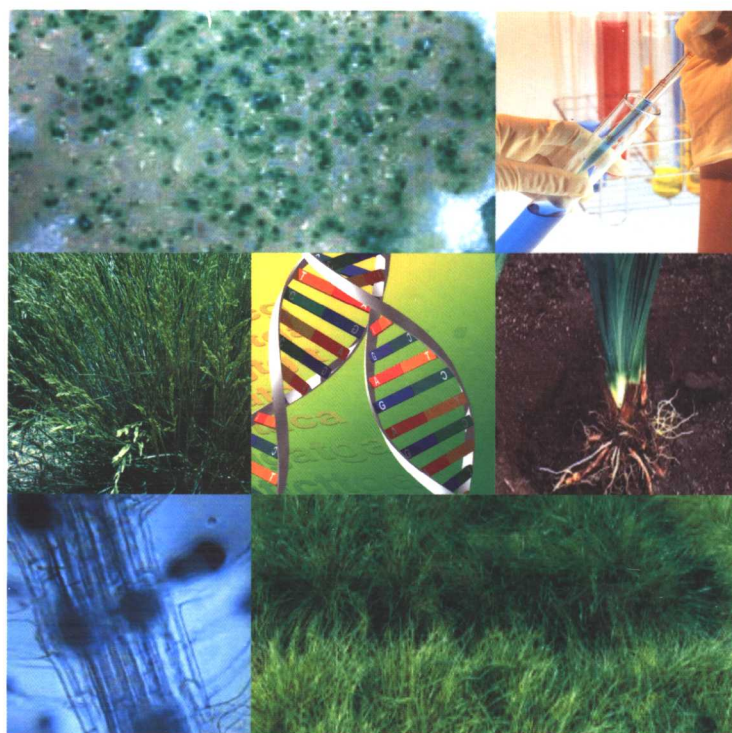


农业生物技术系列

草坪草 生物技术及应用

林忠平 胡鸞雷 朱先灿 王晓丽 编



化学工业出版社
农业科技出版中心

农业生物技术系列

草坪草生物技术及应用

林忠平 胡莺雷 朱先灿 王晓丽 编



化学工业出版社
农业科技出版中心

· 北京 ·

图书在版编目(CIP)数据

草坪草生物技术及应用/林忠平, 胡鸢雷, 朱先灿,
王晓丽编. —北京: 化学工业出版社, 2006. 8
(农业生物技术系列)
ISBN 7-5025-9203-2

I. 草… II. ①林…②胡…③朱…④王… III. 草坪-
生物技术 IV. S688.4

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2006) 第 096857 号

农业生物技术系列 草坪草生物技术及应用

林忠平 胡鸢雷 朱先灿 王晓丽 编
责任编辑: 邵桂林 周旭
责任校对: 李林
封面设计: 关飞

*

化学工业出版社 出版发行
农业科技出版中心
(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)
购书咨询: (010)64982530
(010)64918013
购书传真: (010)64982630
<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销
大厂聚鑫印刷有限责任公司印刷
三河市延风装订厂装订

开本 720mm×1000mm 1/16 印张 11¼ 彩插 2 字数 214 千字
2006 年 9 月第 1 版 2006 年 9 月北京第 1 次印刷
ISBN 7-5025-9203-2
定 价: 30.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换



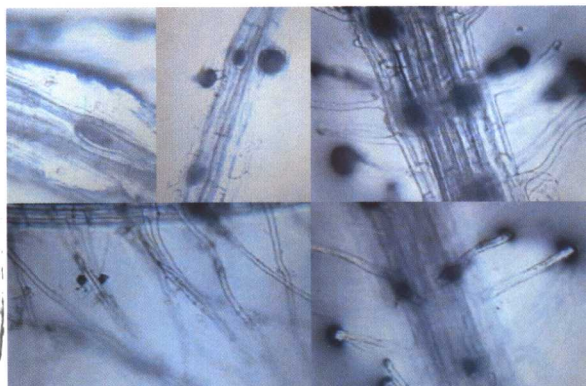
利用钴60诱变等技术获得变异的草类植株



在新疆野外研究草类资源，右图是采自天山的一株早熟禾



草坪草对于防止水土流失十分重要



显微镜下的草坪草根部分生真菌



高羊茅

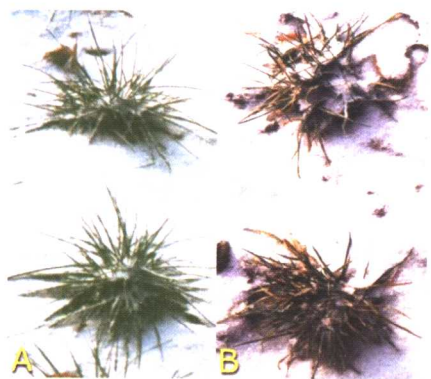


褐斑病的典型症状



利用菌剂修复的试验

利用一种荧光假单胞菌抑制病害发生和发展



雪地中转 *ODREB2B* 基因的黑麦草

A-*ODREB2B*基因转化的黑麦草 B-未转基因黑麦草



细叶型

普通高羊茅

筛选出的细叶类型的高羊茅



在雪地里显示耐低温的差异（早熟禾）



草坪草草籽生产



北京大学设在上庄的草坪草试验基地

草坪草品系对比试验



砧茅



三芒草



芨芨草

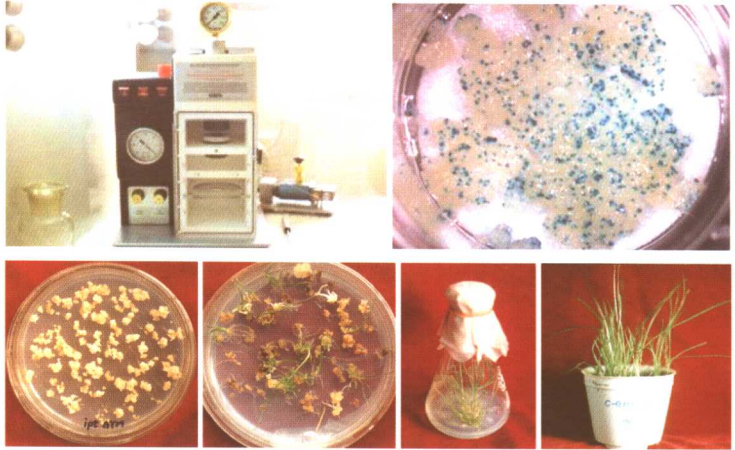
沙漠里耐旱的草类资源

砧茅、三芒草、芨芨草经过生物技术改良可能成为有价值的园林用草

草坪草的转化

上 基因枪和GUS基因转化的愈伤组织。

下 示草坪草遗传转化的过程



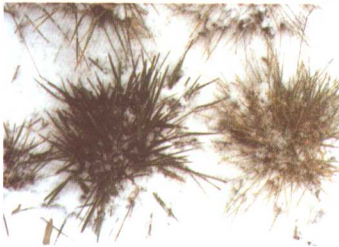
在干旱胁迫下导入脱水素基因 (*BcDh1*) 的高羊茅表现较好的耐受性

A-转基因株系

B-未转基因株系



北大上庄试验地
丰富的草类种质资源



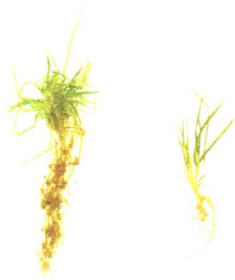
转*ipt*基因的黑麦在田间表现良好的耐寒性

田间观察：在进入秋冬寒冷季节，大多草细胞分裂能力下降或停止，叶片开始慢慢枯黄，而*ipt*转基因草仍保持一定的细胞分裂与生长，低温下绿色期延长，对寒冷胁迫的耐受力明显增强



转反义水孔蛋白基因的高羊茅植株明显变小

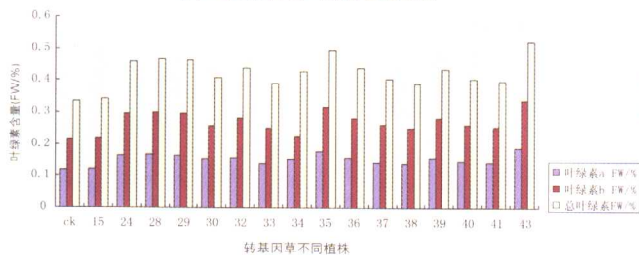
试验测算比对照减少水分消耗70%



施加根际微生物（荧光假单胞菌）提高抗逆性



转*ipt*基因高羊茅叶绿素含量变化



*ipt*基因转化的草坪草（高羊茅）具保绿、抗寒的特性



在降温时，不同株系的叶色呈现差异，它们对低温的敏感性有很大差别



早熟禾耐旱性对比



寒冬时节右边一株转基因黑麦草依然保持翠绿

农业生物技术系列

陆续出版的书目如下

- ◆ 草坪草生物技术及应用 (2006 年 9 月)
- ◆ 微生物农药研发与应用 (2006 年 8 月)
- ◆ 新型蛋白质饲料开发与安全高效利用 (2006 年 7 月)
- ◆ 禽传染病实验诊断技术 (2006 年 2 月)
- ◆ 植物检疫方法与技术 (2006 年 2 月)
- ◆ 现代生物技术与畜禽疾病防治 (2005 年 9 月)
- ◆ 新型饲料添加剂开发与应用 (2005 年 8 月)
- ◆ 果树脱毒与组织培养 (2005 年 8 月)
- ◆ 禽类遗传工程理论与方法 (2004 年 7 月)
- ◆ 海藻生物技术及其应用
- ◆ 动物生物疫苗

序

农业是国民经济的基础，是人们生存之根本。

农业的发展经历了刀耕火种、牛拉犁耕、机械化作业、高新技术应用等逐步发展的过程。每一次技术的变革都对农业的发展产生了巨大的推动力，当前，在科学发展观的指引下中国已进入城乡统筹以工哺农、以城带乡的新阶段，“三农”问题已成为迈向现代化、工业化和建设小康社会的突出任务。但是，农业的发展离不开科学技术的发展和支撑，农业技术的发展历程也同样体现着科技发展的前进轨迹。

目前，全球正面临着人口膨胀、资源紧缺、污染加剧的现状，这些不但使我们的经济和社会发展面临着严峻的考验和压力，同时对农业的发展也提出了现代化的迫切要求。

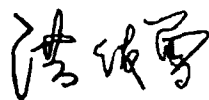
生命科学与生物技术的快速发展及其在农业领域中的应用，给农业的发展带来了深远的甚至是革命性的变化，大大促进了农业生产力的提高。例如，我们所熟知的杂交水稻、转基因抗虫棉、转基因大豆和水稻以及克隆羊“多莉”等无一是应用生物技术的成果。而这些已经给我们的生活带来了很大变化。生物技术在品质改良、育种、提高产量等方面已经显现出了良好的应用前景和巨大效益。

世界各国，尤其是发达国家已经纷纷把生物技术研究、开发和应用作为重点投资的高技术战略目标，特别是加强了生物技术在农业领域中的应用。我国是一个农业大国，但还远不是一个农业强国。因此，我国农业的发展与强盛更加需要广大农业科研与技术人员的努力，更加需要现代新技术、新成果的武装、应用与转化。

为了有助于广大的农业科技工作者更多地了解当今生物技术在农业领域中应用的状况、前景，启发新的科研思维和方法，同时也为了更进一步促进农业生物技术研究成果与生产实践的紧密结合，本着前沿、实用、创新的目的，化学工业出版社组织出版了一套《农业生物技术系列》图书。该套图书的主编及编写人员均是来自农业领域不同专业方向的知名专家，在其科研工作领域具有较深的造诣，取得了一大批成果。该套图书基本涉及了农业生物技术的各个方面，包括农作物与动物育种新技术、畜牧兽医技术、基因工程技术，农畜产品品质改良技术，草坪草生物技术，生物饲料、生物疫苗、生物农药、生物肥料开发与应用技术等，内容丰富实用，突出了创新性和实践可应用性，基本上能够满足不同专业人员的需要。

值此套《农业生物技术系列》图书出版之际，我衷心希望该套系列丛书对于加快生物技术在农业领域中的转化和应用，推动我国农业科技和农业的进一步发展发挥应有的作用；同时我也希望有更多的农业工作者、有关部门和企业重视农业科技的发展、关心并大力支持农业科技的发展，为建设创新型国家、创新型农业做出应有的贡献。

农业部原副部长
全国人大农业与农村委员会原副主任
中国农学会名誉会长

A handwritten signature in black ink, appearing to read '霍弢霄' (Huo Yixian), written in a cursive style.

前 言

草坪草在改善人居环境、美化城乡景观、建设运动场馆等方面的作用已为公众熟知。草坪植物在全球变化中的生态学功能也逐渐被人们所理解。全球变化所引发的环境危机涉及人口剧增、绿地减少、城市噪声侵扰、热岛效应严重、空气和水质污染加剧、水土严重流失……用什么办法来遏制生态环境恶化的趋势呢？保持足够的植被是必不可少的，在人群活动频繁的区域保持足够面积的农田、林地、灌木和草地也是十分必要的。在欧美国家，高尔夫场地大量增加的生态意义远远大于作为休闲和运动场所的意义。因为草坪植物在消除污染物、保护地下水源洁净、防止水土大量流失，以及增加地表和土层生物多样性方面起了重要作用。裸地和柏油路面是没有这种功能的。所以在保护天然草地、人工牧场的同时，在人群密集的地区，在坡地、河岸要尽可能地覆盖草坪和各种地被植物。

半个多世纪以来草坪植物在育种家的驯化和改良之下已育成大量的品种，包括早熟禾属、羊茅属、翦股颖属、黑麦草属、冰草属、雀麦草属等冷季型草种和狗牙根属、结缕草属、地毯草属、假俭草属、雀稗属、钝叶草属、野牛草属、格兰马草属、狼尾草属等暖季型草种。其中一些草种的驯化程度还很低。但不少草坪草已进行了大规模和十分精细的育种改良。例如草地早熟禾 (*Poa pratensis*)、高羊茅 (*Festuca arundinacea*)、紫羊茅 (*Festuca rubra*)、匍匐翦股颖 (*Agrostis stolonifera*)、绒毛翦股颖 (*Agrostis canina*)、多年生黑麦草 (*Lolium perenne*)、狗牙根 (*Cynodon dactylon*)、结缕草 (*Zoysia japonica*) 等都有大量的、变化多样的品种，占据了世界草坪业的大部分市场。草坪草籽的产业规模很大，已成为仅次于玉米的第二大种子产业。

传统的杂交育种技术已不能满足新的市场需求，大学和草坪公司的育种部门已开始大量采用高新生物技术，如分子标记的辅助育种技术，利用 DNA 分子标记将已有的品种资源进行聚类分析而后进行有选择的杂交和选育。在克服了单子叶植物组织培养时再生芽困难的基础上，大量的草坪草离体培养为育种提供了新的种系和快繁技术。从草坪草的愈伤组织再生植株的成功又为基因工程育种创造了条件。在各类农作物上应用过的基因被用来转化草坪草取得很大成功。例如将抗除草剂基因，草甘膦氧化还原酶基因导入翦股颖中培育出抗草甘膦的草坪草可以大大节省草籽生产和草坪建植过程中的劳动。这种转基因草坪草的抗除草剂特性会不会因为基因漂移而使得周围的杂草接受了抗草甘膦基因，变成耐除草剂的杂草。目前一些人对此有疑虑，因而这种转基因草坪草的商业化进程受阻。关于

其他方面的转基因草坪草的培育已有不少报道，如提高抗病性的基因工程和提高抗旱、抗寒、抗盐碱的基因工程。

生物技术在草坪草中的应用还包括利用内生真菌来改良草坪草的建植和养护技术。内生真菌不仅为草坪草的生长提供养分，而且研究和田间实践都表明其和草坪草共生关系的建立对提高草坪草对环境胁迫的耐受性十分重要。选育良好的草坪草品种只是建植草坪的开端，科学的管理和适时的生物技术应用对于草坪的健康、稳定和延长使用期是十分重要的。水不是浇得越多越好，肥料不是施得越多越好，重要的是保持土壤中适当的通气状态、适当的水分含量和营养状况。这些状况有利于根际微生物的多样性发展。在这种状态下，虫害和病害都会大大减少。草坪草地上部分的修剪固然重要，地下枯死根、茎的清理和促进新根、新分蘖的生长也是十分重要的。已有一些生物技术措施被加以应用有利于草坪草在不断变化的环境中保持强盛的生命力。这些工作在本书的相应章节中将予以介绍。

中国幅员辽阔，自然条件复杂，蕴涵着丰富的草类植物资源，利用高新技术加以开发利用也是十分重要的。然而我国的草坪业发展较晚，草籽产业还比较落后，所以培育适于我国的优良草种，生产自己育成的品种是当务之急。大量的研究与开发工作等待我们去做，而且要付出巨大的努力才能使我国在国际草籽产业中争得一席之地。

我们在资料收集和本书的写作过程中得了许多朋友的支持、帮助和鼓励。天津大学理学院贾炜珑、山西省农科院旱地农业中心张彦芹等，园林界专家张佐双、孙百龄、袁士畴、鲁初强、李敏、高福颖等，本实验室倪挺等多位研究生、进修人员，提供了宝贵建议和意见并做了大量工作。另外，课题研究项目（“耐旱耐寒转基因草坪草的培育”）的负责人吴镒对本书的写作和出版也给予了很大的关心和支持。朋友们的帮助和努力为本书的写作提供了基础，我们对大家的帮助表示衷心的感谢。尤其令我们深为感动的是，中国农学会名誉会长、中国草学会名誉主席洪绶曾不仅亲临实验室和草坪草试验地指导工作，还热情为本书作序，在此表示诚挚的谢意。

编 者

2006年5月于北京大学

目 录

第一章 草坪草生物技术概述.....	1
一、草坪业发展概况.....	1
二、草坪草的生态意义.....	1
三、草坪草生物技术概况.....	3
四、草坪草生物技术.....	3
参考文献.....	5
第二章 草坪草基因组的演化.....	7
第一节 草坪草基因组学研究.....	7
一、草坪草基因组学研究进程.....	7
二、关于表达序列标签 (EST) 的研究	10
三、分子遗传图谱和反向遗传学	10
四、微阵列上的基因表达分析	11
参考文献	12
第二节 草坪草基因组的演化	15
一、草类基因组的演化概述	15
二、简单重复序列与基因组进化	16
三、杂交和多倍化与基因组进化	17
四、杂交-分化	19
参考文献	20
第三章 草坪草分子标记辅助育种	22
第一节 生物技术及分子标记概述	22
一、生物技术概述	22
二、分子标记	23
参考文献	26
第二节 草坪草分子标记辅助育种	27
一、限制性片段长度多态性标记	27
二、随机扩增多态性 DNA 标记	29
三、DNA 扩增指纹技术.....	32
四、扩增片段长度多态性标记	32
五、简单序列重复标记	34

参考文献	36
第三节 自由授粉草坪草的遗传特性	37
一、草坪草生殖生物学	38
二、分子标记数据的统计分析	38
三、遗传多样性	41
参考文献	42
第四节 同工酶在匍匐翦股颖品种亲缘关系研究中的应用	42
一、概述	42
二、遗传研究	43
三、遗传多样性	44
四、结论	44
参考文献	46
第四章 草坪草组织培养和基因转化技术	47
第一节 草坪草组织培养技术	47
一、植物组织培养概述	47
二、草坪草组织培养技术	49
参考文献	55
第二节 草坪草基因转化技术	59
一、基因转化技术	59
二、基因转化方法的优缺点	64
三、选择标记	64
四、转基因草坪草生物安全性概述	65
参考文献	66
第三节 草坪草组织培养再生系统的建立	68
一、实验方法与条件	68
二、试验结果与分析	70
参考文献	72
第四节 基因枪介导的草坪草基因转化体系的建立	73
参考文献	75
第五章 抗逆境胁迫草坪草基因工程	76
第一节 草坪草抗旱基因工程	77
一、渗透调节物质合成酶	77
二、胚胎发生晚期丰富蛋白	80
三、Ring 型锌指蛋白基因	82
四、清除活性氧酶基因	83

五、干旱胁迫与基因表达之间的信号转导途径	83
六、内生真菌对草坪草抗旱性的促进作用	85
参考文献	85
第二节 草坪草抗寒基因工程	86
一、膜脂相变相关基因	87
二、清除活性氧相关基因	88
三、植物渗透调节物质	88
四、抗冻蛋白	89
五、低温诱导蛋白	89
六、抗寒基因的表达调控	91
参考文献	94
第三节 草坪草其他抗非生物胁迫基因工程	96
一、草坪草耐盐性研究	96
二、草坪草辐射育种	100
参考文献	105
第六章 抗除草剂草坪草遗传工程	107
一、草甘膦及其抗性基因工程	108
二、草丁膦及其抗性基因工程	109
三、磺酰脲类除草剂及其抗性基因工程	111
四、阿特拉津及其抗性基因工程	112
五、溴苯腈及其抗性基因工程	113
六、其他及小结	113
参考文献	114
第七章 抗病虫害草坪草遗传工程	116
第一节 草坪草病害生物防治	116
一、草坪草微生物肥料防治病害概述	116
二、草坪草病害生物防治机制	118
参考文献	123
第二节 草坪草抗病基因工程	124
一、草坪草抗病基因工程概述	124
二、活性氧化物的产生	126
三、植物抗毒素	127
四、病程相关蛋白	128
五、杀菌肽	129
六、溶菌酶	129

七、植物防御素	130
八、核糖体失活蛋白	130
九、木质素	131
十、抗病基因	131
十一、基因沉默	134
参考文献	135
第三节 草坪草抗虫基因工程	136
一、生物杀虫剂抗虫性研究	136
二、转基因抗虫草坪草研究	139
参考文献	144
第八章 草坪草发育的基因调控	146
一、植物生长调节剂对草坪草生长发育的调节	146
二、反义水孔蛋白	151
三、内生真菌对草坪草的促进作用	152
参考文献	153
第九章 草坪草的其他生物技术	156
一、环保草坪草的培育	156
二、彩色草坪草的培育	160
参考文献	161
第十章 转基因草坪草生物安全性讨论	163
一、国际上关于转基因植物安全性的争论	163
二、基因漂移	165
三、草坪草的基因漂移	168
四、转基因植物生态风险评估	169
参考文献	170
结束语	173
参考文献	175

草坪草生物技术概述

一、草坪业发展概况

草坪业是近代社会发展的产物，是随近代人居环境改进和人文景观建设发展起来的产业。草业科学的发展是 20 世纪生物科学发展的重大事件之一。近 50 年来草类遗传育种工作造就了多样化的、能适应不同环境条件的草坪生物群体。大约有 40 个草类物种已被用于草坪植被的建植，在不同的气候和土壤条件下美化我们的世界、丰富人类的多种需求。民居环境、城乡公共绿地、园林景区、高尔夫球场、运动场地，乃至机场、公路和防护堤岸的草坪都是十分重要的生态环境组成部分。草坪草草籽的生产和牧草草籽的生产已发展成为巨大的产业。欧美和澳洲等一些国家对草业十分重视，将其看做“绿色黄金”，澳洲人更称其为“立国之本”。在美国，草坪草和牧草的年销售额超过 5.8 亿美元，这个种业市场仅次于杂交玉米种子，已与电子信息、生物技术、航空航天等行业并列为全美十大支柱产业之一。

我国是利用草坪最早的国家之一，早在公元 15 年我国就有建植人工草坪的记载。但是草坪业作为产业在我国起步较晚，许多发达国家草地牧业的产值已占农业总产值 50% 以上，有的甚至高达 80%，我国只有 10% 左右，仅相当于澳大利亚的 1/10、美国的 1/20、荷兰的 1/50。发达国家的大城市，如澳大利亚的堪培拉人均拥有绿地 70m²、莫斯科 44m²、斯德哥尔摩 80m²，而且绿地中草坪占绝大部分。我国目前城镇人口户均拥有草坪不足 10m²，即使绿化水平较高的北京人均也仅为 7.8m²、大连人均 9.5m²，而且草坪面积占绿地面积较小。近年来，草坪业在我国城市园林绿化建设中的地位日趋提高。草坪业正以其自身的多功能性及其显著的社会、生态、环境效益在市场经济中形成潜力巨大的产业。经过 20 年的努力，我国草坪业取得了长足的发展。

二、草坪草的生态意义

1. 草坪的作用

草坪草对环境的保护作用以及草坪对人类健康的好处已为大量的研究所证实。草坪在吸收二氧化碳和释放氧气、减少城市噪声和夏季热岛效应、净化空