

## 长穗偃麦草幼穗离体培养高频再生体系的建立

周妍彤<sup>1,2</sup>, 张琳<sup>2</sup>, 郭强<sup>2</sup>, 田小霞<sup>2</sup>, 孟林<sup>2,\*</sup>, 崔国文<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>东北农业大学动物科技学院, 哈尔滨150030

<sup>2</sup>北京市农林科学院北京草业与环境研究发展中心, 北京100097

**摘要:**以长穗偃麦草(*Elytrigia elongata*)幼穗为外植体, MS为基本培养基, 研究了不同植物生长调节物质配比对其愈伤组织诱导、分化和生根的影响。结果表明, 长穗偃麦草幼穗诱导最佳培养基为MC+3 mg·L<sup>-1</sup> 2,4-D, 诱导率达66.67%, 4周后可见淡黄色愈伤组织。最佳分化培养基为MC+0.1 mg·L<sup>-1</sup> 2,4-D+3 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA, 分化率为64.44%, 4周后出现芽点, 同时伴随根毛发生。最佳生根培养基为MR+0.5 mg·L<sup>-1</sup> NAA, 生根率为100%, 移栽后全部成活。

**关键词:**长穗偃麦草; 幼穗; 组织培养; 植株再生

长穗偃麦草(*Elytrigia elongata*)是小麦族(Triticeae Dumort)禾本科(Poaceae)偃麦草属(*Elytrigia* Desv)多年生根茎疏丛型草本植物, 具有抗病、抗寒、抗旱、耐盐碱等优良性状, 同时, 也是小麦(*Triticum aestivum*)的近缘种, 已成为改良小麦不可或缺野生基因库(Hussein等2014)。近年来, 针对长穗偃麦草核型分析(孟林等2013)、抗赤霉病(张璐璐等2016)、抗旱性(孟林等2011)、耐盐性(孟林等2009)、钾钠离子吸收与分配生理机制(Guo等2015)、高分子量谷蛋白(范三红和郭嵩光2000)及耐低磷营养胁迫(李玉京等1999)等开展了大量实验研究; 亦克隆和鉴定了一批与其抗旱相关转录因子EeAP2.2(默韶京等2011)与EeNAC9(高世庆等2011)、耐盐相关功能基因EeHKT1;4(Meng等2016)和品质相关Y型高分子量谷蛋白基因Ee1.5和Ee1.8(王际睿等2004)。但要进一步深入分析这些优良基因在长穗偃麦草抗逆与品质形成中的作用机理, 尚亟待建立一套长穗偃麦草组织培养植株高频再生体系。鲍莞和米福贵(2007)以种子成熟胚为外植体, 建立了一套长穗偃麦草和中间偃麦草(*E. intermedia*)杂交种的组织培养再生体系。本研究在借鉴上述长穗偃麦草与中间偃麦草杂交种组培体系的基础上, 以长穗偃麦草幼穗为外植体, 建立一套完整的高频组织培养植株再生体系, 为进一步探究长穗偃麦草抗旱、耐盐、抗病等的分子机制及小麦遗传改良奠定重要基础。

### 1 材料与方法

#### 1.1 试验材料

供试材料为长穗偃麦草[*Elytrigia elongate* (Host)

Necski], 采自国家精准农业研究示范园北京市农林科学院小汤山草资源试验基地。

#### 1.2 培养基

在MC培养基(MS+30 g·L<sup>-1</sup>麦芽糖+1 g·L<sup>-1</sup> CH+5 mL·L<sup>-1</sup> 200×VB+0.5 g·L<sup>-1</sup>脯氨酸+3 g·L<sup>-1</sup>植物凝胶)基础上, 分别添加不同浓度2,4-D与6-BA组成愈伤组织诱导培养基和分化培养基。生根培养基为MR [1/2 MS+15 g·L<sup>-1</sup>麦芽糖+3 g·L<sup>-1</sup>植物凝胶]+0.5 mg·L<sup>-1</sup> NAA。以上各培养基pH值均为5.8, 115°C灭菌20 min。

#### 1.3 外植体制备及消毒

选取处于幼穗分化期的长穗偃麦草生长锥, 幼穗长度为0.5~1.0 cm, 在超净平台内, 用消毒灭菌的解剖刀和镊子小心剥去主茎外层叶鞘, 保留含嫩叶部分在内的幼穗。先用70%酒精浸泡1 min, 再用5%次氯酸钠溶液消毒10 min, 无菌水冲洗3~4次, 然后在无菌滤纸上小心取出幼穗, 切成1~2 cm小段。

#### 1.4 培养条件与方法

##### 1.4.1 愈伤组织的诱导和继代培养

将灭菌过的幼穗接种于不同植物生长调节物质配比的诱导培养基上, 每种处理接种幼穗3枚, 9次重复, 培养条件为24 h·d<sup>-1</sup>黑暗、室温26°C, 第4周统计出愈伤组织诱导率。

收稿 2018-03-12 修定 2018-09-09

资助 北京市自然科学基金(6182013)和北京市农林科学院科技创新能力建设专项(KJCX20170110)。

\* 共同通讯作者: 孟林(menglin9599@sina.com)、崔国文(cgw603@163.com)。

将得到的愈伤组织分别接入诱导时对应的培养基中进行继代培养, 每瓶接种3枚, 9次重复, 黑暗条件及培养温度保持不变。第4周观察愈伤组织生长情况。

#### 1.4.2 愈伤组织的分化

将诱导产生的愈伤组织切成小块接种于不同植物生长调节物质配比的分化培养基上, 每个处理放置5块愈伤组织, 9次重复。培养条件为24 h·d<sup>-1</sup>光照、室温26°C。第4周统计分化情况。待不定芽长成4~5 cm小植株时接入生根培养基中。

#### 1.4.3 根的诱导

将分化产生的小植株接入添加植物生长调节物质的培养基中诱导生根, 统计生根情况。

#### 1.5 数据处理及分析

愈伤组织诱导率(%)=诱导出愈伤组织的外植体数/接种的外植体数×100

分化芽形成率(%)=分化芽形成数/接种的胚性愈伤数×100

生根率(%)=生根数/接种愈伤数×100

运用统计分析件SPSS 22.0进行方差和显著性分析, 利用Microsoft Excel 2003制图。

## 2 实验结果

### 2.1 长穗偃麦草幼穗愈伤组织的诱导

将消毒后的幼穗切割为1 cm左右的小段接种于愈伤组织诱导培养基上(图1-A), 培养7 d后幼穗表面有玻璃化组织生成, 2周后可在幼穗表面观察到海绵状的愈伤组织, 4周后原幼穗表面覆盖1 cm左右的白色愈伤组织(图1-B)。经一次继代培养后, 部分白色愈伤组织转化为黄色颗粒状。

表1显示, 随着2,4-D浓度的增加, 愈伤组织诱导率逐渐升高, 当2,4-D浓度为3 mg·L<sup>-1</sup>时, 愈伤组织诱导率最高, 达66.67%; 而再添加0.025 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA, 愈伤组织诱导率则下降为59.26%, 部分培养基内愈伤组织水化、生长缓慢。当培养基添加低浓度2,4-D时, 再添加6-BA可提高诱导率。最终结果表明, 诱导长穗偃麦草幼穗愈伤组织的最适植物生长调节物质配比为3 mg·L<sup>-1</sup> 2,4-D。

### 2.2 长穗偃麦草愈伤组织的分化培养

将幼穗愈伤组织转接于分化培养基上, 光照培养4周后开始出现绿色芽点(图1-C)。随着培养时间延长, 大部分幼穗愈伤组织开始分化出许多毛状根(图1-D)。

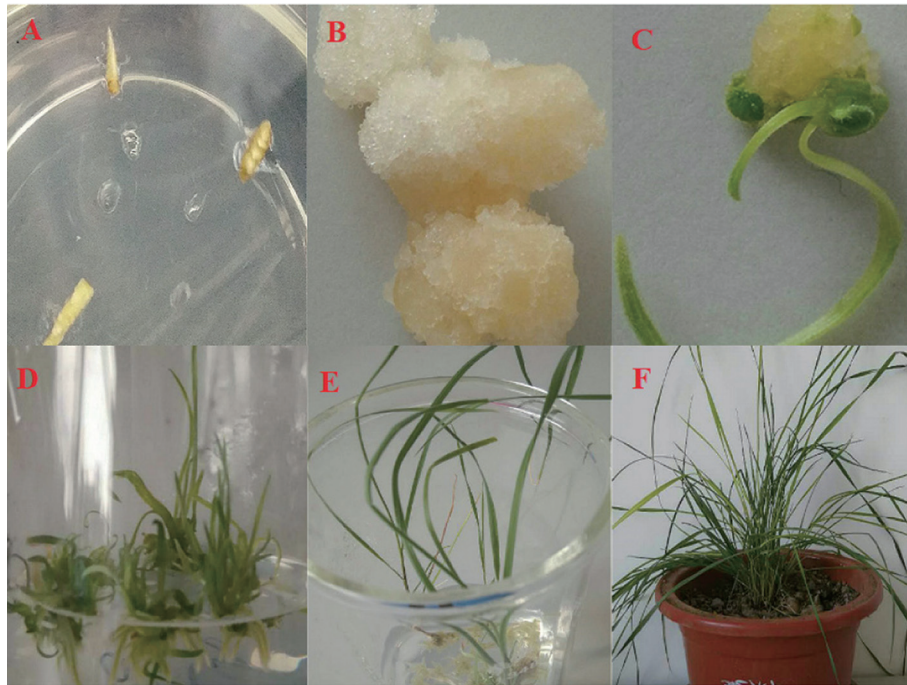


图1 长穗偃麦草组织培养植株再生体系

Fig.1 Plant regeneration system via tissue culture in *E. elongata*

A: 幼穗接种; B: 愈伤组织诱导; C: 愈伤组织分化; D: 生根; E: 炼苗; F: 移栽。

表1 不同浓度2,4-D和6-BA对长穗偃麦草愈伤组织诱导的影响

Table 1 Effects of different concentrations of 2,4-D and 6-BA on callus induction of *E. elongata*

编号	2,4-D浓度/mg·L <sup>-1</sup>	6-BA浓度/mg·L <sup>-1</sup>	接种数	产生的愈伤组织数	愈伤组织诱导率/%	愈伤组织生长情况
1	1	0	27	10	37.04±0.03 <sup>d</sup>	褐色, 致密
2	1	0.25	27	11	40.74±0.05 <sup>cd</sup>	褐色, 松软
3	2	0	27	12	44.44±0.05 <sup>bcd</sup>	淡黄色, 致密
4	2	0.25	27	15	55.56±0.08 <sup>abc</sup>	淡黄色, 松软
5	3	0	27	18	66.67±0.06 <sup>a</sup>	淡黄色, 疏松
6	3	0.25	27	16	59.26±0.05 <sup>ab</sup>	淡黄色, 松软

数据为平均值±标准误, 同列不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ , Duncan测验)。下表同此。

表2 不同浓度2,4-D和6-BA对长穗偃麦草愈伤组织分化的影响

Table 2 Effects of different concentrations of 2,4-D and 6-BA on callus differentiation of *E. elongata*

编号	6-BA浓度/mg·L <sup>-1</sup>	2,4-D浓度/mg·L <sup>-1</sup>	接种数	分化数	分化率/%
1	1	0	45	13	28.89±0.05 <sup>e</sup>
2	1	0.1	45	14	31.11±0.04 <sup>bc</sup>
3	2	0	45	14	31.11±0.04 <sup>bc</sup>
4	2	0.1	45	22	48.89±0.06 <sup>ab</sup>
5	3	0	45	26	57.78±0.08 <sup>a</sup>
6	3	0.1	45	30	64.44±0.06 <sup>a</sup>

仅添加6-BA时, 随其浓度的增加, 愈伤组织分化率逐渐提高, 当6-BA浓度为3 mg·L<sup>-1</sup>时, 分化率高达57.78%。在6-BA基础上再加2,4-D可增加分化率, 当6-BA浓度为3 mg·L<sup>-1</sup>, 2,4-D浓度为0.1 mg·L<sup>-1</sup>时, 分化率最高。结果表明, 诱导分化的最适植物生长调节物质浓度配比为3 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA+0.1 mg·L<sup>-1</sup> 2,4-D, 分化率为64.44%; 次之为3 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA, 分化率为57.78%。

### 2.3 长穗偃麦草的生根培养与移栽

将分化出芽、带有根毛的长穗偃麦草愈伤组织移入生根培养基上进行培养(图1-D), 生根率达100%, 且根系生长旺盛。待组培苗生长至10 cm左右时, 打开培养瓶封口(图1-E)。炼苗1周后, 将完整植株移栽至营养土:蛭石为3:1的基质中, 隔天浇水, 生长良好, 全部成活(图1-F)。

## 3 讨论

以植物组织、器官如叶片(Huang等2017)、下胚轴(Mujib等2014)、子叶(Ma等2016)、花粉(渠荣达和陈英1983)、胚芽鞘(Sahrawat和Chand 2004)为外植体, 经适宜条件下, 进行组织培养和快速繁殖, 均能形成完整的植株, 但形成愈伤组织的能力

则不同。刘香利等(2007)分别以小麦幼胚、幼穗和成熟胚为外植体进行组织培养, 发现幼胚再生率最高为54%, 幼穗次之为27.5%, 成熟胚则最低为25.1%。鲍莞和米福贵(2007)以长穗偃麦草和中间偃麦草杂交种的成熟胚为外植体, 其诱导率为73%, 而分化率仅37.8%。霍秀文等(2004)报道禾本科植物组培再生体系的建立中, 应以幼穗为外植体, 特别是应选取孕穗期的幼穗, 组培快繁的效果更佳。幼穗分生组织与其他顶端分生组织的细胞相比, 通常较大, 且具有较大的液泡和细胞核。这种细胞本身来自幼穗尖端的一个细胞, 同时决定了幼穗分生组织的结构和功能, 有利于组织培养的操作(郭夏宇等2011)。

禾本科植物组织培养时, 大多需要同时添加生长素和细胞分裂素, 如单独添加生长素也可诱导愈伤组织的生成, 其中2,4-D具有促进组织脱分化、愈伤组织增殖的作用(李文静等2012)。通常2,4-D浓度范围为2~4 mg·L<sup>-1</sup>, 且较高浓度2,4-D的植株愈伤组织的诱导率较高, 如剪股颖(吴桂胜等2006)、高羊茅(何勇等2005)、早熟禾(张文君等2010)、稗草(陈丽萍等2016)。本实验中2,4-D浓度为3 mg·L<sup>-1</sup>时, 长穗燕麦草幼穗的愈伤组织诱导率

最高,达66.67%,幼穗可很好地脱分化,且继代过程中也不需要添加任何其他植物生长调节物质,幼穗也可很好实现增殖生长。

在愈伤组织分化过程中,生长素和细胞分裂素的比值高有利于根的生成,比值低有利于诱导不定芽的生成(黄科等2015)。在使用2,4-D诱导植物脱分化后,降低浓度或去除2,4-D,有助于愈伤组织分化。一般使用6-BA作为细胞分裂素,其优点是分化芽多、芽密、呈丛状(刘思言等2013)。本实验中,长穗偃麦草幼穗继代增殖后移入分化培养基,此阶段愈伤组织分化生成丛生芽,其主导植物生长调节物质主要是6-BA,最佳分化培养基为MS+0.1 mg·L<sup>-1</sup> 2,4-D+3 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA,分化率为64.44%,其幼穗脱分化组织可完成分化成苗,同时分化出许多毛状根。选用生根培养基1/2MS+0.5 mg·L<sup>-1</sup> NAA,可促进再生植株的生根。生根数量和质量决定了组培苗炼苗移栽后的成活及生长状况,通常分化根系时间短,根系多,植株越易成活。

#### 参考文献(References)

- Bao W, Mi FG (2007). A study on induction of embryogenic callus and plant regeneration from mature embryos of *Elytrigia hybrid* (*E. elongata* × *E. intermedia*). *Acta Agron Sin*, 24 (11): 348–351 (in Chinese with English abstract) [鲍荒, 米福贵(2007). 长穗偃麦草与中间偃麦草杂种成熟胚离体培养与再生体系的建立. *草地学报*, 24 (11): 348–351]
- Chen LP, Xue MF, Chen LZ, et al (2016). Preliminary study on regeneration plantlet from matured embryo of barnyardgrass by callus tissue culture. *Plant Physiol J*, 52 (12): 1915–1920 (in Chinese with English abstract) [陈丽萍, 徐明飞, 陈列忠等(2016). 稗草成熟胚诱导愈伤组织再生植株的初步研究. *植物生理学报*, 52 (12): 1915–1920]
- Fan SH, Guo AG (2000). A study on the origin of HMW-GS 14 and 15 in Xiaoyan 6. *J Northwest Agric Univ*, 28 (6): 1–5 (in Chinese with English abstract) [范三红, 郭嵩光(2000). 小偃麦6号高分子质量麦谷蛋白14和15亚基来源分析. *西北农业大学学报*, 28 (6): 1–5]
- Gao SQ, Wang YB, Tang YM, et al (2011). Preliminary function research of *EeNAC9* gene from *Elytrigia elongata*. *Biotechnol Bull*, (6): 47–52 (in Chinese with English abstract) [高世庆, 王永波, 唐益苗等(2011). 长穗偃麦草 *EeNAC9* 基因功能初步研究. *生物技术通报*, (6): 47–52]
- Guo Q, Meng L, Mao PC, et al (2015). Salt tolerance in two tall wheatgrass species is associated with selective capacity for K<sup>+</sup> over Na<sup>+</sup>. *Acta Physiol Plant*, 17081 (37): 1708–1760
- Guo XY, Li HS, Peng KQ, et al (2011). Tissue culture and rapid propagation technology of *Triathena lutarioriparia* L.Liu sp.nov. *Plant Physiol J*, 47 (10): 987–990 (in Chinese with English abstract) [郭夏宇, 李合松, 彭克勤等(2011). 南荻的组织培养与快速繁殖技术. *植物生理学报*, 47 (10): 987–990]
- He Y, Tian ZH, Zheng YL (2005). High frequency plant regeneration from mature embryos *in vitro* culture of tall fescue. *Pratacult Sci*, 22 (6): 28–34 (in Chinese with English abstract) [何勇, 田志宏, 郑用琏(2005). 高羊茅成熟胚离体培养及高频植株再生. *草业科学*, 22 (6): 28–34]
- Huang K, Tang J, Liu ZZ, et al (2015). Influences of auxin and cytokine on propagation *in vitro* of *Mulberry*. *J Southwest Univ*, 37 (3): 28–34 (in Chinese with English abstract) [黄科, 唐婧, 刘自震等(2015). 生长素和细胞分裂素对桑树离体繁育的影响. *西南大学学报(自然科学版)*, 37 (3): 28–34]
- Huang W, Fu L, Li C, et al (2017). Quercetin, hyperin, and chlorogenic acid improve endothelial function by antioxidant, anti-inflammatory, and ACE inhibitory effects. *J Food Sci*, 82 (5): 1239–1246
- Huo XW, Wei JH, Zhang H, et al (2004). Study of plant regeneration in wheatgrass (*Agropyron Gaertn*). *Acta Agric Boreali Sin*, 19 (1): 17–20 (in Chinese with English abstract) [霍秀文, 魏建华, 张辉等(2004). 冰草属植物组织培养再生体系的建立. *华北农学报*, 19 (1): 17–20]
- Hussein Z, Dryanova A, Maret D, et al (2014). Gene expression analysis in the roots of salt-stressed wheat and the cytogenetic derivatives of wheat combined with the salt-tolerant wheatgrass, *Lophopyrum elongatum*. *Plant Cell Rep*, 33 (1): 189–201
- Jiang BN, Wang C, Pan JW (2014). Molecular regulatory mechanisms of hypocotyl elongation and phototropism in *Arabidopsis*. *Plant Physiol J*, 50 (10): 1435–1444 (in Chinese with English abstract) [姜楠, 王超, 潘建伟(1993). 拟南芥下胚轴伸长与向光性的分子调控机理. *植物生理学报*, 50 (10): 1435–1444]
- Li WJ, Li XQ, Jia MM, et al (2012). Effects of 6-BA and 2,4-D on callus induction, growth and plantlet regeneration of shepherd's purse [*Capsella bursa-pastoris* (L.) Medic]. *Plant Physiol J*, 48 (2): 141–146 (in Chinese with English abstract) [李文静, 李学强, 贾毛毛等(2012). 6-BA、NAA和2,4-D不同对比对荠菜愈伤组织诱导、生长及植株再生的影响. *植物生理学报*, 48 (2): 141–146]
- Li YJ, Liu JZ, Li B, et al (2010). Chromosomal location of the genes conferring the tolerance to phosphorus deficiency stress in *Lophopyrum elongatum* genome. *J Genet Genomics*, 26 (6): 703–710 (in Chinese with English abstract) [李玉京, 刘建中, 李滨等(2010). 长穗偃麦草基因组中与耐低磷营养胁迫有关的基因的染色体定位. *遗传学报*, 26 (6): 703–710]
- Liu SY, Wang PW, Guan SY, et al (2013). Preliminary study

- on effects of 6-BA on callus induction of soybean. *Hubei Agr Sci*, 52 (16): 3999–4001 (in Chinese with English abstract) [刘思言, 王丕武, 关淑艳等(2013). 6-BA对大豆愈伤组织诱导影响的初步研究. *湖北农业科学*, 52 (16): 3999–4001]
- Liu XL, Liu J, Guo AG, et al (2007). Influencing factors on wheat immature inflorescences culture. *J Northwest A&F Univ*, 35 (2): 79–82 (in Chinese with English abstract) [刘香利, 刘缙, 郭嵩光等(2007). 小麦幼穗的离体培养及其影响因素研究. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 35 (2): 79–82]
- Ma L, Li Y, Chen Y, et al (2016). Improved drought and salt tolerance of *Arabidopsis thaliana* by ectopic expression of a cotton (*Gossypium hirsutum*) CBF gene. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 124 (3): 583–598
- Meng L, Mao PC, Zhang XY, et al(2013). Somatic cell karyotypes of three *Elytrigia elongate* accessions. *Acta Agrict Sin*, 21 (4): 821–827 (in Chinese with English abstract) [孟林, 毛培春, 张晓燕等(2013). 3份长穗偃麦草种质的体细胞核型分析. *草地学报*, 21 (4): 821–827]
- Meng L, Shang CY, Mao PC, et al (2009). A comprehensive evaluation of salt tolerance for germplasm and materials of *Elytrigia* at the seedling stage. *Acta Pratacult Sin*, 18 (4): 67–74 (in Chinese with English abstract) [孟林, 尚春艳, 毛培春等(2009). 偃麦草属植物种质材料苗期耐盐性综合评价. *草业学报*, 18 (4): 67–74]
- Meng L, Yang HX, Mao PC, et al (2011). Assessment of interspecies drought resistance of *Elytrigia* at the seedling stage. *Acta Pratacult Sin*, 20 (5): 67–74 (in Chinese with English abstract) [孟林, 杨宏新, 毛培春等(2011). 偃麦草属植物种间苗期抗旱性评价. *草业学报*, 20 (5): 67–74]
- Meng L, Zhang L, Guo Q, et al (2016). Cloning and transformation of *EeHKT1;4* gene from *Elytrigia elongata*. *Protein Peptide Lett*, 23 (5): 488–494
- Mujib A, Tonk D, Ali M(2014). Plant regeneration from protoplasts in Indian local *Coriandrum sativum* L.: scanning electron microscopy and histological evidences for somatic embryogenesis. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 117 (3): 323–334
- Qiong YJ, Gui R, Lang ML (2011). Cloning and sequence analysis of DREB-like gene *EeAP2.2* in *Thinopyrum ponticum*. *J Plant Genet Resour*, 12 (5): 764–769 (in Chinese with English abstract) [默韶京, 桂茹, 郎明林(2011). 长穗偃麦草DREB类基因*EeAP2.2*的克隆与序列分析. *植物遗传资源学报*, 12 (5): 764–769]
- Qu RD, Chen Y (1983). A preliminary research on the function of enhancement of callus induction frequency by cold pretreatment in rice anther culture. *Plant Physiol J*, 9 (4): 375–381 (in Chinese with English abstract) [渠荣达, 陈英(1983). 低温预处理提高水稻花粉愈伤组织诱导频率的作用. *植物生理学报*, 9 (4): 375–381]
- Sahrawat A K, Chand S(2004). High frequency plant regeneration from coleoptile tissue of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Sci*, 167 (1): 27–34
- Wang JR, Yan ZH, Wei YM, et al (2004). Identification and molecular cloning of  $\gamma$ -type high-molecular-weight glutenin subunit genes from *Elytrigia elongata* (Host) Nevski. *Chin J Agric Biotechnol*, 12 (2): 143–146 (in Chinese with English abstract) [王际睿, 颜泽洪, 魏育明等(2004). 长穗偃麦草Y型高分子量谷蛋白基因的鉴定与分子克隆. *农业生物技术学报*, 12 (2): 143–146]
- Wu GS, Hu YL, Song FP, et al (2006). Study on callus induction and plantlet regeneration of creeping bentgrass (*Agrostis palustris* Huds.). *Biotechnolo Bull*, 4 (22): 16–21 (in Chinese with English abstract) [吴桂胜, 胡鸾雷, 宋福平等(2006). 剪股颖愈伤组织诱导与植株再生. *生物技术通报*, 4 (22): 16–21]
- Zhang LL, Chen SQ, Li HF, et al (2016). Development of wheat-*Thinopyrum elongatum* translocation lines resistant to *Fusarium* head blight. *Sci Agric Sin*, 49 (18): 3477–3488 (in Chinese with English abstract) [张璐璐, 陈士强, 李海凤等(2016). 小麦-长穗偃麦草7E抗赤霉病易位系培育. *中国农业科学*, 49 (18): 3477–3488]
- Zhang WJ, Yang CH, Liu F, et al (2010). The effects of different phytohormone combinations on callus induction of *Poa pratensis* L. *J Sichuan Agr Univ*, 28 (2): 187–190 (in Chinese with English abstract) [张文君, 杨春华, 刘帆等(2010). 不同植物生长调节物质配比对草地早熟禾愈伤组织形成的影响. *四川农业大学学报*, 28 (2): 187–190]

## Establishment of high frequency plant regeneration system from panicle *in vitro* culture of *Elytrigia elongata*

ZHOU Yan-Tong<sup>1,2</sup>, ZHANG Lin<sup>2</sup>, GUO Qiang<sup>2</sup>, TIAN Xiao-Xia<sup>2</sup>, MENG Lin<sup>2,\*</sup>, CUI Guo-Wen<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>College of Animal Science and Technology, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China

<sup>2</sup>Beijing Research and Development Center for Grass and Environment, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100097, China

**Abstract:** The tissue culture and rapid propagation system of *Elytrigia elongata* was established by using the panicle as explants and MS as the basic callus. The effects of various plant growth regulators combinations on callus induction, differentiation and rooting were studied. The results showed that the optimal medium for induction of panicles of *E. elongata* was MC+3 mg·L<sup>-1</sup> 2,4-D, and the induction rate was 66.67%. After 4 weeks, light yellow callus was observed. The optimal differentiation medium was MC+0.1 mg·L<sup>-1</sup> 2,4-D+3 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA, and the differentiation rate was 64.44%. After 4 weeks, the bud point appeared, accompanied by root hair. The best rooting medium was MR+0.5 mg·L<sup>-1</sup> NAA, the rooting rate was 100%, and all survived after transplanting.

**Key words:** *Elytrigia elongata*; panicle; tissue culture; plant regeneration

Received 2018-03-12 Accepted 2018-09-09

This work was supported by the Beijing National Natural Science Found Project (6182013), the Beijing Academy of Agriculture and Forestry Science through Technology Innovation Capacity Building (KJCX20170110).

\*Co-corresponding authors: Meng L (menglin9599@sina.com), Cui GW (cgw603@163.com).