

# The Research Status of Genetic Transformation in Three Kinds of Energy Plants

Hao Du<sup>1</sup>, Bin Zhang<sup>1</sup>, Daolin Du<sup>1,2</sup>, Fengjie Pan<sup>1</sup>, Ping Huang<sup>1,2\*</sup>, Yiqing Zhuang<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Institute of Environmental and Safety Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang Jiangsu

<sup>2</sup>Institute of Agricultural Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang Jiangsu

<sup>3</sup>Zhenjiang Agricultural Science Research Institute, Zhenjiang Jiangsu

Email: duhaont@163.com, \*huangjiehp@163.com, \*zjnkskjc@163.com

Received: Apr. 13<sup>th</sup>, 2017; accepted: Apr. 23<sup>rd</sup>, 2017; published:

---

## Abstract

With the depletion of traditional energies, the renewable energy should be developed and utilized. After preliminary processing, the energy plants could be used as raw materials for industrial fermentation of alcohol. Therefore, the new energy plants, with advantages of rapid growth and rich resources as well as zero carbon emissions, are becoming hot spots of research at home and abroad. Modern genetic engineering method can be directionally used to improve the resistance and yield of energy plants. In this paper, the development & utilization as well as its genetic transformation & development prospect of three kinds of energy plants-switchgrass, Sweet sorghum and Sugarcane were reviewed and discussed.

## Keywords

Switchgrass, Sweet Sorghum, Sugarcane, Genetic Transformation, Development and Utilization, Development Prospects

---

# 三种能源植物的遗传转化研究现状

杜浩<sup>1</sup>, 张彬<sup>1</sup>, 杜道林<sup>1,2</sup>, 潘锋杰<sup>1</sup>, 黄萍<sup>1,2</sup>, 庄义庆<sup>3</sup>

<sup>1</sup>江苏大学环境与安全工程学院, 江苏 镇江

<sup>2</sup>江苏大学农业工程研究院, 江苏 镇江

<sup>3</sup>镇江农业科学研究所, 江苏 镇江

Email: duhaont@163.com, \*huangjiehp@163.com, \*zjnkskjc@163.com

\*通讯作者。

收稿日期：2017年4月13日；录用日期：2017年4月23日；发布日期：

## 摘要

传统能源日益枯竭，亟须可再生能源的开发和利用，能源植物经过初步加工，能够作为发酵酒精的工业原料。因此，这种具有生长迅速，来源广泛和二氧化碳零排放等优点的新能源成为目前国内外研究的热点。现代基因工程方法可以对能源植物进行定向改良，以提高其抗逆性和产量等。本文主要针对柳枝稷、甜高粱和甘蔗三种常见的能源植物的开发利用、遗传转化现状及其发展前景进行综述和讨论。

## 关键词

柳枝稷，甜高粱，甘蔗，遗传转化，开发利用，发展前景

Copyright © 2017 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

能源是国民经济和社会发展的重要物质基础，是人类赖以生存和发展的重要物质保障[1]。随着经济的飞速发展，资源的过度开发利用使得主要的传统化石资源(包括石油、天然气和煤炭等)面临逐渐衰竭的危险。同时化石能源燃烧所排放的大量碳氧化物和氮氧化物对人类生存环境已经造成了极大的破坏。生物质能源因其资源丰富、可再生及二氧化碳零排放等众多优势而迅速成为国际能源研究的热点。利用能源植物转化为乙醇是生物质能转化体系中较成熟的过程，含纤维素和木质素较多的木质植物经过初步加工，能够作为发酵酒精的工业材料。而乙醇生产已在世界范围内形成仅次于石油化工的第二大产业，其工艺装备及生产技术较为成熟，它不但可以弥补传统能源的不足、实现能源安全战略，而且能够提高汽油和柴油的燃烧水平，有利于环境保护[2]。生物质等可再生能源也因此被认为是最有前景的替代能源[3]，必将取代有限的石化能源[4]。

根据化学成分及其用途的不同，能源植物可以分为以下5类[5][6]：(1) 富含糖类的能源植物，主要有甘蔗、甜高粱、菊芋等，用于生产燃料乙醇；(2) 富含淀粉的能源植物，主要有玉米、木薯、马铃薯、甘薯等粮食作物和蕉芋、葛根、橡子、野百合和魔芋等野生植物，用于生产燃料乙醇；(3) 富含纤维的能源植物，主要有芒草、柳枝稷、桉树等，用于生产生物柴油和燃气(甲烷)；(4) 富含油脂的能源植物，主要有油菜、花生等、用于生产生物柴油；(5) 富含类似石油成分的能源植物，主要有麻疯树、油桐等，用于生产生物石油、生物柴油。

理想的能源植物应该是太阳能利用率高、干物质积累能力较强、生长迅速，并且在一定程度上能应对生物及非生物胁迫。因此，通过现代基因工程的手段和方法以培育出优质的能源植物新品种，已经成为目前能源植物开发的研究热点。目前，最常见的能源植物主要有柳枝稷、甜高粱、甘蔗、甜菜等[7]。柳枝稷属于富含纤维素的能源植物，植物木质纤维素是地球上最丰富的、最廉价的再生资源，每年全球光合作用产生的植物生物量高达  $1.1 \times 10^{12}$  t，而每年用于工业生产或者燃烧的纤维素仅占2%左右[4]。因此，在最大程度上研究和开发植物纤维素能源生产生物乙醇对开发新能源及保护环境具有重要的战略

意义。甜高粱和甘蔗是富含糖类的能源植物，不仅可以饲用、造纸、还可以制糖、生产乙醇。

本文主要针对柳枝稷、甜高粱和甘蔗三种能源植物的开发利用、转基因技术在这些能源植物育种中的应用及其发展前景进行综述，并探讨了未来这三种能源植物遗传转化研究中可能存在的问题及解决方法。

## 2. 柳枝稷

柳枝稷(*Panicum virgatum*. L)，禾本科黍属，起源于北美洛基山脉以东、北纬 55°以南，是高秆多年生草本 C4 植物。因其适应性广、耐贫瘠、产量高、多年生和易于管理等特性而被美国能源部和农业部作为纤维素乙醇转化的模式植物，也因此被国内外许多学者认为是一种具有较大发展潜力的能源作物[8]。1997 年，美国率先把柳枝稷作为一种模式能源植物进行了系统研究，此后，国际上即掀起了柳枝稷的研究热潮。

### 2.1. 柳枝稷的组织培养研究

上世纪 90 年代以前，关于柳枝稷组织培养的研究极少[9]。美国生物能源开发项目的实行在很大程度上推动了此项技术的发展[10]，使得柳枝稷可以实现快速成苗。科学家们也通过越来越多的研究获得更多可供遗传转化的外植体类型。1994 年 Denchev 和 Conger 用柳枝稷低地生态型 Alamo 品种的成熟胚和新鲜叶片作外植体，建立了高效的再生体系[11]。他们的研究表明，在 MS 培养基上外源添加 2,4-D 和 BAP 可以诱导成熟胚形成胚性愈伤组织，而以叶片作为外植体时，叶片的衰老程度却在很大程度上会影响愈伤诱导率。另有研究发现，尽管胚性愈伤组织可以诱导体细胞胚胎的发生，但外植体细胞并不能诱导体细胞胚胎的发生[12]。除此之外，胚性愈伤组织在遗传转化的过程中转化效率更高[13]。

### 2.2. 柳枝稷的基因枪法遗传转化研究

目前，转基因技术在柳枝稷新品种培育方面已取得了较大进展，这对发掘能源植物的生物产量潜力和生物燃料相关利用率具有重要的意义[14]。基因组测序和生物信息学技术的快速发展为鉴定、标记、克隆和转化一些具有经济效益和生态价值的重要功能基因提供了有效的方法和手段。科学家们相继研究获得了柳枝稷的连锁遗传图谱、表达序列标签数据库、单核苷酸多态性标记以及包含 2 万个克隆体的 BAC 库，同时，他们通过基因微阵列技术获得了一系列在异质环境中差异表达的基因，这些基因组资源均可以用来培育高产量、抗病抗虫和木质素含量高的新品种[15]。利用转基因技术获得的柳枝稷新品种主要体现在品种驯化、植物的结构优化、提高细胞壁转化为生物燃料的效率等[16]。通过转基因敲除或者导入关键基因，有助于将柳枝稷的细胞壁最大程度转化为生物燃料[10] [17]。2000 年，Richards 和 Rudas 等利用基因枪将携带有除草剂抗性的靶基因和 GFP/GUS 双标记基因的质粒导入植物不成熟的花序中，获得对除草剂有显著抗性的转基因植株[18]，这是首例柳枝稷转基因的研究报道。

### 2.3. 柳枝稷的农杆菌介导法遗传转化研究

与基因枪方法不同的是，农杆菌介导的植物遗传转化的方法具有费用低、能转移大片段 DNA、外源基因拷贝数低并能稳定遗传且转化频率相对较高的优点，是柳枝稷新品种培育中最常见的遗传转化的方法。同时，科学家们发现柳枝稷品种“Alamo”，“Performer”和“Colony”的成熟种子常用于柳枝稷组织培养和遗传转化实验，而选择的农杆菌菌株多为携带了植物表达载体 pTOK47 (含有 20 kb KpnI 片段和 Ti 质粒)或 pJLU13 (pCAMBIA1301 衍生出的包含 hpt 和 sgfp)的 EHA105 菌株[19]。选择合适的外植体、建立高效的再生体系及转化载体的选择可以增加植物的遗传转化率[12]。奚亚军等用携带 pDM805 质粒

的根癌农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*) EHA105 菌株对柳枝稷四种不同外植体进行浸染, 最终发现将体细胞胚胎作为外植体的转化效率最高[20]。这个研究结果给农杆菌介导的柳枝稷遗传转化体系提供了更多的发展空间。他们从 Alamo 品种柳枝稷颖果和花序上诱导产生的胚性愈伤组织用于农杆菌介导的遗传转化实验中, 经过抗性筛选和分子鉴定获得了 T1 代转基因植株, 并在转基因后代中发现了多个插入位点的转基因沉默[20]。刘燕蓉等对愈伤组织进行挑选, 建立了不同生态型柳枝稷的高效再生及遗传体系, 并首次获得了高地型品种 Blackwell 的转基因植株[21] [22]。

### 3. 甜高粱

甜高粱(Sweet Sorghum)是目前公认的最有应用前景的再生能源作物之一[23]。作为粒用高粱的一个变种, 甜高粱不仅有高能作物之称, 而且具有高生物产量和高含糖量的优点, 同时也具有抗旱、耐涝、耐贫瘠、耐盐碱等诸多优良特性。甜高粱作为生物质能源开发遇到的难题之一是原材料成本较高, 这也决定了开发其生物质能源经济效益较低如何降低原料成本和改善原料品质成为甜高粱生物质能源产业发展的关键问题, 传统的育种方法已经很难实现, 而转基因技术的应用则使这些成为可能[23]。

#### 3.1. 甜高粱的基因枪法遗传转化研究

高粱全基因组测序的完成为甜高粱的遗传转化奠定了坚实的基础[23]。关于甜高粱遗传转化的研究已有许多, 目前已成功用于甜高粱遗传转化并获得转基因植株的方法有基因枪法、农杆菌介导法和花粉管通道法。Christou 等于 1991 年首次尝试用基因枪法将外源基因导入甜高粱的愈伤组织中[24]。后来这种方法也广泛应用于包括甜高粱在内的对农杆菌不敏感的其他禾谷类作物的转化体系中。Li 等于 2011 年用甜高粱的幼胚作为外植体, 建立了一套高效的微粒转化体系[19]。然而, 基因枪法在甜高粱遗传转化应用中也存在着较大局限性: 如成本较高, 且转化的基因往往是多拷贝插入, 易发生基因沉默以及转化效率较低等问题[23]。

#### 3.2. 甜高粱的农杆菌介导法遗传转化研究

由于甜高粱是单子叶禾本科植物, 不是根癌农杆菌的天然寄主, 农杆菌介导的遗传转化法最初在甜高粱的应用发展较为缓慢, 随着人们对农杆菌浸染机制的深入了解和植物转化技术的不断完善, 这种方法广泛的应用于甜高粱新品种培育中。2000 年, Zhao 等用甜高粱幼胚与携带了超级双元载体的农杆菌共培养后, 获得了 2.1%的阳性转化率[25]。Howe 等用高粱的幼胚作为外植体, 选用携带 pPTN290 植物表达载体的农杆菌 NTL4 菌株进行植物遗传转化, 最终在 T0 代转基因植株中检测到 89% GUS 基因表达率, 转基因植株产种量达到 145~1400 颗/株, 并成功获得了具有优良性状的 T1 代转基因植株[26]。尽管农杆菌介导的甜高粱遗传转化获得了成功并得到了转基因植株, 但转化过程耗时较长并且仍存在着一些亟待解决的问题: 如转化条件较为苛刻和严格, 传统农杆菌介导的转化方法通常要耗时至少三个月[27]。为了解决这个问题, Kumar 等对农杆菌介导甜高粱遗传转化的条件进行了优化和完善, 他们发现在共培养阶段的培养基中加入 L-半胱氨酸后, 其转化效率提高了 2.9 倍; 对农杆菌浸染过程中用到的 AB 培养基进行优化, 如降低磷酸盐的含量和 pH 值, 使得转化的效率提高 2.8 倍。此外, 转基因活性测定结果表明, T0 代转基因植株的 CaMV35S 启动子的活性在转基因植株生长的初期非常低, 表明这个表达水平只会在 T0 生长的后期和 T1 代中有较高的表达水平[28]。为克服甜高粱植物组织培养及转基因植株再生困难等问题, Raghuwanshi 等的研究则提供了一套重复性较高, 且操作性较强的农杆菌介导甜高粱遗传转化体系, 他们优化植物组织培养的环境, 使得 12 周大小的胚性愈伤组织的再生频率达到 90%以上, 并建立了一种用潮霉素抗性筛选的有效方法, 最终获得了 16 个甜高粱转基因株系, 荧光素酶的共表达频率达到了

62.5%，且在对 T0 和 T1 代转基因植株进行 Southern 杂交和荧光素酶分析后发现外源基因的表达。此外，他们的研究表明这些因素对优化其它品种甜高粱遗传转化体系同样适用[29]。

### 3.3. 甜高粱的功能形状遗传改良

近年来，科学家们通过遗传转化方法将不同来源、不同功能的基因导入甜高粱，成功获得了一批抗虫、抗病、抗逆，抗除草剂的多产、优质甜高粱品种，为新能源的开发利用做出了重大贡献。Zhao 等[30]将富赖氨酸 HT12 基因转入到甜高粱品种 P898012 和 PHI391 中，并成功获得赖氨酸的高粱。Lu [10]等则将赖氨酸 tRNA 合成酶基因转入甜高粱品种 P898012 中，并提高了籽粒中赖氨酸的含量。

在抗旱性研究方面，Gao 等[5]和 Yellisetty 等[9]分别将编码索马甜蛋白的目的基因 tlp 和编码海藻糖-6-磷酸的 TSP 基因分别转入甜高粱中，获得了抗旱的甜高粱新品种。近年来，科学家们将杀虫晶体蛋白基因 cry1Ab, Cry1C 转入甜高粱中，在抗玉米螟和大螟方面取得了巨大进展[24] [29] [30] [31] [32]。

## 4. 甘蔗

甘蔗(*Saccharum officinarum* L.)是最重要的糖料作物，其产糖量约占世界产糖总量的 65%，同时甘蔗也是生产糖醛、葡萄糖和绿色能源乙醇的重要原料[33]。但由于甘蔗基因组复杂，基因库狭窄[34]，需要较长的育种周期筛选出优良的甘蔗品种。另外，随着世界淡水资源的日益短缺，干旱对甘蔗生产的影响也日益严重。所以，利用基因工程方法实现甘蔗优良品种的定向改良具有良好的前景[35]。

### 4.1. 甘蔗的基因枪法遗传转化研究

植物生物技术的飞速发展给甘蔗新品种改良带来了突破性的进展[36]。有效的离体细胞培养及植株再生体系的建立是开展遗传转化研究的先决条件之一[37]，而甘蔗则是最早成功建立离体培养体系的植物之一[38] [39]。1990 年美国的 Maretzki 等首次用基因枪把 GUS 基因导入甘蔗愈伤组织中，并得到了瞬时表达[40]。Bower 和 Birch 于 1992 年就成功建立了基因枪法介导的甘蔗遗传转化体系[41]。虽然基因枪法在甘蔗的遗传转化中的应用有着外植体获得简单、原生质体培养和再生较为容易的优点，但也存在着转化频率比较低、嵌合体比例很大、遗传稳定性较差等不足[30]。

### 4.2. 甘蔗的农杆菌介导法遗传转化研究

随着农杆菌介导禾本科作物转化技术的突破，水稻、玉米、高粱等作物运用农杆菌介导方法进行遗传转化都取得了巨大的成果[42]，使得农杆菌方法转导甘蔗外源目的功能基因的研究得到深入发展。1994 年 Bajaj 采用了农杆菌介导的遗传转化方法将外源基因转入甘蔗，获得了新的品种，并在实验的过程中应用基因诱导剂增强了农杆菌对甘蔗外植体的浸染能力[43]。李瑞美等采用根癌农杆菌介导法将苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)毒蛋白 Bt 基因 cryIA 转入甘蔗胚性愈伤组织中，并最终获得 13 个再生植株[32]。Manickavasagam 等运用农杆菌真空浸染法首次对甘蔗的腋芽成功的进行了转基因，且研究表明共培养是增强 T-DNA 插入植物基因组的关键步骤[44]。罗敬萍等在农杆菌介导甘蔗基因转化技术的研究中，对使用的菌种、最适宜浸染的菌液浓度、愈伤组织龄期、乙酰丁香酮活化时间及使用浓度等作了优化，建立了有效的农杆菌介导甘蔗遗传转化体系[45]。

### 4.3. 甘蔗的功能形状遗传改良

近年来，农杆菌转化研究多采用甘蔗品种新台糖 22 号(ROC22)为研究对象。腾铮等[46]将外源冷调节基因 Cbcor15a 导入甘蔗愈伤组织并获得抗寒性品种。而黄成梅等[47]和王文治等[48] [49]成功获得抗除草剂转基因甘蔗。王文治等[50]采用 PCR 和蛋白质检测分析对多基因转化甘蔗进行分析研究，他们的研

究表明完整插入并整合的多基因片段可以稳定遗传给子代并且能够检测到外源基因蛋白的表达。

## 5. 讨论

随着化石能源枯竭、生态环境恶化及极端气候问题日益突出,开发和利用耐盐碱、耐高温、高生物量、来源广泛、二氧化碳零排放和可再生等优点的能源植物具有广阔的发展前景。柳枝稷、甜高粱和甘蔗体内含有丰富的糖类物质,如可溶性糖、纤维素和半纤维素等,且纤维素和半纤维素的积累随植株衰老成增加趋势,可以通过生物酶等作用将其转化为生物乙醇[51][52]。

我国耕地面积有限,土壤盐碱化及荒漠化严重,所以利用植物基因工程技术在分子基础上设计和优化能源植物将成为今后改良能源植物的重要研究方向。未来的研究热点可能集中在以下几个方面:(1)开展或利用有效的转基因方法,例如利用双元或多元载体系统,提高农杆菌介导法的转化效率,建立高效的遗传转化体系;(2)将具有耐盐碱、耐干旱等环境胁迫功能基因的遗传转化研究,提高能源植物的适用性;(3)降低能源植物中木质素的含量,提高糖类物质的产量和转化率;(4)将能源植物利用的太阳能最大程度转化为生物质能,满足人类日益增长的能源消耗需求,从而达到取代传统能源的目的。

## 项目基金

江苏省科技支撑计划项目(编号:BE2012419, BE2011369);国家自然科学基金项目(编号:31200316, 31570414);中国博士后科学基金项目(编号:2012M520999);江苏大学高级人才基金项目(编号:11JDG150)。

## 参考文献 (References)

- [1] 陈英明,肖波,常杰,等. 能源植物的资源开发与应用[J]. 氨基酸和生物资源, 2005, 27(4): 1-5.
- [2] 张卫明,史劲松,顾龚平. 生物质能的利用和能源植物的开发[J]. 南京师大学报(自然科学版), 2007, 30(3): 68-74.
- [3] Hoogwijk, M., Faaij, A., Broek, R.V.D., et al. (2003) Exploration of the Ranges of the Global Potential of Biomass for Energy. *Biomass and Bioenergy*, **25**, 119-133. [https://doi.org/10.1016/S0961-9534\(02\)00191-5](https://doi.org/10.1016/S0961-9534(02)00191-5)
- [4] 郭月玲,江海东,张磊,等. 我国主要能源植物及其开发利用的现状与前景[J]. 浙江农业科学, 2009, 1(6): 1057-1062.
- [5] 李军,吴平治,李美茹,等. 能源植物的研究进展及其发展趋势[J]. 自然杂志, 2007, 29(1): 21-25.
- [6] 吴国江,刘杰,娄治平,等. 能源植物的研究现状及发展建议[J]. 中国科学院院刊, 2006, 21(1): 53-57.
- [7] Tolmac, D., Prulovic, S., Lambic, M., et al. (2014) Global Trends on Production and Utilization of Biodiesel. *Energy Sources Part B-Economics Planning and Policy*, **9**, 130-139. <https://doi.org/10.1080/15567241003773226>
- [8] Yang, Z., Sarkar, M., Kumar, A., et al. (2014) Effects of Torrefaction and Densification on Switchgrass Pyrolysis Products. *Bioresource Technology*, **174**, 266-273. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.10.032>
- [9] Jager H.I., Baskaran, L.M., Brandt, C.C., et al. (2010) Empirical Geographic Modeling of Switchgrass Yields in the United States. *GCB Bioenergy*, **2**, 248-257. <https://doi.org/10.1111/j.1757-1707.2010.01059.x>
- [10] McLaughlin, S.B. and Kszos, L.A. (2005) Development of Switchgrass(*Panicum virgatum* L.) as a Bioenergy Feedstock in the United States. *Biomass and Bioenergy*, **28**, 515-535. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2004.05.006>
- [11] Denchev, P.D. and Conger, B.V. (1994) Plant Regeneration from Callus Cultures of Switchgrass. *Crop science*, **34**, 1623-1627. <https://doi.org/10.2135/cropsci1994.0011183X003400060036x>
- [12] Song, G., Walworth, A. and Hancock, J.F. (2012) Factors Influencing Agrobacterium-Mediated Transformation of Switchgrass Cultivars. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, **108**, 445-453. <https://doi.org/10.1007/s11240-011-0056-y>
- [13] Burris, J.N., Mann, D.G.J., Joyce, B.L., et al. (2009) An Improved Tissue Culture System for Embryogenic Callus Production and Plant Regeneration in Switchgrass (*Panicum virgatum* L.). *BioEnergy Research*, **2**, 267-274. <https://doi.org/10.1007/s12155-009-9048-8>
- [14] Nageswara-Rao, M., Soneji, J.R., Kwit, C., et al. (2013) Advances in Biotechnology and Genomics of Switchgrass. *Biotechnology for Biofuels*, **6**, 1-15.
- [15] Casler, M.D., Tobias, C.M. and Kaeppler, S.M., et al. (2011) The Switchgrass Genome: Tools and Strategies. *The Plant Genome*, **4**, 273-282. <https://doi.org/10.3835/plantgenome2011.10.0026>

- [16] Himmel, M.E., Ding, S.Y., Johnson, D.K., *et al.* (2007) Biomass Recalcitrance: Engineering Plants and Enzymes for Biofuels Production. *Science*, **315**, 804-807.
- [17] Gressel, J. (2008) Transgenics Are Imperative for Biofuel Crops. *Plant Science*, **174**, 246-263.
- [18] Richards, H.A., Rudas, V.A., Sun, H., *et al.* (2001) Construction of a GFP-BAR Plasmid and Its Use for Switchgrass Transformation. *Plant Cell Reports*, **20**, 48-54. <https://doi.org/10.1007/s002990000274>
- [19] Li, R. and Qu, R. (2011) High Throughput Agrobacterium-Mediated Switchgrass Transformation. *Biomass and Bioenergy*, **35**, 1046-1054.
- [20] Xi, Y., Fu, C., Ge, Y., *et al.* (2009) Agrobacterium-Mediated Transformation of Switchgrass and Inheritance of the Transgenes. *BioEnergy Research*, **2**, 275-283. <https://doi.org/10.1007/s12155-009-9049-7>
- [21] 刘公社, 周庆源, 宋松泉, 等. 能源植物甜高粱种质资源和分子生物学研究进展 [J]. 植物学报, 2009, 44(3): 253-261.
- [22] 刘燕蓉, 岑慧芳, 严建萍, 等. 农杆菌介导的柳枝稷遗传转化体系的优化[J]. 中国农业科学, 2016, 49(1): 80-89.
- [23] Emani, C., Sunilkumar, G. and Rathore, K.S. (2002) Transgene silencing and reactivation in Sorghum. *Plant Science*, **162**, 181-192. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(01\)00559-3](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00559-3)
- [24] Christou, P. (2005) Genetic Transformation of Crop Plants Using Microprojectile Bombardment. *The Plant Journal*, **2**, 275-281. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.1992.00275.x>
- [25] Zhao, Z., Cai, T., Tagliani, L., *et al.* (2000) Agrobacterium-Mediated Sorghum Transformation. *Plant Molecular Biology*, **44**, 789-798.
- [26] Howe, A., Sato, S., Dweikat, I., *et al.* (2006) Rapid and Reproducible Agrobacterium-Mediated Transformation of Sorghum. *Plant Cell Reports*, **25**, 784-791. <https://doi.org/10.1007/s00299-005-0081-6>
- [27] Bihani, P., Char, B. and Bhargava, S. (2011) Transgenic Expression of Sorghum DREB2 in Rice Improves Tolerance and Yield under Water Limitation. *Journal of Agricultural Science*, **149**, 95-101.
- [28] Kumar, V., Campbell, L.M. and Rathore, K.S. (2011) Rapid Recovery and Characterization of Transformants Following Agrobacterium-Mediated T-DNA Transfer to Sorghum. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, **104**, 137-146. <https://doi.org/10.1007/s11240-010-9809-2>
- [29] Raghuvanshi, A. and Birch, R.G. (2010) Genetic Transformation of Sweet Sorghum. *Plant Cell Reports*, **4**, 997-1005.
- [30] Zhao, Z., Glassman, K. and Sewalt, V. (2003) Nutritionally Improved Transgenic Sorghum. In: Vasil, I.K., Ed., *Plant Biotechnology 2002 and Beyond*, Kluwer Academic Publishers, Heidelberg, 413-416. [https://doi.org/10.1007/978-94-017-2679-5\\_85](https://doi.org/10.1007/978-94-017-2679-5_85)
- [31] 张明洲, 唐乔, 陈宗伦, 等. 农杆菌介导 Bt 基因遗传转化高粱[J]. 生物工程学报, 2009, 25(3): 418-423.
- [32] 朱莉, 郎志宏, 李桂英, 等. 农杆菌介导甜高粱转 Bt cry1Ah 的研究[J]. 中国农业科学, 2011, 44(10): 1989-1996.
- [33] 汤亚飞, 周国辉. 甘蔗转基因技术及其在甘蔗改良中的应用 [J]. 甘蔗糖业, 2005, 20(4): 1-5.
- [34] Jackson, P.A. (2005) Breeding for Improved Sugar Content in Sugarcane. *Field Crops Research*, **92**, 277-290. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2005.01.024>
- [35] 吴转娣, 刘新龙, 姚丽, 等. 根癌农杆菌介导的甘蔗遗传转化[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2011, 37(2): 150-155.
- [36] Ferreira, S.D., Nishiyama, M.Y., Paterson, A.H., *et al.* (2013) Biofuel and Energy Crops: High-Yield Saccharinae Take Center Stage in the Post-Genomics Era. *Genome Biology*, **14**, 210. <https://doi.org/10.1186/gb-2013-14-6-210>
- [37] Mayavan, S., Subramanyam, K., Arun, M., *et al.* (2013) Agrobacterium Tumefaciens-Mediated in Planta Seed Transformation Strategy in Sugarcane. *Plant Cell Reports*, **62**, 1557-1574.
- [38] Nawaz, M., Ullah, I., Iqbal, N., *et al.* (2013) Improving *In Vitro* Leaf Disk Regeneration System of Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) with Concurrent Shoot/Root Induction from Somatic Embryos. *Turkish Journal of Biology*, **37**, 726-732. <https://doi.org/10.3906/biy-1212-10>
- [39] Silveira, V., Devita, A.M., Macedo, A.F., *et al.* (2013) Morphological and Polyamine Content Changes in Embryogenic and Non-Embryogenic Callus of Sugarcane. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, **114**, 351-364. <https://doi.org/10.1007/s11240-013-0330-2>
- [40] Marezki, A., Sun, S.S., Nagai, C., Bidney, D., Houtchens, K.A., Delà Cruz, A. (1990) Development of a Transformation System for Sugarcane. Abstr VII Int Congr Plant Tissue Cell Culture, June 1990, IAPTC, Amsterdam, 68. [http://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-3-642-78037-0\\_27](http://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-3-642-78037-0_27)
- [41] Bower, R. and Birch, R.G. (1992) Transgenic Sugarcane Plants via Microprojectile Bombardment. *The Plant Journal*, **2**, 409-416. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.1992.00409.x>
- [42] 张瑜, 鄢家俊, 白史且, 等. 农杆菌介导禾本科植物遗传转化的研究进展[J]. 草业与畜牧, 2016(4): 4-9.

- [43] Bajaj, Y.P. (1994) *Plant Protoplasts and Genetic Engineering*. Springer Berlin Heidelberg, Heidelberg, 5.
- [44] Manickavasagam, M., Ganapathi, A., Anbazhagan, V.R., *et al.* (2004) Agrobacterium-Mediated Genetic Transformation and Development of Herbicide-Resistant Sugarcane (*Saccharum Species Hybrids*) Using Axillary Buds. *Plant Cell Reports*, **23**, 134-143. <https://doi.org/10.1007/s00299-004-0794-y>
- [45] 秦翠鲜, 陈忠良, 桂意云, 等. 农杆菌介导甘蔗愈伤组织遗传转化体系的优化[J]. 中国生物工程杂志, 2013, 33(9): 66-72.
- [46] 滕峥, 李鸣, 崔永祯, 等. 农杆菌介导冷调节基因(Cbcor15a)遗传转化甘蔗体系的建立[J]. 南方农业学报, 2014, 45(8): 1333-1339.
- [47] 黄诚梅, 魏源文, 邓智年, 等. 转 Bt 甘蔗后代 Bar 基因表达及其植株农艺性状表现[C]//中国作物学会. 中国作物学会 2015 年学术年会论文摘要集. 中国作物学会, 2015: 1.
- [48] 王文治, 杨本鹏, 蔡文伟, 等. 甘蔗转基因甘露糖筛选系统的建立[J]. 生物技术通报, 2015, 31(1): 92-97.
- [49] 王文治, 杨本鹏, 蔡文伟, 等. 抗除草剂 Bar 基因与 EPSPS 基因在转基因甘蔗中的应用研究[J]. 生物技术通报, 2016, 32(3): 73-78
- [50] 王文治, 杨本鹏, 冯翠莲, 等. 基于 PCR 和蛋白检测分析多基因转化甘蔗的遗传稳定性[J]. 分子植物育种官方网站, 2016, 14(11): 1-11.
- [51] 吴娟子, 张建丽, 潘玉梅, 等. 象草和杂交狼尾草细胞壁组分及乙醇理论产量动态分析[J]. 草业学报, 2014, 23(4): 153-161.
- [52] 张建丽, 吴娟子, 钱晨, 等. 不同品系象草的生物产量及木质纤维素乙醇生产潜力研究[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(8): 503-505.

**期刊投稿者将享受如下服务:**

1. 投稿前咨询服务 (QQ、微信、邮箱皆可)
2. 为您匹配最合适的期刊
3. 24 小时以内解答您的所有疑问
4. 友好的在线投稿界面
5. 专业的同行评审
6. 知网检索
7. 全网络覆盖式推广您的研究

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: [hjas@hanspub.org](mailto:hjas@hanspub.org)