

# 草地早熟禾再生体系建立的研究进展

赵小强, 马晖玲\*, 周万海

(甘肃农业大学草业学院, 甘肃 兰州 730070)

**摘要:** 在草地早熟禾再生体系建立的过程中, 就其影响因素如外植体的选择、培养条件、基因型等方面综述了国内外草地早熟禾再生体系的研究进展。

**关键词:** 早熟禾; 组织培养; 再生体系

中图分类号: S688.4

文献标识码: B

文章编号: 1673-8403(2008)05-0019-04

草地早熟禾 (*Poa pratensis* L.) 是禾本科早熟禾属的一种优质冷季型草坪草。在中国栽培历史悠久, 种植面积广泛, 主要分布在中国西北和华北地区<sup>[1]</sup>。草地早熟禾以其抗性强、适应性广、植株低矮、绿期长、坪质优美等特性, 在绿化、美化城市、运动场建设、改善生态环境和提高生活质量等方面被广泛应用。但它的抗旱能力不强, 遇旱容易变成褐色<sup>[2]</sup>, 且具有兼性无融合生殖特性<sup>[3-6]</sup>, 有些品种的无融合生殖率高达 98% 以上<sup>[4]</sup>, 因此利用传统育种方式改良品种有一定困难, 而利用基因转化手段或体细胞杂交可获得具有优良性状的植株。目前我国使用的草坪草种子 90% 以上从国外进口<sup>[7]</sup>, 在很大程度上制约了我国草坪业的发展, 因此, 选育自己的品种势在必行。采用基因工程对草地早熟禾进行品种改良、新品种选育已成为当前草地早熟禾生物领域研究的重点<sup>[8]</sup>, 而改良与选育的成功关键是再生体系的建立。

组织培养及再生体系的建立应注意的主要环节有: 外植体的选择、外植体的处理、培养条件、基因

型差异等。

## 1 外植体的选择

外植体的选择是建立再生体系的重要步骤之一。就草地早熟禾再生体系的建立而言, 常采用的外植体为幼穗、成熟种子、匍匐茎、茎尖分生组织、胚轴、胚芽鞘、叶片、茎段等。

1984 年, Mc Donnell 和 Conger<sup>[9]</sup>开始研究草地早熟禾再生体系的建立, 他们用成熟种子诱导出了胚性愈伤组织, 试验发现其愈伤组织的植株再生率很低, 最高仅有 6%, 且从组织解剖学研究上发现草地早熟禾不是呈体胚发生途径而是呈器官发生途径。

1986 年, Boyd 和 Dale<sup>[10]</sup>用成熟种子作外植体, 得到了愈伤组织和再生苗, 但分化率很低。

1988 年, Pieper 和 Smith<sup>[11]</sup>以 3 个草地早熟禾成熟种子、温室种子植株 1~2 cm 的匍匐茎、来自微培养植株的节尖部分为外植体, 在对整个植株快速再生繁殖体系进行研究时, 发现前两者的再生频率不如后者高。

1989 年, Vander Valk 等<sup>[12]</sup>报道了草地早熟禾成熟种子及幼穗的组织培养结果, 试验发现在相同条件下, 采用幼穗作为外植体其再生率高达 79%, 而成熟种子只有 3%, 证明幼穗是草地早熟禾诱导胚性愈伤组织的最好外植体, 并且利用幼穗愈伤组织建立了悬浮细胞系, 分离培养原生质体并得到了白化苗和分化的根。朱根发等人<sup>[13]</sup>用草地早熟禾品种 Wabash 和

收稿日期: 2007-09-27

基金项目: 甘肃农业大学草业学院草业科学国家级重点学科学术骨干科研项目暨草业生态系统教育部省部共建重点实验室资助项目

作者简介: 赵小强 (1985- ), 男, 甘肃武山人, 硕士研究生, 从事草坪草、牧草种质资源及其育种的研究。

\* 通讯作者

Challenger 的幼穗为外植体,进行了组织培养再生体系的研究,发现幼穗的愈伤组织分化率高达 72.7%,从而进一步证实了 Vander Valk 等人的结论。

1993 年, Kirsten 等<sup>[15]</sup>以成熟种子为外植体获得愈伤组织且建立了胚性细胞悬浮系再生体系,获得了再生植株。

1995 年, Jeffrey 等用成熟种子诱导愈伤组织,该研究使 Baron 品种再生率高达 46%<sup>[11]</sup>。四年后,他又把这个再生体系应用于遗传转化中<sup>[12]</sup>,获得 6 株转基因植株。

1996 年, Shangiang Chiwon<sup>[14]</sup>以草地早熟禾的胚芽鞘、叶片、茎段作为外植体诱导愈伤组织,再在相同的培养基上诱导与分化,胚芽鞘得到的愈伤再生率达 32%,茎段的为 12%,叶片的为 2%。试验发现不同的外植体诱导出的愈伤组织结构不一样,且只有结构紧密、易碎的愈伤组织能够再生出完整的植株,而结构疏松、水渍状的愈伤组织只能生根而不能发芽成苗。在再生植株中白化苗占有一定的比例。

1996 年, Ke 等人<sup>[16]</sup>以成熟种子的胚芽鞘为外植体进行试验,认为结构紧密、松散的愈伤组织能再生出健壮植株。

2003 年,余建明等<sup>[17]</sup>以草地早熟禾成熟种子为外植体,进行第一次继代时,选取外表干燥、紧密、颗粒状愈伤组织,观察到此类愈伤组织在以后的继代培养过程中形态上不会发生逆转现象,且转移到分化培养基上后愈伤组织仍表现出较高的植株再生能力。

此外,利用原生质体建立植株再生体系也受到研究人员的青睐。原生质体是除了细胞壁的具有生命力的裸露细胞,它具有植物细胞的全能性,在适宜的培养条件下能诱导出再生植株。原生质体最重要的应用是体细胞杂交,而原生质体培养是体细胞杂交的关键技术之一。除此之外,原生质体还可作为遗传转化、基因瞬时表达、细胞壁再生等方面的起始材料<sup>[18]</sup>。但是原生质体培养条件较为特殊:在进行酶解时,选用的胚性细胞一定都是比较均匀的小细胞团,且高质量的酶有利于原生质体的分离;在悬浮培养中选用生长迅速、色泽鲜黄、分散性好、有旺盛分裂能力的高度胚性悬浮培养物进行原生质体的分离等<sup>[19]</sup>。1993 年, Kisten 等<sup>[20]</sup>对草地早熟禾品种 Geronimo 进行原生质体培养,培养 10~16 个月后,其再生率由 0.004% 提高到 1.5%,共得到 127 株再生植株,初步建立了草地早熟禾悬浮细胞系培养体系。

诱导愈伤组织是禾谷类原生质体的培养成功的首

要条件。草地早熟禾成熟胚愈伤组织的胚胎能力发生较差,胚轴也很难诱导出具有高分化能力的愈伤组织。同时提出从幼穗可以诱导出胚性愈伤组织。建立草地早熟禾胚性悬浮细胞再生体系,分离的胚比整个种子更容易获得胚性愈伤组织,也更容易建立胚性悬浮细胞体系<sup>[15]</sup>。

总之,在草地早熟禾植株再生过程中,幼穗作为外植体来获得再生植株是迄今为止效率最高的<sup>[6]</sup>,其次是茎尖分生组织<sup>[14]</sup>。但幼穗作外植体受季节性影响较大,一年只能提供一次植物材料,而且接种的时间很短,一旦错过就会影响试验的正常进行<sup>[11]</sup>;茎尖分生组织在操作时需要大量的人力,其选择部位也不易准确把握;幼穗和茎尖分生组织均不能提供大量外植体遗传转化使用。原生质体培养经过许多复杂的生长发育过程,遗传稳定性较差,加上其培养周期长、难度大、再生率低,因此具有一定的局限性<sup>[21]</sup>。因此,目前草地早熟禾再生过程多采用成熟种子作为外植体进行遗传转化。马忠华、张云芳等人以草地早熟禾成熟种子为外植体,通过基因枪介导法初步建立了草地早熟禾的基因转化体系<sup>[22]</sup>。

## 2 外植体的处理

Bai and Qu<sup>[23]</sup>在以成熟种子作为外植体时,认为对种子进行切割可以提高高羊茅愈伤组织的诱导率和再生率。Altpeter<sup>[24,25]</sup>等人通过试验也认为对成熟种子进行切割可以抑制种子的萌发而促进愈伤组织的诱导。但是, H.Salehi 和 M.Khosh-khui<sup>[26]</sup>通过试验发现用手术刀对草地早熟禾种子 Merion 进行切割处理对诱导愈伤组织没有显著的作用,这可能是基因型差异所造成。

## 3 培养条件

许多学者为了建立草地早熟禾的高效植株再生体系,在诱导愈伤组织时,他们对培养基成分(2,4-D、6-BA、CuSO<sub>4</sub>、水解酪蛋白和固化剂等)、培养温度等不同的诱导因子进行了大量的探索性研究。

细胞分裂素和生长素对于离体培养的组织 and 细胞的增殖、分裂,芽和根的诱导以及胚状体形成起着关键的作用。大量的试验证明,较高浓度的生长素单独使用或与细胞分裂素配合使用可以有效地刺激培养细胞的增殖和连续生长,形成愈伤组织<sup>[18]</sup>。

在 Vander Valk 等人<sup>[6]</sup>采用成熟种子作为外植体建立再生体系之后,同时表明在培养基中添加 6-BA 可以提高草地早熟禾的愈伤组织诱导率,这可能是草地早熟禾中含有内原细胞分裂素的原因<sup>[27]</sup>。在相关的草

坪草的报道中,对愈伤组织的诱导多数选用2,4-D,质量浓度为1~5 mg/l<sup>[28]</sup>。Chi等比较了D', D' BC<sub>2</sub>培养基和DBC<sub>3</sub> (MS+4.5 mg/l 2,4-D+2.2 mg/l 6-BA+5.0 mg/l CuSO<sub>4</sub>)培养基诱导成熟种子愈伤组织后,发现D'培养基诱导率较高,但再生率低,DBC<sub>3</sub>培养基的再生率较高,而诱导率又较低,但比较适合于转化<sup>[29]</sup>。此外,研究者对培养基中6-BA<sup>[30]</sup>、ABA<sup>[31]</sup>等植物激素浓度也进行了研究。段碧华等人<sup>[32]</sup>认为对新歌来德愈伤组织和继代的最佳培养基配方为MN<sub>3</sub>+3 mg/l 2,4-D+0.2 mg/l 6-BA。

朱根发等人<sup>[33]</sup>以草地早熟禾胚轴为外植体诱导愈伤组织时发现,当2,4-D的浓度低于1 mg/l最佳。

马忠华<sup>[29]</sup>等人的试验中发现随2,4-D浓度的增加,早熟禾的愈伤组织诱导率不断升高,当2,4-D的浓度达到7 mg/l时,愈伤组织诱导率达到91.1%。

Vander Valk<sup>[30]</sup>等人认为当2,4-D和6-BA配合使用的情况下,愈伤组织诱导率要高于单独使用2,4-D。

1984年,Mr Donnell和Conger以成熟种子为外植体,研究了温度对草地早熟禾再生体系的影响,他们分别比较了在25℃与15℃黑暗培养条件下,附加4℃冷处理7d对愈伤组织诱导和对植株再生的影响,发现15℃黑暗诱导能够提高草地早熟禾的品种Ram I的再生频率<sup>[2]</sup>。

Mr Donnell<sup>[2]</sup>还发现,较其他植物激素,麦草畏(dicamba)和毒莠定(picloram)对草地早熟禾的愈伤组织诱导及再生效果好,并发现降温至15℃,并对愈伤组织进行4℃的冷处理可以提高芽的出生率,平时常用的25℃并不是最适温度。Griffin<sup>[11]</sup>提出,在愈伤组织诱导培养基中麦草畏和6-BA配合使用比单独使用2,4-D、麦草畏、毒莠定的效果明显,在12个草地早熟禾北美栽培品种成熟种子诱导产生的愈伤组织中均获得再生植株,再生率在4%~40%之间。

支月娥等<sup>[33]</sup>通过试验发现脯氨酸可作为细胞渗透调节物质缓解渗透胁迫,保护蛋白质和膜结构。通过添加外源脯氨酸,可促进愈伤组织的诱导、延缓褐化、提高分化率和生根率<sup>[34]</sup>。

固化剂对诱导草地早熟禾愈伤组织的影响也有报道<sup>[31]</sup>。王贺飞等<sup>[35]</sup>通过试验发现固化剂phytagel可增强草地早熟禾佛特纳的愈伤组织诱导率和胚性愈伤组织发生率。在草地早熟禾上,相同的愈伤组织在固化培养基上的再生率比琼脂要高2~2.5倍<sup>[31]</sup>。

Chi等<sup>[29]</sup>认为在草坪草的愈伤组织诱导中,通过

添加ABA可使松软无定型、呈果冻状或棉絮状的愈伤组织转变为结构较为致密的胚性愈伤组织。同时他们还证明在草地早熟禾品种Kenblue的诱导培养基中添加0.1 umol/l的CuSO<sub>4</sub>能显著提高诱导率、生长速率和胚性愈伤率;而5 umol/l的CuSO<sub>4</sub>提高再生率;AgNO<sub>3</sub>可明显抑制乙烯产生,促使器官发生及体细胞胚胎发生,还可防止愈伤组织的褐化。

水解酪蛋白也是组织培养中常用的,它是一种具有多种氨基酸的混合物,它可促进胚生长,特别是在分化培养基中,加一定量的水解酪蛋白,可促进胚胎发生和多胚性出现<sup>[36]</sup>。在培养基中添加水解酪蛋白有利于促进胚性愈伤组织的诱导<sup>[37]</sup>。

刘君等人<sup>[38]</sup>通过多因子的正交试验,指出诱导Baron愈伤组织最佳的培养基为MS+1 mg/l 2,4-D+0.1 mg/l 6-BA+3 mg/l CuSO<sub>4</sub>+1 g/l酸水解酪蛋白(CH)(影响程度2,4-D>CuSO<sub>4</sub>>CH>6-BA);而Midnight的最佳的培养基为MS+2 mg/l 2,4-D+0 mg/l 6-BA+3 mg/l CuSO<sub>4</sub>+1 g/l CH(影响程度2,4-D>CH>CuSO<sub>4</sub>>6-BA)。

#### 4 不同基因型对再生率的影响

许多学者认为,愈伤组织的诱导率与品种的基因型密切相关。有些品种有很高的诱导率,有些却很难诱导出愈伤组织<sup>[39]</sup>。

基因型的差异导致了草地早熟禾再生体系建立过程中众多不同的表现形式,如形成胚性愈伤的状态不同<sup>[8]</sup>,对于基因型产生的差异已有不同程度的报道<sup>[8,10,11]</sup>,因此,选择适宜的基因型是建立高效、稳定遗传转化体系的必要条件。

同种草坪草、不同品种间诱导愈伤组织和再生植株的培养基成分可能差异很大,而且有些品种似乎很难获得再生植株。即使在相同的培养条件下,也常表现出很大的差异。Vander Valk等<sup>[8]</sup>在对15个品种进行试验时,发现只有Geronimo、Baron、Barblue等能产生白色、有结构、易于再生的愈伤组织,而Monopoly、Entopper、Fylking等品种则产生没有极性的、淡黄绿色的愈伤组织,不易再生。

Boud和Dale<sup>[10]</sup>对50个供试品种使用相同的诱导培养基进行诱导愈伤组织,发现有15个品种诱导出了表现相似的愈伤组织;3个品种愈伤组织形成了叶的结构,但没能形成再生植株;而其他的一些品种愈伤组织诱导极少甚至没有。

1995年,Jefferey等<sup>[11]</sup>对12个品种进行试验,发现只有Baron的种子植株再生率达到了46%,其他品

种再生率只有 4%~40%。

对于禾本科植物来说,建立高频再生体系是一个难题,其原因是很难获得胚性愈伤组织。虽然幼胚或幼穗能够获得胚性愈伤组织,但因为幼胚或幼穗较小,操作难度大,且取材受季节限制。而利用成熟胚获得愈伤组织比较简单且污染几率较小,因此建立成熟胚诱导胚性愈伤组织显得尤为必要。成熟胚是自养的,所以它的发育在很大程度上受细胞固有因素的控制<sup>[40]</sup>。而愈伤组织是植物受伤后在本身内源激素及培养基中外源激素的共同作用下,细胞反复分裂产生的<sup>[41]</sup>。不同的基因型其内源激素是不同的,故基因型对愈伤诱导有一定的影响。虽然利用成熟胚诱导愈伤组织比较困难,但对其所用培养基中大量元素、微量元素的量及激素的配比,应进行大量的摸索,寻找最佳组合,使其诱导胚性愈伤组织的潜力得到很好的表达。

以草地早熟禾种子为外植体获得再生植株的技术体系虽建立,但草地早熟禾成熟胚的愈伤组织绿苗化频率偏低,且使愈伤组织长期保存后获得植株再生能力的技术还未得到解决。因此要通过试验不断地完善此项技术,建立良好的早熟禾再生体系,为下一步的品种改良和基因转化奠定基础。

#### 参考文献

- [1] 内蒙古农学院.牧草及饲料作物栽培学[M].北京:农业出版社,1978.189-191.
- [2] Mc Donnell R E, Conger B V. Callus induction and plantlet formation from Mature Embryo Explants of Kentucky bluegrass[J]. Crop Science, 1984, (24): 573-578.
- [3] Akerberg E. Apomictic and sexual seed formation in *poa pratensis* L.[J]. Hereditas, 1979, (25): 359-371.
- [4] Bashaw E C. Apomixis and its application in crop improvement. In: eds. W R Fehr and H H Hadley (eds), Hybridization of crop plants [M]. New York: Amer. Madison Press, 1980.455-633.
- [5] Grazi F M. Observation on the mode of reproduction and embryology of *poa pratensis* L. [J]. Hereditas, 1961, (47): 489-541.
- [6] Hanna W W and E C Bashaw. Apomixis: its identification and use in planting breeding [J]. Crop Science, 1987, 27(6): 1136-1139.
- [7] 孙彦,周禾,杨青川.草坪实用技术手册[M].北京:化学工业出版社,2001.
- [8] Vander Valk P, Zeal M A C M. Creemers-Molenaar. Somatic embryogenesis and plant regeneration in inflorescence and seed derived callus culture of (Kentucky bluegrass)[J]. Plant Cell Report, 1989, (7): 644-647.
- [9] 朱根发,余毓君.草地早熟禾的组织培养条件和分化能力研究[J].华中农业大学学报,1994,13(2):199-203.
- [10] L ABOYD, PI DALE. Callus Production and plant Regeneration from Mature embryos of *Poa pratensis* L. [J]. Plant Breeding, 1986, (97): 246-254.
- [11] Jeffrey Griffin D, Margaret S. Dibble. High-frequency plant Regeneration from seed-derived callus cultures of Kentucky Bluegrass (*Poa pratensis* L.) [J]. Plant Cell Reports, 1995, (14): 721-724.
- [12] Dibble M S, Gu S Z, Griffin J D. Progress Report: Transgene Expression in Kentucky Bluegrass: GUS and BAR. In Agronomy Abstracts. 1999. P. 98. ASA, Madison, WI.
- [13] Pieper M A, Smith M A L. A Whole Plant Microculture Selection System For Kentucky Bluegrass [J]. Crop Science, 1988, (28): 611-614.
- [14] Ke Shangiang, Chiwon W L. Plant Regeneration in Kentucky Bluegrass (*Poa pratensis* L.) via coleoptile tissue culture [J]. Plant Cell Report, 1996, (15): 882-887.
- [15] Nielsen K A, Knudsen E. Regeneration of green Plants from embryogenic suspension culture of Kentucky Bluegrass (*Poa pratensis* L.) [J]. J Plants Physiol, 1993, (141): 589-595.
- [16] Ke S, Lee C W. Plant Regeneration in Kentucky Bluegrass (*Poa pratensis* L.) via coleoptile tissue culture [J]. Plant Cell Report, 1996, (15): 882-887.
- [17] 余建明,张宝龙,陈志一,等.草地早熟禾成熟胚离体培养植株再生技术研究[J].草地学报,2003,11(1):58-62.
- [18] 孙敬三,朱至清.植物细胞工程实验技术[M].北京:化学工业出版社,2006.
- [19] 齐春辉,韩烈保.转基因技术在草坪草育种中的应用研究进展[J].中国草地,2002,24(6):47-52.
- [20] Kirsten Annette Nielsen, Else Larsen, Elisabeth Knudsen. Regeneration of protoplast-derived green plants of Kentucky Bluegrass (*Poa pratensis* L.) [J]. Plant Cell Report, 1993, (12): 537-540.
- [21] 王冠林,方宏筠.植物基因工程[M].北京:科学出版社,2002.456,461,344-345,348-349.
- [22] 马忠华,张云芳,徐转祥,等.早熟禾的组织培养和基因枪介导的基因转化体系的初步建立 [J]. 复旦学报,1999,38(5):540-544.
- [23] Bai, Y.; Qu, R. Factors influencing tissue culture responses of mature seeds and immature embryos in turf-type tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) [J]. Plant Breed, 2001, (120): 239-242.
- [24] Altpeter, F.; Xu, J. Rapid production of transgenic turfgrass (*Festuca rubra* L.) plants [J]. J. Plant Physiol, 2000, (157): 441-448.

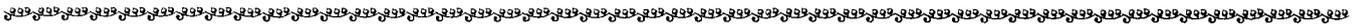
(下转第 31 页)

校、科研机构以及农牧业技术推广体系的优势,为农牧民参加科技培训提供强有力的技术和信息支持。

参考文献

[1] 王生荣,牛俊义,郑华平.玛曲县天然草原退化现状及治理对策建议[J].甘肃科技,2006,22(2):10-12.  
 [2] 刘振恒,杨俊明,杨志才,等.甘南玛曲高寒草原生态环境退化现状与治理对策[J].青海草业,2002,11(4):35-39.  
 [3] 钱鞠,王根绪,马金珠.黄河上游玛曲县生态环境问题与综合治理对策[J].生态学杂志,2002,21(3):69-72.  
 [4] 肖力宏,宝音陶格涛,刘海林.草地退化的原因及草地改良的研究[J].科学管理研究,2004,22(2):27-29.

[5] 汪诗平,陈佐忠,等.当前草原生态建设的思考[J].草业科学,2005,(2):1-2.  
 [6] 吴精华.中国草原退化的分析及其防治对策[J].生态经济,1995,(5):1-6.  
 [7] 吴学宏,曹艳芳,陈素华.内蒙古草原生态环境的变化及其对气候因子的动态相应[J].华北农学报,2005,(20):65-68.  
 [8] 潘学清.中国呼伦贝尔草地(第1版)[M].长春:吉林科学技术出版社,1992.  
 [9] 韩广,张桂芳.呼伦贝尔草原沙漠化土地的综合整治区划[J].中国沙漠,2000,20(1):25-29.  
 [10] 邢旗,乌兰巴特尔,黄国安,等.内蒙古草原资源及可持续利用对策[J].内蒙古草业,2005,17(2):4-6.



(上接第22页)

[25] Altpeter, F.; Xu, J.; Ahmed, S. Generation of large numbers of independently transformed fertile perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) plants of forage- and turf-type cultivars [J]. Mol. Breed, 2000, (6):519-528.  
 [26] H. Salehi, M. Khosh-Khui. Effects of genotype and plant growth regulator on callus induction and plant regeneration in four important turegrass genera: A comparative study [J]. Vitro Cellular & Developmental Biology Plant, 2005, (41): 157-161.  
 [27] Bhaskaran S. Smith R H. Regeneration in cereal tissue culture: A review [J]. Crop Science, 1990, (30):1328-1336.  
 [28] 潘瑞炽. 植物组织培养 [M]. 广州: 广东高等教育出版社, 2001.  
 [29] Chi D H, Lemaux P G, Myeong-Je Cho. Stable transformation of a recalcitrant Kentucky Bluegrass (*Poa pratensis* L.) cultivar using mature seed-derived highly regenerative tissue [J]. Vitro Biology, 2001, 37 (1): 6-17.  
 [30] Vander Valk P, Rius F. Tettelaar-Schrier A M, et al. Optimizing plant Regeneration from seed-derived callus cultures of Kentucky Bluegrass: The effect of benzyladenine [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1995, (40): 101-103.  
 [31] Van Ark H F, Zaal M A C, Greemers Molenaar J, et al. Improvement of the tissue culture reponse of seed-derived callus cultures of *Poa pratensis* L. Effect of gelling agent and

abscisci acid [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1991, (27): 275-280.  
 [32] 段碧华, 韩宝平, 高遐虹, 等. 不同培养基和激素浓度处理对草地早熟禾愈伤组织诱导的影响 [J]. 农业生物技术科学, 2005, (21):24-27.  
 [33] 支月娥, 何亚丽, 田冀. 高羊茅组织培养初报 [J]. 上海农学院报, 1998, 16(1):46-48.  
 [34] 钱海丰, 薛庆中. 激素对高羊茅愈伤组织诱导及其分化的影响 [J]. 中国草地, 2002, 24(1):46-49.  
 [35] 王贺飞, 柴明良. 4 种固化剂对若干草坪草愈伤组织诱导的影响 [J]. 园艺学报, 2006, 33(2):437-440.  
 [36] Rajorlina S R, Alibeit G, Planchon C. Continuous plant Regeneration from established embryogenic cell suspension cultures of Italian ryegrass and tall fescue [J]. Plant Breeding, 1990, (104):265-271.  
 [37] 郭振飞, 卢少云. 细胞工程技术在草坪草育种上的应用 [J]. 草原与草坪, 2002, (3):6-9.  
 [38] 刘君, 信金娜, 韩烈保. 草地早熟禾愈伤组织诱导的多因子正交试验研究 [J]. 草业科学, 2005, 22(6): 92-95.  
 [39] 杨增海. 园艺植物组织培养 [M]. 北京: 农业出版社, 1987.  
 [40] 裘文达. 园艺植物组织培养 [M]. 上海: 科学技术出版社, 1986.  
 [41] 桂耀林, 马诚. 植物组织培养 [M]. 北京: 科学技术出版社, 1986.

The Research Progress of Regeneration and Gene Transformation of Kentucky Bluegrass

ZHAO Xiao-qiang, MA Hui-ling\*, ZHOU Wan-hai

(Pratacultural College, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

**Abstract:** Kentucky bluegrass regeneration system research progress in the world were summarized in this paper on the influencing factors such as the choice of explants、culture conditions、genotype and so on.

**Key words:** Kentucky bluegrass; Tissue culture; Regeneration system