

# 草坪草转基因研究进展

党卫玲<sup>1</sup>, 孙彦<sup>1</sup>, 杨青川<sup>2</sup>

(1. 中国农业大学 草业科学系 北京 100094; 2 中国农业科学院 北京畜牧兽医研究所 北京 100094)

**摘 要:** 随着园林事业的发展, 草坪草转基因技术越来越成为人们关注的焦点。现概括草坪草转基因技术在抗病、抗虫、抗除草剂以及抗逆(干旱, 盐碱, 低温等)研究的进展。

**关键词:** 草坪草; 转基因

**中图分类号:** S 688.403.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001—0009(2007)08—0053—05

伴随城市的发展, 园林绿化事业发展迅速, 草坪以其具有的保持水土, 美化环境, 改善生态环境等功能受到越来越多的青睐。草坪的质量优劣历来是世界各国关注的焦点。人们对于草坪草坪用性状以及抗逆性状的需求仅仅依靠常规的育种手法以及管理手段是远远不能得到满足的。为了缓解这一矛盾, 我们把目光逐渐转移到转基因技术上来, 希望这一有力工具能够在推动草坪业发展的道路上发挥其强大作用。

Horn 等(1988)<sup>[1]</sup>用电激法和 PEG 介导法将外来基因转入鸭茅原生质体, 获得转基因植株。这是关于草坪

草转基因成功的第一次报道。自此以后, 关于转基因成功的报道不断出现。目前研究相对广泛的为多年生黑麦草、草地早熟禾、匍匐翦股颖以及高羊茅。现就几年来草坪草转基因研究所取得的一些成果做一总结, 希望为我国该研究领域日后的发展提供有用信息。

## 1 抗病转基因研究

草坪草的病害一般有真菌病害、细菌病害以及病毒病害。其中危害草坪草最为严重的是真菌病害。目前生产上尚无十分有效的防治办法。草坪草转基因领域近几年来取得了一些成果。

Chai 等(2002)<sup>[2]</sup>将新近发现并克隆的类似几丁质酶作用的 *hs2* 基因转到匍匐翦股颖, 发现转基因植株对立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani* Kuhn)有显著的抑制作用, 且抗病能力的强弱与该基因的拷贝数呈正相关。Takahashi W 等(2005)<sup>[3]</sup>用基因枪法将水稻几丁质酶基因(RCC2)导入意大利黑麦草, 经过Northern blot,

**第一作者简介:** 党卫玲(1981-), 女, 中国农业大学草业科学系在读硕士研究生, 研究方向: 草坪分子生物学。E-mail: dangweiling@163.com.  
**通讯作者:** 孙彦, 副教授。E-mail: cts-china@sohu.com.  
**收稿日期:** 2007—03—23

synthesis[J]. Acta Horti. 1998 463: 53-60.

[21] 郭卫东, 沈向. 利用 Lfy cDNA 转化猕猴桃的研究[J]. 园艺学报, 1999, 26(2): 116-117.

[22] Nakamura M, Sawada H, Kobayashi S, et al. Expression of soybean  $\beta$ -1, 3-endoglucanase cDNA and effect on disease tolerance in kiwifruit plants [J]. Plant Cell Rep, 1999, 18: 527-532.

[23] 樊军锋, 李嘉瑞, 韩一凡, 等. mtID/ gutD 双价耐盐基因转化秦美猕猴桃的研究[J]. 西北农林科技大学学报, 2002 30(3): 53-58.

[24] 黄萍, 沈孝善, 马朝宏. 农杆菌对中华猕猴桃叶柄的遗传转化初报[J]. 西南农业学报, 2002, 15(4): 113-115.

[25] 毕静华, 高月, 刘永立, 等. 阔叶猕猴桃抗生素敏感性及其遗传转化的研究[J]. 核农学报, 2006, 20(4): 287-291.

[26] Fitch M M, Manshardt R V, Gonsalves D, et al. Virus resistant papaya plants derives from tissues bombarded with the coat protein gene of papaya ringspot virus[J]. Bio/ Technol, 1992 10: 1466-1472.

[27] Hebert D. Optimization of biolistic transformation of embryogenic grape cell suspensions[J]. Plant Cell Rep 1993 12: 585-589.

[28] Gereheva R, Zimmermann R H, Owens LD, et al. Particle bombardment of apple leaf explants influences adventitious shoot formation[J]. Hort-Science, 1994, 29(2): 1536-1538.

[29] Siorza R Cordts JM, Gray DJ, et al. Producing transgenic Thompson Seedless grape plant[J]. J. Amer Soc Hort Sci. 1996. 121 (4): 616-619.

[30] Oliveira M M, Barroso J, Pais M S S. Direct gene transfer into Actinidia deliciosa protoplasts: analysis of transient expression of the CAT gene using TLC autoradiography and a GC-MS based method[J]. Plant Molecular Biol., 1991, 17: 235-242.

[31] 朱道圩, 米银法, 陈延惠, 等. GFP 基因在软枣猕猴桃愈伤组织原生质体中瞬间表达的初步研究[J]. 河南农业大学学报, 2003 37(2): 145-148.

[32] Hidaka T, Omura M, Ugaki M, et al. Agrobacterium-mediated transformation and regeneration of Citrus spp. From suspension cells[J]. Japan J Breed 1990 40: 199-207.

[33] Cabrera-Ponce J L, Vegas-García A, Herrera-Estrella L. Herbicide resistant papaya plants produced by an efficient particle bombardment transformation method[J]. Plant Cell Rep 1995 15: 1-7.

[34] Bart J J, Richard C G. The use of transient Gus expression to develop an Agrobacterium mediated gene transfer system for kiwifruit [J]. Plant Cell Reports, 1993, 13: 28-31.

[35] Bond JE, Roose ML. Agrobacterium-mediated transformation of the commercially important citrus cultivar Washington navel orange[J]. Plant Cell Rep 1998, 18: 229-234.

RT-PCR 以及 Western blot 分析, RCC2 基因已经在转基因植株中表达, 并且与对照植株相比, 转基因植株对锈病(*Puccinia coronata*)的抗性显著。Fu D 等(2005)<sup>[4]</sup> 农杆菌介导法将水稻类甜蛋白基因(TLPD34) 导入匍匐剪股颖品种 Crenshaw 成熟胚愈伤组织。经 PCR 以及 Southern blot 分析, TLPD34 已经整合到 Crenshaw 基因组中, 经 Western blot 分析, TLPD34 基因已经得到表达。同时 TLPD34 基因可以遗传至 T<sub>1</sub> 代。在真菌病害实验中, T<sub>0</sub> 代对于引起褐斑病真菌(*Rhizoctonia solani*) 以及引起币斑病真菌(*Sclerotinia homoeocarpa*) 有明显抗性。在田间试验中, T<sub>0</sub> 代仅对于币斑病有抗性。余建明等(2006)<sup>[5]</sup> 通过农杆菌介导法将含有葡萄糖氧化酶基因(GO) 和新霉素磷酸转移酶基因(NPT II) 的重组质粒导入 3 个不同品种的草地早熟禾由成熟种子诱导产生的愈伤组织, 进而获得再生植株。通过 PCR 分子检测证明 GO 基因已整合到转基因植株的基因组中。通过抗病性鉴定, 这些转基因植株对水稻纹枯病具有不同程度的抗性。马生健等(2006)<sup>[6]</sup> 通过基因枪法将几丁质酶(Chi) 和 $\beta$ -1, 3-葡聚糖酶(Glu) 的双价载体 pChi-Glu 导入高羊茅得到转基因植株, 并经过 GUS 染色的活性检测证明得到的阳性表达, 对其进行了禾谷镰刀菌侵染试验, 结果显示转基因植株表现出明显的抗性。

## 2 抗虫转基因研究

在抗虫转基因方面, 应用最为广泛的是苏云金芽孢杆菌的杀虫结晶蛋白(Bt) 基因。Bt 基因编码的晶体毒蛋白对于鳞翅目、鞘翅目昆虫的幼虫有很强的毒杀能力。在草坪草抗虫转基因方面近年来取得的成果有: Cho 等(2001)<sup>[7]</sup> 通过基因枪法将 bar 基因转入鸭茅成熟种子胚来源的愈伤组织中, 获得的转基因植株经过 PCR 以及 DNA 点杂交分析证明 bar 基因已经整合到鸭茅基因组中。胡繁荣(2005)<sup>[8]</sup> 利用农杆菌介导法将经过改良的抗虫 Bt 基因(cryIab) 导入匍匐剪股颖成熟种子胚来源的愈伤组织, 得到转基因植株。经 GUS 组织化学染色、PCR 检测、Southern 杂交鉴定该基因已整合进入转基因植株。余建明等(2005)<sup>[9]</sup> 以草地早熟禾品种超级伊克利成熟种子为外植体材料, 通过农杆菌介导法将 Bt 基因转入其愈伤组织, 得到转基因植株, 通过 PCR 检测证明 Bt 基因已经转入草地早熟禾基因组中, 生物学抗虫性鉴定结果显示, 转 Bt 基因当代植株对 1~2 龄棉铃虫具有不同程度的抗性。吴桂胜(2006)<sup>[10]</sup> 利用农杆菌介导法将抗虫基因(cry8C) 转入多年生黑麦草卡特成熟种子愈伤组织获得转基因植株, 通过 PCR 检测证明基因已经转入基因组中。

## 3 抗除草剂转基因研究

杂草是草坪建植成败的关键之一, 防除杂草也就成了草坪管理中的一个重要内容。除草剂以其除草效率

高、效果彻底, 除草成本低等原因得到了广泛的应用。则培育抗除草剂的草坪草将极具经济价值和市场推广应用价值。

胡繁荣(2004)<sup>[11]</sup> 通过农杆菌介导法将除草剂抗性基因(bar) 导入狗牙根匍匐茎节来源的愈伤组织得到转基因植株。经潮霉素抗性基因(hpt) 和除草剂抗性基因(bar) 的 PCR 分析、GUS 组织化学染色和潮霉素抗性鉴定, 证实除草剂抗性基因 bar 已成功整合到狗牙根基因组。何勇(2004)<sup>[12]</sup> 通过农杆菌介导法将抗除草剂(bar) 基因转入马蹄金的叶片愈伤组织获得转基因植株, 通过 PCR 检测证明其基因已整合到马蹄金基因组中, 并且除草剂涂抹实验结果表明转化植株比对照表现出了更强的抗性。Hu Z H 等(2005)<sup>[13]</sup> 利用农杆菌介导法将包含潮霉素抗性基因(hph) 和抗除草剂(bar) 基因的 pDBA-121 质粒转入高羊茅两个月的胚性悬浮细胞进而得到了转基因植株, 并通过 PCR 检测、Southern 杂交分析以及除草剂喷施检测证明, 抗性基因得到了很好的表达。

## 4 抗逆转基因研究

水分、盐碱, 以及温度胁迫是草坪生产中面临的三大非生物胁迫因素。它们影响草坪草生长发育, 并造成草坪坪用价值大打折扣。研究草坪草对逆境胁迫的反应机制, 提高草坪草的抗逆境胁迫能力对于草坪产业的发展具有重大意义。目前抗逆境胁迫的研究主要集中在: 抗逆相关基因的克隆及其诱导表达的调控、信号传导等方面。概括起来这些抗逆相关基因分为以下两类: 一是上游转录因子以及感应信号激酶, 它们包括: 传递信号和调控基因表达的转录因子, 如脱水应答元件结合蛋白转录因子(DREB) 等; 感应和转导胁迫信号的蛋白激酶, 如转录调控蛋白激酶等以及在信号转导中起重要作用的蛋白酶。二是下游的对细胞起保护作用的一些成份包括: 直接编码保护细胞免受胁迫伤害的功能蛋白, 如渗透蛋白、抗冻蛋白、离子通道蛋白等; 渗透调节因子, 如脯氨酸、甜菜碱、一些糖类等的合成酶; 毒性降解酶, 如超氧化物歧化酶(SOD) 等。其中对于下游的基因研究的较为透彻。随着研究的进展, 越来越多的转基因成功的报道也同时不断出现。

### 4.1 抗旱抗盐转基因研究

4.1.1 转录因子方面 草坪草基因工程中抗旱抗盐转录因子克隆成功的报道在早熟禾<sup>[14]</sup>, 狗牙根<sup>[15]</sup> 以及高羊茅<sup>[16]</sup> 中都有出现。马欣荣(2005)<sup>[17]</sup> 用农杆菌介导法将脱水应答元件结合蛋白转录因子(DREB) 基因转入多年生黑麦草品种多福的成熟胚诱导的愈伤组织, 经过百龙霉素和卡那霉素筛选, 获得抗性植株。经 PCR 验证 DREB 基因已整合到多年生黑麦草基因组中。耐盐生理测试表明, 获得了外源 DREB 基因的转基因多年生黑麦草植株, 其耐盐碱能力较野生型有较大提高。Vanildorj

E 等(2006)<sup>[18]</sup> 用农杆菌介导法将拟南芥脱落酸信号通路中的基因(ABF3)转入蒙古翦股颖,经 Southern blot 分析,ABF3 已经整合到蒙古翦股颖基因组中,通过 Northern blot 分析,该基因已经在蒙古翦股颖内表达。在干旱胁迫下,转基因植株叶片含水量高于野生型对照 3~4 倍,同时叶片的气孔开放数目较少,存活率高于野生型对照 2 倍。在热胁迫下,存活率高于野生型对照 3 倍。ABF3 基因能提高蒙古翦股颖的抗旱抗热能力。

4.1.2 渗透调节因子方面 从渗透调节因子,如脯氨酸、甜菜碱的角度进行转基因工程的研究在目前草坪草抗旱抗盐领域里研究的范围最为广泛。脯氨酸、甜菜碱等小分子有机物具有较强的渗透调节作用,它可以调节细胞的渗透势,使细胞抵消水分胁迫,防止细胞受到伤害。在甜菜碱研究方面,Zhang (2003)<sup>[9]</sup> 将甜菜碱醛脱氢酶(BADH)基因转入狗牙根和草地早熟禾中获得转基因植株,其中大部分植株能够提高植株的抗旱、耐盐性。段碧华(2005)<sup>[20]</sup> 利用基因枪法将山菠菜的甜菜碱醛脱氢酶(BADH)基因导入草地早熟禾,并稳定地整合到草地早熟禾基因组中,经耐旱耐盐试验初步证实了转基因植株的耐旱和耐盐性有所提高。曲同宝(2005)<sup>[21]</sup> 使用基因枪法将甜菜碱醛脱氢酶(BADH)基因转入羊草,成功获得转基因植株。经过 PCR 检测 BADH 基因已经成功整合到羊草的植物基因组中。信金娜(2006)<sup>[22]</sup> 将甜菜碱醛脱氢酶(BADH)、胆碱单氧化酶(CMO)构成的双基因外源载体利用基因枪法分别轰击草地早熟禾的胚性愈伤组织得到转基因植株。经过 PCR 检测、Southern 杂交分析,证明 BADH—CMO 双基因已经成功整合到草地早熟禾的植物基因组中。在脯氨酸研究方面,霍秀文等(2004)<sup>[23]</sup> 以调控脯氨酸生物合成最后一步的关键酶的突变体基因  $\Delta^1$ -吡咯琳-5-羧酸合成酶基 2 因(P5CS)为目标基因,bar 基因为筛选标记基因,通过基因枪法转入冰草幼穗外植体的愈伤组织,得到了转基因植株。PCR 和 Southern 检测表明外源基因 P5CS 已整合到冰草属植物基因组 DNA 中,RT-PCR 检测表明目的基因已在冰草转基因植株的转录水平表达。李志亮等(2005)<sup>[24]</sup> 利用基因枪法,以豇豆的  $\Delta^1$ -吡咯琳-5-羧酸合成酶基因(P5CS)的突变型 P5CS—F129A 基因转化高羊茅的下胚轴愈伤组织,获得植株经 PCR 检测和 Southern blot 分析,P5CS 基因已经整合到高羊茅的基因组中。脯氨酸含量测定表明,转基因植株的脯氨酸含量比对照高 31%~83%。对植株的抗旱性初步检测表明,转基因植株比对照耐旱。杨成民(2005)<sup>[25]</sup> 以多年生黑麦草种子成熟胚为外植体进行高效诱导愈伤组织,利用基因枪法轰击其成熟胚的愈伤组织,共转化分别携带 bar 基因和 P5CS 基因表达框架的 2 种质粒经 1.2%草丁磷抗性筛选获得了转基因再生植株。经 PCR 检测,

P5CS 基因已经整合到多年生黑麦草基因组中。田路明等(2006)<sup>[26]</sup> 在拟南芥、水稻等植物中克隆了植物抗逆中起重要作用的基因: $\Delta^1$ -吡咯琳-5-羧酸合成酶(P5CS)基因、 $\text{Na}^+/\text{H}^+$  反转运蛋白(NHX1)基因利用基因枪法导入高羊茅幼苗下胚轴诱导的愈伤组织,在 2 mg/L 草丁膦培养基上筛选,获得抗性转基因植株,经 PCR 分子检测、Southern 杂交、免疫印迹和 GFP 荧光观测验证,获得 P5CS 转基因株系 51 个,NHX1 转基因株系 30 个对 P5CS 转基因株系进行温室和田间的耐旱性初步分析获得耐旱性较好的 5 个转基因株系,分别为 P5-1, P53-1, P72-1, P87-1, P89-1。这 5 个株系 2005 年获得农业部批准的转基因中试(2005-T007)。

4.1.3 直接编码保护细胞的功能蛋白方面 植物细胞可以通过直接编码保护细胞免受胁迫伤害的功能蛋白来抵抗外界胁迫。这些功能蛋白主要有:渗透蛋白、抗冻蛋白、离子通道蛋白等。吴锬(2004)<sup>[23]</sup> 通过基因枪法在草坪草转基因方面取得了很多成果,将海藻糖合酶(TPS)基因导入黑麦草,利用除草剂 PPT 筛选得到转基因苗;将脱水素基因(BcDh1)导入高羊茅,田间试验表明,在干旱胁迫下,转基因株系比非转基因株系表现出更强的抗性。Wu Y Y 等(2005)<sup>[27]</sup> 通过农杆菌介导法将来源于水稻的  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向转运蛋白基因( $\text{OsNHX1}$ )转入多年生黑麦草胚性愈伤组织,获得的植株经过 PCR 以及 Southern blot 分析证明  $\text{OsNHX1}$  基因已经整合到多年生黑麦草基因组中。与对照植株相比,转基因植株叶片累积更多的  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  以及脯氨酸。梁蕊芳(2005)<sup>[28]</sup> 利用基因法将拟南芥的抗旱相关基因  $\text{AtNHX1}$  基因转入高羊茅下胚轴愈伤组织,得到的转基因植株经 PCR 和 Western-blotting 检测表明,  $\text{AtNHX1}$  基因已经整合到高羊茅基因组中。

#### 4.2 抗寒转基因研究

绿期长,耐寒力和抗霜冻能力强的草坪草一直是草坪草育种的一个重要目标。通过常规的杂交,选育等方法尽管得到了相当多的优良品种,但是其漫长的育种周期满足不了草坪业快速发展的需要。转基因技术在草坪草抗寒育种方面取得了一些突出的进展。

吴锬(2004)<sup>[29]</sup> 通过基因枪法将冷诱导转录因子基因(CBF1)导入黑麦草,在田间雪地中,转基因株系表现了出色的抗寒能力。吴关庭等(2005)<sup>[30]</sup> 通过农杆菌介导法将拟南芥耐逆相关 CBF1 基因导入 4 个品种高羊茅以成熟种子来源的胚性愈伤组织,经 GUS 染色、PCR 检测和 Southern 杂交分析验证,获得了 112 株转基因植株,转化频率为 0.92%~2.87%,不同品种间存在差异。试验表明,在高盐与高渗胁迫下,转基因植株具有显著生长优势,存活率极显著高于非转化对照植株,经低温、高温、干旱和高盐等逆境胁迫处理后的叶片相对电导率

平均较对照植株低 25% ~ 30%, 证明转基因植株的耐逆性有所增强。梁蕊芳(2005)<sup>[31]</sup> 利用基因法将拟南芥的抗寒相关基因 CBF3 基因分别转入高羊茅下胚轴愈伤组织, 得到的转基因植株经 PCR 和 Western blot 检测表明 CBF3 基因都已经整合到高羊茅基因组中。杨凤萍等(2006)<sup>[32]</sup> 利用基因枪法将抗逆调节转录因子(CBF1) 导入多年生黑麦草种子成熟胚愈伤组织, 获得转基因植株。经 PCR 点杂交的分子检测, CBF1 基因已整合到多年生黑麦草部分转基因株系的基因组中。叶片脯氨酸含量测定表明, 经干旱处理或使用 15 %PEG 处理, 转基因植株叶片脯氨酸含量比未处理时显著提高, 部分转基因植株提高幅度明显高于非转基因植株。Li R F 等(2006)<sup>[33]</sup> 通过农杆菌介导法将来自于拟南芥的 CBF 转录激活因子(CBF1/DREB1b) 转入中华结缕草, 获得的植株经过 PCR、southern blot 以及反转录 PCR (RT-PCR) 分析证明 CBF1/DREB1b 基因已经整合到结缕草基因组中。经低温胁迫下离子渗漏, 全绿叶片与发黄叶片比例分析, 与野生型植株相比, 转基因植株表现出明显的抗寒性。王渭霞等(2006)<sup>[34]</sup> 通过农杆菌介导法将来源于拟南芥的耐逆相关 CBF1 基因导入匍匐翦股颖成熟胚诱导的胚性愈伤组织, 得到转基因植株。贺杰等(2007)<sup>[35]</sup> 农杆菌介导将拟南芥冷诱导基因的转录因子 CBF1 导入中华结缕草, 获得 3 个抗性株系。PCR、RT-PCR 和 Southern 检测结果表明, CBF1 基因已整合到中华结缕草基因组中并表达。抗冷性实验表明, CBF1 基因已在中华结缕 T<sub>0</sub> 代中稳定表达 并表现出一定的抗冷性。

#### 4.3 其它抗性转基因研究

抗旱, 抗盐碱, 抗病虫尽管在草坪草研究中占有相当大的比例, 在其它抗逆如抗衰老, 抗重金属等方面也取得了一些成绩。陈东(2004)<sup>[36]</sup> 通过农杆菌介导法将来源于大肠杆菌的谷胱甘肽合成酶(gsh1) 基因, 拟南芥植物螯合态合成酶(pcs) 基因分别转入翦股颖胚性愈伤组织, 得到抗重金属转基因植株, 经 PCR 检测和 Southern 杂交分析基因已经分别转入翦股颖基因组中, 但是拷贝数较低, 为 1-2 个拷贝。吴铮(2004)<sup>[29]</sup> 通过基因枪法将异戊烯基转移酶(IPT) 基因导入高羊茅, 与非转基因株系相比, 转基因株系在田间表现为更强的分蘖能力; 章家长(2005)<sup>[37]</sup> 用基因枪法以及农杆菌介导法将拟南芥中衰老特异启动子 P<sub>SAG12</sub> 控制下的外源异戊烯基转移酶(gpt) 基因(P<sub>SAG12</sub>-ipt) 导入中华结缕草的胚性愈伤组织, 经 PCR Southern 杂交后, 证明 P<sub>SAG12</sub>-ipt 基因已经整合入其基因组中, 并且通过测定离体叶片培养过程中光合速率的变化, 也证实了转基因植株叶片衰老速度明显减慢。Kim K Y 等(2005)<sup>[38]</sup> 通过农杆菌介导法将热耐受基因 DgP23 转入鸭茅获得转基因植株, 经 PCR 以及 Southern Blot 检测已经整合到鸭茅基因组中。在

实验室以及田间试验中, 与野生型鸭茅相比, 转基因植株在形态学上不存在差异。在仅对实验室植株进行分析, 发现转基因植株并没有表现出抗热性。

#### 5 草坪草转基因研究存在的问题以及展望

与传统育种方式相比, 转基因技术具有育种周期短, 效率高等优点。利用转基因技术向草坪草中引入特异性状的目的基因, 使草坪草具有抗除草剂、抗病虫、抗旱、耐寒、耐盐碱等优良特性已经越来越多地受到各国的认可。但是转基因技术在草坪草领域的应用还存在以下瓶颈: 一是由于外来基因通常是随机的整合到植物的基因组中, 外来基因的表达就会很难预测; 转基因植株可能会出现基因沉默的现象; 转基因植株正常生长发育可能会受到影响<sup>[30, 34]</sup>。二是草坪草与天然的杂草存在着天然的亲缘关系, 由于目前抗性基因是直接转入到草坪草核染色体中, 在转入抗逆基因以后, 转基因植株的花粉很可能传给其他杂草, 从而发生基因漂移, 使得杂草变得更加难以控制, 进而引发生态安全问题。

我国所使用的草坪草 90% 以上依赖进口, 为解决这一问题。除注重资源保护和良种引种外, 应加强生物技术的应用。尽管转基因技术存在一定的负面影响, 但是它将带来的经济效益也是相当明显的。随着各项生物技术的快速发展, 转基因草坪草技术中的问题将会得到解决。转基因草坪草的商业化也在不停的筹备和完善。相信应用转基因技术繁育草坪草新优品种, 必将有力推动草坪草业的发展。

#### 参考文献

- [1] Horn M E, Shilito R D, Conger B V, et al. Transgenic plants of orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) from protoplasts[J]. Plant cell reports, 1988, 7(7): 469-472.
- [2] Chai B, Maqbool S B, Hajela R, et al. Cloning of a chitinase-like cDNA (hs2), its transfer to creeping bentgrass (*Agrostis palustris* Huds.) and development of brown patch (*Rhizoctonia solani*) disease resistant transgenic lines[J]. Plant Science, 2002, 163(2): 183-193.
- [3] Takahashi W, Fujimori M, Miura Y, et al. Increased resistance to crown rust disease in transgenic Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) expressing the rice chitinase gene[J]. Plant Cell Reports, 2005, 23(12): 811-818.
- [4] Fu D L, Tisserat N A, Xiao Y M, et al. Overexpression of rice TLDP34 enhances dollar-spot resistance in transgenic bentgrass[J]. Plant Science, 2005, 168(3): 671-680.
- [5] 余建明, 张保龙, 梁流芳, 等. 草地早熟禾转葡萄糖氧化酶基因植株的获得[J]. 江苏农业学报, 2006, 22(3): 217-221.
- [6] 马生健, 宗久明, 曾富, 等. 高羊茅、假俭草对除草剂与真菌病抗性研究[J]. 湛江师范学院学报, 2006, 27(3): 68-72.
- [7] Cho M J, Choi H W, Lemaux P G. Transformed T(0) orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) plants produced from highly regenerative tissues derived from mature seeds[J]. Plant cell reports, 2001, 20(4): 318-324.
- [8] 胡繁荣. 农杆菌介导获得转基因抗虫匍匐翦股颖植株[J]. 农业生物技术学报, 2005, 13(2): 262-263.
- [9] 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.

[10] 吴桂胜. 黑麦草、剪股颖再生体系的建立及农杆菌介导 cry8C 基因的导入[D]. 江西南昌: 南昌大学硕士学位论文, 2006. 06.

[11] 胡繁荣. 狗牙根农杆菌介导转化体系的优化及除草剂抗性基因 bar 的导入与应用[D]. 杭州: 浙江大学硕士学位论文, 2004. 05.

[12] 何勇. 农杆菌介导草坪植物抗除草剂基因的遗传转化研究[D]. 武汉: 华中农业大学硕士学位论文, 2004. 05.

[13] Hu Z H, Chen J Q, Wu G T et al. Highly efficient transformation and plant regeneration of tall fescue mediated by *Agrobacterium tumefaciens* [J]. *Zhi Wu Sheng Li Yu Fen Zi Sheng Wu Xue Xue Bao*, 2005, 31(2): 149-159.

[14] 任清. 早熟禾中 DREB 基因的克隆及特性分析[D]. 北京: 中国科学院博士学位论文, 2005. 06.

[15] 谢永丽, 王自章, 刘强, 等. 草坪草狗牙根中抗逆基因 BeDREB 的克隆及功能鉴定[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2005, 21(4): 521-527.

[16] 阳文龙, 刘敬梅, 刘强, 等. 高羊茅 DREB 类转录因子基因的分离及鉴定分析[J]. 核农学报, 2006, 20(3): 187-192.

[17] 马欣荣, 孙振元, 蒋昌顺, 等. 抗旱基因 DREB 转化多年生黑麦草 (*Lolium perenne* L.) 研究//中国细胞生物学学会 2005 年学术大会、青年学术研讨会论文摘要集 Q. 2005. 20.

[18] Vanjildorj E, Bae T W, Riu K Z et al. Transgenic *Agrostis mongolica* Roshew. with enhanced tolerance to drought and heat stresses obtained from *Agrobacterium*-mediated transformation[J]. *Plant Cell*, 2006, 87(2): 109-120.

[19] Zhang G Y. Enhancing salt and drought tolerance of *Poa* and triploid *Cynodon* with BADH gene and somaclonal variation[M]. Rutgers the State University of new Jersey, 2003.

[20] 段碧华. 草地早熟禾高频再生体系的建立及基因枪导入甜菜碱脱氢酶基因的研究[D]. 北京: 北京林业大学博士学位论文, 2005. 06.

[21] 曲同宝, 王丕武. 基因枪法将 BADH 基因转入羊草的研究[J]. 中国草地, 2005, 27(2): 27-30.

[22] 信金娜, 韩烈保, 刘君, 等. 基因枪转化法获得草地早熟禾 (*Poa pratensis* L.) 转基因植株[J]. 中国生物工程杂志, 2006, 26(8): 10-14.

[23] 霍秀文. 冰草组织培养再生体系建立及耐旱转基因研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学博士学位论文, 2004. 05.

[24] 李志亮, 黄丛林, 张秀海, 等. 利用基因枪法向高羊茅导入 P5CS 基因的研究[J]. 园艺学报, 2005, 32(4): 653-657.

[25] 杨成民, 王宏芝, 孙振元, 等. 利用基因枪共转化法获得转 bar 与

P5CS 基因黑麦草[J]. 草地学报, 2005, 13(1): 34-38.

[26] 田路明, 黄丛林, 张秀海, 等. 利用转基因技术培育耐旱节水的高羊茅草坪草//中国农业生物技术学会第三届会员代表大会暨学术交流会[C]. 2006. 05: 37.

[27] Wu Y Y, Chen Q J, Chen M et al. XueChen Salt-tolerant transgenic perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) obtained by *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of the vacuolar Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter gene[J]. *Plant Science* 2005, 169(1): 65-73.

[28] 梁蕊芳. 利用基因枪轰击法将 NHX1、CBF 耐逆相关基因导入高羊茅 (*Festuca arundinacea* Schreb.) [D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学硕士学位论文, 2005. 05.

[29] 吴锦, 胡鸾雷, 倪挺, 等. 转基因草坪草的研究概况与展望[J]. 草业科学, 2004, 21(1): 39-45.

[30] 吴关庭, 陈锦清, 胡张华, 等. 根癌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.

[31] 梁蕊芳. 利用基因枪轰击法将 NHX1、CBF 耐逆相关基因导入高羊茅 (*Festuca arundinacea* Schreb.) [D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学硕士学位论文, 2005. 05.

[32] 杨凤萍, 梁荣奇, 张立全, 等. 抗逆调节转录因子 (CBF1) 基因提高多年生黑麦草的抗旱能力[J]. 华北农学报, 2006, 21(1): 14-18.

[33] Li R F, Wei J H, Wang H Z et al. Development of highly regenerable callus lines and *Agrobacterium*-mediated transformation of Chinese lawngrass (*Zoysia sinica* Hance) with a cold inducible transcription factor CBF1[J]. *Plant Cell*, 2006, 85(3): 297-305.

[34] 王渭露, 朱廷恒, 玄松南. 农杆菌介导的匍匐剪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(45): 59-64.

[35] 贺杰, 魏建华, 王宏芝, 等. 中华结缕草高频再生愈伤系的建立和农杆菌介导获得转 CBF1 基因植株//中国农业生物技术学会第三届会员代表大会暨学术交流会[C]. 2006. 05.

[36] 陈东. 农杆菌介导的 gsh 和 pcs 基因转化剪股颖和烟草研究[D]. 浙江大学硕士学位论文, 2004. 05.

[37] 章家长, 孙振元, 李召虎, 等. 转 PSAG12-ipt 基因结缕草的获得及其衰老特性分析[J]. 自然科学进展, 2005, 15(7): 818-823.

[38] Kim K Y, Jang Y S, Park G J, et al. Production of transgenic orchardgrass overexpressing a thermotolerant gene DgP23[J]. *Korean Society of Grassland Science*, 2005, 25(4): 267-274.

## Advantage of Research on Transgenic Turfgrass

DANG Wei-ling<sup>1</sup>, SUN Yan<sup>1</sup>, YANG Qing-chuan<sup>2</sup>

(1. The Department of Grassland Science, China Agricultural University, Beijing 100094 China; 2. Institute of Animal Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100094 China)

**Abstract:** With the development of gardening business, the transgenic technology of turfgrass is focused on increasingly. The recent research progresses in transgene of the turfgrass with resistance to diseases, insects, herbicides and abiotic stresses (drought, salinity, freezing, etc.) were summarized in the paper.

**Key words:** Turfgrass; Transgene