

我国牧草种质资源创新研究进展

徐春波^{1,2}, 王 勇¹, 赵来喜², 赵海霞², 米福贵¹

(¹内蒙古农业大学生态环境学院, 呼和浩特 010018; ²中国农业科学院草原研究所, 呼和浩特 010010)

摘要:总结了几十年来我国牧草种质资源创新研究的方法和成果, 详细阐述了种内杂交、远缘杂交、射线辐射、离子束注入、太空搭载、化学诱变及基因转化等不同技术方法在牧草种质资源创新中的应用, 并对我国牧草种质资源创新的应用前景进行了讨论, 以期为促进我国牧草种质资源创新和育种研究的进一步发展提供参考。

关键词:牧草; 种质资源; 创新

Research Progress of Forage Germplasm Resources Innovation in China

XU Chun-bo^{1,2}, WANG Yong¹, ZHAO Lai-xi², ZHAO Hai-xia², MI Fu-gui¹

(¹College of Ecology and Environment Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018;

²Grassland Research Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Hohhot 010010)

Abstract: The research methods and achievements in recently decades for forage germplasm resources innovation of China have been summarized in this paper. The methods of intraspecific hybridization, distant hybridization, radiation, ion beam implantation, spaceship-carried, chemical mutation, and gene transformation were detailedly stated and the application prospect was also discussed for forage germplasm resources innovation. The above mentioned would promote the further developments and provide reference on the studies of forage breeding and innovation.

Key words: forage; germplasm resources; innovation

牧草种质资源是我国草地畜牧业可持续发展的物质基础, 是维持人类生存、维护国家生态安全的战略重要资源。现在牧草不仅仅作为饲料资源, 而且已成为生态环境建设、生态修复的工具, 廉价的食品工业、医药工业、能源工业的原料。积极开展牧草种质资源创新与利用研究, 对丰富我国牧草种质资源及遗传多样性、培育牧草新品种、促进草产业可持续发展将起着积极的作用。在草业科研人员多年的努力下, 利用种内杂交、远缘杂交、射线辐射、离子束注入、太空搭载、化学诱变及基因转化等技术方法进行种质创新研究已取得了较好的进展。本文就我国牧草种质资源创新研究做了系统地综述和展望, 以期为促进我国牧草种质资源创新和育种研究的进一步发展提供参考。

1 传统方法进行种质创新研究进展

杂交是一种较传统的方法, 虽已有 200 多年的历史, 但至今仍是国内外应用最广泛、最重要且有效的种质创新和育种手段之一。通过合理的选配亲本进行杂交, 其后代经过单株选择、混合选择、集团选择或轮回选择等, 能培育出某些数量性状超出双亲的牧草新种质材料和新品种。如蒙农杂种冰草 (*Agropyron cristatum* × *A. desertorum*) 是从美国引进的冰草杂交种 Hycrest 群体中, 经 2 次单株选择, 1 次混合选择育成的高产冰草新品种。中饲 237 小黑麦 (*Triticale* Wittmack) 是用小黑麦不育系 NTH101 与小黑麦 WOH18、WOH45 等 15 个品系杂交组群, 经 3 个轮回选择培育而成。截止 2006 年, 在中国已通过审定登记的牧草育成品种中, 通过杂交育种方

收稿日期: 2013-01-18 修回日期: 2013-03-06 网络出版日期: 2013-08-09

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20130809.1446.023.html>

基金项目: “十二五”国家科技支撑计划项目(2012BAD13B07); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(1610332012207); 国家自然科学基金(2011MS0402)

第一作者主要从事牧草种质资源与育种研究。E-mail: xcb972002@163.com

通信作者: 米福贵, 主要从事草畜种质资源学研究。E-mail: mfguinm@163.com

法育成的新品种达 27 个,占育成新品种总数的 30%^[1]。

1.1 种内杂交

种内杂交就是指同一植物种内的不同品种间(或品系)进行的杂交,主要涵盖亲本选择、杂交组合方式、杂交技术及杂种后代的选择几个方面,目前技术及方法相应比较成熟,已广泛应用于牧草种质创新与育种。以 1341 豌豆(*Pisum sativa*)为母本和 4511 豌豆为父本,有性杂交并经混合选择育成的中豌 1、3、4 号系列豌豆品种;以有性杂交结合轮回选择法育成的吉生 3、4 号羊草(*Leymus chinensis*);以 GJ60 玉米(*Zea mays*)为母本、GB47-1 玉米为父本杂交育成的龙牧 1、3 号多茎多穗型饲用玉米;以辽原 1 号为母本、桂群为父本杂交育成的高抗丝黑穗病,高抗倒伏的辽青 85 青饲玉米;以自选饲用高粱(*Sorghum bicolor*)不育系 LS3A 为母本和外引甜高粱恢复系 Rio 为父本杂交育成的粮饲兼用抗逆性强的辽饲杂 1 号饲用高粱;以美洲狼尾草(*Pennisetum americanum*)不育系 Tift 23A 为母本、恢复系 BiL 3B 为父本杂交育成的高产优质和抗逆性强的宁杂 3、4 号美洲狼尾草;采用多父本(苏联 0134 号、印第安、匈牙利和武功 4 个紫花苜蓿)和散逸的当地紫花苜蓿(*Medicago sativa*)杂交并经过 3 次混合选择育成的图牧 2 号紫花苜蓿;采用先进的多系杂交法选育而成的由 7 个无性系组合的综合品种甘农 3 号紫花苜蓿等^[2],都是采用种内杂交方法辅助其他手段培育出的牧草新品种。

1.2 远缘杂交

远缘杂交可以打破种间或科属间界限,使不同物种间的遗传物质进行交流和结合,因而是创造新物种的一条重要途径。特别是近年来,随着对远缘杂交交配不易成功和杂种结实率低的原因的逐步阐明及远缘杂交技术的巨大进步,使得远缘杂交在牧草种质创新和育种应用上越来越广泛。远缘杂交产生的特异杂种优势对于种质创新具有重要意义。在牧草领域,远缘杂交主要在禾本科及豆科牧草属间、种间开展,经几代科研工作者的辛勤努力,运用远缘杂交方法现已陆续培育成功高粱与苏丹草(*Sorghum sudanense*)杂交的皖草 2 号高丹草(*S. bicolor* × *S. sudanense*)、羊茅(*Festuca arundinacea*)与黑麦草(*Lolium perenne*)属间杂交的南农 1 号羊茅黑麦草(*L. perenne* × *F. arundinacea*)、冰草与沙生冰草杂交的蒙农杂种冰草等新品种。对于我国北方地区最重要的牧草苜蓿而言,远缘杂交应用更为广泛,如育

成的草原 1、2 号杂花苜蓿(*M. varia*)就是应用黄花苜蓿(*M. falcata*)与紫花苜蓿种间杂交培育出的抗性、产量均较为突出的优良苜蓿品种^[2],目前已在内蒙古地区广泛栽培,其他品种,如野生黄花苜蓿与栽培苜蓿杂交组合图牧 1 号,野生二倍体扁蓿豆(*M. ruthenica*)与地方良种四倍体肇东苜蓿远缘有性杂交育成的龙牧 801、803,天山野生黄花苜蓿与紫花苜蓿天然杂交后选育的新牧 1、3 号等苜蓿品种均为利用远缘杂交获得抗病性、抗寒性、直立性强和高产等一个或几个优异性状杂交后代,结合选择等育种方法培育出的各地区优良品种。用这种方法育成的苜蓿品种约占全部登记苜蓿品种的 1/4 以上,而且这些优异的苜蓿品种大部分已成为各地区广泛栽培的当家牧草品种。此外,我国牧草工作者正在对一批有价值的牧草种质材料开展远缘杂交创新研究,李造哲等^[3]对披碱草(*Elymus dahuricus*)和野大麦(*Hordeum brevisubulatum*)及其杂种 F_1 与 BC_1F_1 的生物学及农艺特性进行了分析,杂种 F_1 表现出较强的杂种优势,总体上, BC_1F_1 的生产性能倾向于轮回亲本野大麦。侯建华等^[4]对羊草与灰色赖草(*L. cinereu*)及 F_1 生物学特性进行了研究,结果表明与双亲相比杂种 F_1 具有植株高大、叶片宽厚、叶量丰富、生长旺盛和穗粗大等特点。于卓等^[5]对加拿大披碱草(*E. canadensis*)和野大麦杂交组合探明 PMCM 平均染色体配对构型,这在国内外小麦族多年生牧草远缘杂交研究中属首次发现。王树彦等^[6]报道显示,加拿大披碱草比老芒麦(*E. sibiricus*)生育期晚 30 d 左右,繁殖能力较弱,二者在形态学上有较大差异;其 F_1 在生长和无性繁殖特性上表现出杂种优势,而育性极为衰退。王殿魁等^[7]报道的扁蓿豆与紫花苜蓿杂交育种利用辐射二倍体扁蓿豆和四倍体苜蓿种子,提高属间远缘杂交不育的亲合性获得成功。

2 诱变方法进行种质创新研究进展

我国的诱变研究工作始于 20 世纪 50 年代后期,几十年来,经过不断地努力和探索,诱变研究取得了很大成就。据不完全统计,截至 2008 年,我国利用诱变技术已在 45 种植物上育成了 796 个突变品种。在牧草方面,虽然诱变研究工作起步较晚,但随着诱变研究的不断发展,研究者通过新诱变源开发、突变体筛选技术改进等,开发出了离子束注入、航天搭载等诱变新技术,在牧草种质创新和培育牧草新品种方面取得了可喜的成果。

2.1 物理诱变

在利用诱变方法进行种质创新和培育新品种的报道中,大多数采用的是物理诱变方法,且主要集中在射线辐射、离子束注入和空间诱变研究上。

2.1.1 射线辐射 多年来,研究人员利用射线辐射诱变了一些牧草种类,成功获得了一批牧草新种质材料,其中一些新种质经选育后已登记成新品种。辽宁省农科院等单位以 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线照射方法育成早熟沙打旺(*Astragalus adsurgens*)品种。中科院水土保持研究所等单位 and 黑龙江省畜牧研究所也利用 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线照射方法育成彭阳早熟和龙牧2号2个沙打旺品种^[8]。郭海林等^[9]采用 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线对狗牙根(*Cynodon dactylon*)的匍匐茎和根状茎进行辐射诱变,使狗牙根的坪用性状发生了丰富的不定向变异,筛选出C75502M1为坪用价值高且生长速度快的优良诱变后代。

2.1.2 离子束注入 离子束注入诱变技术是指将离子经高能加速器加速后辐照生物体,使质量、能量和电荷共同作用于生物体,从而诱发产生突变的一种诱变技术。1989年,我国科学家余增亮等^[10]首次报道了离子束注入水稻(*Oryza sativa*)的初步研究,从此,离子束注入技术作为一种新的植物诱变源和育种方法被采用。近年来,牧草科研人员在一些草种上也开展了离子束注入相关研究,且已经获得了一些表现良好的牧草新品系或新材料。吕杰等^[11]将 N^+ 离子注入紫花苜蓿种子,提高了种子发芽势和发芽率。葛娟等^[12]将不同剂量的 Ar^+ 注入紫花苜蓿后发现,在一定的剂量范围能提高种子的发芽率(势)、根长和有丝分裂指数。刘亚萍等^[13]将低剂量的 N^+ 注入燕麦(*Avena sativa*),提高了燕麦发芽率、田间出苗率和分蘖率。于靖怡等^[14]将不同剂量氮离子束注入05-28鹅观草属(*Roegneria*)植物种子,低剂量氮离子束注入对05-28种子萌发指数、苗高与第1叶长有促进作用,高剂量有抑制作用。刘瑞峰等^[15]利用低能离子束 N^+ 注入高羊茅种子,发现随剂量梯度增大,高羊茅种子的发芽率呈下降趋势。颜红梅等^[16]采用离子束贯穿处理豆科与禾本科牧草种子,在禾本科牧草中选出叶片变厚、叶色深绿、生长势增强的新株系,在菊科牧草中选出叶片形状、茎秆和叶脉颜色发生很大变化的新株系。闫茂华等^[17]利用低能 N^+ 离子诱变改变了狐米草(*Spartina patens*)的经济性状,并筛选出了生物量大、光合能力强、营养丰富,较适合于沿海滩涂种植的狐米草优良突变系。

2.1.3 空间诱变 空间诱变是通过各类飞行器(返回式卫星、飞船等)进行生物飞行搭载,利用太空中的特殊环境(太空辐射、微重力、高真空、弱地磁等因素)诱发突变的一种技术。它是近几十年来发展起来的创造新种质和新品一种的有效途径,可以看作是一种特殊的物理诱变方式。徐云远等^[18]1994年首次将红豆草(*Onobrychis viciaefolia*)、苜蓿和沙打旺这3种豆科牧草种子搭载于940703卫星,红豆草经空间处理后, SP_1 花期延长, SP_2 对盐胁迫和渗透胁迫表现抗性,并产生抗病害能力。沙打旺的处理组抗病性也有明显增强。随着新型搭载工具的出现以及草业的发展,我国空间诱变研究工作在牧草上已广泛开展,并取得了一定的成果。李聪等^[19]对1996年搭载的2个沙打旺地方材料进行研究发现,沙打旺 SP_1 表现出半匍匐、多分枝、叶片大等有益变异类型; SP_2 出现了广谱性状分离,诱变效应非常显著。韩蕾等^[20]对“神舟三号”(SZ-3)飞船搭载的草地早熟禾进行研究,获得了植株矮化,可减少刈割次数,降低成本的变异类型以及生长速度快,分蘖多,叶片数增加的变异类型。胡繁荣等^[21]对经返回式卫星搭载处理的黄叶高羊茅进行研究,筛选到半矮秆、匍匐性、细叶、迟熟、耐热性等优质抗逆黄叶高羊茅突变体。张蕴薇等^[22]研究表明经“神州四号”飞船搭载的当代红豆草,匍匐型突变体表现尤为明显。严欢等^[23]对“实践八号”卫星搭载后的长江2号多花黑麦草(*L. multiflorum*)和宝兴鸭茅(*Dactylis glomerata*)种子的标准发芽率、物候期和农艺性状进行了研究。结果表明,搭载后种子的发芽率均高于对照,但发芽势均略降低。与对照相比,搭载后各材料生育天数稍微增减,但均无明显差异,空间搭载出现了变异植株,获得有价值的种质材料。

2.2 化学诱变

目前我国应用化学诱变方法进行牧草种质创新和新品一种培育的报道较少,迄今,主要集中在苜蓿的研究上,并且尚未获得生产上可利用的种类。由继红等^[24]将紫花苜蓿叶片诱导产生愈伤组织,然后用化学诱变剂EMS对愈伤组织进行处理,经低温筛选后获得抗寒性突变体,对并用生理生化方法对愈伤组织突变体的抗寒性进行了鉴定,结果证明突变体愈伤组织是抗寒的。李波等^[25]以3个苜蓿品种幼茎诱导产生的愈伤组织为材料,用叠氮化钠进行诱变处理,经 $-7\text{ }^\circ\text{C}$ 低温筛选后表明,诱变处理后3个苜蓿品种愈伤组织的抗寒性明显高于对照。李波等^[26]用不同浓度的硫酸二乙酯(DES)诱变处理苜

蓍愈伤组织,在 $-7\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温下筛选后获得抗寒性突变体,结果表明,其抗寒性增强。王小华等^[27]采用硫酸二乙酯对柱花草愈伤组织进行化学诱变处理,采用 $1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下光照培养8 d对小苗进行低温筛选,结果表明幼苗的抗寒能力显著强于对照植株。

3 转基因技术进行种质创新研究进展

1985年,Vasil在国际草原学大会上第1次提出利用遗传转化技术将其他来源的特定基因导入牧草的可行性,为应用转基因技术改良牧草奠定了理论基础。随后国外畜牧业发达国家陆续开展了大量的转基因研究,并在抗性育种、减少鼓胀病危害、提高干物质消化率、品质改良等方面取得了进展和突破。孟山都公司、加拿大和美国国际苜蓿遗传公司合作育成抗Roundup除草剂的苜蓿新品种,在2004年已推向生产应用。澳大利亚育成转基因高含硫氨基酸苜蓿新品种也已投放生产。我国在牧草上应用转基因技术的研究较晚,与国外相比尚存在一定的差距,至今无转基因苜蓿品种推向商品化。但随着近些年草业的发展和转基因技术的成熟,我国牧草转基因研究工作已大量开展,且取得了一定的成绩。

3.1 品质改良

提高牧草饲料中蛋白质的含量,特别是提高含硫氨基酸(如甲硫氨酸和半胱氨酸)的含量,可显著增加羊的生长量及羊毛产量。吕德扬等^[28]通过农杆菌介导法将高含硫氨基酸蛋白(*HNP*)基因转入苜蓿,并成功地诱导出再生转基因植株。对转基因植株进行氨基酸分析,发现含硫氨基酸的含量有明显提高。张改娜等^[29]采用农杆菌介导法将豌豆清蛋白1(*PAI*)基因转入紫花苜蓿,并对其转化体系进行了优化,得到了多个转基因胚性愈伤组织及其再生植株。转基因苜蓿中蛋氨酸和半胱氨酸的含量从0.1%提高到0.4%。关宁等^[30]将含硫氨基酸(*zeolin*)基因转化百脉根(*Lotus corniculatus*)。经过共培养、筛选分化、再生,得到抗性植株。含硫氨基酸数据分析表明,转*zeolin*基因植株硫氨基酸含量极显著高于对照植株。

3.2 抗逆性

抗逆性主要包括抗寒性、抗旱性、耐盐碱性等。提高牧草的抗逆性对于扩大优良牧草的种植区域,保证牧草的稳定高产以及改善不良生态环境具有重要的意义,是我国目前牧草转基因研究的重点。

3.2.1 抗寒、抗旱性 低温和干旱是限制牧草种植的重要影响因素。吴关庭等^[31]通过农杆菌介导法

将耐逆基因*CBFI*导入高羊茅,获得了耐低温和抗旱转基因植株。杨凤萍等^[32]利用基因枪法将抗逆调节转录因子*DREB1B*基因转入多年生黑麦草,获得了抗旱转基因植株。贾炜琰等^[33]用基因枪法将海藻糖合酶基因*TPS*转入多年生黑麦草,对获得的转基因植株进行抗旱性鉴定表明,转基因黑麦草在干旱胁迫条件下的保水能力增强,电解质渗出率明显低于对照,耐旱性提高。王渭霞等^[34]将*CBFI*基因转入匍匐翦股颖(*Agrostis palustris*)中,断水处理5 d后,对照植株颜色失绿变暗,并逐渐死亡,而大部分转基因植株生长基本未受影响。李志亮等^[35]利用基因枪法将*P5CS*基因转入白三叶(*T. repens*),抗旱指标分析表明,转*P5CS*基因株系的抗旱能力得到了较大的提高。

3.2.2 耐盐碱性 土壤盐渍化是影响干旱半干旱地区牧草产量的主要非生物因子之一,解决盐害的有效途径是培育耐盐的牧草新材料和新品种以提高盐土的利用效率。陈传芳等^[36]通过农杆菌介导法转化山菠菜甜菜碱醛脱氢酶(*BADH*)基因成功获得白三叶转化植株,耐盐实验证明转基因白三叶耐盐能力增强。赵桂琴等^[37]将液胞膜逆向转运蛋白(*AtNHX1*)基因转入白三叶,耐盐试验结果表明转基因植株总叶面积和地上部分干重都显著高于非转基因对照,证明液胞膜上的*AtNHX1*基因有助于提高白三叶耐盐性。赵宇玮等^[38]用农杆菌介导法将*AtNHX1*基因导入草木樨状黄芪(*Astragalus melilotoides*)中,野生型和转基因株系进行耐盐生长试验,结果显示相同盐胁迫下,转基因愈伤组织的相对生长率显著高于野生型愈伤组织。施加梯度NaCl胁迫试验表明,转基因株系的耐盐性增强。曲同宝等^[39]通过基因枪技术将胆碱单氧化物酶(*CMO*)基因和甜菜碱醛脱氢酶(*BADH*)基因导入羊草中,在高浓度混合盐和高pH值胁迫下,转双基因植株甜菜碱含量高于对照植株。刘艳芝等^[40]用农杆菌介导法将*HALI*基因转化龙牧803苜蓿,培养基耐盐性试验表明转基因植株在NaCl浓度0.6%~1.0%范围内仍能生根并正常生长。燕丽萍等^[41]以通过农杆菌介导技术获得的T₀转*BADH*基因苜蓿为试材,利用分子生物学方法对其自交株系的世代群体连续进行抗盐性鉴定筛选和系统选育,首次获得了具有抗盐碱能力的转基因苜蓿稳定株系。同时,通过品种比较试验、区域试验和生产试验,表明在不同盐碱地条件下,转*BADH*基因的苜蓿植株产草量明显高于对照,可望培育出耐盐转基因苜蓿新品种。

3.2.3 耐酸性 牧草在酸性土壤中生长不良,主要原因是酸性土壤中可溶性铝的含量较高。 Al^{3+} 进入牧草根后可抑制根的生长和发育,进一步影响营养物质和水的吸收,导致减产。罗小英等^[42]通过农杆菌介导的遗传转化法将苜蓿根瘤型苹果酸脱氢酶(*neMDH*)导入苜蓿胚性愈伤组织,筛选的转化植株在 $20 \mu\text{mol/L } Al^{3+}$ 溶液中处理 24 h 后根部的伸长量比对照植株提高,该试验表明在铝胁迫下过量表达 *MDH* 的转基因苜蓿能够更好的生长。刘洋^[43]将从棉花中克隆的铝诱导蛋白基因(*GhAlin*)转入苜蓿,转基因株系在 $25 \mu\text{mol/L } Al^{3+}$ 处理 7 d 后,根的生长量明显高于对照,侧根发育明显,根尖伸长区根毛明显多于对照。

3.3 抗病虫性

各类病虫害危害普遍存在于牧草生产中,给牧草生产造成极大的损失。我国利用转基因技术对牧草进行抗病虫遗传改良的研究不多,尤其在抗虫转基因方面报道的更少。赵桂琴等^[44]用农杆菌介导法将外源的苜蓿花叶病毒外壳蛋白(*AMV4*)基因转入红三叶,抗病性检测表明,表达苜蓿花叶病毒外壳蛋白基因的植株病症减轻,发病率、病情指数及病毒积累量都明显低于对照,有的甚至不表现症状,达到了免疫的程度。后来,又将 *AMV* 基因转入白三叶,抗病试验证明转基因植株病症减轻,发病率、病情指数及病毒积累量都明显低于对照,有的甚至不表现症状^[45]。马生健等^[46]通过农杆菌介导法将抗真菌病的几丁质酶基因 *Chi* 导入高羊茅,接种禾谷镰刀菌实验,发现接种真菌 7 d 后,非转化对照植株叶片出现很明显的芝麻大小病斑,而且中尖部发病较严重,而转基因植株则表现出很好的抗性,未发现病斑。孔政等^[47]将苦瓜几丁质酶基因-益母草抗菌肽(*CHI-AFP*)基因转入黑麦草,对获得的转基因植株接种立枯丝核菌试验表明,2 个月后,对照植株死亡,而转基因黑麦草植株仍然存活。卢广等^[48]将雪花莲凝集素基因 *GNA* 通过农杆菌导入截形苜蓿(*M. truncatula*)中,发现转基因苜蓿在种苗期间体内积累了 *GNA* 毒素,苜蓿苗期抗蚜性有所提高。余建明等^[49]用农杆菌介导法将苏云金芽孢杆菌杀虫晶体蛋白(*Bt*)基因转入超级伊克利草地早熟禾,生物学抗性鉴定结果显示,饲喂 3 d 后,转基因植株的叶片轻微受损,而非转基因植株叶片的叶肉则被耗尽。

3.4 抗除草剂

杂草严重影响饲草的产量和质量,使用化学除

草剂在控制杂草生长的同时,也对牧草具有一定的潜在危害,况且存留到一定剂量对牲畜也有一定毒害作用。目前抗除草剂的基因主要为 *Bar* 基因。刘艳芝等^[50]利用农杆菌介导法将抗草丁膦的 *Bar* 基因导入草原 1 号苜蓿,经叶片筛选试验证实转基因植株对除草剂具有抗性。易自力等^[51]将抗除草剂的 *Bar* 基因导入矮生、凯蒂莎、爱神特 3 种多年生黑麦草品种,抗除草剂鉴定表明,有 2 株转基因植株一直生长正常,当 Basta 喷洒浓度加大至 0.25% 时,其形态特征也都没有出现任何异常。刘艳芝等^[52]通过根瘤农杆菌介导方法将外源目的基因 *Bar* 基因导入百脉根,试管苗叶片筛选试验表明,经 2 个月筛选后有 18 株转基因植株叶片依然能够存活,而对照叶片均于 1 周后死亡。

3.5 生物反应器

牧草具有生物量大、多年生、再生快、栽培管理成本低等优点,所以利用转基因技术,将牧草特别是多年生豆科牧草作为生物反应器来生产疫苗、蛋白质、酶制剂和抗体等产品的研究已经取得了很大进展。王宝琴等^[53]将口蹄疫病原(FMDV)的结构蛋白基因 *VP1* 作为抗原基因转入百脉根,扩繁和移栽后获得了批量转基因百脉根,为下阶段的动物试验提供了试验材料。王伟等^[54]将口蹄疫病毒(*PI2A-3C*)基因整合到百脉根基因组中,通过转基因百脉根粗蛋白提取物与弗氏不完全佐剂混合制成疫苗免疫豚鼠,ELISA 检测表明产生特异性抗体,豚鼠血清效价最高可达 1/64。贺红霞等^[55]利用根瘤农杆菌介导的方法成功地将乙肝表面抗(*HBsAg*)基因导入百脉根,为生产乙肝疫苗的研究提供基础资料。唐广立等^[56]将兔出血症病毒(RHDV)衣壳蛋白 *VP60* 基因导入百脉根,为利用百脉根生产动物口服型疫苗建立了技术基础。张占路等^[57]将 H5N1 亚型禽流感病毒血凝素(*AIVHA*)基因成功导入百脉根,经 Western blot 检测在百脉根组织中已有 *AIVHA* 抗原蛋白,证明利用百脉根表达禽流感血凝素蛋白是可行的。李传山等^[58]利用农杆菌介导法将兔出血症病毒 YL 株外壳蛋白基因 *VP60* 转入串叶松香草(*Silphium perfoliatum*),筛选到 2 株转基因植株,为利用串叶松香草生产兔出血症病毒动物可食用疫苗建立了初步的技术基础。苏玉春等^[59]利用农杆菌介导法将木聚糖酶 *xynB* 基因转入紫花苜蓿,DNS 方法检测转基因植株的木聚糖酶活性为 10.5 U/g 鲜叶片,为利用紫花苜蓿生产酶制剂奠定了基础。

4 展望

虽然经过近几十年的努力,我国牧草种质资源创新研究已取得了巨大的成绩,但与国外畜牧业发达国家比较,仍有一定的差距。欧美等畜牧业发达国家牧草种质创新研究表现为研究重点明确突出、研究材料相对集中、技术手段多样先进。欧洲、美洲、澳洲一些国家在结合本国气候及资源特点的基础上广为开展集约化发展,在运用远缘杂交、杂种优势利用方法等基础上,充分发挥基因连锁群、遗传作图、分子标记和 QTL 等现代生物技术,并将各种技术相互渗透,形成综合的多元化创新发展模式,并取得了突出的成绩^[60]。这正是我国应该学习的牧草种质创新之路。

综合我国牧草种质资源创新研究进展发现,作为常规与新技术的结合纽带,生物技术应用将是现今及未来一段时间种质创新取得突破的主要切入点,在相关基因分子标记^[61]、优良基因发掘应用、基因组成^[62]、应用分子技术抗性改良及生物器功能研究开发等领域将是未来种质创新及牧草生物技术研发的热点领域,具有广阔的发展前景。此外诸如辐射太空育种,在借助航空搭载的基础上获得变异种质,针对其特性研究及改良也是牧草种质创新的发展方向。在牧草种质创新方面,常规方法仍是种质创新的主要构成,仍起到主导作用,但针对不同草种相应合理化方法及技术将是未来该领域主要研发内容。总之,随着牧草种质创新进入分子领域时代,通过借鉴国外以及我国农作物的研究成果及草业工作者的不断努力,可望在不远的将来,缩短与国外发达国家的差距,从而更好地服务于国家现代化建设及畜牧业、草业发展。

参考文献

- [1] 孙美红,刘霞.中国牧草育种工作研究进展[J].中国农学通报,2006,22(7):23-26
- [2] 全国草品种审定委员会.中国审定登记草品种集(1999-2006)[M].北京:中国农业出版社,2007
- [3] 李造哲,于卓,马青枝,等.披碱草和野大麦杂种 F₁ 与 BC₁F₁ 代的生物学及农艺特性研究[J].中国草地,2004,26(5):9-14
- [4] 侯建华,云锦凤.羊草、灰色赖草及其杂种 F₁ 生物学特性[J].草地学报,2005,13(3):175-179
- [5] 于卓,云锦凤,李造哲.加拿大披碱草与野大麦及其属间杂种细胞遗传学研究[C]//现代草业科学进展—中国国际草业发展大会暨中国草原学会第六届代表大会论文集,2002:33-37
- [6] 王树彦,云锦凤,徐军,等.加拿大披碱草与老芒麦及其杂种的生长规律和形态特性[J].草地学报,2004,12(4):294-297
- [7] 王殿魁,李红,罗新义.扁蓿豆与紫花苜蓿杂交育种研究[J].草地学报,2008,16(5):458-465
- [8] 云锦凤,米福贵,杨青川,等.牧草育种技术[M].北京:化学工业出版社,2004:155
- [9] 郭海林,刘建秀.杂交狗牙根诱变后代综合评价[J].草地学报,2008,16(2):145-149
- [10] 余增亮,何建军,邓建国,等.离子注入水稻诱变育种机理初探[J].安徽农业科学,1989,39(1):12-16
- [11] 吕杰,李冠,王新绘.低能离子注入对紫花苜蓿种子发芽及幼苗生理生化变化的影响[J].种子,2004,23(8):32-34
- [12] 葛娟,齐丽杰,赵惠新,等. Ar⁺ 离子注入对紫花苜蓿发芽、生长及幼苗脂质过氧化物的影响[J].种子,2005,24(2):38-41
- [13] 刘亚萍,计巧灵,周小云,等.氮离子束注入对燕麦 M1-M2 代幼苗耐盐性的影响[J].生物技术,2006,16(2):73-76
- [14] 于靖怡,云锦凤,解继红,等.氮离子束对鹅观草属植物萌发特性及幼苗生长的影响[J].安徽农业科学,2010,38(1):146-147,162
- [15] 刘瑞峰,张志飞,王利宝,等.低能离子 N⁺ 注入下高羊茅种子发芽率的变化[J].草业科学,2008,25(5):52-54
- [16] 颜红梅,郝冀方,卫增泉,等.重离子束对牧草的改良[J].辐射研究与辐射工艺学报,2004,22(1):61-64
- [17] 闫茂华,王蔓丽,陆长梅,等.狐茅草低能重离子突变系营养成分分析[J].核农学报,2007,21(5):466-469
- [18] 徐云远,贾敬芬,牛炳韬.空间条件对 3 种豆科牧草的影响[J].空间科学学报,1996(16):136-141
- [19] 李聪,王兆卿.空间诱变对沙打旺消化率的遗传改良效应研究[C]//现代草业科学进展—中国国际草业发展大会暨中国草学会第六届代表大会论文集,2002:61-63
- [20] 韩蕾,孙振元,钱永强,等.神州 3 号飞船对草地早熟禾生物学特性的影响[J].草业科学,2004,21(5):17-19
- [21] 胡繁荣,赵海军,张琳琳,等.空间技术诱变创造优质抗逆黄叶高羊茅[J].核农学报,2004,18(4):286-288
- [22] 张蕴薇,任卫波,刘敏,等.红豆草空间诱变突变体叶片同工酶及细胞超微结构分析[J].草地学报,2004,12(3):223-226
- [23] 严欢,张新全.2 种牧草种子空间诱变效应研究[J].安徽农业科学,2008,36(2):486-487,580
- [24] 由继红,杨文杰,李淑云.紫花苜蓿抗寒性突变体的筛选[J].东北师范大学学报:自然科学版,1996(2):84-87
- [25] 李波,贾秀峰,高美玲,等.诱变苜蓿愈伤组织抗寒性研究[J].草地学报,2004,12(2):95-97
- [26] 李波,袁成志,陈辉,等.硫酸二乙酯诱变苜蓿愈伤组织抗寒生理的研究[J].草业科学,2004,21(5):20-22
- [27] 王小华,庄南生,王英,等. DES 诱变与离体培养结合筛选柱花草抗寒突变体的研究[J].草业学报,2010,19(1):263-267
- [28] 吕德扬,范云六,俞梅敏.苜蓿高含硫氨基酸蛋白转基因植株再生[J].遗传学报,2000,27(4):331-337
- [29] 张改娜,贾敬芬.豌豆清蛋白 1(PAI) 基因的克隆及对苜蓿的转化[J].草业学报,2009,18(3):117-125
- [30] 关宁,王涌鑫,李聪,等.含硫氨基酸基因植物表达载体的构建及对百脉根的转化[J].分子植物育种,2009,7(2):257-263
- [31] 吴关庭,陈锦清,胡张华,等.根瘤农杆菌介导转化获得耐逆性增强的高羊茅转基因植株[J].中国农业科学,2005,38(12):2395-2402
- [32] 杨凤萍,梁荣奇,张立全,等.抗逆调节转录因子 DREB1B 基因转化多年生黑麦草的研究[J].西北植物学报,2006,26(7):1309-1315
- [33] 贾玮琦,胡鸢雷,张彦芹,等.海藻糖合酶基因转化黑麦草及耐旱性研究[J].分子植物育种,2007,5(1):27-31
- [34] 王渭霞,朱廷恒,玄松南.农杆菌介导的匍匐翦股颖胚性愈伤组织的转化和转 CBF1 基因植株的获得[J].中国草地学报,2006,28(4):59-64
- [35] 李志亮,杨清,叶嘉,等.利用 P5CS 基因转化白三叶的研究[J].生物技术通报,2012(5):61-65
- [36] 陈传芳,李义文,陈豫.通过农杆菌介导法获得耐盐甜菜碱脱氢酶基因白三叶草[J].遗传学报,2004,31(1):97-101

- [37] 赵桂琴,慕平,王锁民,等. 转液胞膜 *AtNHX1* 基因的白三叶耐盐性研究[J]. 农业生物技术学报,2008,16(5):847-852
- [38] 赵宇玮,步怀宇,郝建国,等. *AtNHX1* 基因对草木樨状黄芪的转化和耐盐性表达研究[J]. 分子细胞生物学报,2008,41(3):213-221
- [39] 曲同宝,邓川,王丕武. *CMO* 与 *BADH* 双基因表达载体构建及转化羊草的研究[J]. 中国生物工程杂志,2009,29(11):48-52
- [40] 刘艳芝,韦正乙,邢少辰,等. *HAL1* 基因转化苜蓿再生植株及其耐盐性[J]. 吉林农业科学,2008,33(6):21-24
- [41] 燕丽萍,夏阳,毛秀红,等. 转 *BADH* 基因紫花苜蓿山苜 2 号品种的抗盐性鉴定及系统选育[J]. 植物学报,2011,46(3):293-301
- [42] 罗小英,崔衍波,邓伟,等. 超量表达苹果酸脱氢酶基因提高苜蓿对铝毒的耐受性[J]. 分子植物育种,2004,2(5):621-626
- [43] 刘洋. 棉花铝诱导蛋白基因 *GhAlin* 对紫花苜蓿的遗传转化[D]. 重庆:西南农业大学,2004
- [44] 赵桂琴,慕平. 苜蓿花叶病毒外壳蛋白基因对红三叶的遗传转化及转基因植株的抗病性分析[J]. 西北植物学报,2004,24(10):1850-1855
- [45] 赵桂琴,慕平,Paul Chu. 苜蓿花叶病毒外壳蛋白基因在白三叶中的表达及转基因植株的抗病性分析[J]. 农业生物技术学报,2005,13(2):230-234
- [46] 马生健,徐碧玉,曾富华,等. 高羊茅抗真菌病基因转化的研究[J]. 园艺学报,2006,33(6):1275-1280
- [47] 孔政,赵德刚. 苦瓜几丁质酶基因-益母草抗菌肽基因遗传转化黑麦草[J]. 分子植物育种,2008,6(2):281-285
- [48] 卢广,张青文,田颖川. 转抗蚜 *GNA* 基因苜蓿的研究[J]. 植物保护,2004,30(6):23-26
- [49] 余建明,梁流芳,张保龙,等. 农杆菌介导法获得草地早熟禾转 *Bt* 基因植株[J]. 江苏农业学报,2005,21(2):102-105
- [50] 刘艳芝,王玉民,刘莉,等. *Bar* 基因转化草原 1 号苜蓿的研究[J]. 草地学报,2002,12(4):273-275,280
- [51] 易自力,陈智勇,蒋建雄,等. 多年生黑麦草遗传转化体系的建立及其转化植株的获得[J]. 草业学报,2006,15(4):1-3
- [52] 刘艳芝,邢少辰,王玉民,等. *Bar* 基因转化豆科牧草百脉根的研究[J]. 吉林农业科学,2006,31(5):45-47,55
- [53] 王宝琴,王小龙,张永光,等. *FMDV vp1* 基因在豆科收草百脉根中的转化与表达[J]. 中国病毒学,2005,20(5):526-529
- [54] 王炜,张永光,潘丽,等. 口蹄疫病毒 P12A-3C 免疫原基因在百脉根中的遗传转化与表达[J]. 中国人兽共患病学报,2007,23(3):236-247
- [55] 贺红霞,林森晶,王铭,等. 乙肝表面抗原基因表达载体的构建及对百脉根的转化[J]. 农业生物技术学报,2007,15(1):115-118
- [56] 唐广立,李传山,陈明利,等. 百脉根高频再生体系的建立及兔出血症病毒衣壳蛋白 *VP60* 基因的转化[J]. 分子植物育种,2007,5(4):593-600
- [57] 张占路,唐益雄,薛文通,等. 百脉根表达 H5N1 亚型禽流感血凝素的研究[J]. 中国农业科学,2008,41(1):303-307
- [58] 李传山,张婷婷,宋书峰,等. 串叶松香草高效再生体系的建立与兔出血症病毒 YL 株外壳蛋白基因 *VP60* 对其遗传转化[J]. 生物技术通报,2007(5):173-178
- [59] 苏玉春,陈光,白晶,等. 农杆菌介导的 *xynB* 基因转化苜蓿的初步研究[J]. 中国草地学报,2010,32(4):113-116
- [60] 米福贵. 欧洲牧草、草坪草与饲料作物遗传育种研究进展[C]//中国草学会牧草育种委员会第七届代表大会论文集,2009:6-10
- [61] 德英,穆怀彬,王照兰,等. 老芒麦和垂穗披碱草 rDNA-ITS 序列分析[J]. 植物遗传资源学报,2012,13(4):609-613
- [62] 默韶京,刘桂茹,郎明林. 长穗偃麦草 DREB 类基因 *EeAP2.2* 的克隆与序列分析[J]. 植物遗传资源学报,2012,13(5):764-769

欢迎订阅 2014 年《园艺学报》

《园艺学报》是中国园艺学会和中国农业科学院蔬菜花卉研究所主办的学术期刊。主要刊载有关果树、蔬菜、观赏植物、茶及药用植物等方面的学术论文、研究报告、专题文献综述、问题与讨论、新技术新品种以及园艺研究动态与信息,适合园艺科研人员、大专院校师生及农业技术推广部门专业技术人员阅读参考。

本刊是中文核心期刊,被英国《CAB 文摘数据库》、美国 CA 化学文摘、CSCD 中国科学引文数据库等多家数据库收录。曾荣获第三届国家期刊奖及中国精品科技期刊、中国权威学术期刊、新中国 60 年有影响力的期刊、中国国际影响力优秀学术期刊等称号。

月刊,每月 25 日出版。每期定价 40 元,全年 480 元。国内外公开发行,全国各地邮局办理订阅,国内邮发代号 82 - 471,国外发行由中国国际图书贸易总公司承办,代号 M448。漏订者可直接寄款至编辑部订购。

地址:北京市海淀区中关村南大街 12 号中国农业科学院蔬菜花卉研究所《园艺学报》编辑部

邮政编码:100081

电话:(010)82109523

E-mail:yuanyixuebao@126.com

网址:http://www.ahs.ac.cn