

竹子组织培养研究现状与应用前景

张 敏, 卢义山, 蒋泽平, 黄利斌, 倪竞德

(江苏省林业科学研究院, 江苏 南京 211153)

摘要:综述了当前国内外竹子组织培养的研究进展与现状。从植株再生途径、外植体和培养基的选择、植物生长调节剂和添加物的使用几方面总结了竹子组织培养技术的经验,探讨了竹子组织培养在快速繁殖、遗传育种、离体成花3个领域的应用。最后提出了当前竹子组织培养的难点,并对今后的研究热点进行了展望。

关键词:竹子;组织培养;应用前景

中图分类号:S795 **文献标识码:**A

Current situation of bamboo tissue culture and its perspectives for application

ZHANG Min, LU Yi-shan, JIANG Ze-ping, HUANG Li-bin, NI Jing-de

(Jiangsu Academy of Forestry, Nanjing 211153, China)

Abstract: The review was made of the current achievements in bamboo tissue culture interiorly and abroad. We summarized the experience of the pathway of the plantlet regeneration, the selection of explants and media and the uses of plant growth regulators and additives. The application of bamboo tissue culture can be categorized into three aspects in this paper: mass-propagation, genetic breeding and *in vitro* flowering. Some issues about nodus and hotspots of bamboo tissue culture were put forward.

Key words: Bamboo; Tissue Culture; Application; Prespective

竹子作为重要的禾本科经济植物,以其资源丰富、用途广泛而倍受青睐。我国竹子种质资源、竹林面积、蓄积和产量均居世界首位,素有“竹子王国”之称。现有竹类植物39属500种以上,占世界竹子种类的1/3强。根据第6次(1999~2003年)全国森林资源清查结果显示,全国竹林面积484万hm²,占世界竹林总面积的1/5,全国森林总面积的4%以上。我国目前年产竹材近4亿支,竹笋产量达160万t,竹业总产值达到370亿元^[1]。种种数据表明竹子在我国林业资源及国民经济中占有重要地位。然而竹类的生殖周期长,很少开花结实,难以获得大规模繁殖的种子。而传统的移竹、埋鞭、竹枝扦插等繁殖方法存在消耗种竹多、种苗运输不便、劳动强度大、繁殖系数低等问题^[2],以组织培养方式快速繁

殖濒危、观赏、材用竹种,可以在短期内满足市场需求。相比其他植物来说,竹类组织培养的研究起步较晚,但近20a的进展较为迅速。基于竹子组织培养在快速繁殖、良种选育、遗传改良、试管成花等方面的广阔前景,有必要对当前的研究现状及最新进展做一简要综述,为今后的深入研究与广泛应用提供一定的参考。

1 竹子组织培养研究进展

竹类的组织培养研究,最早见于1968年 Alexander 和 Rao 关于竹子合子胚离体培养的简报^[3]。1975年, Tseng 等利用竹叶分离获得原生质体,但未做进一步研究^[4]。国外比较系统开展竹子组织培养工作始于20世纪80年代。1982年 Mehata 等在

收稿日期:2007-07-01

基金项目:江苏省科研院所社会公益研究与服务专项资金项目“观赏与经济竹种种质资源库建设及相关技术研究”(BM2005523)内容之一

作者简介:张 敏(1980-),女,内蒙古人,在读博士生,主要从事植物发育生物学研究。

第5届国际植物组织细胞培养会议上首次报道印度荊竹(*Bambusa arundinacea*)通过胚性愈伤组织获得再生植株^[5]。1983年,Huang等以绿竹属等属的部分竹种生长活跃的侧芽和顶芽的芽尖作外植体,对诱导愈伤组织产生的条件作了详细研究(*Dendrocalamopsis oldhami*),并以凤凰竹(*B. multiplex* var.)、翠竹(*Sasa Pygmaea*)和人面竹(*Phyllostachy aurea*)的叶片和嫩茎尖作为外植体,诱导出愈伤组织^[6]。1985年,以牡竹(*Dendrocalamus strictus*)成熟种子作为外植体诱导了愈伤组织,发育成胚芽,进而再生植株^[7]。1986年用绿竹(*Bambusa oldhami*)的花序通过体细胞胚胎发生的方式获得再生植株^[8]。1988至1990年间对绿竹(*B. oldhami*)进行了细胞悬浮培养和原生质体分离,并诱导原生质体产生了愈伤组织^[9-11]。1990年,用*Bambusa tulda*的无菌苗在液体培养基中获得丛生芽,继而得到再生植株,生根率达90%,移栽成活率80%以上^[12]。1990年,印度荊竹(*B. arundinacea*)、勃氏甜龙竹(*Dendrocalamus brandisii*)离体培养能不断开花并结出可育种子,当时引起了轰动^[13]。1998年用10年生*Bambusa edulis*的节诱导丛生芽获得再生植株,进一步研究发现瓶苗和移栽苗均有开花现象,植株开花后仍能继续存活^[14]。Prutpongse和Gavinlertvatana报道了15个属54种竹子的离体培养,大部分采用以芽繁芽的途径,通过愈伤组织获得再生植株的很少^[15]。1994年印度竹子信息中心(BIC)的报道表明,在东南亚至少有21个实验室从事竹子组织培养研究工作,竹子组织培养已得到了全世界广泛关注。Saxena和Dhawan建立了*Dendrocalamus strictus*完整的植株再生体系,并应用于规模化生产^[16]。Ramanayake等用70年生*Dendrocalamus giganteus*的节诱导试管开花成功,指出6-BA质量浓度在诱导营养芽和生殖芽过程中起重要作用^[17]。Sood等以*Dendrocalamus hamiltonii*嫩枝的节组织为外植体通过丛生芽和体胚发生2种途径获得了再生植株,并且发现组培再生植株在大田中的生长状况优于竹枝扦插苗^[18]。Lin等以*Bambusa edulis*的花序做为外植体研究了不同生长素对营养芽诱导率的影响并对花序营养芽的再次成花进行了研究^[19]。Kapoor和Rao用优良珍稀竹种*Bambusa bambos* var. *gigantea*的竹鞭成功诱导出了丛生芽并长出完整植株^[20]。Ramanayake成功建立了*B. vulgaris* 'Striata'的组培扩繁体系,并投入大规模生产^[21]。

我国的竹子组织培养工作开展得较晚,20世纪90年代才开始。1991年以黄竹和印度荊竹2种丛生竹的嫩节作为外植体诱导愈伤组织,最终形成完整植株^[22]。1993年通过以芽繁芽途径实现了麻竹在试管里的离体培养和快速繁殖^[23]并对麻竹愈伤组织的培养进行了研究^[24]。1994年用黄竹竹节及无菌苗根茎诱导产生愈伤组织,经悬浮培养建立了分散良好的悬浮细胞系,并经酶解后,成功获得原生质体^[25]。2000年以孝顺竹顶芽和节侧芽为外植体进行愈伤组织的诱导并建立了悬浮细胞系^[26]。2002年以金镶玉竹等11种观赏竹的嫩芽为外植体诱导丛生芽,其中平安竹等7个竹种获得了再生植株^[27]。2002年通过诱导丛生芽的途径获得龙竹和马来甜龙竹的完整植株^[28-29]。2004年在20种丛生竹的组织培养中15种得到生根小植株^[2]。2005年以毛竹(*Phyllostachys heterocycla* var. *pubescens*)春笋为培养材料研究了不同激素组合、温度及光照对愈伤组织诱导的影响^[30]。2006年探讨了麻竹组培苗工厂化生产的技术参数,完善了麻竹种苗工厂化生产技术体系,对麻竹产业化开发具有实际意义^[31]。

2 竹子组织培养技术

早期的竹子组织培养并未获得再生植株。自1982年,Metha首先用印度荊竹种子合子胚诱导胚性愈伤组织获得再生植株以来,国内外研究人员对20属以上70个以上竹种开展了组织培养研究,阐明了获得再生植株的3种途径,分析了不同因素对竹子组培中愈伤组织诱导、植株再生以及诱导生根效率的影响,建立了成熟的组织培养技术体系。

2.1 植株再生的途径

竹子通过离体培养获得再生植株有3种途径:

第1种是以秆芽、枝芽或鞭芽作为外植体,诱导产生芽和根,形成再生植株的途径。这是一个没有经过脱分化过程,而直接产生大量竹苗的繁殖方法,适用于商业化大规模生产组织培养苗。进入20世纪90年代,此种途径进展较快,但也存在以下问题:不易诱导丛生芽;丛生芽形成后长势不佳;生根诱导困难;生根诱导时常伴有大量竹苗死亡^[32]。

第2种是以成熟胚、茎尖、幼嫩的小花、再生小植株等为外植体,通过胚性愈伤组织途径,获得再生植株。在竹子组织培养中所产生的愈伤组织可分为3类:(1)柔软的,易碎的,非胚性愈伤组织,由长

表 1 国内竹类植株再生成功的竹种

序号	种名	拉丁名
1	黄竹	<i>Dendrocalamus membranaceus</i>
2	麻竹	<i>D. latiflorus</i>
3	龙竹	<i>D. giganteus</i>
4	巨龙竹	<i>D. sinicus</i>
5	马来甜龙竹	<i>D. asper</i>
6	苏麻竹	<i>D. brandisii</i>
7	花丝吊竹	<i>D. minor</i> var.
8	撑篙竹	<i>Bambusa pervariabilis</i>
9	印度荆竹	<i>B. arundinacea</i>
10	花秆小佛肚竹	<i>B. ventricosa</i> cv. Kimmei
11	孝顺竹	<i>B. multiplex</i> (lour.) Raeuschel
12	平安竹	<i>pseudosasa japonica</i> cv. Tsutsumiana
13	爬竹	<i>Drepanostachyum scandens</i>
14	香竹	<i>Chimonocalamus delicatus</i>
15	金镶玉竹	<i>Phyllostachys aureosulcata</i> f. <i>spectabilis</i>
16	菲黄竹	<i>Sasa auricoma</i>
17	菲白竹	<i>Sasa fortunei</i>
18	绿竹	<i>Dendrocalamopsis oldhami</i> (Munro) Keng f.
19	大泰竹	<i>Thyrsostachys oliveri</i>
20	元江箭竹	<i>Fargesia yuanjiangensis</i>

细胞组成,该愈伤组织可产生不定根和刚毛。(2)淡白色到淡黄色的,外形结节状的致密型胚性愈伤组织。由细胞核明显,细胞质较浓和淀粉粒丰富的小细胞组成,可再生出完整植株。(3)粘性愈伤组织,散布在易碎型或致密型愈伤组织之间。粘性愈伤组织是胚性愈伤组织,通过转变为致密型愈伤组织再生植株。由非胚性愈伤组织诱导的不定根作为外植体,先形成粘性愈伤组织,粘性愈伤组织再转化为结节状致密胚性愈伤组织^[33]。粘性愈伤组织和致密愈伤组织均具有再生胚状体的能力,而诱导致密型愈伤组织是竹类愈伤诱导实现植株再生的最佳途径。

第3种是以分离的竹子原生质体为外植体,通过悬浮培养,形成细胞团,但尚无竹子原生质体培养成再生植株的报道。

2.2 外植体

2.2.1 外植体选择 从已有的文献报道看,竹子组织培养外植体的选择范围几乎包涵了所有器官和组织:胚(embryo)、花序(inflorescence)、花药(anther)、根(root)、竹节(node)、节间(internode)、嫩枝(tender branch)、秆鞘(sheathed stem)、秆芽(bud on

stem)、枝芽(bud on branch)、茎尖(stem's tip)、种子(seed)、叶片(leaf)、胚状体(embryoid)、籽苗(seedling)、再生植株(plantlet)等。外植体类型与发育阶段是诱导胚性愈伤组织的关键。研究表明,合子胚、花序、花药、嫩茎尖和再生植株的衍生部分等容易诱导出愈伤组织继而形成再生植株,而成熟植株的根、节和叶片较难诱导愈伤组织。一般来说,幼嫩组织和胚起源的愈伤组织更易获得再生植株。由于竹子难以开花,可育种子极少,合子胚、花序、花药均不能定期取材,给外植体的选择造成困难。

2.2.2 外植体消毒 与其他植物相比,竹子外植体消毒这一环节较为困难,很难达到理想的灭菌效果。这与竹类植物的特殊形态结构有关。竹类植物的表皮细胞具有致密的乳突及较厚的角质层,乳突表面蜡质状物质及乳突间嵌附着的尘埃和各种菌类的孢子等,均阻碍了消毒液的渗透,从而影响外植体的充分灭菌^[34]。若选用秆芽、枝芽做外植体,中空坚硬的竹秆也导致外植体切割困难,细菌和真菌孢子容易从中空部位进入竹秆内部组织,造成后续污染。因此应从取材状况、消毒药液种类与剂量、消毒时间等方面综合考虑,反复试验从而获得无菌的外植体。有报道用真菌杀菌剂苯菌灵(Benomyl)和细菌杀菌剂农霉素(Agri-mycin)混合液处理 *Guadua angustifolia* 外植体,再用次氯酸钠进行消毒,效果最好^[35]。Thakur 报道了改良的外植体灭菌方法,使用多节的外植体代替传统的单节外植体灭菌,污染率明显降低,成活率显著提高^[36]。

2.3 培养基

基本培养基是影响竹子植株再生的重要因素。竹子组织培养基主要为改良 MS 培养基。Huang 和 Murashige 对诱导竹愈伤组织的有机条件进行过详尽的研究,发现肌醇(100 mg/L),维生素 B (1 mg/L)和烟酸(0.5 mg/L)最适于愈伤组织生长^[37]。也有少数学者尝试了其他培养基:Tsai 用 N6 培养基进行花药组织培养;Rao 等用 B5 培养基进行种子合子胚培养;Yeh 等使用了改良的 1/2MS 培养基^[33]。王光萍曾用 white 培养基进行了嫩芽培养。大量研究证实,MS 培养基可以作为竹类组织培养的最佳培养基。

2.4 生长调节剂与添加物

竹类组织培养广泛使用的生长素类有 2,4-D、IBA 和 NAA,细胞分裂素类为 6-BA 和 KT。最常用激素组合为 2,4-D/KT 和 NAA/6-BA。普遍认为 6-

BA 能够诱导形成丛生芽。Lin 等研究了激素对 *Bambusa edulis* 花序营养芽诱导的影响,诱导率分析结果表明 $2,4-D > NAA > IBA$ ^[19]。2,4-D 对愈伤组织的形成起重要作用,2,4-D 质量浓度在 $1 \sim 3 \text{ mg/L}$ 较为适宜,不宜低于 0.3 mg/L 或超过 10 mg/L ^[38]。通常使用 IBA 和 NAA 促进植株生根,也有报道单独使用生长素诱导生根较为困难,同时加入一定量的细胞分裂素 6-BA 能明显提高生根率^[34]。TDZ (thidiazuron) 也可显著诱导生根^[14,21]。也有报道 IAA 和香豆素 (coumarin) 配合使用,生根率可达 90% 以上^[12]。悬浮细胞对培养液中的 2,4-D 质量浓度适应范围较大,一般在 $1 \sim 10 \text{ mg/L}$ 都能正常增长,但 6 mg/L 为最好^[25]。细胞分裂素 (cytokinin) 促进开花而 NAA 抑制开花^[39]。ACC (1-amino-cyclopropane-1-carboxylic acid) 对试管成花也有促进作用^[19]。不同竹种、不同外植体材料对不同激素敏感程度不同,诱导结果也不尽相同。然而,尽管生长调节物质的使用情况复杂,也有规律可寻。生长素类物质与细胞分裂素类物质搭配使用对芽的分化和增殖效果较好,6-BA 在培养过程中存在一定程度的累积效应,过高质量浓度的细胞分裂素会抑制新芽的发生和生长,且导致培养材料变异的机率增大。应用活性炭可防止外植体产生的愈伤组织褐化,但是活性炭易抑制愈伤组织的发育,而高水平的生长调节剂能补偿活性炭所产生的副作用。也有报道在培养基中添加椰乳能促进多个竹种扩繁成功^[2]。

3 竹子组织培养应用前景

3.1 种质保存与快速繁殖

许多竹种由于过度采伐、开花周期长、种子可育率低、开花后大面积死亡现象而濒临灭绝。加强种质资源的保存和遗传多样性的保护是竹类遗传育种的基础。竹子组织培养快繁技术以其快速高效、便于操作和运输等优点,对于优良、珍稀、濒危竹种种质资源的保存与大规模扩繁起到了重要作用。在目前传统繁殖中,1 粒种子或 1 个芽只产生 1 支竹,而丛生竹 1 个芽通过组织培养 1 a 内可繁殖 1 万丛苗。麻竹、绿竹、勃氏甜龙竹和牡竹的离体快繁已应用于生产,芽每月增殖 $2 \sim 5$ 倍,生根率可达 90.3%,移栽成活率一般在 70%,最高可达 90%^[40]。建立竹子组织培养快速繁殖的生产体系,尽快达到工厂化生产水平,在短期内解决竹苗资源

短缺问题,已成为竹类研究的重要应用方向。

3.2 良种选育与遗传改良

利用偶然的开花机会进行竹子杂交育种工作虽然取得了一定进展,但是难度较大。受其生物学特性的限制,竹类遗传育种工作一直进展缓慢。愈伤组织诱导、细胞悬浮体系建立以及原生质体分离等生物技术已成为竹类遗传育种研究的良好载体。同时以试管材料进行遗传学、细胞学、抗性生理学的深入研究,可以方便地进行试验设计,较传统的田间试验大大节约人力、物力和财力,缩短试验时间,还可以减少环境因子的影响。通过细胞悬浮体系的建立,实现近缘种,甚至远缘种间原生质体融合,能够获得更具杂种优势的新品种。美国学者曾把孝顺竹细胞的悬浮液置于不同的盐溶液中,测试出那些能在高质量浓度的溶液中成活下来的细胞,由此推断出其母竹可能是一种耐盐力特别高的竹种,从而完成耐盐基因型竹种的选择^[41]。俄罗斯形态遗传学研究所的专家利用转基因技术,培育出横截面为方形的竹子,用这种竹子砌筑的墙壁能像空心砖墙壁一样,提高房屋的保温隔热性能^[42]。

3.3 离体开花诱导与成花机理研究

由于竹子开花周期长(一般 $12 \sim 120 \text{ a}$),而且近缘竹种同时开花的几率很小,因此期望自然状态下进行杂交选育新品种几乎不可能,竹种改良难以取得重要进展。利用离体操作技术诱导竹子试管开花可以克服田间杂交的种种困难,使竹子的有性杂交工作有望在试管里进行。自从 Nadgauda 等首次报道了竹子离体开花以来,国内外又有几种竹子被报道可以试管苗开花,其中 3 种能够形成种子^[43]。至今已报道试管苗开花的竹种见表 2。试管苗开花的研究使人们看到人工调控竹子开花的可能性,并大大推动了竹子育种工作的发展。充分发挥竹子组织培养在竹子生理、细胞、遗传等研究中的基础作用,有助于进一步探讨竹类开花的机理和规律,一方面可能消除竹子开花的不确定性给育种工作带来的困难,另一方面有利于竹林的开花防御。

4 思考与展望

近 20 a 来,尽管国内外竹子组织培养工作取得了长足的进展,仍然面临一系列的难点与问题:(1) 外植体来源、取材时间受限;(2) 外植体消毒灭菌困难;(3) 散生竹较丛生竹难以诱导植株再生及生根;(4) 目前尚无悬浮细胞和原生质体获得再生植株;

(5)人工诱导开花后,很难获得可育的种子;(6)组培再生植株的优良性状能否稳定遗传;(7)组培苗应用于造林是否会出现竹林早衰现象。

表 2 国内外成功诱导试管苗开花的竹种

序号	种名	拉丁名	文献
1	印度蒴竹	<i>Bambusa arundinacea</i>	Nadganda et al, 1990 ^[13] ; Ansari et al., 1996 ^[44]
2	乌脚绿竹	<i>B. edulis</i>	Lin et al, 2003 ^[39] ; Lin et al, 2004 ^[45]
3	佛肚竹	<i>B. ventricosa</i>	Gielis, 1995 ^[46] ; Gielis et al, 1997 ^[47]
4	龙头竹	<i>B. vulgaris</i>	Rout and Das, 1994 ^[48]
5	勃氏甜龙竹	<i>Dendrocalamus brandisii</i>	Nadgauda et al, 1990 ^[13]
6	龙竹	<i>D. giganteus</i>	Rout and Das, 1994 ^[48]
7	版纳甜龙竹	<i>D. hamiltonii</i>	Chambers et al, 1991 ^[49]
8	牡竹	<i>D. strictus</i>	Nadgauda et al, 1990 ^[13] ; Rao and Rao, 1990 ^[50]
9	麻竹	<i>D. latiflorus</i>	张光楚等, 1993 ^[23]
10	水竹	<i>Phyllostachys heteroclada</i>	王光萍等, 2005 ^[34]

随着竹类组织培养研究的深入,对于以上难点和问题竹类工作者一定可以找到更好的解决途径,给出明确的解释。显然今后一段时期内的主要研究将集中在以下几个方面:(1)对于组培扩繁技术较为成熟的丛生竹,着重解决规模化生产的关键问题,如缩短培养周期、降低生产成本、维持优良性状的遗传稳定性、防止竹苗品质退化;(2)重视散生竹愈伤组织、胚状体、生根诱导的机理研究,建立散生竹组培扩繁技术体系;(3)充分发挥组织培养在生理、细胞、遗传等研究中的基础作用,结合现代生物技术与传统育种手段,推动竹子遗传育种快速发展;(4)深入研究试管苗开花的调节和控制,此项研究的突破将对明确竹林成片开花和死亡的原因以及人工种子的获得具有重要意义。

参考文献:

[1] 刘道平. 中国竹业发展现状及展望 [J]. 科学中国人, 2005 (10): 7-9.
[2] 张光楚,王裕霞,谭源杰,等. 丛生竹的组培快繁技术 [J]. 竹子研究汇刊, 2004, 23 (1): 13-20.
[3] Alexander M P and Rao T C. In vitro culture of bamboo embryos [J]. Cur Sci, 1968, 37: 415-417.

[4] Tseng T C, Liu D F, Shaio S Y. Isolation of protoplasts from crop plants [J]. Bot Bull Acad Sin, 1975, 16: 55-60.
[5] Metha U I, Rao V R, Mohan Ram H Y. Somatic embryogenesis in bamboo [J]. In Proc V International Congress of Plant Tissue & Cell Culture, 1982: 109-110.
[6] Huang L C, Murashige T. Tissue culture investigation of bamboo I. Callus cultures of bambusa, Phyllostachys and Sasa [J]. Bot Bull Acad Sin, 1983, 24: 31-52.
[7] Rao I U, Rao I V R, Narang V. Somatic embryogenesis and regeneration of plants in the bamboo [J]. Plant Cell Reports, 1985, 4: 191-194.
[8] Yeh M I, Chang W C. Somatic embryogenesis and subsequent plant regeneration from inflorescence of bambusa beecheyana Munro var. beecheyana [J]. Plant Cell Reports, 1986, 5: 409-411.
[9] Huang L C, Chen W I, Huang B I. Tissue culture investigations of bamboo II. Liquid suspension cultures of bambusa, Phyllostachys and Sasa cells [J]. Bot Bull Acad Sin, 1988, 29: 177-182.
[10] Huang L C, Huang B I, Chen W I. Tissue culture investigations of bamboo IV. Organogenesis leading to adventitious shoots and plants in excised shoot apices [J]. In vitro mental and Experimental Botany, 1989, 29: 307-315.
[11] Huang L C, Huang B I, Chen W I. Tissue culture investigation of bamboo V. Recovery of callus from protoplasts of suspension -cultured bambusa cells [J]. Bot Bull Acad Sin, 1990, 31: 29-34.
[12] Saxena S In vitro propagation of the bamboo (*Bambusa tulda* Roxb.) through shoot proliferation [J]. Plant Cell Reports, 1990, 9(8): 431-434.
[13] Nadgauda R S, Parasharami V A, Mascarenhas A F. Precocious flowering and seeding behavior in tissue cultured bamboos [J]. Nature, 1990, 344: 335-336.
[14] Lin C S, Chang W C. Micropropagation of Bambusa edulis through nodal explants of field-grown culms and flowering of regenerated plantlets [J]. Plant cell Reports, 1998, 17(8): 617-620.
[15] Prutpongse P, Gavinlertvatana P. In vitro micropropagation of 54 species from 15 genera of bamboo [J]. Hort Science, 1992, 27 (5): 453-454.
[16] Saxena S, Dhawan V. Regeneration and large-scale propagation of bamboo (*Dendrocalamus strictus* Nees) through somatic embryogenesis [J]. plant cell reports, 1999, 18(5): 438-443.
[17] Ramanayake S M S D, Wanniarachchi W A V R, Tennakoon T M A. Axillary shoot proliferation and in vitro flowering in an adult giant bamboo, *Dendrocalamus giganteus* Wall. Ex Munro [J]. In Vitro Celluar & Developmental Biology-Plant, 2001, 37 (5): 667-671.
[18] Sood A, Ahuja P S, Sharma M, Sharma O P, Godbole S. In vitro protocols and field performance of elites of an important bamboo *Dendrocalamus hamiltonii* Nees et Arn. Ex Munro [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2002, 71: 55-63.
[19] Lin C S, Lin C C, Chang W C. Shoot regeneration, re-flowering and post flowering survival in bamboo inflorescence culture [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2005, 82(3): 243-249.

- [20] Kapoor P, Rao I U. In vitro rhizome induction and plantlet formation from multiple shoots in *Bambusa bambos* var. *gigantea* Bennet and Gaur by using growth regulators and sucrose [J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2006, 85: 211-217.
- [21] Ramanayake S M S D, Meemaduma V N, Weerawardene T E. In vitro shoot proliferation and enhancement of rooting for the large-scale propagation of yellow bamboo (*Bambusa vulgaris* 'Striata') [J]. *Scientia Horticulture*, 2006, 110: 109-113.
- [22] 阙国宁, 诸葛强. 竹子愈伤组织培养与植株再生 [J]. 竹子研究汇刊, 1991, 10(4): 79-80.
- [23] 张光楚, 陈富枢, 王裕霞. 麻竹离体快速繁殖技术的研究 [J]. 竹子研究汇刊, 1993, 12(4): 7-15.
- [24] 马艳梅, 何远康, 何琼英, 等. 麻竹愈伤组织的诱导培养 [J]. 华南农业大学学报, 1993, 14(3): 131-140.
- [25] 阙国宁, 诸葛强. 黄竹细胞悬浮培养和原生质体分离 [J]. 林业科学研究, 1994, 7(1): 44-47.
- [26] 吴益民, 边红武, 王君晖. 竹子悬浮细胞系的建立和组织培养试管苗移栽观察 [J]. 竹子研究汇刊, 2000, 19(1): 52-55.
- [27] 王光萍, 丁雨龙. 几种观赏竹种组织培养研究 [J]. 竹子研究汇刊, 2002, 21(2): 5-9.
- [28] 杨本鹏, 咎丽梅. 龙竹的组织培养 [J]. 热带作物学报, 2003, 24(3): 82-87.
- [29] 潘学峰, 庄 伟, 关朝优, 等. 马来甜龙竹组培快繁技术研究 [J]. 贵州科学, 2003, 21(4): 81-84.
- [30] 周 宏, 何 钢. 毛竹愈伤组织培养研究 [J]. 湖南林业科技, 2005, 32(4): 41-42.
- [31] 何凤发, 倪 成, 汪小华, 等. 麻竹种苗工厂化生产的技术体系 [J]. 林业科学, 2006, 42(4): 122-125.
- [32] 张光楚, 王裕霞, 谭源杰, 等. 竹子育种工作现状及前景 [J]. 竹子研究汇刊, 1998, 17(1): 6-9.
- [33] 吴益民. 当前竹子的组织培养和植株再生研究 [J]. 竹子研究汇刊, 1999, 18(1): 32-37.
- [34] 王光萍, 丁雨龙, 黄敏仁, 等. 观赏竹的试管快繁研究 [J]. 林业科学, 2005, 41(5): 51-56.
- [35] Jiménez V M, Castillo J, Tavares E, Guevara E, Montiel M. In vitro propagation of the neotropical giant bamboo, *Guadua angustifolia* Kunth, through axillary shoot proliferation [J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2006, 86(3): 389-395.
- [36] Thakur R, Sood A. An efficient method for explant sterilization for reduced contamination [J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2006, 84: 369-371.
- [37] 朱 红. 国外竹子组织培养研究的现状与前景 [J]. 竹子研究汇刊, 1992, 11(1): 67-74.
- [38] 王敬文, 蒋 晶. 竹子的离体培养研究 [J]. 林业科学研究, 1998, 11(6): 640-646.
- [39] Lin C S, Lin C C, Chang W C. In vitro flowering of *Bambusa edulis* and subsequent plantlet survival [J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2003, 72: 71-78.
- [40] 汪奎宏, 华锡奇, 童晓青. 生物技术在竹类植物上的应用进展与前景 [J]. 竹子研究汇刊, 2002, 21(4): 39-41.
- [41] 张春霞, 谢寅峰, 张幼法, 等. 竹子组织培养研究的进展及应用前景 [J]. 竹子研究汇刊, 1999, 18(3): 46-49.
- [42] 楼一平. 竹子: 非草非木的传奇 [J]. 中国国家地理, 2004(3): 98-106.
- [43] 江泽慧. 世界竹藤 [M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 2002.
- [44] Ansari S A, Kumar S, Palaniswamy K. Peroxidase activity in relation to *in vitro* rhizogenesis and precocious flowering in bamboos [J]. *Curt Sci*, 1996, 71: 358-359.
- [45] Lin C S, Lin C C, Chang W C. Effect of thidiazuron on vegetative tissue-derived somatic embryogenesis and flowering of bamboo *Bambusa edulis* [J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2004, 76: 75-82.
- [46] Gielis J. Bamboo biotechnology [J]. *Eur Bamboo Sac J*, 1995, 6: 27-39.
- [47] Gielis J, Goetghebeur P, Debergh P. Morphological and biochemical aspects of flowering in bamboos-the development of model systems. In: Chapman, G. P. ed. *The bamboos* [M]. London: Published for the Linnean Society of London by Academic Press, 1997: 178-186.
- [48] Rout G R, Das E. Somatic embryogenesis and *in vitro* flowering of 3 species of bamboo [J]. *Plant Cell Rep*, 1994, 13: 683-686.
- [49] Chambers S M, Heuch J H R, Piffle, A. Micropropagation and *in vitro* flowering of the bamboo *Dendrocalamus hamiltonii* Munro [J]. *Plant Cell Tissue Organ Cult*, 1991, 27: 45-49.
- [50] Rao I V R, Rao I U. Mass propagation of bamboos from somatic embryos and their successful transfer to the forest. In: Rao I V R, Ganaharan B, Sastry C B, ed. *Bamboos Current Research* [M]. Kerala Forest Research Institute, Peechi. India and International Development Research Centre. Ottawa, Canada, 1990: 151-158.