

第三届中国竹业学术大会

2007' International Bamboo Workshop

论文集

浙江临安·浙江林学院



中国林学会竹子分会

二〇〇七年十一月

目 录

第一部分 竹子生物学基础.....	1
1. 丛生观赏竹组培微繁殖与诱变的初步研究.....	2
2. 金丝慈竹愈伤组织培养及植株再生的初步研究	8
3. 沿海沙地吊丝竹林植株养分分布特征研究.....	15
4. 沿海沙地小叶龙竹林凋落物分解及养分归还动态.....	22
5. 竹笋蛋白质双向电泳的初步研究	27
6. 厚壁毛竹与毛竹叶绿素荧光动力学参数的比较初探.....	30
7. 利用 <i>acgm</i> 分子标记研究毛竹不同栽培类型的遗传多样性.....	35
8. <i>Iron and aluminum forms in moso-bamboo soils under different culture managements</i>	41
9. <i>Distribution and diversity of pif-like transposable elements in bambusoideae subfamily</i> ...	46
10. <i>Short-term influence of a bamboo plantation on soil properties shifted from paddy soils</i> ..	59
11. <i>Bamboo vinegar as potential plant growth regulator in stimulating effect: the bioactivity laboratory screening and the field investigation</i>	65
12. 竹林土壤微生物总 <i>dna</i> 提取方法研究.....	71
13. 中国竹类害虫.....	76
14. <i>Changes in chemical characteristics of bamboo (phyllostachys pubescens) components during steam explosion</i>	80
15. 粉单竹材性的地理变异与优良纸浆材产地初选	90
16. <i>Geographic variations of bamboo timber properties and optimum provenance selection for pulp bamboo on bambusa chungii</i>	100
17. 毛竹“韧皮部结”发育过程中 ca^{2+} 的超微细胞化学定位研究	112
18. <i>Ultracytochemical localization of ca^{2+} during the phloem ganglion development in phyllostachys edulis</i>	112
19. 安吉毛竹林提高抗旱能力刍议	120
20. <i>Ggr</i> 对毛竹生长的应用效果	124
21. <i>Nutritional composition and its variation of a rare and endemic bamboo shoots of qiongzhuea tumidinoda</i>	127
22. 低温胁迫下 4 种地被竹 4 个生理指标的变化研究	135
23. 低温胁迫对部分丛生竹种质膜极性脂肪酸组分的影响	140
24. 竹子花发育相关基因 <i>bomads1</i> 的克隆及其功能初步预测	151
25. 短穗竹丛枝病病原的形态学及分子鉴定	156
26. 异叶苦竹小孢子发生及雄配子体发育的研究	164
27. 竹类植物根压的调查.....	170
第二部分 竹林培育与生态保护	176
28. 利用麻竹笋加工废弃物为原料在麻竹林下栽培蘑菇试验初报	177
29. 石竹材材质变异规律的研究.....	182
30. 小佛肚竹秆形变异规律的研究	186
31. 浙江安吉毛竹新变型.....	191
32. 观赏竹种引种与栽培初探	192

33.	合江方竹地下茎生长规律研究.....	196
34.	江西毛竹表型特征地理变异研究.....	204
35.	人为干扰对箬竹无性系种群退化的影响.....	210
36.	生物技术在竹藤资源利用中的应用前景分析.....	216
37.	川西林盘造景植物选择研究与发展初探.....	221
38.	工艺利用紫竹林分生长的立地条件研究.....	228
39.	海子坪天然方竹无性系种群结构研究.....	233
40.	海子坪天然毛竹无性系种群根系吸收能力初探.....	237
41.	海子坪天然毛竹无性系种群生长规律研究.....	241
42.	料慈竹种子播种品质的研究.....	248
43.	梁山慈秆形结构的初步研究.....	252
44.	Co ₂ 浓度倍增下毛竹光合作用对光照强度的季节响应*.....	255
45.	方竹的栽培管理与利用.....	260
46.	Recent situation and control of bamboo diseases in china	263
47.	浅谈笋竹两用毛竹丰产林培育技术.....	269
48.	不同地理种源绿竹栽培类型比较研究.....	272
49.	竹林土壤特性空间变异的研究进展.....	277
第三部分 竹子加工与利用.....		282
50.	毛竹不同种源竹材物理力学性质初步研究.....	283
51.	竹材的燃烧性能研究.....	290
52.	竹笋加工剩余物膳食纤维不同提取方法比较.....	303
53.	32mm 竹帘胶合车箱底板密度与强度的优化研究(i)	307
54.	32mm 竹帘胶合车箱底板密度与强度的优化研究(ii)	322
55.	不同催化剂条件竹材液化反应动力学研究.....	331
56.	不同竹种竹醋液理化性能和组成研究.....	336
57.	竹地板用环保型脲醛树脂的研制.....	340
58.	漆酶活化处理条件对竹材自由基变化的影响.....	344
59.	生物质材料热解及液化国内外研究现状.....	351
60.	竹炭红外辐射特性的研究.....	357
61.	Research on the characteristic of bamboo thermal decomposition with different chemical additives	362
62.	竹炭处理含 hg ²⁺ 饮用水的研究.....	368
63.	竹质建筑装饰构件应用研究.....	376
64.	大幅面刨切微薄竹生产工艺研究.....	383
65.	竹材动态弹性模量无损检测的一种新方法.....	388
66.	Study on manufacture technology of bamboo veneer	393
67.	不同胶粘剂胶合的竹炭复合板材微观结构及其性能的差异分析.....	401
68.	亲水性凝胶在竹醋液中溶胀度的初步研究.....	411
69.	四川慈竹和硬头黄木质素含量及 g 与 s 比值的研究.....	414
第四部分 社会经济、政策与思考.....		419
70.	富阳林业现代化之毛竹产业的战略研究与发展对策.....	420
71.	广西田林县竹产业与农户收入变化.....	424

72.	加工拉动产业发展, 合作带动农民致富 炎陵中冠公司笋竹产业与农民互动“双赢”	430
73.	竹林生态旅游的功能与效益.....	431
74.	Extent and distribution of bamboo in india	434
75.	论竹子的审美价值及美学特征	443
76.	以竹子产业作为发展契机 加快重庆林业生态经济可持续发展.....	449
77.	Bamboo and forest resources' contribution to sustainable development in anji county ...	453
78.	绥宁县竹产业的现状与存在的问题及对策.....	463
79.	越南竹产业现状问题及发展对策	466
80.	竹林旅游地社区居民对旅游影响的感知及分类研究.....	470
81.	浅谈安吉竹文化.....	475
82.	安化县竹产业现状与发展对策探讨.....	479
83.	搞好竹山道路建设 促进竹产业快速发展.....	482
84.	湖南竹产业现状与发展对策.....	485
85.	着力推进产业发展, 构建武夷新竹都.....	489
86.	毛竹主要病害在武夷山市发生情况及治理对策	492
87.	宁海县竹业现状及对策.....	494
	第五部分 摘要	498
88.	Biotechnology in vitro and agricultural production of bamboos	499
89.	Preservative treatment of strips of bambusa balcooa by soaking process using borax-boric acid.	501
90.	Preservative treatment of strips of bambusa balcooa by soaking process using borax-boric acid	501
91.	Analysis of the giant dragon bamboo cultural phenomena in the wa tribal society from the perspective of ecological culture	502
92.	不同经营类型毛竹林土壤有机碳的动态变化.....	503
93.	Rapd and issr analysis of genetic relationships in bambusa rigida from the seven different regions of si chuan province	503
94.	Assessment of genetic diversity in neosinocalamus affin from the 12 different region of si chuan province detected by rapds and issrs	504
95.	Longitudinal mechanical variation of mature bamboo fibers investigated with in-situ imaging nanoindentation	504
96.	Distributional pattern and biogeographical analysis of the genus chimonobambusa	505
97.	方竹属植物的地理分布格局及其生物地理学审视.....	505
98.	The sap flow of bamboo growth	506
99.	Oxythenanthera abyssinica a valuable lowland shrub species: constraints and opportunities for low-income farmers	506

第一部分 竹子生物学基础

Part I Biological Basis Of Bamboo

丛生观赏竹组培微繁殖与诱变的初步研究

王裕霞¹ 曾庆圣² 陈远玲³ 罗建群⁴ 陈凤如³

(1. 广东林业科学研究院 广东 广州 510520; 2. 广东省林业种苗与基地总站; 3. 广州华南农业大学;

4. 广州富韵竹园林绿化工程有限公司)

摘 要 以丛生观赏竹马来甜龙竹、撑绿竹、花吊丝竹、黄金间碧玉竹、青丝金竹、花孝顺竹、银丝竹、花秆小佛肚竹、金叶马来甜龙竹为材料进行了丛生芽增殖生根及愈伤组织增殖分化两种再生途径的微繁殖试验, 考察了多个竹种在此两种培养途径下诱导、增殖、生根(分化)、褐化、变异的情况, 并进行了无菌微环境下秋水仙素芽诱变试验。试验表明, 各竹种芽增殖及生根能力有显著差别, 受到竹种竹叶、竹秆颜色的一定影响。叶、秆均较绿色的撑绿竹、马来甜龙竹、花吊丝竹芽增殖及生根能力较强, 撑绿竹芽增殖系数接近 5 倍, 生根率达 93%。所有竹种均能产生愈伤组织, 诱导率大多在 80% 以上, 撑绿竹为 100%。愈伤组织普遍严重褐化, 除撑绿竹褐化率 26.7%, 花吊丝竹 76.7% 外, 其他竹种几乎全部褐化死亡。撑绿竹通过愈伤组织增殖、分化途径获得了高效的植株再生。马来甜龙竹、撑绿竹在芽增殖中自然芽变概率约 0.2%, 对撑绿竹进行秋水仙素芽诱变明显提高了变异率。马来甜龙竹的自然花叶变异植株经圃地培育形成了稳定的金色叶片变异无性系。

关键词 丛生竹 观赏竹 组织培养 微型繁殖 无菌微环境诱变育种

The Primary Study on Micropropagation and Mutation Induction of Sympodial Ornamental Bamboos

WANG Yu-xia¹, ZENG Qing-sheng², CHEN Yuan-ling³, LUO Jian-qun⁴, CHEN Feng-ru³

(1 Guangdong Forest Research Institute; Guangzhou 510520; 2 Forestry Sapling and Base Management Station of Guangdong, 3 College of Life Science, South China Agric. Univ., 4 Guangzhou Fu-yun-zhu landscaping Ltd. Co.)

Abstract: 9 sympodial bamboo species were used as material to study their Micropropagation by the two Regeneration ways of clustered sprout and callus culture, these species are: *Dendrocalamus asper* (J. A. et T. H. Schult) Bacher ex Heyne, *Bambusa pervariabilis* McClure × *Dendrocalamopsis daii* Keng f., *D. minor* var. *amoenus* (Q. H. Dai et C. F. Huang) Hsueh et Li, *B. vulgaris* cv. *Vittata*, *B. eutuldoides* var. *viridi-vittata* (W. T. Lin) Chia, *B. multiplex* cv. *Alphonse-Karr*, *B. multiplex* cv. *Silverstripe*, *B. ventricosa* cv., *Dendrocalamus asper* cv.. The situations were investigated on the induction, proliferation, rooting (differentiation) browning and mutation of clustered sprouts and calli. A tests was taken on shoot mutation induced by colchicine *in vitro* as well. Results showed: The abilities of proliferating and rooting of clustered sprouts were diverse among the species, which were affected by the color of the culms and leaves of bamboos. *D. asper*, *B. pervariabilis* × *D. daii* and *D. minor* var. *amoenus* whose culms and leaves are more green represented better clustered sprout proliferating and rooting, comparing with the other species whose culms or leaves inlayed with yellow or silver color. The proliferation quotiety of the shoot of *B. pervariabilis* × *D. daii* could get to 5 monthly and the rooting rate could be 93%. All the species grew calli and the induction percentage were over 80%, with 100% in *B. pervariabilis* × *D. daii*. The brown stains were popular in the calli of all the bamboos. The browning percentage of the calli were 100% of all species except for 26.7% of *B. pervariabilis* × *D. daii* and 76.7% of *D. minor* var. *amoenus*. Highly efficient regeneration were gained from the callus culturing of *B. pervariabilis* × *D. daii*. The natural mutation rate of the shoot of *D. asper* and *B. pervariabilis* × *D. daii* was 0.2 % in proliferating culture. Treatment with colchicine resulted in higher mutation rate of 26.7% in shoots of *B. pervariabilis* × *D. daii*. The variation clone of golden leaves was obtained from the natural mutation of *D. asper* by growing and propagation *in vivo*.

Key words: sympodial bamboo; ornamental bamboo; tissue culture; micropropagation; shoot mutation breeding *in vitro*

竹类植物自然开花周期长, 其不易开花结实及种子可育程度低的特性是常规育种手段难于克服的障碍。开发应用现代生物技术方法, 是竹类遗传改良与育种的新趋势。应用组织培养微环境, 进行麻竹无性系及撑版杂种的选育与快速繁殖已取得一定进展^[1-3]。本文进行丛生观赏竹组织培养微繁殖技术及无菌微环境下秋水仙素诱变的研究, 旨在探索竹类在无菌微环境下的繁殖与诱变育种技术, 为丛生竹及观赏竹育种开辟一条新途径。

¹ 作者简介: 王裕霞 (1966-), 女, 广东梅州人, 副研究员, 从事竹类植物组织培养、栽培与育种工作, 近年来承担观赏竹与造林竹种开发技术研究项目多项。E-mail: wangyx.bamboo@tom.com

1 试验材料与方法

1.1 试验竹种与试材

以马来甜龙竹 (*Dendrocalamus asper* (J. A. et T. H. Schult) Bacher ex Heyne)、撑绿竹 (*Bambusa pervariabilis* McClure $\times$ *Dendrocalamopsis daii* Keng f.)、花吊丝竹 (*D. minor* var. *amoenus* (Q. H. Dai et C. F. Huang) Hsueh et Li)、黄金间碧玉竹 (*B. vulgaris* cv. *Vittata*)、青丝金竹 (*B. eutuldoides* var. *viridi-vittata* (W. T. Lin) Chia)、花孝顺竹 (*B. multiplex* cv. *Alphonse-Karr*)、银丝竹 (*B. multiplex* cv. *Silverstripe*)、花秆小佛肚竹 (*B. ventricosa* cv.)、金叶马来甜龙竹 (*Dendrocalamus asper* cv.) 为试验竹种, 各竹种均是成年竹, 除撑绿竹外, 系统发育年龄均不详。其中马来甜龙竹来自印度尼西亚种源, 花秆小佛肚竹是小佛肚竹 (*B. McClure*) 的种色变异无性系, 金叶马来甜龙是马来甜龙的叶色变异无性系。取各竹种休眠节芽通过无菌培养促进萌发, 以获得的无菌芽作试材。

1.2 丛生芽增殖生根培养途径繁殖试验

取无菌节芽进行丛生芽诱导、增殖、生根各阶段的培养试验, 生根小苗经炼苗后移栽至圃地。

采用 MS, 1/2MS, 1/3MS (大量元素分别为 MS 培养基中大量元素的全量、1/2 量、1/3 量) 作基本培养基, 微量元素、铁盐、维生素、有机物均按 MS 培养基, 并添加不同种类和浓度的细胞分裂素 (6-BA 及 KT) 和生长素 (NAA 及 IBA)。Ph 值 5.8~6.0, 培养温度为 $26 \pm 3^\circ\text{C}$ 。每天人工辅助光照 10h, 光照强度 1500~2000LX。

1.3 愈伤组织增殖分化培养途径繁殖试验

取无菌节芽进行愈伤组织诱导、增殖、分化各阶段的培养试验, 生根小苗经炼苗后移栽至圃地。

采用 MS, 3/4MS 作基本培养基, 微量元素、铁盐、维生素、有机物均按 MS 培养基, 并添加不同种类和浓度的细胞分裂素 (6-BA) 和生长素 (2, 4-D 及 NAA)。Ph 值 5.8~6.0, 培养温度为 $26 \pm 3^\circ\text{C}$ 。愈伤组织诱导和继代增殖培养在黑暗下进行, 分化和植株再生培养在光照条件下进行, 每天人工辅助光照 12 h, 光强为 2000 LX。

1.4 秋水仙素诱变处理

无菌环境下用 0.02%秋水仙素浸泡嫩芽 12 及 24 小时, 以无菌水浸泡作为对照。处理完后进行芽的继代增殖培养筛选变异植株。培养基 Ph 值 5.8~6.0, 培养温度为 $26 \pm 3^\circ\text{C}$ 。每天人工辅助光照 10h, 光照强度 1500~2000LX。

2 结果与分析

2.1 丛生芽增殖生根途径

2.1.1 丛生芽诱导

取各供试竹种的无菌节芽培养于芽诱导培养基中诱导丛生芽。

芽诱导培养基为: MS + BA 4.5mg/L + sucrose 20g/L + Agar 7.5g/L。每竹种接种 100 芽。1 周后节芽开始分蘖形成丛生芽。分别在诱导培养 2、4、6、8、10 周后调查丛生芽形成结果 (表 1)。从表 1 可以看出, 所有竹种在培养中均有丛生芽产生, 大部分的竹种出现节芽褐化死亡现象。马来甜龙竹、撑绿竹形成丛生芽的能力最强, 8 至 10 周内形成丛生芽的百分率接近 100%, 花吊丝竹亦具有较强的丛生芽形成能力, 而黄金间碧玉竹、银丝竹、金叶马来甜龙竹形成丛生芽的能力最弱; 相反, 黄金间碧玉竹、银丝竹、金叶马来甜龙竹褐死率最高, 而马来甜龙竹、撑绿竹则基本未见节芽褐化死亡。

2.1.2 丛生芽增殖

各竹种获得丛生芽后, 将丛生芽反复分切接种于芽增殖培养基进行增殖培养。

表1 不同竹种节芽培养形成丛生芽的百分率与褐死率

竹种	节芽形成丛生芽的百分率%					节芽褐死率%
	培养时间(周): 2	4	6	8	10	10
马来甜龙竹	22.0	41.0	73.0	96.0	98.0	1.0
撑绿竹	25.0	58.0	82.0	98.0	100.0	0.0
花吊丝竹	11.0	23.0	55.0	75.0	80.0	18.0
黄金间碧玉竹	0.0	3.0	7.0	11.0	15.0	82.0
青丝金竹	0.0	4.0	14.0	21.0	30.0	66.0
花孝顺竹	0.0	5.0	17.0	20.0	33.0	64.0
银丝竹	0.0	0.0	2.0	7.0	16.0	83.0
花秆小佛肚竹	0.0	7.0	15.0	27.0	36.0	62.0
金叶马来甜龙竹	0.0	0.0	3.0	9.0	14.0	92.0
平均值	6.4	15.7	29.8	40.4	46.8	

试验培养基为: MS + BA 3.5mg/L + KT 1.0mg/L + sucrose 20g/L + Agar 7.5g/L。以 25 天为一个周期, 试验共继代 4 个周期, 每周每处理接种 50 丛芽。每周均统计芽的增殖系数(芽增殖系数=增殖培养后芽的数量/接种芽的数量)并观察褐化情况(表 2)。

表2 不同竹种芽增殖系数

继代周期	竹 种								
	马来甜龙竹	撑绿竹	花吊丝竹	黄金间碧玉竹	青丝金竹	花孝顺竹	银丝竹	花秆小佛肚竹	金叶马来甜龙竹
1	1.90	2.16	1.76	1.06	1.10	1.10	1.08	1.16	1.15
2	1.98	2.80	1.96	1.14	1.20	1.18	1.12	1.30	1.16
3	2.56	3.66	2.28	1.26	1.32	1.36	1.16	1.44	1.23
4	3.10	4.98	2.78	1.30	1.40	1.44	1.22	1.48	1.25
平均值	2.39	3.4	2.19	1.19	1.26	1.27	1.15	1.35	1.20
褐化程度	++	+	++	+++++	++++	++++	+++++	+++	+++++

表 2 中结果表明, 各竹种芽繁殖能力差别较大, 4 个周期的芽增殖系数平均值撑绿竹最高, 为 3.4, 其次是马来甜龙竹和花吊丝竹, 黄金间碧玉竹、银丝竹及金叶马来甜龙竹较低。各竹种均表现出褐化, 但程度有所不同, 黄金间碧玉竹、银丝竹及金叶马来甜龙竹褐化最严重, 撑绿竹最轻, 马来甜龙竹、花吊丝竹较轻。竹种的叶片及竹秆颜色与褐化程度密切相关, 金银色叶片的银丝竹、金叶马来甜龙竹及金银色竹秆的黄金间碧玉竹、青丝金竹、花孝顺竹褐化较严重, 同时其增殖系数亦较低。所有竹种的增殖速度均随继代次数的增加而增加, 在第 4 周期, 撑绿竹芽繁殖系数为 4.98, 达最高值。

2.1.3 丛生芽生根

马来甜龙竹、撑绿竹、花吊丝竹经分生增殖获得的丛生芽接种在生根培养基上, 10 天时间内可开始生根长成带根小苗。

对比试验处理为: 基本培养基为 1/3MS, 1/2 MS, NAA 和 IBA 均分别以 1.0、2.5mg/L 各 2 种浓度添加, 配得 8 个处理(表 3)。每处理接种 100 丛芽, 于培养 4 周时调查生根情况。

从表 3 看出, 8 个处理均能诱导丛生芽生根, 其中以 1/3MS+NAA2.5 mg/L +IBA 2.5mg/L

处理的生根效果最好, 三个竹种均获得了所有处理中的最高生根率, 分别为马来甜龙竹 89.0%、撑绿竹 93.0%和花吊丝竹 73.0%。三个竹种中撑绿竹与马来甜龙竹生根能力较强, 花吊丝竹较差。

表3 不同浓度基本培养基与生长素处理中马来甜龙竹、撑绿竹、花吊丝竹丛生芽生根率 / %

处理	基本培养基	NAA(mg/L)浓度	IBA(mg/L)浓度	马来甜龙竹	撑绿竹	花吊丝竹	平均值
1	1/3 MS	1.0	1.0	38.0	43.0	24.0	35.0
2	1/3 MS	1.0	2.5	69.0	75.0	48.0	64.0
3	1/3 MS	2.5	1.0	73.0	70.0	53.0	65.3
4	1/3MS	2.5	2.5	89.0	93.0	73.0	85.0
5	1/2 MS	1.0	1.0	33.0	39.0	29.0	33.7
6	1/2 MS	1.0	2.5	60.0	67.0	45.0	57.3
7	1/2 MS	2.5	1.0	69.0	72.0	50.0	63.7
8	1/2 MS	2.5	2.5	84.0	91.0	70.0	81.7
平均值				64.4	68.8	49.0	60.7

2.1.5 小苗移栽

带根的小苗经过畅瓶炼苗一周, 然后移栽至沙床沙培 6 周, 期间的前 20 天内视天气情况注意保温、保湿与防虫防病, 待小苗发新笋后再移植至苗圃。用此方法移栽马来甜龙竹、撑绿竹、花吊丝竹小苗各 1000 丛, 成活率分别为 81.6%、91.0%与 80.2%, 达到了较理想的效果。

2.1.6 变异调查

马来甜龙竹、撑绿竹、花吊丝竹在连续增殖培养过程中, 均会偶然出现花叶变异现象。对两年时间内培养出现的花叶变异现象进行统计, 发现马来甜龙竹、撑绿竹的变异率约为 0.2%, 花吊丝竹的变异率约为 0.5%。这些变异很不稳定, 在进一步培养过程中一般均会消失。

马来甜龙竹、撑绿竹的花叶变异丛生芽经生根并移栽至圃地种植, 获得了金色叶片的马来甜龙竹 1 株、花叶的撑绿竹变异植株 1 株。其中金叶马来甜龙竹性状稳定、生长正常, 一年生植株高达 3 米、萌新竹 4 株, 经无性繁殖获得的多丛新生植株与母株性状保持完全一致, 得到了稳定的变异无性系。

2.2 愈伤组织增殖分化途径

2.2.1 愈伤组织诱导培养

取各供试竹种的无菌节芽接种于愈伤组织诱导培养基中诱导愈伤组织。

试验培养基为: MS +2, 4-D 2.0mg/L+CH(Casein hydrolysate)500mg/L +Gln (Glutamine) 500mg/L +sucrose 30g/L +Agar 8g/L。

每竹种接种 30 芽。10 天后节芽基部开始膨胀长出愈伤组织。在诱导培养 4 周后分别调查愈伤组织诱导率、褐化率及生长状态与类型情况 (表 4)。诱导率% = 诱导出愈伤组织的芽数/接种芽总数×100。

表4 不同竹种愈伤组织诱导培养效果

	马来甜龙竹	撑绿竹	花吊丝竹	黄金间碧玉竹	青丝金竹	花孝顺竹	银丝竹	花秆小佛肚竹	金叶马来甜龙竹
诱导率 (%)	90	100	93.3	76.7	80	93.3	63.3	80	70
褐化率 (%)	93.3	26.7	76.7	100	100	100	100	100	100
愈伤组织结构	松散、致密	致密、松散	致密、松散	松散	松散	松散、致密	松散	松散	松散

从表 4 可以看出, 所有竹种的外植体均大部分能产生愈伤组织, 诱导率大多在 80%以上, 撑绿竹为 100%。各竹种的愈伤组织普遍严重褐化, 除撑绿竹褐化率 26.7%, 花吊丝竹 76.7%外, 其他竹种几乎全部褐化死亡。初期获得的愈伤组织, 从状态上可以分成三类: ①柔软易碎的松散型愈伤组织; ②淡黄白

色结节状的致密型愈伤组织；③粘性褐色的粘褐型愈伤组织。大多数竹种只长出松散型愈伤组织，撑绿竹、花吊丝竹产生致密型多些，撑绿竹还长出少量粘褐型愈伤组织。

2.2.2 撑绿竹愈伤组织继代增殖与分化植株再生

2.2.2.1 撑绿竹愈伤组织继代增殖培养的 2, 4-D 浓度试验

将撑绿竹愈伤组织继代于增殖培养基。

试验培养基为：MS + 2, 4-D（梯度浓度处理）+CH500 mg/L + Gln500 mg/L + sucrose 30 g/L + Agar 8g/L，加入 5 种不同浓度的 2, 4-D：1、3、6、9、12mg/L。每处理 3 瓶，每瓶接种 10 块愈伤组织，初始接种重量为每瓶 0.24 克，重复 2 次。

25 天后对各处理的愈伤组织进行称量，以增重为指标对不同处理的愈伤组织进行比较。

2, 4-D 在 1~12mg/L 的范围内，不同浓度下继代培养的愈伤组织状态差异不大，12mg/L 时愈伤变得比较硬。所有处理愈伤组织颜色均呈浅黄。从愈伤组织增殖重量的统计结果（图 1）可以看出，2, 4-D 浓度为 3mg/L 和 1mg/L 时愈伤组织平均重量较大，分别为 0.74 和 0.73 克，增殖系数达到 3 倍。

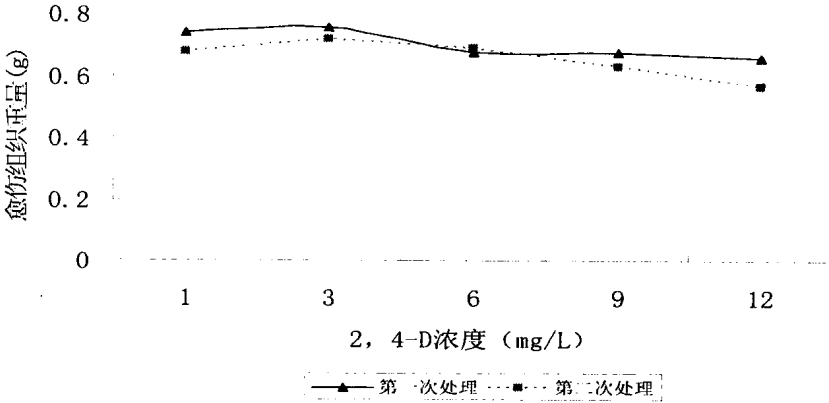


图 1 不同浓度 2, 4-D 处理愈伤组织增殖比较

2.2.2.2 撑绿竹愈伤组织分化培养

将撑绿竹致密、松散、粘褐三种类型的愈伤组织接种到分化培养基。

试验培养基为：3/4MS + BA 2mg/L + NAA 0.5mg/L + sucrose 30g/L + Agar 7.5g/L。每种 3 瓶，10 块/瓶。30 天后统计分化结果（表 5）。分化率% = 再生出绿芽点的愈伤组织块数 / 愈伤组织块总数 × 100。

表 5 各种类型愈伤组织分化培养效果

培养效果	愈伤组织类型		
	致密	松散	粘褐
分化率 (%)	71.7	3.3	6.7
褐化率 (%)	13.3	63.3	90

结果表明三类愈伤组织的分化能力大小为：致密 > 粘褐 > 松散，致密型愈伤组织分化率达 71.7%，松散型和粘褐型只有少部分能分化。粘褐型严重褐化，致密型轻微褐化。

1 块愈伤组织能分化出几十个芽，分化的芽可直接生根，并且生根整齐，生根率达到 90% 以上。

2.2.2.3 再生植株移栽及变异调查

把生根小苗的培养瓶盖打开透气两天，用白米水洗净小苗上的培养基后，其移栽于洗净的河沙中，定期浇水，保持较高的湿度。幼苗很快恢复正常生长，成活率达 100%。保持合适的温度光照，幼苗能快速生长，一个月后可移栽到土中。

以此方法已移栽 110 株小苗，小苗生长健壮，三个月内株高可达 50 厘米，未出现变异植株。

2.3 秋水仙素诱变处理

芽经秋水仙素处理后多次转接到继代培养基中进行丛生芽增殖和变异植株筛选。

试验培养基为：MS + BA 3.5mg/L + KT 1.0mg/L + sucrose 20g/L + Agar 7.5g/L。培养中观察记录芽存

活与变异情况,发现可能的变异植株。5天后即可见芽及叶柄基部明显膨大,20天后部分芽开始变枯褐死。30天后经12小时和24小时处理的芽存活率分别稳定为80%和50%,对照组(无菌水浸泡)存活率100%。

经过半年增殖培养,经12小时处理的24株存活芽中累计出现了2株花叶变异株,24小时处理的15株存活芽中出现2株花叶变异株和2株大型粗壮芽变异株,变异率分别为8.33%和26.7%,是芽增殖中的自然变异率0.2%的417倍和1335倍。

3 结论与讨论

1. 丛生芽增殖途径没有通过脱分化与再分化过程,一般能保持品种特性稳定不变异,是植物组培快繁最常用的方法。通过丛生芽增殖途径进行丛生竹组培快繁的研究已取得较好进展^[4]。本研究中的9个竹种,马来甜龙竹、撑绿竹、花吊丝竹表现了较强的丛生芽增殖与生根能力,其易于进行微繁殖生产;其他6个竹种丛生芽增殖慢并褐化严重,不利于形成稳定的快繁体系。实验结果显示了竹种叶色与秆色影响丛生芽增殖与生长的趋势,叶、秆均为绿色的竹种增殖快、少褐化,反之,其若镶嵌有金色或银色,则含绿色越少的竹种芽褐化越严重。说明竹种的组培繁殖生长表现与其野外表型特征有一定相关性,因而也与野外生长能力相关。利用这一特性可在组培微繁殖环境下进行竹类优良变异株早期选择。利用组培生长与野外圃地生长表现的相关性已进行过麻竹种子实生苗优良无性系的选育^[1,2]。

2. 在愈伤组织诱导培养中,9个竹种的无菌节芽均能脱分化产生愈伤组织,但多数竹种的愈伤组织易褐化死亡,难于增殖、分化。撑绿竹愈伤组织增殖快且能高效再生植株,其愈伤组织月增殖系数达3倍,芽分化率可达71.7%、生根率90%以上,小苗移栽成活率100%。理论上此方法易发生变异,但本研究移栽的110株小苗暂未发现有变异株。

3. 马来甜龙竹、撑绿竹、花吊丝竹在丛生芽增殖中,出现了花叶变异株,马来甜龙竹、撑绿竹的变异率约为0.2%,花吊丝竹的变异率约为0.5%。这些变异很不稳定,在进一步培养过程中一般均会消失。经圃地培育与繁殖,已获得稳定的马来甜龙竹金色叶片变异无性系,其性状稳定、生长正常,一年生植株高达3米、萌新竹4株。

4. 撑绿竹小芽经秋水仙素处理变异率可达26.7%,是芽增殖中自然变异率0.2%的1335倍,从而大大提高了选育到理想变异植株的机会。初步展示了用无菌微环境进行竹子诱变育种的优势与前景,有望为竹类育种开辟新的有效途径。

参考文献

- [1]王裕霞,张光楚等.麻竹实生苗无性系的组培繁殖及其生长.广东林业科技,2000,16(3):1~5.
- [2]王裕霞,张光楚等.麻竹实生苗无性系选育的研究.竹子研究汇刊,2003,22(1):23~27.
- [3]王裕霞.撑版杂种的繁殖及其生长.世界竹藤通讯,2003,1(3)25~28.
- [4]张光楚,王裕霞,谭源杰.丛生竹的组培快繁技术[J].竹子研究汇刊,2004,23(1):13~20.

金丝慈竹愈伤组织培养及植株再生的初步研究

马乃训 陈光才 袁金玲

吴涛 丁雨龙

(南京林业大学竹类研究所 江苏 南京 210037)

摘要: 通过正交试验筛选出金丝慈竹愈伤诱导的最佳配方 MS+2, 4-D5mg/L+6-BA(0.2~0.5)mg/L; 记录了金丝慈竹三种不同类型愈伤的生长状态, 并通过对 I 型和 III 型愈伤组织进一步的增殖培养筛选出最佳增殖配方 MS+2, 4-D(2~3mg/L)+6-BA0.2mg/L+NAA0.5mg/L。在此基础上, 通过对已有健康的 I 型愈伤组织的诱导分化, 实现了器官再生, 并获得最佳芽体分化配方 MS+6-BA5mg/L+NAA0.2mg/L 及不定根系发生诱导配方 MS+6-BA1mg/L+NAA(0.5~2mg/L)。

关键词: 金丝慈竹 愈伤培养 植株再生

Abstract: The results of callus induction culture and vegetable regeneration of *Neosinocalamus affinis* cv. *viridiflavus* were reported in this paper. The experiment showed that the optimum media for callus induction culture were MS+2, 4-D5mg/L+6-BA(0.2~0.5)mg/L. According to the study, we got three different types of callus and the optimum media for callus multiplication MS+2, 4-D(2~3mg/L)+6-BA0.2mg/L+NAA0.5mg/L. On this condition, we achieved the differentiation and regeneration of the frond. The better media of differentiation were MS+6-BA5mg/L+NAA0.2mg/L, and the optimum media of radication were MS+6-BA1mg/L+NAA (0.5~2) mg/L.

Keywords: *Neosinocalamus affinis* cv. *viridiflavus*; callus induction culture; vegetable regeneration

竹子是一类特殊的经济植物, 与别的大多数植物不同的是它很少开花结籽, 最常见的传统繁育方式是母竹分株或者利用竹秆、竹枝扦插, 这些方法存在消耗种竹多、种苗运输不方便、劳动强度大、繁殖系数低等问题, 很大程度上制约了竹林资源的有效利用。针对这些问题, 随着对竹类研究的深化, 人们开始研究竹类植物新的繁殖方法, 其中最直观有效的就是竹类组织培养的获得再生植株。对于竹类植物的组织培养, 最早开始于 1968 年 Alexander 和 Rao 关于成熟种胚离体培养的报道^[1]。此后, 对于竹类植物的离体快繁研究内容层出不穷, 对于竹类植物的快速繁殖技术逐渐受到重视。1975 年 Tseng 等首次从竹叶分离出原生质体^[2]。1982 年, Metha 等, 1985 年, Rao 等先后分别对印度簕竹(*Bambusa arundinacea*)和牡竹(*Dendrocalamus strictus*)种子成熟胚进行诱导, Metha 在添加 2,4-D 和 BAP+PVP 的 N6 培养基中直接从印度簕竹种子获得胚起源的愈伤组织, 并获得再生植株^[3]。1983 年, Huang 和 Murashige 以绿竹属(*Dendrocalamopsis*), 刚竹属(*Phyllostachy*), 箬竹属(*Sasa*)和簕竹属(*Bambusa*)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的研究^[4]。此后的几十年间, 国内外都比较系统地开展着竹子组织培养工作, 印度、中国、日本、中国台湾、菲律宾和比利时等国家先后对 18 个属 70 多个竹种进行过组织培养研究, 其中的 60 种获得成功。自 90 年代起, 竹子组织培养研究进入更深一层。Nadgauda 等(1990)则获得了印度簕竹、勃氏甜龙竹(*D.brandisii*)和牡竹三个竹种的试管开花苗^[5]。我国的张光楚等(1993)在做麻竹组织培养试验时也发现了试管苗开花现象^[6]。在 1995 年的国际竹子会议上 YoshihiroToda 等也报道了组织培养条件下印度得竹的开花培养方法。2000 年, 吴益民等对孝顺竹(*Bambusa glaucescens*)的顶芽和节侧芽外植体进行诱导, 获得愈伤组织, 并建立悬浮细胞系^[7]。2002 年, 王光萍等以金镶玉竹等 11 种观赏竹新萌发的嫩芽为材料, 进行组织培养, 获得了 7 种观赏竹的再生植株^[8]。

近年来, 就目前已有的报道来看, 不少关于竹类组织培养的最新报道都将侧重点放在了愈伤组织诱导进而得到植株再生方面。这其中有通过愈伤组织实现器官发生进而实现植株再生的。如: 2003 年, S.M.S.D. Ramanayake 等对龙竹(*Dendrocalamus giganteus*)愈伤组织培养进而诱导器官发生^[9]; 2004 年 韩文军等对毛竹愈伤诱导中褐变问题的详细报道^[10]; 赵光俊等对蓬莱竹(*Bambusa multiplex* (Loureiro) Raeuschell), 布袋竹(*Phyllostachys aurea* A.)等器官发生的研究^[11], 2005 年周宏等对毛竹愈伤组织诱导^[12]以及 2006 年顾小平等人对孝顺竹, 凤尾竹及小佛肚竹等丛生竹愈伤组织的培养的报道^[13]。也有尝

试通过愈伤诱导进行体细胞胚发生诱导得到植株再生的报道,如 2002 年 Savita Godbole 等对版纳甜龙竹体细胞胚诱导植株再生的报道^[14]。

组织培养是基因工程育种的基础,愈伤组织诱导和通过体细胞胚胎再生植株已成为竹子遗传改良的技术关键。世界范围内基因工程育种在禾本科进行了广泛的应用研究,但绝大多数集中在禾亚科的农作物中,同为禾本科的竹亚科几乎没有基因工程育种成功的报道。其原因是多方面的,竹子主要分布在发展中国家,经济因素、技术因素,环境因素都起极大的制约作用。竹子的生殖周期长达 60 至 120 年,竹子的愈伤组织培养难度较大,但若成功则是在竹类育种技术上关键的一步。

本实验采用的材料是金丝慈竹(*Neosinocalamus affinis* cv. *viridiflavus*),慈竹属,分枝一侧具浅黄色条纹,秆形挺拔,为优美的庭园观赏竹种。希望通过对金丝慈竹进行愈伤组织培养进而诱导植株再生,能建立愈伤组织培养进行植株再生的一个完整体系,为竹类基因工程育种的成功进行前期准备。

1. 材料与方法

供实验的材料来自南京林业大学竹类研究所竹子快繁实验室中的快繁无菌苗。选取无菌快繁体系中健康茁壮的无菌苗,以试管苗无污染,无玻璃化现象,体系稳定,繁育出的新芽饱满为最好。

①将快繁无菌体系竹苗发出的饱满新芽由原植株体上切下,切割时保证芽体饱满,用无菌水清洗去原有培养基,将芽体外部的较老箨片剥去,留下芽体和幼嫩的箨片,然后将材料接种到愈伤诱导培养基上进行愈伤诱导;

②根据第一阶段诱导出的不同类型的愈伤组织,选取合适类型的愈伤接种到愈伤增殖培养基上进行增殖;

③将增殖后的健康的愈伤组织接种到诱导分化培养基上进行器官诱导分化,因竹类愈伤组织诱导极易生根,故在此以诱导芽体为主;

④待实现愈伤组织器官发生后,将已有分化出的芽体从愈伤组织上切下,接种到生根培养基上进行生根诱导,根发生后移植到基质中进行炼苗,实现再生体系的完整化。

进行上诉操作之后,隔日进行观察,记录愈伤组织诱导率和生长状态,并对愈伤生长状态进行评价,采用正交实验对各阶段所需的最佳激素配比进行分析,筛选出最佳的愈伤诱导配方,愈伤增殖配方,诱导分化配方和诱导生根配方。

因金丝慈竹稳定的快繁(以芽繁芽)体系培养基为 MS 培养基,为维持芽体的稳定,故以上实验中的基础培养基都为 MS 培养基,蔗糖浓度均为 3%,愈伤诱导阶段和增殖阶段均为暗培养,诱导分化阶段前期为暗培养,后期和诱导生根阶段光照 12h/d,每日辅助光照 10 小时,光照强度约为 1600lux。防褐化剂采用抗坏血酸,温度控制为 25~28℃。

2. 结果与分析

2.1 愈伤组织的诱导

经过筛选(见表 1),可以看出随着 2,4-D 浓度的升高,愈伤组织的发生率和致密程度都呈上升趋势,但当超过一定量的时候,诱导而出的愈伤组织就会褐化死亡。2,4-D 浓度偏低时,基本不出愈,或者愈伤比较水渍化且具粘性,不利于愈伤的进一步增殖和分化,并且在经过一段时间的继代培养后就会褐化死亡。2,4-D 和 6-BA 两种激素的配比对于愈伤组织类型(见图版)的决定和发生率都起着重要作用。当 2,4-D 浓度太低时愈伤发生时间延长,愈伤粘性,量少且容易发生水渍化;随着浓度增加,愈伤粘性程度逐渐降低;但若 6-BA 浓度过高时,就会加速愈伤的自我分化,存在发出的愈伤还未进行增殖培养就已分化的现象,不利于愈伤状态的统一。

表1 不同激素浓度对金丝慈竹愈伤发生率的影响

培养基编号	2, 4-D	6-BA	K T	出 愈 率	出愈所需 培养天数	愈伤褐化程度	愈 伤 状 态
J1	0.5	0.1	-	—	—	—	—
J2	0.5	0.5	-	5%	45	—	—
J3	1	0.1	-	10%	45	褐化	少量, 水渍化白色粘性
J4	1	0.2	-	10%	45	褐化	少量, 水渍化白色粘性
J5	1	0.5	-	5%	45	轻微褐化	微量, 水渍化褐色粘性
J6	2	0.1	-	20%	45	轻微褐化	白色松散愈伤
J7	2	0.2	-	20%	45	轻微褐化	白色松散, 亦伴有粘性愈伤
J8	2	0.5	-	10%	45	褐化	微量, 水渍化粘性
J9	5	0.1		100%	36	无褐化	颗粒状, 致密, 浅黄色
J10	5	0.2		100%	32	无褐化	颗粒状, 致密或粘性, 浅黄绿色
J11	5	0.5	-	90%	32	无褐化	颗粒状, 致密或粘性, 浅黄绿色
J12	5	1	-	60%	32	基本无褐化	颗粒状, 致密, 黄绿色, 部分分化
J13	7	0.1	-	30%	32	褐化较严重	颗粒状, 亦有粘性, 深黄色
J14	7	0.2	-	35%	32	褐化较严重	颗粒状, 松散, 深黄色
J15	7	0.5	-	30%	32	褐化较严重	颗粒状, 部分分化后褐化死亡
J16	7	1	-	10%	32	褐化严重	颗粒状, 严重褐化死亡
J17	0.5		0.1	—	—	—	—
J18	0.5		0.5	—	—	—	—
J19	1		0.1	5%	45	—	—
J20	1		0.2	10%	45	褐化	水渍化, 粘性
J21	1		0.5	10%	45	多数褐化	褐色, 水渍化粘性
J22	2		0.1	15%	45	轻微褐化	褐色, 水渍化粘性
J23	2		0.2	25%	45	褐化	褐色, 粘性
J24	2		0.5	20%	42	轻微褐化	白色, 水渍化, 粘性
J25	5		0.1	70%	36	少量褐化	白色粘性伴有黄绿颗粒状松散愈伤
J26	5		0.2	70%	32	基本无褐化	白色粘性伴有黄绿颗粒状松散愈伤
J27	5		0.5	65%	32	基本无褐化	白色粘性伴有黄绿颗粒状松散愈伤
J28	5		1	90%	32	基本无褐化	黄绿颗粒状松散愈伤
J29	7		0.1	20%	36	褐化	愈伤黄褐色, 致密, 少量粘液状
J30	7		0.2	15%	36	少量褐化	愈伤黄褐色, 伴生粘液
J31	7		0.5	10%	42	褐化	黄褐色愈伤, 外包裹粘液
J32	7		1	5%	42	褐化	只有微量愈伤, 褐化死亡

注: 激素浓度单位均为 mg/L; 出愈率=出愈芽数/接种芽数; 每种配方接种数为 10 瓶, 每瓶 4 个芽

就已发生的愈伤来看, 通过这几种激素配比诱发的愈伤主要分为三种类型: I 型为增殖和分化的最佳愈伤, 松散颗粒状, 结构致密, 色泽鲜亮, 多为黄绿色; II 型为白色或浅褐色的粘性愈伤, 此类愈伤在出愈的最初阶段多易发生, 愈伤为团状, 水渍化, 无法分离; III 型为白色半透明愈伤, 其含水率很高, 以松散状态存在, 无法堆积。此三类愈伤, II 类愈伤多发生于诱导最初阶段, I 类和 III 类愈伤多在其后产生, 根据激素配比组合不同, 产生出不同的愈伤。总体来说, 除 I 类愈伤外其他两种愈伤褐化程度都较轻, 尤其是 I 型愈伤, 基本无褐化现象, 是为状态最好的愈伤, 因此判定金丝慈竹愈伤诱导的最佳激素配比为 2, 4-D5mg/L+6-BA(0.2~0.5)mg/L 或者 2, 4-D5mg/L+KT1mg/L。

2.3 愈伤组织的增殖

愈伤组织的增殖是决定是否能实现愈伤状态的初步统一化比较关键的一个阶段。以上实验发生的三

种类型愈伤，因 II 类型愈伤到愈伤发生后后期阶段基本都已褐化，故不在考虑到增殖范围。将剩余两种类型的愈伤接种到增殖培养基上进行增殖培养。

表 2 不同激素浓度对金丝慈竹愈伤增殖的影响

培养基编号	2, 4-D	6-BA	NAA	愈伤增殖情况
Z1	5	0.2	0.1	愈伤维持原有状态，略有增加，但随着继代褐化严重，死亡。
Z2	5	1	0.5	愈伤有所增殖，随着继代次数增加，褐化加剧，状态不好，无法再进行分化诱导
Z3	3	0.2	0.1	愈伤增加，但增殖量较少，状态好
Z4	3	1	0.5	愈伤增加，增值量少，状态好
Z5	3	0.2	0.5	愈伤大量增加，增殖量多至原体积 2~3 倍，状态良好无褐化现象
Z6	2	0.2	0.1	愈伤增加，增殖量少，状态好
Z7	2	1	0.5	愈伤增加，增殖量中等，状态好，有分化现象
Z8	2	0.2	0.5	愈伤大量增加，增殖量最多可达原体积 5 倍，愈伤状态良好，无褐化现象
Z9	1	0.2	0.1	愈伤基本无增殖现象，但亦基本无褐化现象
Z10	1	1	0.5	愈伤基本无增殖现象，无褐化现象，但部分在原有部分上出现分化部分

注：激素浓度单位均为 mg/L；每种配方接种数为 10 瓶，每瓶 2 个健康愈伤快

从表 2 可以看出，在增殖阶段，愈伤 2, 4-D 的依赖不再像诱导阶段一样高，但仍需维持在一定浓度，低浓度的 6-BA 和适中浓度的 NAA 对愈伤的增殖都有良好的效果。I 型愈伤和 III 型愈伤都有所增殖，且所增殖的愈伤都维持在原状态。I 型愈伤所增殖的愈伤黄白色，致密，含水率相对其他两种愈伤来说很低，无水渍化现象，结构致密，用镊子拨开可分散成颗粒状；III 型白色松散愈伤增殖后仍然为白色松散状，含水率高，用镊子轻轻挤压会有水分产生，愈伤松散成粉末状。

根据愈伤的增殖量和增值后的愈伤状态，判定 Z5 和 Z8 配方为愈伤增殖最佳配方，即激素浓度配比维持在 2, 4-D(2~3mg/L)+6-BA0.2mg/L+NAA0.5mg/L，愈伤增殖倍数可以维持在原有体积 2-3 倍左右，最高可达 4 倍，并且可以维持愈伤基本处于发育及分化较为统一的最佳状态。

2.3 诱导器官分化

愈伤组织分化是通过愈伤组织培养实现植株再生的重要步骤，包括诱导芽体的产生和根系的发生。选取增殖情况良好的 I 型愈伤将其植入诱导分化培养基，诱导芽体或者体胚产生，诱导植株再生。

由表 3 可以看出，对于 6-BA 和 NAA 两种激素配比，健康 I 型愈伤诱导植株分化 30 天左右都有芽丛产生，但当 NAA 用量偏高以后，容易诱发根的产生，根据实验观察，当愈伤先于分化芽之前产生根后，愈伤块就会很快褐化死亡，，因此，在诱导愈伤进行分化时应尽量控制 NAA 的用量。根据上表统计的数据，诱导金丝慈竹愈伤块分化出再生植株最佳的配方为 MS+6-BA5mg/L+NAA0.2mg/L。

愈伤诱导分化过程中，褐化现象严重，有的愈伤块急速严重褐化死亡，对于激素用量非常敏感。且在愈伤产生芽丛的同时，会有部分由黄转绿的绿色点状愈伤块剥落，疑似体胚，但需进一步进行的切片和电镜观察佐证。

表3 不同激素浓度对金丝慈竹愈伤分化的影响

培养基编号	6-BA	NAA	芽从发生天数	芽从发生率	芽从及愈伤状态
C1	1	0.1	26	2.5%	愈伤全部变黑, 褐化死亡, 一颗芽从
C2	1	0.2	26	2.5%	愈伤全部变黑, 褐化死亡, 少量芽从
C3	1	0.5	32	5%	愈伤基本全部变黑, 褐化死亡, 少量芽从
C4	1	1	——	——	愈伤全部变黑死亡, 少量分化产生根, 无芽从
C5	3	0.1	20	20%	有芽从产生, 未分化的愈伤褐化死亡
C6	3	0.2	20	25%	有芽从产生, 且芽从健壮, 未分化的愈伤褐化死亡
C7	3	0.5	20	12.5%	有芽从, 少量发根现象, 其余部分褐化死亡
C8	3	1	20	5%	大量发根, 几乎无芽从产生
C9	5	0.1	20	47.5%	半数愈伤都产生芽从, 芽从健壮, 剩余愈伤褐化
C10	5	0.2	20	65%	产生大量健康饱满芽从, 其余部分愈伤褐化
C11	5	0.5	20	50%	半数以上愈伤都产生芽从, 少量愈伤发根, 其余部分愈伤褐化死亡
C12	5	1	22	32.5%	愈伤都有芽从产生, 但同时伴有发根现象
C13	6	0.1	——	——	愈伤发根严重, 褐化也严重
C14	6	0.2	22	10%	少量芽从, 分化后发黄有根发生, 其余部分愈伤褐化死亡
C15	6	0.5	22	7.5%	少量芽从, 有根发生, 其余部分褐化死亡
C16	6	1	——	——	愈伤发根严重, 褐化死亡

注: 激素浓度单位均为 mg/L; 每种配方接种数为 10 瓶, 每瓶 4 个健康愈伤快

2.4 再生植株诱导生根

诱导再生植株生根, 是实现无菌体系循环, 实现大棚移栽的必要步骤。将诱导分化出的健康芽从生长成的小植株转入生根培养基进行生根诱导。由表 4 可以看出, 金丝慈竹再生植株诱导生根是个相对其他过程较为容易的步骤, 多数植株对生根配方均有反应, 区别只在于发根量的多少及根系的状态, 当 NAA 浓度达到一定量 ($\geq 0.5\text{mg/L}$) 后, 植株的根系都有所发生, 在 NAA 的基础上再添加 6-BA 则会促进发根量的增加, 由上表得知, 再生植株诱导生根最佳配方为 MS+6-BA1mg/L+NAA(0.5~2mg/L)。

将生根后的健康植株 (根系达 10 条以上) 由培养瓶取出置于自然散射光、有一定昼夜温差的实验室内, 3~5 d 后除去封口膜, 再炼苗 3~5 d, 从瓶中取出竹苗, 洗净培养基, 移栽于育苗箱的基质上 (蛭石: 珍珠岩: 砂壤土=1: 1: 1), 浇足定根水, 定期喷洒营养液, 用塑料膜调节温度、湿度和光照, 后统计成活率及竹苗生长状况, 待新发健壮根系后移往大棚。

表4 不同激素浓度对金丝慈竹再生植株诱导生根的影响

培养基编号	NAA	6-BA	生根率	发根情况
G1	0.5		80%	有根系发生, 但多数为一条粗壮的根
G2	1		80%	有根系发生, 但多数为一条粗壮的根
G3	2		90%	有根系发生, 但多数为一至两条粗壮的根
G4	0.5	1	70%	有根系发生, 最多可达 7-10 条
G5	1	1	70%	有根系发生, 根数较多
G6	2	1	100%	有大量根发生, 其中一条至两条最为粗壮

注: 激素浓度单位均为 mg/L; 每种配方接种数为 5 瓶, 每瓶 2 个健康芽从

3. 结论和意义

金丝慈竹的愈伤组织诱导单纯从激素因素来考虑, 可以通过 2, 4-D 和 6-BA、KT 组合来实现, 可以产生三种不同类型的愈伤, 其中 II 型愈伤是诱导增殖和进一步分化的优质愈伤, 在适当激素的配合下, 愈伤可以进行增殖, 并且进一步诱导器官发生, 在器官发生的同时亦有可能伴有体胚发生, 从而形成新的植株。通过对新植株的诱导生根, 实现移栽, 完成无菌体系向栽培体系转化。

此次实验中通过诱导金丝慈竹愈伤组织产生, 进而实现植株体再生, 完成了植物体组织培养脱分化到再分化的整个过程, 就其本身而言是具有生物学意义。建立竹子愈伤诱导再生植株系, 通过对愈伤发育发生阶段的统一, 可以进一步为竹类基因工程育种提供适宜的材料, 也是有助于竹林育种研究。

参考文献

- [1] Alexander, MP and TC Rao. In vitro culture of bamboo embryos[J].Cur.Sci.1968,37:415
- [2] Tseng TC, DF Liu and SY Shaio. Isolation of protoplasts from crop plants[J].Bot. Bull.Acadmia Sinica. 1975, (16): 55-60
- [3] Metha U IVR Rao and HY Mohan Ram.Somtic embryogenesis in bamboo[M].In Proc.V.International Congress of Plant Tissue & Cell Culture. 1982, P:109-110
- [4] Rao and V Narang. Somtic embryogenesis and regeneration of plants in the bamboo[J].Plant Cell Reports.1985, (4):191-194
- [5] Nadgauda, RS VA Parasharami and AF Mascrenhas. Precocious flowering and seeding behaviour in tissue-cultured bamboos[J]. Nature.1990, (344) 6264:335-336
- [6] 张光楚, 陈富枢, 王裕霞等.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
- [7] 吴益民, 边红武, 王君晖等.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
- [8] 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
- [9] S.M.S.D.Ramanayake. Organogenesis in callus derived from an adult giant bamboo (*Dendrocalamus giganteus* Wall. ex Munro) [J]. Scientia Horticulturae.2003, 98:195-200
- [10] 韩文军, 周 宏, 何 钢.毛竹愈伤组织培养中褐变现象的研究[J].湖南林业科技.2004, 31(3):4-6
- [11] 赵光俊.试管内竹类之器官发生与植株再生.国立台湾大学园艺学研究所 2004 年度作物组专题讨论.2004
- [12] 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
- [13] 顾小平, 苏梦云, 岳晋军等.几种丛生竹愈伤组织诱导与防褐变技术研究[J].林业科技开发.2006, 19(1):75-78
- [14] Savita Godbole, Anil Sood et al.Somatic embryogenesis and its conversion into plantlets in a multipurpose bamboo, *Dendrocalamus hamiltonii* Nees et Arn.Ex Munro[J].Current Science.2002, 83(7):885-890