝶兰组培苗 ORSV 的 RT-PCR 代表性电泳图
Fig. 3 Representative electrophoresis images of ORSV detection for two batches of *Phalaenopsis in vitro* seedlings via RT-PCR

2.3 2 个批次蝴蝶兰携带 CymMV 和 ORSV 情况的比较

2 个批次蝴蝶兰组培苗样品间隔 10 个月,中间经历 5 次继代增殖扩繁,本研究对 2 个批次蝴蝶兰组培苗中 CymMV 和 ORSV 随组培扩繁周期的变化情况进行监测和比较。RT-PCR 和 RT-qPCR 检测结果显示,在 2 个批次的蝴蝶兰组培苗中,CymMV 阳性率均明显高于 ORSV,蝴蝶兰组培苗携带 CymMV 更为广泛(图 4A)。在 RT-PCR 检测中,2 个批组培苗次 CymMV 的阳性率分别为 25%和 20%,ORSV 的 RT-PCR 阳性率均为 15%。而在 RT-qPCR 检测中,2 个批次组培苗 CymMV 阳性率分别为 100%和 91.67%,ORSV 阳性率分别

为 50%和 25%,RT-qPCR 检测的阳性率均高于 RT-PCR,说明 RT-qPCR 检测的灵敏度更高(图 4A,图 4B)。

对 2 个批次 20 个品种各 3 个样品重复的 RT-qPCR 的 Cq 值以及病毒含量的平均值进行比较,分析结果显示,相比第 1 批次,第 2 批中 16 个品种 CymMV 含量减少(图 4C),其中婚纱和朝日的 CymMV 含量减少较为明显,由 10^{10} copies/ μL 减少至 10^8 copies/ μL 。9 个品种 ORSV 含量减少,其中明日之星和大财主的 ORSV 含量减少较为明显,由 10^9 copies/ μL 减少至 10^7 copies/ μL 。2 个品种的 CymMV 含量以及 10 个品种的 ORSV 含量在 2 个批次中未发生明显变化。尽管绝大部分蝴

表 3 20 个品种蝴蝶兰组培苗 ORSV 的 RT-PCR 和 RT-qPCR 检测结果
Tab. 3 RT-PCR and RT-qPCR detection results of ORSV for *in vitro* seedlings of 20 *Phalaenopsis* cultivars

样品编号 Sample No.	样品名称 Sample name	第 1 批次 The first batch				第 2 批次 The second batch			
		RT-PCR	Cq	RT-qPCR	病毒含量 Viral con- tent/(copies·μL ⁻¹)	RT-PCR	Cq	RT-qPCR	病毒含量 Viral content/(copies·μL ⁻¹)
CK-1	水	—	35.56	—	/	—	36.83	—	/
CK-2	水	—	38.28	—	/	—	37.85	—	/
CK-3	水	—	/	—	/	—	/	—	/
1	芳美西施-1	—	31.69	+	7.54×10 ⁴	—	35.16	—	/
2	芳美西施-2	—	31.73	+	7.34×10 ⁴	—	35.60	—	/
3	芳美西施-3	—	31.70	+	7.49×10 ⁴	—	35.18	—	/
4	蓝宝石-1	—	32.24	+	5.22×10 ⁴	—	35.11	—	/
5	蓝宝石-2	—	32.53	+	4.30×10 ⁴	—	36.06	—	/
6	蓝宝石-3	—	33.19	+	2.76×10 ⁴	—	35.91	—	/
7	明日之星-1	+	16.17	+	2.53×10 ⁹	+	22.40	+	3.87×10 ⁷
8	明日之星-2	+	16.03	+	2.77×10 ⁹	+	22.45	+	3.72×10 ⁷
9	明日之星-3	+	15.96	+	2.91×10 ⁹	+	19.62	+	2.49×10 ⁸
10	三色鸟-1	—	32.38	+	4.75×10 ⁴	—	33.65	+	2.02×10 ⁴
11	三色鸟-2	—	32.18	+	5.44×10 ⁴	—	33.87	+	1.74×10 ⁴
12	三色鸟-3	—	33.16	+	2.81×10 ⁴	—	33.84	+	1.78×10 ⁴
13	绿闪电-1	+	16.97	+	1.48×10 ⁹	+	16.96	+	1.49×10 ⁹
14	绿闪电-2	+	16.57	+	1.93×10 ⁹	+	17.14	+	1.32×10 ⁹
15	绿闪电-3	+	16.77	+	1.69×10 ⁹	+	16.74	+	1.72×10 ⁹
16	朝日-1	—	36.48	—	/	—	38.62	—	/
17	朝日-2	—	36.58	—	/	—	38.48	—	/
18	朝日-3	—	36.50	—	/	—	38.48	—	/
19	鑫盛白花-1	—	28.88	+	4.97×10 ⁵	—	35.00	—	/
20	鑫盛白花-2	—	28.57	+	6.13×10 ⁵	—	35.30	—	/
21	鑫盛白花-3	—	28.78	+	5.32×10 ⁵	—	35.25	—	/
22	V3-1	—	37.72	—	/	—	28.08	+	8.50×10 ⁵
23	V3-2	—	37.70	—	/	—	28.30	+	7.32×10 ⁵
24	V3-3	—	37.54	—	/	—	28.40	+	6.85×10 ⁵
25	吉祥-1	—	34.09	+	1.50×10 ⁴	—	35.20	—	/
26	吉祥-2	—	34.32	+	1.29×10 ⁴	—	35.21	—	/
27	吉祥-3	—	34.20	+	1.40×10 ⁴	—	35.59	—	/
28	金桔-1	—	35.24	—	/	—	35.11	—	/
29	金桔-2	—	35.34	—	/	—	35.55	—	/
30	金桔-3	—	35.29	—	/	—	35.91	—	/
31	婚纱-1	—	39.24	—	/	—	35.39	—	/
32	婚纱-2	—	39.24	—	/	—	35.26	—	/
33	婚纱-3	—	39.34	—	/	—	35.85	—	/
34	梦幻情人-1	—	36.10	—	/	—	37.04	—	/
35	梦幻情人-2	—	36.36	—	/	—	37.82	—	/
36	梦幻情人-3	—	36.34	—	/	—	38.90	—	/
37	玉观音-1	—	36.54	—	/	—	37.33	—	/
38	玉观音-2	—	36.57	—	/	—	37.34	—	/
39	玉观音-3	—	36.49	—	/	—	36.71	—	/
40	杭州美女-1	—	34.50	+	1.14×10 ⁴	—	36.74	—	/
41	杭州美女-2	—	34.67	+	1.02×10 ⁴	—	36.27	—	/
42	杭州美女-3	—	34.58	+	1.08×10 ⁴	—	36.35	—	/
43	金阳公主-1	—	37.38	—	/	—	37.18	—	/
44	金阳公主-2	—	37.48	—	/	—	37.30	—	/
45	金阳公主-3	—	37.56	—	/	—	37.24	—	/

续表 3 20 个品种蝴蝶兰组培苗 ORSV 的 RT-PCR 和 RT-qPCR 检测结果

Tab. 3 RT-PCR and RT-qPCR detection results of ORSV for *in vitro* seedlings of 20 *Phalaenopsis* cultivars (continued)

样品编号 Sample No.	样品名称 Sample name	第 1 批次 The first batch				第 2 批次 The second batch			
		RT-PCR	Cq	RT-qPCR	病毒含量 Viral content/(copies·μL ⁻¹)	RT-PCR	Cq	RT-qPCR	病毒含量 Viral content/(copies·μL ⁻¹)
46	宝贝-1	—	37.21	—	/	—	37.24	—	/
47	宝贝-2	—	37.43	—	/	—	37.63	—	/
48	宝贝-3	—	37.19	—	/	—	36.71	—	/
49	绿熊-1	—	33.15	+	2.83×10 ⁴	—	38.77	—	/
50	绿熊-2	—	33.25	+	2.65×10 ⁴	—	38.31	—	/
51	绿熊-3	—	33.27	+	2.61×10 ⁴	—	39.24	—	/
52	恭喜发财-1	—	N/A	—	/	—	N/A	—	/
53	恭喜发财-2	—	N/A	—	/	—	N/A	—	/
54	恭喜发财-3	—	N/A	—	/	—	N/A	—	/
55	藏宝图-1	—	36.91	—	/	—	39.05	—	/
56	藏宝图-2	—	36.98	—	/	—	38.51	—	/
57	藏宝图-3	—	37.04	—	/	—	38.51	—	/
58	大财主-1	+	15.15	+	5.00×10 ⁹	+	23.78	+	1.53×10 ⁷
59	大财主-2	+	15.12	+	5.12×10 ⁹	+	22.40	+	3.85×10 ⁷
60	大财主-3	+	15.12	+	5.12×10 ⁹	+	22.26	+	4.23×10 ⁷

注：+代表 RT-PCR/RT-qPCR 检测结果为阳性，—代表 RT-PCR/RT-qPCR 检测结果为阴性；RT-qPCR 检测结果是参考水（对照）的 Cq 值确定标准，Cq≥35 判定为阴性（—），Cq<35 判定为阳性（+）；/代表病毒拷贝数不存在。

Note: + represents the positive result of RT-PCR/RT-qPCR detection, — represents the negative result of RT-PCR/RT-qPCR detection; Cq value of water (control) is used as the reference for RT-qPCR detection standard, Cq≥35 is regarded as negative (—), Cq<35 is regarded as positive (+); / represents the absence of viral copy number.

蝶兰品种组培苗的病毒含量减少或无明显变化，但在第 2 批次组培苗中分别有 2 个品种的 CymMV 和 1 个品种的 ORSV 含量增加（图 4C），其中 V3 的 ORSV 含量增加明显，由阴性增加至 10⁵ copies/μL（表 2），说明检测为阴性的品种在继代增殖过程中亦存在病毒量增加的风险。

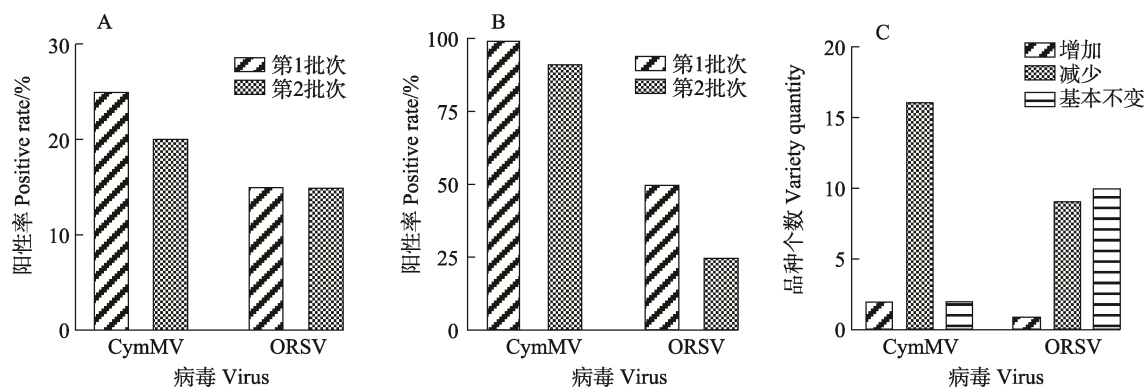
根据 RT-qPCR 检测结果对 2 个批次蝴蝶兰组培苗进行 CymMV 和 ORSV 含量分布情况进行分析（图 5），分析结果显示，在 2 个批次组培苗样本中，CymMV 含量均在 10⁴ copies/μL 区段的样本数最多，ORSV 含量均在阴性区段（0 copies/μL）的样本数量最多。整体看，ORSV 含量低于 CymMV 含量，组培苗携带 CymMV 的情况更为严重。此外，与第 1 批次相比，由于多数品种样本的病毒含量有所减少，使得低一级别的病毒浓度区段的样本数量增加。第 2 批次中，CymMV 含量在 10⁵ copies/μL 区段的样本数量明显减少，同时在浓度较低的 10²、10³ copies/μL 区段的样本数量明显增加；ORSV 含量在 10⁴ copies/μL 区段的样本数量明显减少，同时在阴性区段（0 copies/μL）的样本数量明显增加。

由上述结果可知，在组培生产线上，蝴蝶兰组培苗广泛携带 CymMV 和 ORSV，且携带

CymMV 病毒含量普遍高于 ORSV。同时，绝大多数蝴蝶兰组培苗的 CymMV 和 ORSV 含量会随扩繁次数和组培周期发生变化，在生产上有必要定期对病毒含量进行检测，以保证组培苗整体质量。

3 讨论

病毒病严重影响兰花产业的发展，已知能感染兰花的病毒种类有 50 多种^[1]，在蝴蝶兰生产栽培中，感染较多的常见病毒为建兰花叶病毒（CymMV）和齿兰环斑病毒（ORSV）^[13]。现有的蝴蝶兰 CymMV 和 ORSV 检测主要针对植株^[4, 14-16]以及植株不同部位^[17]，检测发现不同品种的蝴蝶兰植株均不同程度感染 CymMV 和 ORSV，蝴蝶兰唇瓣和气生根的 CymMV 和 ORSV 含量高于其他部位。对于蝴蝶兰组培苗的检测 CymMV 和 ORSV 则相对较少。丁兰等^[12]使用双抗夹心酶联免疫吸附法（DAS-ELISA）对蝴蝶兰 17 个品系 22 个样品分生组培苗进行检测，发现除 1 个样品检测为阴性，其余样品均复合感染 CymMV 和 ORSV。与之相似，本研究使用 RT-qPCR 对蝴蝶兰 20 个品种每批次 60 个组培苗样品进行检测，第 1 批次样品 CymMV 和 ORSV



A: RT-PCR 检测结果; B: RT-qPCR 检测结果; C: RT-qPCR 检测中病毒含量变化情况。

A: RT-PCR detection result; B: RT-qPCR detection result; C: Virus content changes in RT-qPCR.

图 4 2 个批次蝴蝶兰组培苗 CymMV 和 ORSV 检测结果比较

Fig. 4 Comparison between two batches of *Phalaenopsis in vitro* seedlings in CymMV and ORSV detection results

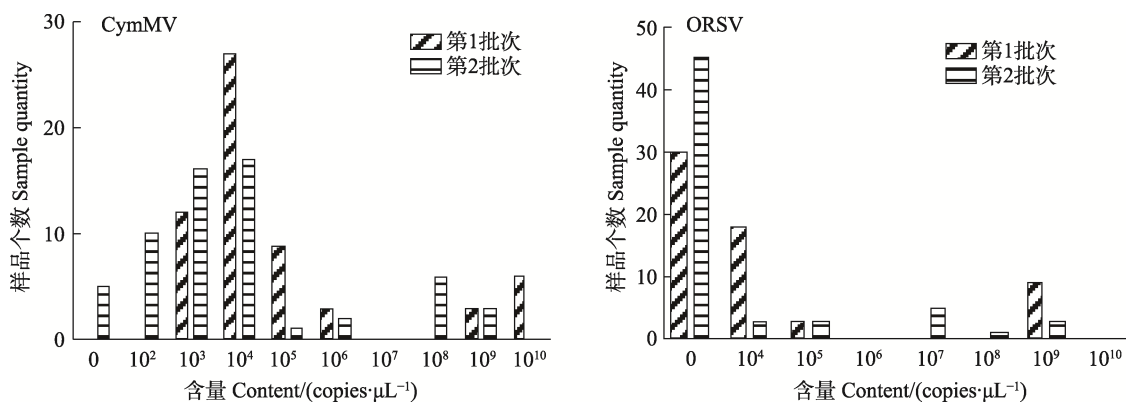


图 5 2 个批次蝴蝶兰组培苗 CymMV 和 ORSV 含量分布情况

Fig. 5 Distribution of CymMV and ORSV contents in two batches of *Phalaenopsis in vitro* seedlings

的阳性率分别为 100%和 50%，明日之星、三色鸟、绿闪电、大财主 4 个蝴蝶兰品种的 2 个批次组培苗不同程度复合感染 CymMV 和 ORSV。上述研究结果说明，CymMV 和 ORSV 的复合感染不仅广泛存在于蝴蝶兰植株以及植株的不同部位，也存在于蝴蝶兰组培苗中。同时，携带病毒的蝴蝶兰组培苗可能是 CymMV 和 ORSV 在蝴蝶兰产业链中扩散的源头。

目前，针对蝴蝶兰建兰花叶病毒和齿兰环斑病毒已构建了包括联免疫法 (ELISA)、RT-PCR 以及 RT-qPCR 等多种检测方法，但不同方法的灵敏性存在差异^[18]。宋起萱等^[4]同时采用 RT-PCR 和 RT-qPCR 对 4 个品种的 20 个样本进行病毒检测，RT-qPCR 检测的 CymMV 和 ORSV 阳性率分别为 100%和 90%，显著高于 RT-PCR 阳性率。本研究亦同时采用 RT-PCR 和 RT-qPCR 对 2 个批次的蝴蝶兰组培苗进行 CymMV 和 ORSV 检测，2 个批次 CymMV 的 RT-PCR 阳性率分别为 25%和 20%，ORSV 的 RT-PCR 阳性率均为 15%，而在

RT-qPCR 检测中，2 个批次 CymMV 阳性率分别为 100%和 91.67%，ORSV 阳性率分别为 50%和 25%，RT-qPCR 检测的阳性率均高于 RT-PCR，说明 RT-qPCR 检测的灵敏度高于 RT-PCR。

目前蝴蝶兰组培苗生产中，通常以花梗为外植体，经花梗腋芽诱导、丛生芽诱导与增殖、组培苗壮苗及生根培养批量获得蝴蝶兰组培苗^[7-8]。为了获得大量的蝴蝶兰组培苗，需要经过数轮继代增殖扩繁^[19]。本研究对组培生产线上相隔 10 个月的 2 个批次的蝴蝶兰组培苗进行 CymMV 和 ORSV 检测，RT-qPCR 分析结果显示，相比第 1 批次，第 2 批次 16 个品种 CymMV 含量减少，9 个品种 ORSV 含量减少。有研究表明，病毒浓度呈梯度变化，病毒粒子随植物组织的成熟而增加，旺盛生长的根尖、茎尖很少有病毒分布^[20-21]。因此，对茎尖分生组织进行培养有望获得脱毒组培苗^[22-23]。蝴蝶兰组培繁殖过程中，丛生芽诱导与增殖时，需要对蝴蝶兰除去芽体的叶片及基部组织，以促进丛生芽的快速诱导和生长^[8, 23]，该操

作虽不如茎尖培养能获得脱毒种苗,但随着丛生芽的快速生长,可能在一定程度上能降低病毒携带,这可能是本研究第 2 批次中大部分品种病毒含量下降的主要原因。

尽管大部分品种第 2 批次的病毒含量低于第 1 批次,但少数品种的病毒含量在第 2 批次明显增加,如蝴蝶兰 V3 2 个批次组培苗 ORSV 的 RT-PCR 检测均为阴性,第 1 批次组培苗 ORSV 的 RT-qPCR 检测为阴性,而第 2 批次 ORSV 病毒含量则上升至 8.50×10^5 copies/ μL ,这可能与品种生长特性和生产线上潜在的交互感染存在一定的关系^[24],应定期对生产线的组培苗进行病毒监测。

蝴蝶兰植株感染 CymMV 和 ORSV 后,植株和花朵会出现相应病症,直接影响观赏价值^[4]。与之不同,本研究中蝴蝶兰婚纱组培苗的 CymMV 病毒含量高达 8.93×10^{10} copies/ μL ,大财主组培苗的 ORSV 病毒含量可达 5.12×10^9 copies/ μL ,但这 2 个品种的组培苗形态正常,未表现出病症。由此可知,在组培生产线上较难通过组培苗形态来判断是否携带病毒,需定期对蝴蝶兰组培苗进行抽样检测。

参考文献

- [1] 朱根发. 蝴蝶兰种质资源及杂交育种进展[J]. 广东农业科学, 2015, 42(5): 31-38.
ZHU G F. Progress in germplasm resources and crossbreeding of *Phalaenopsis*[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2015, 42(5): 31-38. (in Chinese)
- [2] KHENTRYA Y, PARADORNWATA A, TANTIWIW-ATB S. Incidence of Cymbidium mosaic virus and Odontoglossum ringspot virus in *Dendrobium* spp, in Thailand[J]. Crop Protection, 2006, 25: 926-932.
- [3] 王海娟. 蝴蝶兰组培的研究进展[J]. 北京农业, 2011(30): 25-26.
WANG H J. Research progress on of tissue culture[J]. Beijing Agriculture, 2011(30): 25-26. (in Chinese)
- [4] 宋起萱, 浦艳飞, 余蓉培, 瞿素萍, 杨春梅, 吴丽芳, 汪国鲜, 阮继伟. 蝴蝶兰建兰花叶病毒和齿兰环斑病毒的实时荧光定量 PCR 检测[J]. 江苏农业科学, 2023, 51(15): 21-28.
SONG Q X, PU Y F, YU R P, QU S P, YANG C M, WU L F, WANG G X, RUAN J W. Real-time fluorescence quantitative PCR detection of Cymbidium mosaic virus and Odontoglossum ringspot virus in *Phalaenopsis*[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2023, 51(15): 21-28. (in Chinese)
- [5] 章淑玲, 陈美玲, 林谷园. 福建省蝴蝶兰侵染性病害的发生与防控[J]. 现代园艺, 2024, 47(14): 86-87, 93.
ZHANG S L, CHEN M L, LIN G Y. Occurrence and control of infectious diseases of *Phalaenopsis* in Fujian province[J]. Contemporary Horticulture, 2024, 47(14): 86-87, 93. (in Chinese)
- [6] 卜朝阳, 李炳橘. 蝴蝶兰组培快繁商品化生产经济效益分析[J]. 华中农业大学学报(社会科学版), 2007(1): 77-81.
BU C Y, LI B J. Economic profit analysis on *Phalaenopsis* commercial tissue culture micro-propagation[J]. Journal of Huazhong Agricultural University (Social Sciences Edition), 2007(1): 77-81. (in Chinese)
- [7] 卢娟. 蝴蝶兰花梗腋芽组织培养探究[J]. 南方农业, 2017, 11(9): 117-118.
LU J. Study on tissue culture of *Phalaenopsis* pedicel axillary bud[J]. South China Agriculture, 2017, 11(9): 117-118. (in Chinese)
- [8] 卢俊, 苏俊明, 崔永一. 蝴蝶兰‘V3’丛生芽途径快繁体系的构建[J/OL]. 分子植物育种, 2024: 1-12. (2024-11-18) [2025-09-08]. <https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20241115.1536.004>.
LU J, SU J M, CUI Y Y. Establishment of rapid propagation system with cluster shoot pathway of *Phalaenopsis* Sogo Yukidian‘V3’[J]. Molecular Plant Breeding, 2024: 1-12. (2024-11-18)[2025-09-08]. <https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20241115.1536.004>. (in Chinese)
- [9] 靖晶, 李军, 刘凤军, 瞿素萍, 杨春梅, 吴丽芳, 汪国鲜, 阮继伟. 建兰花叶病毒(CymMV)和齿兰环斑病毒 ORSV)的脱除研究[J]. 中国农学通报, 2021, 37(28): 115-120.
JING J, LI J, LIU F J, QU S P, YANG C M, WU L F, WANG G X, RUAN J W. Eradication of CymMV and ORSV from tissue culture of *Phalaenopsis aphrodite* with chemotherapy[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2021, 37(28): 115-120. (in Chinese)
- [10] 谈静, 张英杰, 郭文姣, 刘学庆. 外源激素对大花型红花蝴蝶兰组培增殖、促壮及生根的影响[J]. 分子植物育种, 2018, 16(3): 943-947.
TAN J, ZHANG Y J, GUO W J, LIU X Q. Influence of exogenous hormones on proliferation, seedling and rooting in tissue culture of *Phalaenopsis aphrodite* with large red flowers[J]. Molecular Plant Breeding, 2018, 16(3): 943-947. (in Chinese)
- [11] 赵伶俐, 范崇辉, 葛红. 黑暗预处理对蝴蝶兰组培中外植体褐化的影响[J]. 西北农业学报, 2006, 15(5): 248-250.
ZHAO L L, FAN C H, GE H. Effect of darkness pretreatment on browning of *Phalaenopsis* explants cultured *in vitro*[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2006, 15(5): 248-250. (in Chinese)
- [12] 丁兰, 郭艳, 董刚, 刘学庆. 国产蝴蝶兰种苗携带建兰花叶病毒(CymMV)和齿兰环斑病毒(ORSV)的调查及脱毒的初步研究[J]. 北方园艺, 2012(2): 137-140.

- DING L, GUO Y, DONG G, LIU X Q. Investigation and preliminary study of elimination of CymMV and ORSV from *Phalaenopsis* in China[J]. Northern Horticulture, 2012(2): 137-140. (in Chinese)
- [13] 肖火根, 郑冠标, 张曙光, 高乔婉. 广东兰花病毒病的鉴定和检测研究[J]. 华南农业大学学报, 1996, 17(1): 21-24.
- XIAO H G, ZHENG G B, ZHANG S G, GAO J W. Studies on the identification and detection of orchids viruses in Guangdong province[J]. Journal of South China Agricultural University, 1996, 17(1): 21-24. (in Chinese)
- [14] ALVAREEN N C D M. Simultaneous detection of Odontoglossum ringspot virus (ORSV) and Cymbidium mosaic virus (CymMV) infecting orchids in Meghalaya, India by multiplex RT-PCR[J]. South African Journal of Botany, 2022, 151: 774-780.
- [15] 李丽, 于翠, 黄卫昌, 倪子轶. 上海辰山植物园兰花病毒病调查[J]. 绿色科技, 2023, 25(23): 114-118.
- LI L, YU C, HUANG W C, NI Z Y. Investigation on orchid viral diseases in Shanghai Chenshan botanical garden[J]. Journal of Green Science and Technology, 2023, 25(23): 114-118. (in Chinese)
- [16] 孙爱青, 王丽花, 张艺萍, 杨秀梅, 许凤, 苏艳. TaqMan 探针双重实时荧光定量 PCR 法同步检测兰花中的建兰花叶病毒和齿兰环斑病毒[J]. 植物保护, 2024, 50(2): 219-227, 239.
- SUN A Q, WANG L H, ZHANG Y P, YANG X M, XU F, SU Y. Simultaneous detection of Cymbidium mosaic virus and Odontoglossum ringspot virus by TaqMan duplex real-time fluorescence quantitative PCR[J]. Plant Protection, 2024, 50(2): 219-227, 239. (in Chinese)
- [17] 孙爱青, 王丽花, 张艺萍, 杨秀梅, 苏艳, 吴学尉. 蝴蝶兰不同部位 CymMV 和 ORSV 同步检测及含量比较研究[J]. 植物病理学报, 2024, 54(3): 504-511.
- SUN A Q, WANG L H, ZHANG Y P, YANG X M, SU Y, WU X W. Simultaneous detection and comparison of Cymbidium mosaic virus and Odontoglossum ringspot virus levels in different parts of *Phalaenopsis aphrodite*[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2024, 54(3): 504-511. (in Chinese)
- [18] 郑平, 刘荣维, 刘擎, 顾渝青, 伍继成, 王韬. 两种主要兰花病毒的快速检测初报[J]. 热带作物学报, 1997, 18(2): 43-47.
- ZHENG P, LIU R W, LIU Q, GU Y Q, WU J C, WANG T. Rapid detection of two main orchid viruses[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 1997, 18(2): 43-47. (in Chinese)
- [19] 孙蕾, 邓春莉, 周胜芳, 任羽. 蝴蝶兰组培快繁研究进展[J]. 分子植物育种, 2025, 23(13): 4471-4477.
- SUN L, DENG C L, ZHOU S F, REN Y. Research progress on *Phalaenopsis* tissue culture and rapid propagation[J]. Molecular Plant Breeding, 2025, 23(13): 4471-4477. (in Chinese)
- [20] THOMPSON J R, WETZEL S, KLERKSB M M. Multiplex RT-PCR detection of four aphid-borne strawberry viruses in *Fragaria* spp. in combination with a plant mRNA specific internal control[J]. Journal of Virological Methods, 2003, 111(2): 85-93.
- [21] CONVERSE R H. Virus diseases of small fruits[M]. Washington: United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, 1987: 16-29.
- [22] 何应琴, 陈文龙, 周常勇, 李中安, 王雪峰, 李太盛. 果树病毒病传毒媒介及防控技术研究进展[J]. 天津农业科学, 2012, 18(6): 95-99.
- HE Y Q, CHEN W L, ZHOU C Y, LI Z A, WANG X F, LI T S. Research on the poison media of virus of fruit trees and control technology[J]. Tianjin Agricultural Sciences, 2012, 18(6): 95-99. (in Chinese)
- [23] NONGSIANG A, DIENGDOH R V, DAS M C. *In vitro* elimination of Cymbidium mosaic virus (CymMV) and Odontoglossum ring spot virus (ORSV) from *Cymbidium* orchid[J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2025, 136: 102551.
- [24] 刘钰, 周胜芳, 夏豫川, 任羽. 蝴蝶兰外植体(花梗)消毒效果试验研究[J]. 西北园艺, 2023(1): 48-51.
- LIU Y, ZHOU S F, XIA Y C, REN Y. Experimental study on disinfection effect of *Phalaenopsis* explant (pedicel)[J]. Northwest Horticulture, 2023(1): 48-51. (in Chinese)