

杜鹃花属植物育种研究进展

兰 熙^{1,2,3}, 张乐华², 张金政¹, 崔洪霞¹, 姜闯道¹, 石 雷^{1,*}

(¹中国科学院植物研究所, 北京 100093; ²江西省中国科学院庐山植物园, 江西庐山 332900; ³中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘 要: 综述了杜鹃花属植物的种质资源状况、育种过程中的性状改良以及现代育种技术的应用。杂交育种仍是杜鹃花育种的主要方法, 分子育种是今后研究方向和热点。

关键词: 杜鹃花; 育种; 杂交; 基因工程; 研究进展

中图分类号: S 685.21

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2012) 09-1829-10

Research Progress of *Rhododendron* Breeding

LAN Xi^{1,2,3}, ZHANG Le-hua², ZHANG Jin-zheng¹, CUI Hong-xia¹, JIANG Chuang-dao¹, and SHI Lei^{1,*}

(¹Institute of Botany, the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China; ²Lushan Botanical Garden, Jiangxi Province, the Chinese Academy of Sciences, Lushan, Jiangxi 332900, China; ³Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: This article has summarized *Rhododendron* germplasm resources and research progress on breeding objectives of *Rhododendron* around the world, involved in colour, florescence, fragrance, resistance. In the end, the development of breeding techniques, especially cross and genetic engineering, is reviewed. Crossbreeding is still the key method for *Rhododendron* breeding and molecular biology will be highlighted in the future.

Key words: *Rhododendron*; breeding; cross; genetic engineering; research progress

杜鹃花是杜鹃花科 (Ericaceae) 杜鹃花属 (*Rhododendron*) 植物的总称, 不仅极具观赏价值, 有的种还可供食用、药用和提取精油、鞣质等 (Yoshihisa et al., 1962; Doss et al., 1986; Prakash et al., 2007), 黄杜鹃还可作为植物杀虫剂用于林业保护 (Klocke et al., 1991)。

比利时年产杜鹃花近 7.5 亿株, 丹麦近 7 亿株, 德国 3.7 亿株, 在英国杜鹃花早已进入规模化生产 (朱春艳 等, 2007)。近年来杜鹃花也已成为中国节日活动布置和年宵花的主要花卉之一。据统计, 中国年产杜鹃 3 亿多株, 种植面积约 2 200 hm², 总产值已达 3.5 亿元 (朱春艳, 2008)。目前, 国际上无论在宏观领域还是微观领域对杜鹃花都有比较深入的研究, 在新品种的选育上成效显著, 比利时、美国、英国、日本、德国等培育了大量极具商品性的品种 (Wasson & Rodd, 2004)。近年来在中国, 杜鹃花的育种工作也日渐引起重视 (张长芹和罗吉凤, 2002; 张长芹 等, 2002; 刘晓青 等, 2011)。

收稿日期: 2012-07-13; 修回日期: 2012-08-07

基金项目: 国家科技支撑计划项目 (2012BAC01B05); 云南省科技计划重大项目; 中国科学院知识创新工程重要方向项目 (KSCX2-EW-B-5); 战略生物资源技术支撑体系专项 (CZBZX-1); 中国科学院地合作局项目

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: shilei67@263.net; Tel: 01062836270)

1 种质资源

杜鹃花属是杜鹃花科中最大的家族。1949 年 Sleumer (1949) 通过综合杜鹃花类群分类系统的概念, 将全世界杜鹃花分成 8 个亚属及亚属下的组、亚组。杜鹃花资源极为丰富, 世界约有 960 种, 广泛分布于亚洲、欧洲、北美洲, 主产东亚和东南亚, 形成本属的两个分布中心。中国约 542 种 (不包括种下等级), 除新疆、宁夏外, 各地均有, 但集中产于西南和华南地区 (郑维列 等, 1995; 中国植物志, 1999)。杜鹃在地理分布上, 最北可达北纬 65° 的北极区内, 南界为越过赤道的昆士兰, 约南纬 20° (方瑞征和闵天禄, 1995); 在垂直分布上, 大部分种类分布在海拔 1 000 ~ 3 800 m 的亚热带山地常绿阔叶林、针阔叶混交林、针叶林或暗针叶林中; 海拔 1 000 m 以下, 杜鹃花也多见分布, 但种类较少 (黄茂如, 1998)。复杂的地理环境和气候条件, 造就了杜鹃花生态类型的多样性, 主要有高山垫状灌木型、高山湿生灌木型、旱生灌木型、亚热带山地长绿乔木型、附生灌木型等。近年来, 很多珍贵的野生种由于气候变化、森林开采、人类活动等原因而面临濒危 (Singh et al., 2009)。为此, 濒危种质资源的系统发育、遗传规律等研究受到重视, 基于分子标记的资源评价工作被深入开展 (Riek et al., 1999, 2000), 营养体繁殖和种子繁殖技术体系也逐渐完善 (Kumar et al., 2004)。在野生种的收集上, 英国爱丁堡植物园成效显著 (苏雪痕, 1987), 中国科学院华西亚高山植物园、庐山植物园、昆明植物园等也开展了大量的引种工作并取得较好成绩 (冯正波 等, 2004; 张乐华, 2004)。

2 育种目标

2.1 花色育种

花色是杜鹃花最重要的观赏性状之一 (李崇晖 等, 2008)。目前杜鹃花的花色育种趋向于培育纯色花, 如纯白、纯黄、纯红等, 特别是黄色和蓝色等更是珍贵。据报道, 采用白花的喇叭杜鹃 *R. discolor* 与火红杜鹃 *R. neriiflorum* 作亲本进行杂交, 从后代中选出了黄色品种 *R. 'Bobolink'* (余树勋, 1992)。常绿杜鹃中黄色品种较少, 育种家期望通过常绿杜鹃与黄色落叶杜鹃进行杂交获得黄色花的常绿杜鹃。Akabane 等 (1971)、Yamaguchi (1986) 尝试通过单交的方式获得, 但都因为白化病和杂种种子活力太低而失败。Ureshino 等 (1998) 采用三交的方式 (*R. kiusianum* \times *R. eriocarpum*) \times *R. japonicum* 得到了大约 15% 的正常绿色幼苗, 并通过同工酶分析证实了其杂合性。

杜鹃花的主要色素是花青素和黄酮醇, 可产生白、红、朱砂红、粉红、紫和淡紫等颜色 (Heursel & Horn, 1977)。Heursel (1981) 对杜鹃花中的色素进行过分析, 认为定量的花青素和类黄酮可产生特定的颜色甚至是新的花色。Cooman 等 (1993) 对比利时杜鹃花瓣中的色素合成进行研究后发现, 香豆酸是其黄酮类化合物生物合成的前体。Schepper 等 (2001) 利用高分辨率 DNA 流式细胞仪研究杜鹃花花瓣边缘与内部颜色不同的原因, 发现这种花色嵌合现象是由体细胞的倍性引起的, 推测是基因剂量效应引起了类黄酮基因的表达差异。最近, Nakatsuka 等 (2008) 等从 *R. pulchrum* 'Oomurasaki' 的花瓣中分离了 8 个与类黄酮生物合成途径相关的基因, 分别为 chalcone synthase (*CHS*), chalcone isomerase (*CHI*), flavonone-3-hydroxylase (*F3H*), flavonoid 3' hydroxylase (*F3'H*), flavonoid-3',5'-hydroxylase (*F3'5'H*), dihydroflavonol reductase (*DFR*), anthocyanidin synthase (*ANS*) 和 flavonol synthase (*FLS*)。之后, Mizuta 等 (2009) 采用 HPLC (高效液相色谱) 法, 比较了花青素在不同颜色花瓣里的组成, 这为杜鹃花在体外进行蓝色和黄色育种提供了依据。

2.2 香味育种

在传统育种过程中, 育种家一直把重点放到花色、花形和抗性等方面, 而忽视了香味育种, 而导致很多种杜鹃花的香味消退。常绿杜鹃中很少有带香味的品种 (Miyajima et al., 2002), 而北美杜鹃很多都具有芳香, 像分布于北美的羊躑躅亚属沼泽地杜鹃 *R. arborescens* 和 *R. viscosum* 等都是很好的香味亲本 (Galle, 1987; Kron, 1993); 又如千里香杜鹃 (*Rhododendron thymifolium* Maxim.) 是极具观赏价值的野生花卉和药用植物, 其嫩枝、叶均具有浓郁的香气 (张继 等, 2002)。

通过杂交获得常绿香杜鹃一度为育种家们所追求。Akabane 等 (1971) 将常绿杜鹃与落叶香杜鹃进行亚属间杂交, 结果没有得到正常的杂种幼苗, 原因可能是由于核基因组不亲和。Kobayashi 等 (2008) 用常绿杜鹃与具有芳香的落叶杜鹃进行杂交得到了具有香味的杂种后代, 通过 PCR-RFLP 技术分析得出: 落叶杜鹃叶绿体基因组与常绿杜鹃核基因组是协调的, 并建立了一套新的追踪 nrDNA、cpDNA 和 mtDNA 遗传的 PCR 分子标记体系, 可以更好地解析远缘杂交后代核基因组和细胞器基因组的复杂遗传机制。随着分子生物学的发展, 人们试图通过基因工程的方法得到香花。目前的研究主要集中在单萜类物质的合成上。*Lis* 基因可编码 S - 萜烯醇合成酶, 该酶可将牛儿基焦磷酸 (GPP) 转化成 S - 萜烯醇 (Pichersky et al., 1995), 有报道称法国研究人员通过农杆菌转化法将此基因导入柠檬天竺葵, 使其芳香物质大大增加 (Dudareva et al., 1996), 这为杜鹃花的香味育种提供了新的思路和途径。

2.3 花期育种

周年供应鲜花对于杜鹃花生产具有重要意义, 因此培育不同花期的杜鹃品种是杜鹃花育种的一个重要方向。野生杜鹃花期多集中于 3—6 月份。要使杜鹃花提前开花必须选择有早花习性的亲本, 如马银花亚属的红马银花 (*R. vialii delavay*)。晚花种类如绵毛房杜鹃 (*R. facetum*) 和黑红血杜鹃 (*R. sanguineum*), 花期均在 6—8 月份, 用其作亲本可以延迟后代的花期。中国科学院昆明植物所用碎米花杜鹃 (*R. spiciferum*) 与炮仗杜鹃 (*R. spinuliferum*) 杂交培育的品种可在 2 月份开花 (张长芹, 2008)。Waterer 用大树杜鹃和高加索杜鹃杂交产生的品种 ‘Nobleanum’ 耐寒并能在圣诞节开花 (余树勋, 1992)。比利时根特农业中心观赏植物研究所通过杂交手段已获得早、中、晚系列品种 (王艳和任吉君, 2002)。最近, Meijon 发现杜鹃花芽分化基因的表达受 DNA 甲基化和 H₄ 组蛋白脱乙酰这两个表观遗传机制共同控制 (Meijón et al., 2009), 这为在分子水平培育人们理想花期提供了依据。通过控温、控光以及激素处理等可人为调控杜鹃花期, 效果显著 (Bodson et al., 1995; Gen, 1995; Chang & Sung, 2000; Vainola, 2000)。

2.4 抗性育种

2.4.1 抗寒性

选育抗寒杜鹃花是南种北引的关键。国外已育出了一些较耐寒的品种, 如美国东北部的酒红杜鹃 (*R. catawbiense*) 能耐 -32 °C 的低温, 是抗寒育种的重要种质资源 (余树勋, 1992)。Uosukainen (1998) 用短花杜鹃 (*R. brachyanthum*) 作为母本与抗寒的 *R. smirnowii* 和 *R. catawblense* 杂交获得了比较抗寒的后代。国内培育的杜鹃花 ‘雪中笑’, 在露地栽培条件下于 1987 年 12 月底至翌年 3 月底连续开花达 3 个月之久 (邱新军和陈孝泉, 1990)。Lim 等 (1999) 得出 25 kD 脱水蛋白可作为一种遗传标记, 用来区别耐寒和不耐寒品种, 这种蛋白的相对水平能作为耐冰冻状态的生理指标。Vainola 和 Repo (2000) 采用阻抗谱技术比较二倍体品种与四倍体品种的抗寒性, 得出二倍体品种更加耐寒。Tigerstedt 和 Mustila (2002) 筛选出抗 -30 °C 低温的品种, 将杜鹃花的抗寒性提高到了一个水平。Swideriski 等 (2004) 比较分析了杜鹃花叶片中的类黄酮含量, 认为类黄酮的含量与

抗冻性相关, 可以作为抗寒品种筛选的一个指标; 而且通过电导分析结合 DSC (差示扫描量热法) 法以及其他实验数据, 可对杜鹃花的抗寒性进行分类 (Swiderski et al., 2006)。

2.4.2 耐碱性

杜鹃花喜酸怕碱 (Esen et al., 2004; 郁书君 等, 2008) 的特性是限制其在中性和碱性土壤中生长的重要因子, 因此选育耐碱品种是杜鹃花育种的目标之一。Preil 和 Ebbinghaus (1994) 研究了 HCO_3^- 对杜鹃花失绿症的影响, 结果表明, HCO_3^- 是碱性石灰质土壤环境导致其缺铁失绿的一个最重要的因子。周利华 (2008) 也指出, pH 值、硝态氮和 HCO_3^- 是影响杜鹃花缺铁黄化和叶绿素降低的主要原因。Dunemann 等 (1999) 利用种间杂交后代建立了杜鹃花的分子遗传图谱, 对抗碱性、叶面失绿、花色等性状相关的标记进行了分析, 并利用 QTL 分子标记辅助选择和转基因技术培育耐碱单株, 但至今没有筛选出耐土壤 pH 7.0 以上的品种。孙振元等 (2003) 也尝试应用植物细胞工程技术获取耐碱突变体, 结果表明: $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaHCO}_3$ 适合用于离体筛选。

2.4.3 抗热性

杜鹃花多分布于高海拔地区, 性喜冷凉湿润气候, 高温热害是制约其园林应用的重要生态因子, 选育耐热品种是其由高海拔地区走向平原, 安全度过炎热夏季的前提。已知映山红亚属具有较强的耐热性, 可用作抗热选育的亲本。Arisumi (1992) 用亚属间的品种进行杂交选育出 ‘Bob’s Blue’、‘Crater Lake’ 等具有良好抗热性的品种。日本 Wada 曾指出, 考查育种成果是否耐热, 有两个途径: 一是 8 月份看盆栽杜鹃的盆底, 如有白嫩的新根生出, 即表示有耐热能力; 二是叶片反卷程度是预测这一品种是否抗热的一个指标 (余树勋, 1992)。张春英和戴思兰 (2006) 指出: 叶片气孔总面积、细胞膜相对透性、游离脯氨酸含量与杜鹃花的耐热性存在相关性, 可作为杜鹃花耐热筛选的指标。

3 育种技术的发展

3.1 杂交育种

杂交方法是培育杜鹃花新品种最常用最有效的方法之一。在花卉市场上占有极大份额的比利时杜鹃就是由园艺学家用皋月杜鹃 (*R. indicum*)、映山红 (*R. simsii*) 及毛白杜鹃 (*R. mucronatum*) 等反复杂交选育而成。杜鹃花属植物自然杂交现象十分普遍, 在栽培条件下亦易于杂交变异, 大量的杂交种不断被育出 (中国植物志, 1999)。比利时、英国、荷兰、美国、日本等在杂交种的培育上做出了很大贡献, 现在大面积栽培的品种大多是杂交育种的结果 (Wasson & Rodd, 2004)。

虽然杜鹃花属自然杂交现象比较普遍, 但是此杂交产生的花色较为单一, 育种家更期望通过远缘杂交产生更为丰富的花色, 如黄色的常绿杜鹃花品种。自然的黄色杜鹃多属于落叶类型, 然而落叶杜鹃抗热性差、株形不紧凑, 所以育种家期望通过落叶杜鹃与常绿杜鹃的杂交获得抗性强株形紧凑的常绿黄色杜鹃花品种 (Kobayashi et al., 1996), 然而这种远缘杂交不亲和限制了这种远缘杂交的进行, 所以不亲和机理一直受到育种者的关注。Ureshino 等 (2000) 认为不亲和的原因是花粉管在花柱上部生长受限制。Kho 和 Baer (1973) 则认为母本花柱太长是不能正常授精的原因。Akabane 等 (1971) 和 Williams 等 (1985) 将杜鹃花的杂交不亲和归结于花粉管的生长受限制或者是虽可正常受精, 但会由于基因组间的不平衡产生胚败育。Ureshino 等 (1999) 用 PCR-RAPD 方法对三交种后代分析发现: 所有的白化苗包含母本 ptDNA, 而正常幼苗都包含父本的 ptDNA, 介于白化苗和正常苗之间的既包含母本 ptDNA 也包含父本 ptDNA, 所以认为杂交不亲和是由 *R. kiusianum* × *R. eriocarpum* 的 F_1 杂种的质体基因组与 *R. japonicum* 的核基因组不协调引起的。Sharma (1995) 指出,

胚乳的缺失或发育不健全是导致授精后胚败育的主要原因。

克服杜鹃花属远缘杂交障碍一直被育种家重视。Kho 和 Baër (1973) 等认为将亲本生长温度控制在 20 °C 以下有助于有鳞杜鹃与无鳞杜鹃的杂交。Lee 和 Ryu (1994) 比较了花粉蒙导(授精前将花粉用较高的温度处理)、去掉花柱、用正乙烷预处理花粉等方法对克服 *R. yedoense* × *R. japonicum* 授精前障碍的作用,发现用正乙烷处理效果较好,杂交结实率高达 86%。克服杜鹃花远缘杂交障碍时,应注重杂交方式。选择桥梁亲本三交(Ureshino et al., 1998)和回交(Ureshino et al., 2006)被证实是克服杜鹃花杂交障碍的有效手段。Ureshino 和 Miyajima (2002) 用常绿杜鹃与 *R. japonicum* 进行杂交时发现增加提供核基因 *R. japonicum* 的基因剂量,可减少白化苗的发生。Sakai 等(2004)也证实用四倍体的常绿杜鹃与二倍体的 *R. japonicum* 杂交得到的绿色杂种几率上升,可见亲本的倍性在选择杂交组合时也应受到重视。

近年来,胚拯救已成功应用于克服授精后障碍上。Eeckhaut 等(2003)为了获得黄色、蓝色和橙色的品种,以 *R. tsutsusi* 为母本进行亚属间杂交发现,在 WPM (Woody plant medium) 培养基里增加 50 mmol · L⁻¹ GA₃ 可提高胚珠培养的成活率,之后他以 *R. simsii* ‘Dogwood Bont’ 和 *R. simsii* ‘Kingfisher’ 为亲本进行杂交,将受精后仅 3 个月的未成熟种子播于含 GA₃ 的 WPM 培养基中发现,补充 145 μmol · L⁻¹ GA₃ 可显著提高这些种子的萌发率,之后将得到的种苗在 WPM + 4.5 μmol · L⁻¹ 2iP (isopentenyladenine) 的培养基上进行离体扩繁,最后大约有 9% 的组培苗炼苗成功(Eeckhaut et al., 2007)。

3.2 多倍体育种

在杜鹃花育种上,很少有人致力于培育多倍体品种,从而导致目前市场上几乎所有的商业品种均为二倍体(Eeckhaut et al., 2006)。通过远缘杂交获得的杂种一般都高度不育,使用有丝分裂抑制剂将其染色体加倍,可恢复基因组的同源性和杂种的育性(Contreras et al., 2007)。Vainola (2000) 对杜鹃花离体培养的茎尖用秋水仙素(浓度为 0.625 和 1.25 mmol · L⁻¹)和磺胺灵(浓度为 30 和 150 μmol · L⁻¹)进行处理,结果表明在同一浓度下磺胺灵处理 24 h 和 48 h 对茎尖成活率的影响没有显著差异,而秋水仙素处理 48 h 比 24 h 伤害大;150 μmol · L⁻¹ 磺胺灵处理 24 h 对诱导四倍体效果最好。Eeckhaut 等(2002)用 300 μmol · L⁻¹ 浓度的磺胺灵和秋水仙素处理杜鹃花种子(‘Nina’ × ‘Dogwood’ 的杂交种)3 d,结果也得出磺胺灵比秋水仙素在诱导四倍体上效果更好。Schepper 等(2001)发现,在二倍体的植株上(*R. simsii*、*R. mucronatum*、*R. scabrum* 和 *R. indicum* 的杂交种),与花瓣其他部位颜色不同的边缘组织是四倍体。在此基础上他以花瓣边缘组织为材料,采用离体组织再生技术成功得到第 1 个四倍体比利时盆栽杜鹃(Schepper et al., 2004)。

3.3 基因工程技术

近年来基因工程技术已成为杜鹃花育种研究的热点。Pavingerová 等(1997)把携带 T-DNA (含编码 β-葡萄糖苷酸酶的 *GUS*) 基因和 *npt II* (标记新霉素磷酸转移酶 II) 基因的农杆菌转化到 5 个杜鹃花栽培品种(‘America’、‘Catawbiense grandiflorum roseum’、‘Madame Carvalho’、‘Mars’ 和 ‘Nova Zembla’) 中,通过荧光染色法、PCR 和 Southern 杂交分析,证明标记基因 *GUS* 已成功转入 5 个品种,但在繁殖期间一些 *GUS* 的表达产物和序列丢失。之后,Tripepi 等(1999)将 *npt II* 和 *GFP* (编码绿色荧光蛋白) 转入 *R. catawbiense* 中。Ueno 等(1996)、Mertens 等(1998)也通过此法将 *GUS* 和 *npt II* 基因转入杜鹃花中,应用 Northern 杂交和组织化学检测技术,证明 *GUS* 和 *npt II* 已成功转入。

通过农杆菌介导法虽然可以得到转基因植株,但其再生后代存在严重的嵌合性(Pavingerová et

al., 1997; Ueno et al., 1996), 而且农杆菌侵染具有严格的寄主专一性 (Tripepi et al., 1999)。随着基因枪技术的建立和发展, 研究者开始将其应用到杜鹃花上。Hsia 和 Korban (1998) 采用基因枪法实现了 *GUS* 基因在杜鹃叶片和茎中的瞬间表达。Knapp 等 (2001) 首次应用此法获得了再生转基因植株, 经测定, *GUS* 基因在后代中稳定表达 (超过 2 年)。不过其 0.2% 的转化成功率与 Ueno 等 (1996) 用农杆菌介导法得到的 5% 的转化率存在不小的差距, 可见这一套再生转化体系有待于进一步优化。

4 问题及展望

中国杜鹃花的育种工作始于 20 世纪 80 年代, 起步很晚, 基础薄弱, 育种工作断断续续, 很少有人或研究机构能够长期坚持下去。近年来, 在中国科学院昆明植物所、中国科学院庐山植物园、中国科学院华西亚高山植物园等努力下, 杜鹃花的引种驯化工作取得了一定进展, 但遗传育种研究与国外相比还存在很大差距, 到 2004 年为止, 只有 34 个品种进行了登记, 而在英国皇家园艺学会登记的品种已经上万 (张长芹和高连明, 2004)。

在资源方面, 中国是世界公认的杜鹃花资源分布与多样化中心, 在今后的育种工作中应充分发挥本国的资源优势, 发现、挖掘观赏性高、抗逆性强的优良种质进行驯化培育; 同时也要深入研究种质资源, 尤其是濒危野生种的遗传规律和离体保存方式, 防止其灭绝, 为新品种选育提供丰富的生物多样性。

在杂交育种上, 应有针对性地开展选育工作, 选育花色、花形、香味上具有独特性的适合盆栽的品种以及适于园林应用的抗性强、花期长的品种, 尤其需要关注品种的抗性。中国现有的品种资源之所以没能在园林绿化中推广应用, 很大原因就是未能培育出抗性强、适应本国城市环境的品种。野生杜鹃在自然状态下易发生杂交, 而中国野生种中又不乏抗性强的种类, 因此在自然界中选育高抗、质优的种类与栽培种进行杂交是今后育种工作的重中之重。

在育种方法上, 常规育种技术仍是杜鹃花育种的主要方法, 基因工程为杜鹃花种质资源的创新, 打破种间杂交障碍, 定向选育新品种提供了更为先进的手段。相信常规育种结合基因工程手段, 在今后杜鹃花的育种领域定会有所突破。

References

- Akabane M, Yamanaka A T, Akashima D, Nakatsue T, Nakamura Y. 1971. On the fertility of interspecific crossing and the growth of F_1 seedlings in *Rhododendron* species. Bulletin of the Tochigi Prefectural Agricultural Experiment Station, 15: 95 - 102.
- Arisumi K J. 1992. Breeding for the heat resistant *Rhododendrons*, 5: Coss-compatibility and evaluation of breeding materials in section *Rhododendron* of subgenus *Rhododendron* with blue flower colours. Memoirs of the Faculty of Agriculture, Kagoshima University, 28: 61 - 73.
- Cooman L D, Everaert E S W, Fache P, Castele K V, van Sumere C F. 1993. Flavonoid biosynthesis in petals of *Rhododendron simsii*. Phytochemistry, 33 (6): 1419 - 1426.
- Bodson M, Thomas E, Hendriks L. 1995. The role of gibberellins in the control of inflorescence bud initiation of *Rhododendron simsii*. Acta Horticulture, 378: 113 - 121.
- Chang Y S, Sung F H. 2000. Effects of gibberellic acid and dormancy-breaking chemicals on flower development of *Rhododendron pulchrum* Sweet and *R. scabrum* Don. Scientia Horticulturae, 83: 331 - 337.
- Contreras R N, Ranney T G, Tallury S P. 2007. Reproductive behavior of diploid and allotetraploid *Rhododendron* L. 'Fragrant Affinity'. HortScience, 42 (1): 31 - 34.
- Doss R P, Hatheway W H, Hrutford B F. 1986. Composition of essential oils of some lipidote *Rhododendrons*. Photochemistry, 25 (7): 1637 - 1640.

- Dudareva N, Cseke L, Blanc V M. 1996. Pichersky E. Evolution of floral scent in *Clarkia*: Novel patterns of *S-linalool* synthase gene expression in the *C. breweri* flower. *The Plant Cell*, 8: 1137 - 1148.
- Dunemann F, Kahnau R, Stange I. 1999. Analysis of complex leaf and flower characters in *Rhododendron* using a molecular linkage map. *Theoretical and Applied Genetics*, 98: 1146 - 1155.
- Eeckhaut T, Samyn G, Bockstaele E V. 2002. *In Vitro* polyploidy induction in *Rhododendron simsii* hybrids. *Acta Horticulturae*, 57: 43 - 49.
- Eeckhaut T, Samyn G, van Bockstaele E. 2003. Interspecific breeding in the *Rhododendron* genus involving *R. simsii* hybrids. *Acta Horticulturae*, 612: 165 - 172.
- Eeckhaut T, van Huylenbroeck J, de Schepper S, van Labeke M. 2006. Breeding for polyploidy in Belgian azalea (*Rhododendron simsii*) hybrids. *Acta Horticulturae*, 714: 113 - 118.
- Eeckhaut T, Keyser E D, Huylenbroeck J V, Riek J D, Bockstaele E V. 2007. Application of embryo rescue after interspecific crosses in the genus *Rhododendron*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 89: 29 - 35.
- Esen D, Zedaker S M, Kirwan J L, Mou P. 2004. Soil and site factors influencing purple-flowered rhododendron (*Rhododendron ponticum* L.) and eastern beech forests (*Fagus orientalis* Lipsky) in Turkey. *Forest Ecology and Management*, 203: 229 - 240.
- Fang Rui-zheng, Min Tian-lu. 1995. The floristic study on the genus *Rhododendron*. *Acta Botanica Yunnanica*, 17 (4): 359 - 379. (in Chinese)
- 方瑞征, 闵天禄. 1995. 杜鹃属植物区系的研究. *云南植物研究*, 17(4): 359 - 379.
- Flora of China. 1999. Ericaceae. 57 (1). Beijing: Science Press: 1 - 3. (in Chinese)
- 中国植物志. 1999. 杜鹃花科. 57 (1). 北京: 科学出版社: 1 - 3.
- Feng Zheng-bo, Zhuang Ping, Zhang Chao, Shao Hui-min. 2004. An adaptive evaluation of wild *Rhododendron* under ex-situ conservation. *Acta Botanica Yunnanica*, 26 (5): 497 - 506. (in Chinese)
- 冯正波, 庄平, 张超, 邵慧敏. 2004. 野生杜鹃花迁地保护适应性评价. *云南植物研究*, 26 (5): 497 - 506.
- Galle F C. 1987. Azaleas-plants, habits, flowers, and leaves. Azaleas. Timber Press, Portland, Oregon: 35 - 51.
- Gen M P N. 1995. Paclobutrazol or uniconazol applied early in the previous season promotes flowering of field-grown *Rhododendron* and kalmia. *Journal of Plant Growth Regulation*, 14: 205 - 210.
- Heursel J. 1981. Diversity of flower colours in *Rhododendron simsii* Planch and prospects for breeding. *Euphytica*, 30: 9 - 14.
- Heursel J, Horn W. 1977. A hypothesis on the inheritance of flower colours and flavonoids in *Rhododendron simsii* Planch. *Zeitschrift fuer Pflanzenzuechtung*, 79: 238 - 249.
- Hsia C N, Korban S S. 1998. Microprojectile-mediated genetic transformation of *Rhododendron* hybrids. *Journal of America Rhododendron Society*, 52: 187 - 191.
- Huang Mao-ru. 1998. *Rhododendron*. Shanghai: Shanghai scientific & Technical Publishers: 6 - 10. (in Chinese)
- 黄茂如. 1998. 杜鹃花. 上海: 上海科学技术出版社: 6 - 10.
- Kho Y O, Baer J. 1973. Improving the cross *Rhododendron impeditum* × *Rhododendron* 'Elizabeth' by temperature treatment. *Euphytica*, 22: 234 - 238.
- Klocke J A, Hu M Y, Chiu S F, Kubo I. 1991. Grayanoid diterpene insect antifeedants and insecticides from *Rhododendron molle*. *Phytochemistry*, 30 (6): 1797 - 1800.
- Knapp J E, Kausch A P, Auer C, Brand M H. 2001. Transformation of *Rhododendron* through microprojectile bombardment. *Plant Cell Reports*, 20: 749 - 754.
- Kobayashi N, Akabane M, Handa T, Takayanagi K. 1996. Inheritance of morphological characters and RAPD markers in intersubgeneric hybrids of azalea, [*Rhododendron kiusianum* Markino × *R. indicum* (L.) Sweet] × *R. japonicum* (A. Gray) Suringer f. *flavum* Nakai. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 65 (1): 145 - 153.
- Kobayashi N, Mizuta D, Nakatsuka A, Akabane M. 2008. Attaining intersubgeneric hybrids in fragrant azalea breeding and the inheritance of organelle DNA. *Euphytica*, 159: 67 - 72.
- Kron K A. 1993. A revision of *Rhododendron* section pentanthera. *Edinburgh Journal of Botany*, 50: 249 - 346.
- Kumar S, Singh K K, Rai L K. 2004. *In vitro* propagation of an endangered Sikkim Himalayan *Rhododendron* (*R. maddenii*) from cotyledonary nodal segments. *Journal of America Rhododendron Society*, 58 (2): 101 - 105.
- Lee J S, Ryu B Y. 1994. Breaking of interspecific incompatibility in Korea native and introduced azalea. 24th International Horticulture Congress

Abstract, 165.

- Li Chong-hui, Wang Liang-sheng, Shu Qing-yan, Xu Yan-jun, Zhang Jie. 2008. Pigments composition of petals and floral color change during the blooming period in *Rhododendron mucronulatum*. *Acta Horticulturae Sinica*, 35 (7): 1023 – 1030. (in Chinese)
- 李崇晖, 王亮生, 舒庆艳, 徐彦军, 张 洁. 2008. 迎红杜鹃花色色素组成及花色在开花过程中的变化. *园艺学报*, 35 (7): 1023 – 1030.
- Lim C C, Krebs S L, Arora R. 1999. A 25 kDa dehydrin associated with genotype and age dependent leaf freezing tolerance in *Rhododendron*: A genetic marker for cold hardiness. *Springer Verlag Heidelberg*, 99 (5): 912 – 920.
- Liu Xiao-qing, Su Jia-le, Li Chang, He Li-si, Chen Lu. 2011. A new alpine rhododendron cultivar ‘Fuli Jinling’. *Acta Horticulturae Sinica*, 38 (11): 2237 – 2238. (in Chinese)
- 刘晓青, 苏家乐, 李 畅, 何丽斯, 陈 璐. 2011. 高山杜鹃新品种 ‘富丽金陵’. *园艺学报*, 38 (11): 2237 – 2238.
- Mertens M, Heursel J, Bockstaele V E, Loose D M. 1998. Inheritance of foreign genes in transgenic azalea plants generated by *Agrobacterium*-mediated transformation. *ISHS Acta Horticulturae*, 521: 127 – 132.
- Miyajima I, Ureshino K, Kobayashi N, Akabane M. 2002. Flower color and pigments of intersubgeneric hybrid between white-flowered evergreen and yellow-flowered deciduous azaleas. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 69: 280 – 282.
- Mizuta D, Ban T, Miyajima I, Nakatsuka A, Kobayashi N, Mizuta D. 2009. Comparison of flower color with anthocyanin composition patterns in evergreen azalea. *Scientia Horticulturae*, 122: 594 – 602.
- Meijón M, Valledor L, Santamaría E, Testillano P S, Risueño M C, Rodríguez R, Feito I, Cañal M J. 2009. Epigenetic characterization of the vegetative and floral stages of azalea buds: Dynamics of DNA methylation and histone H₄ acetylation. *Plant Physiology*, 166: 1624 – 1636.
- Nakatsuka A, Mizuta D, Kii Y, Miyajima I, Kobayashi N. 2008. Isolation and expression analysis of flavonoid biosynthesis genes in evergreen azalea. *Scientia Horticulturae*, 118: 314 – 320.
- Preil W, Ebbinghaus R. 1994. Breeding of lime tolerant *Rhododendron* root stocks. *Acta Horticulture*, 364: 61 – 70.
- Pichersky E, Lewinsohn E, Croteau R. 1995. Purification and characterization of *S-linalool* synthase, an enzyme involved in the production of floral scent in *Clarkia breweri*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 316 (2): 803 – 807.
- Pavingerová D, Baíza J, Kodýtek K, Niedermeierová H. 1997. Transformation of *Rhododendron* spp. using *Agrobacterium tumefaciens* with a *GUS*-intron chimeric gene. *Plant Science*, 122: 165 – 171.
- Prakash D, Upadhyay G, Singh B N, Dhakarey R. 2007. Antioxidant and free radical scavenging activities of Himalayan *Rhododendrons*. *Current Science*, 92 (4): 526 – 532.
- Qiu Xin-jun, Chen Xiao-quan. 1990. Studies on the relationship between a new winter *Rhododendron* variety ‘smile-in-snow’ and its parents. *Acta Horticulturae Sinica*, 17 (2): 145 – 148. (in Chinese)
- 邱新军, 陈孝泉. 1990. 冬杜鹃花新品种 ‘雪中笑’ 与双亲关系的探讨. *园艺学报*, 17 (2): 145 – 148.
- Riek D J, Dendaauw J, Mertens M, De Loose M, Heursel J, Bockstaele E V. 1999. Validation of criteria for the selection of AFLP markers to assess the genetic variation of a breeders collection of evergreen azaleas. *Theoretical and Applied Genetics*, 99: 1155 – 1165.
- Riek D J, Mertens M, Dendaauw J, Heursel J, van Bockstaele E, de Loose M. 2000. Azalea (*Rhododendron simsii* hybrids) germplasm from China assessed by means of fluorescent AFLP. *Acta Horticulturae*, 521: 203 – 210.
- Sakai K, Ozaki Y, Ureshino K, Miyajima I. 2004. Effectiveness of interploid crosses for overcoming plastome-genome incompatibility in intersectional crosses of azalea. *ISHS Acta Horticulturae*, 651: 47 – 53.
- Schepper S D, Leus L, Eeckhaut T, Van Bockstaele E, Debergh P, de Loose M. 2004. Somatic polyploid petals: Regeneration offers new roads for breeding Belgian pot azaleas. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 76: 183 – 188.
- Schepper S D, Leus L, Mertens M, Debergh P, Bockstaele E V, De Loose M. 2001. Somatic polyploidy and its consequences for flower coloration and flower morphology in azalea. *Plant Cell Reports*, 20: 583 – 590.
- Sharma H. 1995. How wide can a wide cross be. *Euphytica*, 82: 43 – 64.
- Singh K K, Rai L K, Gurung B. 2009. Conservation of *Rhododendrons* in Sikkim Himalaya: An overview. *World Journal of Agricultural Sciences*, 5 (3): 284 – 296.
- Sleumer H. 1949. Ein system der gattung *Rhododendron* L. *Botanische Jahrbuch Systematic*, 74: 511 – 553.
- Su Xue-hen. 1987. The history of introduction of chinese plant germplasm resources and use in English garden. *Acta Horticulturae Sinica*, 14

- (2): 133 - 138. (in Chinese)
- 苏雪痕. 1987. 英国引种中国园林植物种质资源史实及应用概况. 园艺学报, 14 (2): 133 - 138.
- Sun Zhen-yuan, Xue Wen-zhong, Liu Shu-lan, Zhao Liang-jun. 2003. *In vitro* selection and identification of lime-tolerant mutant of *Rhododendron mucronatum*. Journal of Central South Forestry University, 23 (5): 53 - 55. (in Chinese)
- 孙振元, 徐文忠, 刘淑兰, 赵梁军. 2003. 毛白杜鹃耐碱突变体的离体筛选与鉴定. 中南林学院学报, 23 (5): 53 - 55.
- Swiderski A, Wojtal A, Muras P, Mikulko A, Koloczek H. 2006. DSC studies of *Rhododendron* hybrids frost resistance. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 83 (3): 631 - 636.
- Tripepi R R, George M W, Sripo T, Johnsen S A, Caplan A B. 1999. Infection and transformation of *Rhododendron* by *Agrobacterium tumefaciens* strain B₆. HortScience, 34 (3): 455.
- Tigerstedt P M A, Mustila F. 2002. zuechtung von *Rhododendron* fuer extreme klimaverhaeltnisse, *Rhododendron* undimmergruene laubgehoeelzc, Jahrbuch, Deutsche Rhododendron gesellschaft. Bremen, 117 - 133.
- Ueno K, Fukunaga Y, Arusumi K. 1996. Genetic transformation of *Rhododendron* by *Agrobacterium tumefaciens*. Plant Cell Reports, 16: 38 - 41.
- Uosukainen M J. 1988. Breeding of frost hardy *Rhododendrons*. Agriculture Science in Finland, 60 (4): 235 - 254.
- Ureshino K, Miyajimal I, Akaban M. 1998. Effectiveness of three-way crossing for the breeding of yellow-flowered evergreen azalea. Euphytica, 104: 113 - 118.
- Ureshino K, Miyajimal I, Ozakil Y, Kobayashi N, Michishital A, Akabane M. 1999. Appearance of albino seedlings and ptDNA inheritance in interspecific hybrids of azalea. Euphytica, 110: 61 - 66.
- Ureshino K, Kawai M, Miyajima I. 2000. Factors of intersectional unilateral cross incompatibility between several evergreen azalea species and *Rhododendron japonicum* f. *flavum*. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 69 (3): 261 - 265.
- Ureshino K, Miyajima I. 2002. The study on the relationship between leaf colors and ptDNA inheritance in intersectional cross of *Rhododendron Kiusianum* × *R. japonicum* f. *flavum*, resulting in an unexpected triploid progeny. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 71 (2): 214 - 219.
- Ureshino K, Tashiro Y, Takeda Y, Itabashi T, Miyajima I. 2006. Cross compatibility of intersubgeneric hybrids of Azalea on backcross with several evergreen species. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 75 (5): 403 - 409.
- Vainola A. 2000. Polyploidization and early screening of *Rhododendron* hybrids. Euphytica, 112 (3): 239 - 244.
- Vainola A, Repo T. 2000. Impedance spectroscopy in frost hardiness evaluation of *Rhododendron* leaves. Annals of Botany, 86: 799 - 805.
- Williams E G, Rouse J L, Knox R B. 1985. Barriers to sexual compatibility in *Rhododendron*. Notes from the Royal Botanic Garden Edinburgh, 43: 81 - 98.
- Wang Yan, Ren Ji-jun. 2002. A general review of the status and strategy of flowering plant breeding in China. Seed, (5): 37 - 39. (in Chinese)
- 王 艳, 任吉君. 2002. 我国花卉育种现状与发展策略. 种子, (5): 37 - 39.
- Wasson E, Rodd T. 2004. Trees & shrubs. Beijing: China Forestry Publishing House: 612 - 627. (in Chinese)
- 艾尼瓦逊, 托尼罗德. 2004. 世界园林乔灌木. 北京: 中国林业出版社: 612 - 627.
- Yoshihisa T, Sadao K, Kotaro T. 1962. Constituents of medical plants III Constituents of leaves of *Paulownia tomentosa* and *Rhododendron kaempferi*. Kauazwa Daigaku Yakugakubu Keukgu Nempo, 12: 7 - 14.
- Yamaguchi S. 1986. *In vitro* culture of remote hybrid seedlings aiming to breed new yellow flowered evergreen azalea. Plant Cell Incompatibility Newslett, 18: 50 - 51.
- Yu Shu-jun, Chen Xi-ming, Lee Jeong-sik. 2008. Alkali tolerance of *Rhododendron fortunei* in subirrigated ebb & flow bench systems with hydroponics. Acta Horticulturae Sinica, 35 (5): 715 - 720. (in Chinese)
- 郁书君, 陈锡明, 李贞植. 2008. 云锦杜鹃的耐碱反应. 园艺学报, 35 (5): 715 - 720.
- Yu Shu-xun. 1992. *Rhododendron*. Beijing: Jindun Publishing House: 100 - 113. (in Chinese)
- 余树勋. 1992. 杜鹃花. 北京: 金盾出版社: 100 - 113.
- Zhang Hang-qin. 2008. *Rhododendron* of Yunnan. Kuiming: Yunnan Science Technology Press: 32 - 58. (in Chinese)
- 张长芹. 2008. 云南杜鹃花. 昆明: 云南科技出版社: 32 - 58.
- Zhang Chang-qin, Gao Liang-ming. 2004. A general review of the research and conservation status of Chinese *Rhododendron*. Guangxi Sciences, 11

- (4): 354 - 359. (in Chinese)
- 张长芹, 高连明. 2004. 中国杜鹃花的保育现状和展望. 广西科学, 11 (4): 354 - 359.
- Zhang Chang-qin, Luo Ji-feng. 2002. New *Rhododendron* varieties—'Jinzhizhu' and 'Ziyan'. Acta Horticulturae Sinica, 29 (5): 502. (in Chinese)
- 张长芹, 罗吉凤. 2002. 杜鹃花新品种 '金蹄躄' 和 '紫艳'. 园艺学报, 29 (5): 502.
- Zhang Chang-qin, Luo Ji-feng, Feng bao-jun. 2005. New *Rhododendron* hybrid—'Zhaohui' and 'Hongyun'. Acta Horticulturae Sinica, 29 (3): 296. (in Chinese)
- 张长芹, 罗吉凤, 冯宝均. 2005. 杜鹃花新品种 '朝晖' 和 '红晕'. 园艺学报, 29 (3): 296.
- Zhang Chun-ying, Dai Si-lan. 2006. A study of the heat resistance of the evergreen *Rhododendron*//Zhang Qi-xiang. Advances in ornamental horticulture of China. Beijing: China Forestry Publishing House: 409 - 412. (in Chinese)
- 张春英, 戴思兰. 2006. 常绿杜鹃花叶片耐热性指标研究//张启翔. 中国观赏园艺研究进展. 北京: 中国林业出版社: 409 - 412.
- Zhu Chun-yan, Li Zhi-yan, Bao Chun-song, Xu Yun-qian. 2007. Conservation and utilization of rich *Rhododendron* germplasm resources in China. Chinese Wild Plant Resources, 26 (2): 28 - 30. (in Chinese)
- 朱春艳, 李志炎, 鲍淳松, 徐芸茜. 2007. 我国杜鹃花资源的保护与开发利用. 中国野生植物资源, 26 (2): 28 - 30.
- Zhu Chun-yan. 2008. The resources and landscaping applications in *Rhododendrons* [M. D. Dissertation]. Hangzhou: Zhejiang University. (in Chinese)
- 朱春艳. 2008. 杜鹃花资源及其园林应用研究[硕士论文]. 杭州: 浙江大学.
- Zhang Ji, Ma Jun-yi, Huang Ai-lun, Yao Jian, Yang Yong-li. 2002. Studies on the essential constituent of *Rhododendron thymifolium* Maxim. Acta Horticulturae Sinica, 29 (4): 386 - 388. (in Chinese)
- 张 继, 马君义, 黄爱仑, 姚 健, 杨永利. 2002. 千里香杜鹃挥发性成分的分析研究. 园艺学报, 29 (4): 386 - 388.
- Zhang Le-hua. 2004. A study on the introduction and adaptability of *Rhododendron* in Lushan Botanical Garden. Journal of Nanjing Forestry University: Natural Sciences Edition, 28 (4): 92 - 96. (in Chinese)
- 张乐华. 2004. 杜鹃属植物的引种适应性研究. 南京林业大学学报: 自然科学版, 28 (4): 92 - 96.
- Zheng Wei-lie, Pan Gang, Xu A-sheng, Juo Da-qing. 1995. A Study on the Germplasm resources and habitat of *Rhododendron* in Shergyla Mountain in Tibet. Acta Horticulturae Sinica, 22 (2): 166 - 170. (in Chinese)
- 郑维列, 潘 刚, 徐阿生, 罗大庆. 1995. 西藏色季拉山杜鹃花种质资源的初步研究. 园艺学报, 22 (2): 166 - 170.
- Zhou Li-hua. 2008. The mechanism and diagnostic techniques of iron deficiency induced chlorosis of leaves of *Rhododendron hybrida* Hort [Ph. D. Dissertation]. Beijing: Beijing Forestry University. (in Chinese)
- 周利华. 2008. 比利时杜鹃花缺铁失绿症形成机理及诊断技术研究[博士论文]. 北京: 北京林业大学.

征 订

欢迎订阅 2013 年《农产品质量与安全》

主管: 中华人民共和国农业部; **主办:** 中国农业科学院; **支持单位:** 农业部农产品质量安全监管局; **协办单位:** 农业部农产品质量安全中心, 中国绿色食品发展中心; **承办单位:** 中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所。

主要栏目: 本刊特稿、本刊专稿、政策法规、质量安全监管、无公害农产品、绿色食品、有机农产品、农产品地理标志、农业标准化、检验检测、学科建设与发展、研究与探讨、安全生产技术、地方经验交流、海外博览、农业标准公告、市场信息与动态等。**读者对象:** 与农产品质量安全、农业质量标准和检验检测有关的各级行政管理、科研教学、检验监测、技术推广、生产企业等部门的相关人员。双月刊, 逢双月 10 日出版。大 16 开本, 彩色四封, 80 页。全国各地邮局(所)均可订阅, 也可直接到本刊编辑部办理订阅手续。**邮发代号:** 82-223。每册定价: 10.00 元, 全年共 60.00 元。

通讯地址: 北京市中关村南大街 12 号中国农科院质标所《农产品质量与安全》编辑部, 邮政编码: 100081。

联系电话/传真: (010) 82106522、82106521 **E-mail:** aqs@caas.net.cn

欢迎各界朋友订阅, 赐稿和刊登广告。