

网络出版时间:2012-08-15 10:49

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20120815.1049.004.html>

# 烈香杜鹃嫩茎腋芽丛生芽诱导和植株再生

顾地周, 陆爽, 巴春影, 李媛媛

(通化师范学院 生物系, 吉林 通化 134002)

**[摘要]** **【目的】**建立烈香杜鹃嫩茎段腋芽丛生芽诱导和植株再生体系,为烈香杜鹃工厂化育苗奠定技术基础。**【方法】**以烈香杜鹃嫩茎为外植体,应用均匀设计法对影响烈香杜鹃腋芽丛生芽诱导和生根的各主要植物生长调节剂及其水平的作用进行探讨。**【结果】**适宜的烈香杜鹃嫩茎段腋芽丛生芽诱导培养基为:1/2 DR+TDZ 2.80 mg/L+IAA 0.01 mg/L+GA<sub>3</sub> 1.85 mg/L,诱导率为99.8%;生根培养基为:1/2 DR+IAA 0.07 mg/L+NAA 0.02 mg/L,生根率达99.7%。在生根培养基中添加GA<sub>3</sub> 2.00 mg/L,再生植株茎节在35 d的培养周期内,每段增殖倍数均达5以上,植株再生率为97.0%。再生植株炼苗移培后成活率达95.0%以上。**【结论】**建立了烈香杜鹃嫩茎段腋芽丛生芽植株再生体系。

**[关键词]** 烈香杜鹃;腋芽丛生芽;植株再生;均匀设计

**[中图分类号]** Q813.1

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-9387(2012)09-0209-06

## Axillary multiple shoots induction from the young stems and plantlet regeneration of *Rhododendron anthopogonoides* Maxim.

GU Di-zhou, LU Shuang, BA Chun-ying, LI Yuan-yuan

(Department of Biology, Tonghua Normal University, Tonghua, Jilin 134002, China)

**Abstract:** **【Objective】** The study was to establish the axillary multiple shoots induction from the young stems and plantlet regeneration system of *Rhododendron anthopogonoides*, which could establish a technological foundation for factory seedlings of *R. anthopogonoides*. **【Method】** The young stems of *R. anthopogonoides* were used as explants, and the main plant growth regulators with different levels of the axillary multiple shoots induction from the young stems and shoots rooting were investigated through uniform design experiments. **【Result】** The results showed that 1/2 DR+TDZ 2.80 mg/L+IAA 0.01 mg/L+GA<sub>3</sub> 1.85 mg/L was fit for the axillary multiple shoots induction, the rate of induction was 99.8%; 1/2 DR+IAA 0.07 mg/L+NAA 0.02 mg/L for rooting, the rate of rooting was 99.7%. The gibberellin(GA<sub>3</sub>) 2.00 mg/L was added in the rooting medium. Stems of regenerated shoots were cultured, and a 5-fold proliferation rate was achieved within 35 days, the rate of plantlet regeneration was 97.0%. The survival rate of regenerated plants was more than 95.0%. **【Conclusion】** The axillary multiple shoots induction from the young stems and plantlet regeneration system of *R. anthopogonoides* have been successfully established.

**Key words:** *Rhododendron anthopogonoides* Maxim.; axillary multiple shoots; plantlet regeneration; uniform design

烈香杜鹃 (*Rhododendron anthopogonoides* Maxim.) 又名小叶枇杷、白香柴、黄花杜鹃, 为杜鹃

**[收稿日期]** 2012-02-16

**[基金项目]** 吉林省科技厅资助项目(200705C05)

**[作者简介]** 顾地周(1973—), 男, 吉林通化人, 讲师, 主要从事珍稀濒危植物和药用植物研究。E-mail: gudizhou@163.com

花科杜鹃花属常绿灌木,主要分布于甘肃、青海及四川等地的高山坡、山地林下和灌木丛中。烈香杜鹃具有清热解毒、止咳平喘、健胃消肿等功效。另外,烈香杜鹃还是优良的、有待研究开发的园艺观赏植物,属高山杜鹃,是杜鹃育种的重要种质资源。目前,关于烈香杜鹃的研究大多集中在化学成分和生药等方面<sup>[1-6]</sup>,而有关种苗繁殖和引种栽培研究极少。曹文侠等<sup>[7]</sup>对野生烈香杜鹃进行了直接移植研究,结果表明,不适反应出现较迟,最终难以维持其继续正常生长,10 余天后新芽枯死;那林香<sup>[8]</sup>对野生杜鹃苗移栽也出现同样问题,野生苗移栽成活率为 37.5%,且死亡率逐年增加;2008 年,崔现亮等<sup>[9]</sup>报道,烈香杜鹃种子萌发率仅 20%~40%。以上研究说明,野生杜鹃苗的移植成活率和种子萌发率较低,应用于种苗生产具有可操作性差、成苗率低等缺点,造成烈香杜鹃的开发利用受到极大限制。杜鹃花属其他种植物的离体培养研究已有报道<sup>[10-13]</sup>,但关于烈香杜鹃离体培养和植株再生的研究在国内外尚未见报道。为此,本研究利用植物组织培养方法,以烈香杜鹃嫩茎段为材料,通过诱导嫩茎段形成丛生芽的方式进行离体培养,以建立一步成苗技术,提高增殖系数,为烈香杜鹃工厂化育苗奠定技术基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 外植体材料的来源与处理

烈香杜鹃枝条采自甘肃兰州兴隆山,将枝条茎尖剪除后在实验室内水培促其叶腋休眠芽萌发。待休眠芽萌发生至 2.00 cm 后将嫩枝剪下,在超净工作台上用体积分数 75%酒精涮洗 8 s,再用 50 g/L 次氯酸钙溶液浸泡 15 min,无菌水冲洗 8 次,无菌滤纸吸干表面水分后待接种。

### 1.2 烈香杜鹃嫩茎腋芽丛生芽的诱导

预试验结果表明,以各处理的腋芽丛生芽诱导率大于 65.0%、且在 35 d 的培养周期内每个嫩茎段腋芽诱导产生的芽苗数不低于 15 为准( $P < 0.05$ ),确定 3 种植物生长调节剂的适宜质量浓度分别为噻重氮苯基脲(TDZ) 1.80~2.50 mg/L、吲哚乙酸(IAA) 0.03~0.06 mg/L 和赤霉素( $GA_3$ ) 1.30~1.80 mg/L。在此基础上,以 DR 为基本培养基<sup>[14]</sup>,将嫩枝切割成茎段接种到培养基 1/4 DR+IAA 0.20 mg/L+ $GA_3$  2.50 mg/L 中,在试管内进行腋芽诱导和伸长生长培养,培养条件为温度 26℃、光照强度 1 300 lx、光照周期 12 h/d,待腋芽长至 1.50 cm 时切下并切割成段,转接到附加不同质量浓度的

TDZ、IAA 和  $GA_3$  的 1/2 DR 培养基中进行嫩茎段腋芽丛生芽诱导培养。在 1/2 DR 培养基中加入蔗糖 20 g/L、琼脂粉 6.5 g/L,调节 pH 值为 5.8,嫩茎段在温度( $25 \pm 2$ )℃、光照强度 1 000 lx、光照周期 12 h/d 条件下培养。烈香杜鹃嫩茎段腋芽丛生芽诱导研究采用均匀设计法<sup>[15]</sup>,选用  $U_{12}(12^3)$  均匀表,每个处理接种嫩茎段数为 10,重复 3 次,取诱导率的平均值,筛选诱导烈香杜鹃嫩茎段腋芽丛生芽的 TDZ、IAA 和  $GA_3$  适宜质量浓度配比。嫩茎段培养 35 d 时统计诱导率。诱导率=诱导产生腋芽丛生芽的茎段数/接种茎段总数 $\times 100\%$ 。

### 1.3 烈香杜鹃丛生芽苗的生根、植株再生和炼苗移栽

待腋芽长至 2.00 cm 时切下,转接到附加不同质量浓度的 IAA、吲哚丁酸(IBA)和萘乙酸(NAA)(以各处理接种的再生芽苗生根率大于 65.0%、每个芽苗生根数多于 3 条为准( $P < 0.05$ )),由此确定各植物生长调节剂的质量浓度分别为 IAA 0.10~0.16 mg/L、IBA 0.08~0.10 mg/L 和 NAA 0.04~0.06 mg/L)的 1/2 DR 培养基中进行生根培养。在 1/2 DR 培养基中加入蔗糖 5 g/L、琼脂粉 6.8 g/L,调节 pH 值为 5.8,再生芽苗在温度( $23 \pm 2$ )℃、光照强度 1 000 lx、光照周期 10 h/d 条件下培养。为了提高烈香杜鹃再生芽苗的生根速度和生根率,选用  $U_{12}(12^3)$  均匀表,每个处理接种再生芽苗数为 10,重复 3 次,取生根率的平均值,筛选最适合烈香杜鹃再生芽苗生根的 IAA、IBA 和 NAA 质量浓度配比。再生芽苗培养 30 d 时统计生根率。生根率=已生根的芽苗数/接种用于生根的芽苗总数 $\times 100\%$ 。

采取切割再生植株茎段方式对烈香杜鹃进行快繁<sup>[16-17]</sup>,待生根的苗高达 3.50 cm 以上时,在超净工作台上打开培养瓶,将生根的苗留 1 或 2 叶剪下苗干,并切割成 1 叶 1 段转接到附加  $GA_3$  2.00 mg/L 的生根培养基中,进行腋芽萌发伸长和生根培养,统计并计算每瓶中每段茎节在 35 d 培养周期内的增殖倍数。

待再生植株生出 5~7 条不定根且根长伸长至 1.00 cm、苗高达 3.00 cm 左右后,从培养瓶中取出再生植株,在 10 mg/L 高锰酸钾溶液中洗去根部残留的琼脂,然后植入经 200 倍杀毒矾消毒过的草炭土、河砂和腐烂松针(体积比 3:1:2)的混合基质中,用透光好的塑料薄膜覆盖以保湿保温,相对湿度保持在 75%,温度控制在( $24 \pm 2$ )℃,每天自然光照

13 h,每天中午适当通风换气,每天早晚喷洒清水各 1 次。

1.4 数据处理与分析

试验数据分析与处理应用均匀设计软件(Uniform Design 3.0V)进行。

2 结果与分析

2.1 TDZ、IAA 和 GA<sub>3</sub> 不同质量浓度配比对烈香杜鹃嫩茎腋芽丛生芽苗诱导的影响

由表 1 试验结果可得回归方程  $Y=4.40+30.1X_1-193X_2+13.1X_3$ , 样本容量  $N=12$ , 显著性水平  $\alpha=0.05$ , 经计算, 复相关系数  $R^2=0.983\ 9$ , 剩余标准差  $s=1.90$ , 检验值  $F_t=80.90$ , 临界值  $F_{(0.05,3,8)}=4.066$ ,  $F_t>F_{(0.05,3,8)}$ , 表明回归方程显著。由回归方程可知, TDZ、IAA 和 GA<sub>3</sub> 对烈香杜鹃嫩茎腋芽丛生芽的诱导率均有显著影响, 三者最佳质量浓度分别为 2.50、0.03 和 1.80 mg/L, 并计算出诱导率的最优解析解为 97.5%, 需按公式  $Y=y\pm u_\alpha\cdot s$  (其中  $u_\alpha$  为正态分布的双侧分位数,  $s$  为剩余标准差) 计算出优化值估计区间为 93.13%~101.87%。因 TDZ 和 GA<sub>3</sub> 均与诱导率呈正相关,

IAA 与诱导率呈负相关。推测 TDZ 和 GA<sub>3</sub> 质量浓度分别高于 2.50 和 1.80 mg/L, IAA 低于 0.03 mg/L 时, 诱导率更高。为验证此推断, 另设 TDZ 质量浓度为 2.50~3.00 mg/L, IAA 为 0.00~0.03 mg/L, GA<sub>3</sub> 为 1.80~2.00 mg/L, 做了 12 个水平的补充试验。根据 1.2 中的方法, 将烈香杜鹃嫩枝切割成 1 叶 1 段接种到培养基 1/4 DR+IAA 0.20 mg/L+GA<sub>3</sub> 2.50 mg/L 中, 在试管内进行腋芽萌发生长和伸长培养, 待腋芽在培养瓶中长至 1.50 cm 时切下(图 1a), 并切割成段, 转接到添加不同质量浓度 TDZ、IAA 和 GA<sub>3</sub> 的 1/2 DR 培养基中。结果表明, 嫩茎段培养 6 d 腋芽处开始膨胀, 培养至 18 d, 腋芽膨胀部位的表面产生颗粒状小凸起, 25 d 后颗粒状小凸起逐渐转变为锥状, 继续培养至 35 d, 锥状颗粒逐渐生长并伸长为不定芽形成丛生芽团(图 1b), 45 d 后可产生大量不定芽且长度可达 2.50 cm 以上(图 1c)。试验结果表明, TDZ 质量浓度为 2.80 mg/L、IAA 为 0.01 mg/L、GA<sub>3</sub> 为 1.85 mg/L 时, 丛生芽苗诱导率最高, 诱导率达 99.8%, 均高于表 1 中 12 个处理的诱导率, 且在估计区间内。

表 1 影响烈香杜鹃嫩茎腋芽丛生芽诱导主要因素的 U<sub>12</sub>(12<sup>3</sup>) 均匀设计试验与结果

| 处理号<br>Treatment code | 因素/(mg·L <sup>-1</sup> ) Factors |                       |                                   | 诱导率 Y/%<br>Rate of induction |
|-----------------------|----------------------------------|-----------------------|-----------------------------------|------------------------------|
|                       | TDZ<br>X <sub>1</sub>            | IAA<br>X <sub>2</sub> | GA <sub>3</sub><br>X <sub>3</sub> |                              |
| 1                     | 1.80                             | 0.05                  | 1.50                              | 69.0                         |
| 2                     | 1.90                             | 0.06                  | 1.80                              | 75.2                         |
| 3                     | 2.00                             | 0.06                  | 1.60                              | 72.4                         |
| 4                     | 2.10                             | 0.05                  | 1.30                              | 75.7                         |
| 5                     | 2.20                             | 0.06                  | 1.40                              | 77.4                         |
| 6                     | 2.30                             | 0.04                  | 1.70                              | 83.9                         |
| 7                     | 2.40                             | 0.05                  | 1.70                              | 90.8                         |
| 8                     | 2.50                             | 0.03                  | 1.40                              | 92.5                         |
| 9                     | 2.20                             | 0.04                  | 1.30                              | 79.8                         |
| 10                    | 2.30                             | 0.03                  | 1.60                              | 89.6                         |
| 11                    | 2.40                             | 0.03                  | 1.80                              | 95.6                         |
| 12                    | 2.50                             | 0.04                  | 1.50                              | 92.1                         |

2.2 IAA、IBA 和 NAA 不同质量浓度配比对烈香杜鹃再生芽苗生根的影响

对表 2 中试验数据经分析处理后可得回归方程  $Y=139-290X_1-429X_3$ , 样本容量  $N=12$ , 显著性水平  $\alpha=0.05$ , 经计算, 复相关系数  $R^2=0.912\ 4$ , 剩余标准差  $s=3.31$ , 检验值  $F_t=22.36$ , 临界值  $F_{(0.05,2,9)}=4.256$ ,  $F_t>F_{(0.05,2,9)}$ , 表明回归方程显著。根据回归方程获知, IAA 和 NAA 对烈香杜鹃再生芽苗生根率均有显著影响, 二者最佳质量浓度

分别为 0.10 和 0.04 mg/L, 以此组合计算最优解析解为 92.8%, 计算得优化值估计区间为 85.31%~100.29%。因 IAA 和 NAA 均与生根率呈负相关, 推测 IAA 和 NAA 质量浓度分别低于 0.10 和 0.04 mg/L 时, 生根率可能会更高。为验证此推断, 另设 IAA 质量浓度为 0.00~0.10 mg/L、NAA 为 0.00~0.04 mg/L, 做了 11 个水平的补充试验。按 2.1 中方法诱导的再生芽苗长至 2.00 cm 左右时, 将生长健壮的芽苗从芽团上切下, 转接到附加不同质量浓

度 IAA 和 NAA 的 1/2 DR 培养基中,培养 10 d 后芽苗基部切口处产生微小锥状颗粒,培养 18 d 后锥状颗粒逐渐转变为白色的根锥,培养至 28 d 根锥伸长为不定根,35 d 后可形成 7 条以上含有大量侧根

的不定根(图 1d)。试验结果表明,IAA 和 NAA 质量浓度分别为 0.07 和 0.02 mg/L 时,生根率最高,达99.7%,在估计区间内,且比表 2 中所列 12 个处理的生根率均高。

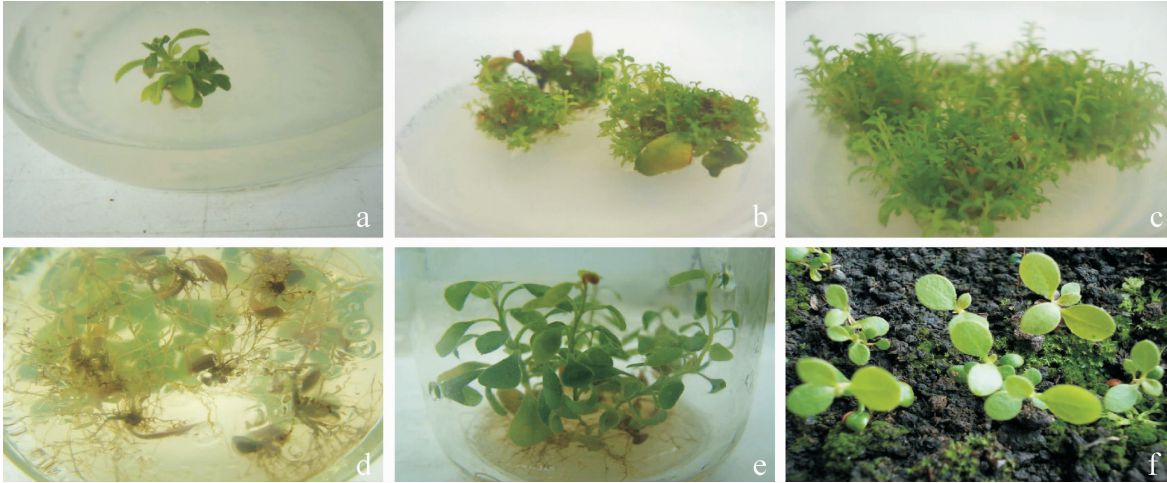


图 1 烈香杜鹃嫩茎丛生芽诱导和植株再生各阶段的形态

a. 嫩枝段腋芽再次萌发生长培养;b,c. 腋芽丛生芽苗诱导培养;d,e. 再生芽苗生根和快繁;f. 移栽

Fig. 1 Morphostructure of the axillary multiple shoots induction from the young stems and plantlet regeneration of *R. anthopogonoides* in different stages

a. Germination *in vitro* and shoot growth culture again of axillary buds from tender branch;b,c. Induction culture of cluster buds from the axillary buds;d,e. Rooting culture and micropropagation;f. Transplantation of seedlings

表 2 影响烈香杜鹃再生芽苗生根因素的  $U_{12}(12^3)$  均匀设计试验与结果

Table 2  $U_{12}(12^3)$  uniform design test and result of influence factors for rooting of regeneration shoots of *R. anthopogonoides*

| 处理号<br>Treatment code | 因素/(mg · L <sup>-1</sup> ) Factors |                       |                       | 生根率 Y/%<br>Rate of rooting |
|-----------------------|------------------------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------------|
|                       | IAA<br>X <sub>1</sub>              | IBA<br>X <sub>2</sub> | NAA<br>X <sub>3</sub> |                            |
| 1                     | 0.10                               | 0.08                  | 0.04                  | 91.1                       |
| 2                     | 0.11                               | 0.10                  | 0.04                  | 90.5                       |
| 3                     | 0.12                               | 0.09                  | 0.06                  | 80.0                       |
| 4                     | 0.13                               | 0.09                  | 0.06                  | 77.6                       |
| 5                     | 0.14                               | 0.10                  | 0.05                  | 78.6                       |
| 6                     | 0.15                               | 0.08                  | 0.05                  | 70.0                       |
| 7                     | 0.16                               | 0.10                  | 0.05                  | 73.9                       |
| 8                     | 0.12                               | 0.10                  | 0.05                  | 84.0                       |
| 9                     | 0.13                               | 0.09                  | 0.06                  | 77.6                       |
| 10                    | 0.14                               | 0.09                  | 0.06                  | 66.2                       |
| 11                    | 0.15                               | 0.08                  | 0.04                  | 75.8                       |
| 12                    | 0.16                               | 0.08                  | 0.04                  | 78.3                       |

2.3 烈香杜鹃植株再生和炼苗移栽

按照 1.3 中的方法,在改良的生根培养基(1/2 DR+IAA 0.07 mg/L+NAA 0.02 mg/L+GA<sub>3</sub> 2.00 mg/L)上培养 35 d 后发现,烈香杜鹃每节段平均增殖 5 倍以上( $P<0.05$ ),苗高可达 4.00 cm (图 1e),植株再生率达 97.0%。

待芽苗生根并长至 3.00 cm 以上时进行移栽炼苗,烈香杜鹃再生植株经过炼苗后,15 d 可揭去薄

膜,成活率达 95.0%以上(图 1f)。

3 结论与讨论

本研究成功诱导并建立了烈香杜鹃嫩茎段腋芽丛生芽植株再生体系。培养基 1/2 DR+TDZ 2.80 mg/L+IAA 0.01 mg/L+GA<sub>3</sub> 1.85 mg/L 对烈香杜鹃嫩茎腋芽丛生芽的诱导效果最好,TDZ 质量浓度低于 1.80 mg/L 和高于 2.80 mg/L 时嫩茎腋芽

丛生芽诱导率均低于 55.0%,说明烈香杜鹃嫩茎腋芽丛生芽苗需要适宜质量浓度的 TDZ,低质量浓度的 TDZ 对其诱导率低,而过高质量浓度的 TDZ 不利于嫩茎腋芽丛生芽苗的诱导。由预试验和本试验结果可知,适宜质量浓度的 IAA 有利于芽苗的迅速生长。于再生芽苗诱导培养基中添加适当质量浓度的  $GA_3$  (1.85 mg/L),有利于加快嫩茎腋芽丛生芽苗的诱导速度和提高再生芽苗的诱导率。在添加 IAA 0.07 mg/L 和 NAA 0.02 mg/L 的 1/2 DR 培养基中对烈香杜鹃再生芽苗进行生根培养,结果表明,生根速度快,平均生根率高达 99.7%。烈香杜鹃再生芽苗生根需要 2 种生长素才能达到显著生根效果,但 2 种生长素需要适当的配比,当 IAA 和 NAA 质量浓度较低时,再生芽苗生根率较低,不足 45.0%;2 种生长素质量浓度较高时,再生芽苗基部膨胀并产生愈伤组织,继续培养根会从愈伤组织上产生,但在炼苗移栽时,根容易随愈伤组织从苗基部脱落,成活率极低。这与 Danielle 等<sup>[18]</sup>的研究结果一致,原因可能是根与苗茎的输导组织连接错位所致。快繁采取切割再生植株茎段增殖的方式,在生根培养基中附加 2.00 mg/L 的  $GA_3$  有助于腋芽快速萌发和生长<sup>[19]</sup>,有利于缩短生长周期,提高增殖倍数,王雯雯等<sup>[20]</sup>在大字杜鹃的快繁研究中也得到了相同结果。

在烈香杜鹃嫩茎腋芽丛生芽诱导过程中,通过对 TDZ、IAA 和  $GA_3$  的作用进行显著性检验可知,TDZ、IAA 和  $GA_3$  均对诱导率影响显著。经计算,TDZ、IAA 和  $GA_3$  对回归的贡献率分别为 32.3%,3.44%和 6.90%,表明 TDZ 对腋芽丛生芽诱导率的贡献大于 IAA 和  $GA_3$ ,说明 TDZ 对烈香杜鹃腋芽丛生芽的诱导起主导作用,烈香杜鹃腋芽的增殖主要依赖于 TDZ 的细胞分裂和分化作用,IAA 和  $GA_3$  分别促进了再生芽苗的萌发伸长和生长。在烈香杜鹃嫩茎段生根过程中,通过检验 IAA、IBA 和 NAA 的显著性可知,IAA 和 NAA 对生根率影响显著,而 IBA 对生根率影响不显著。经计算,IAA 和 NAA 对回归的贡献率分别为 70.0%和 30.0%,表明 IAA 对再生芽苗生根率的贡献大于 NAA。可见,烈香杜鹃试管苗生根对生长素具有选择性,生根需要的 2 种适宜质量浓度配比的生长素配合才能达到最佳生根效果,其中 IAA 在生根中起主导地位。同时也说明了植物器官的发生发育对不同植物生长调节物质具有不同程度的选择性<sup>[21]</sup>,这可能是由植物自身的基因型控制的,而基因型不同

又决定了细胞分化和器官重建所依赖的植物生长调节物质的种类及其质量浓度有所不同。

目前,国外有许多野生杜鹃优良品种已通过人工繁殖驯化为栽培种。我国野生杜鹃品种众多,但人工繁殖并开发利用的极少。烈香杜鹃是我国珍贵的野生药用和园艺观赏植物资源,至今未得到大规模栽培和推广应用。本研究结果将为烈香杜鹃和其他野生优良杜鹃品种的开发利用和工厂化育苗奠定基础 and 提供方法。

## [参考文献]

- [1] 张继,马君义,杨永利,等.烈香杜鹃挥发性成分的分析研究[J].中草药,2003,34(4):304-305.  
Zhang J, Ma J Y, Yang Y L, et al. The analysis and research on the volatile constituents of *Rhododendron anthopogonoides* Maxim. [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2003, 34(4):304-305. (in Chinese)
- [2] 戴胜军,陈若芸,于德泉.烈香杜鹃中的黄酮类成分研究[J].中国中药杂志,2004,28(1):44-47.  
Dai S J, Chen R Y, Yu D Q. Studies on the flavonoid compounds of *Rhododendron anthopogonoides* [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2004, 28(1):44-47. (in Chinese)
- [3] 胡浩斌,郑尚珍,黄彬弟,等.烈香杜鹃挥发油的化学成分[J].兰州医学院学报,2004,30(3):31-33.  
Hu H B, Zheng S Z, Huang B D, et al. The chemical constituents of the volatile oil of *Rhododendron anthopogonoides* Maxim. [J]. Journal of Lanzhou Medical College, 2004, 30(3):31-33. (in Chinese)
- [4] 李维卫,胡凤祖,师治贤.藏药材烈香杜鹃挥发油化学成分的研究[J].云南大学学报:自然科学版,2004,26(6A):48-51.  
Li W W, Hu F Z, Shi Z X. Study on the chemical compounds in the volatile oils of the tibetan medicine *Rhododendron anthopogonoides* Maxim. [J]. Journal of Yunnan University: Natural Sciences, 2004, 26(6A):48-51. (in Chinese)
- [5] 戴胜军,于德泉.烈香杜鹃中的三萜类化合物[J].中国天然药物,2005,3(6):347-349.  
Dai S J, Yu D Q. Triterpenoids of *Rhododendron anthopogonoides* Maxim. [J]. Chinese Journal of Natural Medicines, 2005, 3(6):347-349. (in Chinese)
- [6] 张莉,袁永生.高效液相色谱法测定烈香杜鹃油滴丸中苯基丙酮含量[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(10):86-88.  
Zhang L, Yuan Y S. HPLC determination of Benzyl Acetone in *Rhododendron anthopogonoides* volatile oils pills [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2010, 16(10):86-88. (in Chinese)
- [7] 曹文侠,张德罡,胡自治.4种高寒杜鹃对跨海拔梯度移栽的生态适应性[J].甘肃农业大学学报,2004,39(1):42-44.  
Cao W X, Zhang D G, Hu Z Z. Ecological adaptability of four alpine species of the genus *Rhododendron* transplanted from higher to lower altitude [J]. Journal of Gansu Agricultural U-

- niversity, 2004, 39(1): 42-44. (in Chinese)
- [8] 那林香. 青海几种野生杜鹃花引种方法初探 [J]. 吉林农业, 2010(7): 116-117.  
Na L X. An exploration of introduction method on several wild *Rhododendron* in Qinghai [J]. Jilin Agriculture, 2010(7): 116-117. (in Chinese)
- [9] 崔现亮, 王桔红, 齐威, 等. 青藏高原东缘灌木种子的萌发特性 [J]. 生态学报, 2008, 28(11): 5295-5303.  
Cui X L, Wang J H, Qi W, et al. Seed germination characteristics of shrub species from the eastern Qinghai-Tibet Plateau [J]. Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(11): 5295-5303. (in Chinese)
- [10] 汤桂钧, 张建安, 蒋建平, 等. 高山杜鹃的组织培养快速繁殖技术研究 [J]. 上海农业学报, 2004, 20(3): 15-18.  
Tang G J, Zhang J A, Jiang J P, et al. Study on rapid propagation of *Rhododendron lapponicum* [J]. Acta Agriculturae Shanghai, 2004, 20(3): 15-18. (in Chinese)
- [11] 顾地周, 邓志刚, 綦茂伟, 等. 苞叶杜鹃离体培养及种质试管保存体系的建立 [J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2009, 33(3): 20-24.  
Gu D Z, Deng Z G, Qi M W, et al. *In vitro* culture and *in vitro* germplasm preservation system of *Rhododendron redowskianum* Maxim. [J]. Journal of Nanjing Forestry University: Natural Sciences Edition, 2009, 33(3): 20-24. (in Chinese)
- [12] 顾地周, 张琪, 朱俊义. 小叶杜鹃的离体快繁体系建立及种质试管的保存 [J]. 东北林业大学学报, 2009, 37(10): 26-28.  
Gu D Z, Zhang Q, Zhu J Y. Establishment of plantlet rapid propagation system and *in vitro* germplasm conservation of *Rhododendron parvifolium* [J]. Journal of Northeast Forestry University, 2009, 37(10): 26-28. (in Chinese)
- [13] 顾地周, 高捍东, 郭玉昕, 等. 毛毡杜鹃离体培养及种质试管保存体系的建立 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2009, 37(4): 151-157.  
Gu D Z, Gao H D, Guo Y X, et al. *In vitro* culture and germplasm preservation *in vitro* system of *Rhododendron confertissimum* Nakai. [J]. Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition, 2009, 37(4): 151-157. (in Chinese)
- [14] 董春枝, 郑开文, 潘季淑. 三种杜鹃花的茎尖快速繁殖 [J]. 植物生理学通讯, 1988, 23(2): 55.  
Dong C Z, Zheng K W, Pan J S. Rapid propagation of three species of *Rhododendron stem* tips [J]. Plant Physiology Communications, 1988, 23(2): 55. (in Chinese)
- [15] 顾地周, 朱俊义, 冯颖, 等. 草莓试管内诱导匍匐茎和高温处理结合茎尖培养脱毒技术研究 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2010, 38(11): 89-94.  
Gu D Z, Zhu J Y, Feng Y, et al. Technology for stolon seedling *in vitro* of strawberry and virus eradication by combining the high temperature treatment with shoot tip culture [J]. Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition, 2010, 38(11): 89-94. (in Chinese)
- [16] 顾地周, 丛小力, 姜云天, 等. 色木槭的组织培养与快速繁殖 [J]. 植物生理学通讯, 2008, 44(2): 314.  
Gu D Z, Cong X L, Jiang Y T, et al. Tissue culture and rapid propagation of *Acer mono* Maxim. [J]. Plant Physiology Communications, 2008, 44(2): 314. (in Chinese)
- [17] 顾地周, 丛小力, 宋利丽, 等. 木通马兜铃的组织培养和快速繁殖 [J]. 植物生理学通讯, 2008, 44(1): 136.  
Gu D Z, Cong X L, Song L L, et al. Tissue culture and rapid propagation of *Aristolochia manshuriensis* Kom. [J]. Plant Physiology Communications, 2008, 44(1): 136. (in Chinese)
- [18] Danielle J D, William E V, Kwai Y L. The anatomy of tissue cultured red raspberry prior to and after transfer to soil [J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 1985(1): 43-50.
- [19] 李合生. 现代植物生理学 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2002.  
Li H S. The modern plant physiology [M]. Beijing: Higher Education Press, 2002. (in Chinese)
- [20] 王雯雯, 马秋月, 朱俊义, 等. 大字杜鹃离体快繁体系建立及种质试管保存研究 [J]. 植物研究, 2009, 29(2): 198-203.  
Wang W W, Ma Q Y, Zhu J Y, et al. *In vitro* rapid propagation system and *in vitro* germplasm preservation of *Rhododendron schlippenbachii* Maxim. [J]. Bulletin of Botanical Research, 2009, 29(2): 198-203. (in Chinese)
- [21] 高新一, 王玉英. 植物无性繁殖实用技术 [M]. 北京: 金盾出版社, 2003.  
Gao X Y, Wang Y Y. Technology of plant asexual reproduction [M]. Beijing: Shield Press, 2003. (in Chinese)