

· 双清论坛“新时期草学的重大基础科学问题” ·

饲草作物基础生物学与生物育种^{*}

景海春¹ 张景昱¹ 金京波¹ 刘志鹏² 张保才³
付春祥⁴ 程佑发¹ 林 浩⁵ 才宏伟⁶ 梁承志³
周 姚¹ 曹晓风³ 种 康^{1* *}

1. 中国科学院植物研究所, 北京 100093
2. 兰州大学草地农业科技学院, 兰州 730020
3. 中国科学院遗传与发育生物学研究所, 北京 100101
4. 中国科学院青岛生物能源与过程研究所, 青岛 266101
5. 中国农业科学院生物技术研究所, 北京 100081
6. 中国农业大学农学院, 北京 100083

[摘 要] 饲草作物在保障国家大粮食安全的重要性日渐突出, 饲草产业的健康发展迫切需要系统布局饲草作物基础生物学研究和生物育种科技战略。本文综述了主要饲草作物的种类和生物学特性、基因组学和主要性状功能基因研究进展, 分析了以设计“理想饲草”为目标的饲草生物育种需要深度解析饲草特化生物学性状形成的分子基础, 饲草驯化性状的分子调控, 并借鉴粮食作物驯化研究的前沿进展实现饲草作物的从头快速驯化。建议发挥我国在饲草基因组学和基因编辑等方面的领先优势, 大力发展大数据、人工智能驱动的新技术和新理论, 引领饲草作物基础生物学与生物育种领域的突破。

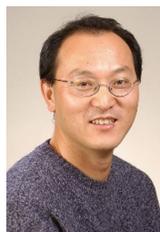
[关键词] 饲草作物; 基础生物学; 生物育种; 特化性状; 分子驯化与设计

饲草作物(Forage Crops)是现代畜牧养殖的基础, 是我国饲料粮安全的核心, 是大粮食安全的重要组成部分。国民膳食结构改变导致饲料粮进口逐年攀升, 风云变幻的国际形势使得国际饲草贸易变得极为困难。在此背景下, 自主发展饲草作物和饲草种业的重要性日益凸显。系统开展饲草基础生物学研究和生物育种创新, 是实现饲草种源自主可控、饲草种业自立自强的国家战略。



种康 中国科学院植物研究所研究员、中国科学院院士, 国际欧亚科学院院士, 现任中国植物学会理事长。从事植物发育与环境应答研究, 发现植物温度感受器膜蛋白 COLD1 和钙网蛋白 OsCRT3-OsCIPK7, 解析 vitamin E-vitamin K1、

OsMAPK3-OsbHLH002-OsTPP1 等途径水稻低温信号网络, 并应用于水稻“分子模块”设计育种, 培育耐寒国审品种“嘉禾优 7”, 通过基础研究推动作物育种升级换代。在 *Cell* 等国际学术期刊发表论文 80 余篇。获中国植物生理与植物分子生物学学会杰出成就奖、何梁何利基金科学与技术进步奖等。



景海春 中国科学院植物研究所研究员、中国科学院特聘核心研究员、中国科学院大学特聘教授, 现任中国科学院生态草牧业工程实验室主任。从事甜高粱分子育种与草牧业科技示范, 解析了高粱泛基因组, 鉴定了高粱驯化与改良基因组印迹, 克隆到调控秸秆含汁量的 *Dry* 基因, 设计培育了科甜系列甜高粱新品种, 并集成新品种、新技术和新装备开展草牧业发展模式科技示范。在 *Nature Plants*、*Molecular Plant* 等学术期刊发表论文 50 余篇。获 2020 年度中国科学院科技促进发展奖。

收稿日期: 2023-05-20; 修回日期: 2023-07-17

* 本文根据第 313 期“双清论坛”讨论的内容整理。

** 通信作者, Email: chongk@ibcas.ac.cn

本文受到国家重点研发计划(2022YFF1003200)、中国科学院战略性先导科技专项(XDA26000000)、国家自然科学基金项目(32072026)和黄三角国家农高区省级科技创新发展专项基金(2022S2X13)的资助。

发展现代饲草产业,必须通过先进育种技术改良饲草的生物学性状,使之符合现代化、集约化和规模化生产方式的要求。饲草主要被反刍家畜利用,其生产性状显著不同于以收获籽粒为对象的粮食作物。因此,在改良目标和对象上,要有全新的考虑。饲草以地上部分全部生物量为收获对象,要求高生物量、高能量、高蛋白、高饲喂价值;在种植区域上,要求具备广适性、强耐逆性,从而利用边际性发展产业,不与粮食作物争地。

客观上饲草作物的种类和特化的生物学性状不同于粮食作物^[1],但饲草基础生物学和生物育种研究明显滞后于农作物。通过比较 32 种主要饲草的相关特性(附表 1),总结出如下特征:(1) 基因组多倍化、高度杂合。大多饲草基因组多倍化、高杂合度,普遍庞大且结构复杂。在 32 个物种中,有一半以上具有此特征,显著不同于粮食作物。(2) 生产性状差,如易倒伏、果实裂荚和种子易落粒,结实和萌发率低。多种饲草因对株高和叶量等饲草生物量构成要素的执着追求,在生育期内易发生大面积倒伏而影响收获及产量与品质;饲草有性生殖的结实率和种子的萌发率低,对饲草育种和生产利用造成不利影响;多种栽培种饲草仍保留一定的野生性如种子落粒性,且落粒种子萌发会干扰后茬作物的生长。(3) 异花授粉、自交不亲和(Self-incompatibility, SI)。自交不亲和是雌雄同花的显花植物抑制自花授粉的种内生殖障碍,可促进异交,增加后代的遗传多样性及其生存能力,在显花植物中广泛存在,具有科的特异性。包括绝大多数饲草种类的豆科(Fabaceae)、菊科(Asteraceae)与禾本科(Poaceae)的自交不亲和机制尚不明了,严重限制了牧草自交制种与杂交育种进程^[2]。(4) 自交衰退(Inbreeding Depression)。自交衰退是指连续多代自交引起生长势、繁殖能力和产量下降的一种现象,在自然界中普遍存在^[3]。相对于种子繁殖的植物来说,无性繁殖植物自交衰退的程度更大。从进化角度来看无性繁殖的植物积累了更多的有害突变,难以通过自然条件下的遗传重组被清除,大量的有害突变基因纯合导致有害性状出现^[4]。(5) 杂种优势未得到有效利用。杂种优势在水稻(*Oryza sativa*)、玉米(*Zea mays*)的育种和农业生产中的应用大幅度提高了产量,例如,美国 2002 年的玉米单位面积产量达到 1961 年的 2.1 倍就得益于杂种优势应用^[5]。然而,饲草的自交不亲和性与自交衰退严重阻碍了饲草育种进程和杂种优势利用。例如,紫花苜蓿的自交不

亲和性导致无法获得真正的纯合自交系,因而无法有效利用杂种优势。1990 至 2020 年美国紫花苜蓿单产几乎没有增长。尽管有美国公司培育并释放了杂交苜蓿,它们在评比实验中比传统苜蓿品种相比产量提高 8%~15%,但与杂交水稻和杂交玉米相比,增产幅度仍较低,特别是考虑到水稻、玉米主要收获籽粒,而饲草收获的是地上部分的生物量,杂种优势对生物量贡献更显著,因此可以推测杂交饲草产量还有巨大的提升空间。

为推动我国饲草产业进一步发展,必须利用现代基因组学和分子遗传学的先进理论和技术,针对性开展饲草基础生物学和生物育种问题的深入研究。本文综述了此方面国内外已有研究进展,并就下一步科学研究的前沿布局和提升产业的科技路径提出建议。

1 饲草基因组学研究飞速发展

1.1 饲草多倍体杂合基因组解析得益于高通量测序与拼接技术迭代

饲草基因组通常具有多倍体化、杂合度高等特点,加之体量大、重复序列多,为其解析增加难度,因而,与粮食作物相比,饲草基因组研究一直相对滞后。得益于基因组测序成本的大幅降低和拼装技术突破性发展,近期数个饲草基因组得以成功解析(图 1)。测序技术方面,以英国牛津纳米孔测序技术(Oxford Nanopore Technologies, ONT)和美国 PacBio 公司单分子荧光测序(Single Molecule Real Time Sequencing, SMRT)为代表的三代测序技术得到飞速发展。2022 年, Illumina 公司发布测序成本“拐点级”系统 NovaSeq, PacBio 公司推出的 HiFi (High Fidelity)测序技术和华大智造发布的超高通量测序仪 DNBSEQ-T20×2 等,均大幅降低了测序费用。拼接方法上, hifiasm 软件可以同时利用 HiFi 数据以及 ONT 的超长数据对高杂合多倍体数据进行组装^[6]。我国科学家走在了饲草基因组破译的世界前列,目前获得了中国六倍体裸燕麦(*Avena nuda*)高达 10.76 Gb 的高质量参考基因组^[7],同源四倍体紫花苜蓿(*Medicago sativa*)的高质量基因组,以美洲狼尾草 10 份代表性核心种质材料为基础构建了首个饲草领域图形泛基因组(Graph-pangenome)^[8]。此外,几个重要的饲草基因组也得到初步解析,包括禾本科优质饲草黑麦草(*Lolium perenne*),其单倍体基因组大小为 2.28 Gb^[9],及异源四倍体象草(*Cenchrus purpureus*)、紫色象草(*C. purpureus* cv. Purple)等。

多个高质量饲草基因组的成功解析为阐明重要性状分子调控机制及分子育种奠定基础。

1.2 饲草基因—表型关联分析迈向组学水平

牧草基因资源挖掘需要具有因果关系的表型组数据与基因组数据配合分析。多倍体短序列变异检测的软件有 GATK4^[10]、Octopus^[11], 然而多倍体基因组的结构变异鉴定目前仍比较困难, 其中少数软件如 SVIM 等工具可通过多种序列比对方式全面鉴定多倍体饲草基因组的结构变异^[12]。除了基于单个参考基因组的变异检测方式外, 图泛基因组 (Graph-pangenome), 即借助数学和计算机中被称为图 (Graph) 的数据结构来展示一个物种的泛基因组 (Pangenome), 也可以作为参考基因组可提高遗传变异的检测准确率。

饲草全基因组关联分析对其表型数据也提出了更高的要求。近年来兴起的表型组学通过环境传感、非侵入式成像、反射光谱、机器人、高通量表型筛选等技术收集表型数据, 借助计算机可视化和机器学习处理图像和提取有价值信息, 为饲草表型精准分析提供了可行途径^[13]。国内已经搭建多个表型组学平台: 室内平台以中国科学院遗传与发育生物学研究所搭建的植物表型组学研究平台 (Plant Phenomics Analysis Platform, PPAP)、华中农业大学的高通量室内水稻表型测量平台 (High-throughput Rice Phenotyping Facility, HRPF) 平台、浙江大学的表型分析软件 LemnaTec 系统为代表, 田间基于航空影像的表型技术及手持和分布式表型设备构建的表型平台以南京农业大学的多层次作物表型平台为代表, 可以从空中、近地面以及田间等不同空间尺度进行作物表型分析。中国科学院植物研究所针对饲草生物学特征搭建的 Sensor-to-Plant 工作模式的饲草耐逆表型组学平台 (Forage Crop Stress Phenomic Platform, FCSPP), 包括高/多光谱成像、激光雷达成像、红外成像、可见光成像等多个数据采集单元, 为饲草资源挖掘与机制解析提供强有力的分析工具 (图 1)。

在基因型—表型全基因组关联分析方面, 传统的方法常将多倍体饲草当作二倍体分析, 会导致全基因组关联分析检测效力的降低, 需要针对多倍体物种的基因组特征进行基因型鉴定, 并充分考虑同源基因异质性的影响。目前虽然 GWASpoly 软件考虑上述因素因而具有更高的统计效力, 但仍难以应对多倍体中的基因异质性和复杂结构变异等问题^[14], 亟需开发针对适用于多倍体饲草全基因组关联分析的工具。

在重要作物中已经开展了基于重测序大规模鉴定变异位点和多层次表型数据系统采集的表型—基因型关联分析, 成功挖掘到重要农艺性状关键调控基因及其优异变异。饲草中虽然已经开展部分类似工作, 但群体水平的系统分析未见报道。图泛基因组概念的提出已经为群体基因组学分析提供了可行途径, 但与之相应的群体表型分析方法目前尚未建立。通过何种整合方式能够做到全面、准确地反映、评估一个群体的表型仍是今后表型组学研究的一大挑战。

1.3 饲草多倍体杂合基因组有效编辑与优化

饲草现代育种技术离不开对基因组进行精准、稳定地编辑和改造。CRISPR (Clustered Regulatory Interspaced Short Palindromic Repeats) 系统是基因编辑技术中里程碑式的发现, 在此基础上诞生了三种基因组编辑技术: CRISPR/Cas (CRISPR-associated Protein)、碱基编辑和引导编辑。这三种技术在编辑能力和局限性方面存在很大差别, 决定了其在基因组编辑中的不同用途。CRISPR/Cas9 系统是当下应用最广泛的基因编辑技术, 此项技术需要建立相对成熟高效的饲草遗传转化体系, 且需要解决多倍体有效编辑效率低和靶点设计问题。某些靶点不被编辑是此项技术普遍存在的问题, 而饲草多为多倍体, 基因组中目标基因在同一位点存在多个拷贝, 则进一步加大了基因组编辑的难度, 需要同时编辑多个拷贝实现纯合编辑才能达到理想效果, 势必会降低总体编辑效率。

目前饲草中 CRISPR 系统基因编辑技术的应用主要在以下几方面进行优化: (1) 深入分析目标基因序列、不同拷贝间差异、保守区域等, 以提高 gRNA (guide RNA) 设计的质量; (2) 建立饲草瞬时编辑技术体系, 快速检测靶点编辑效率, 选取高效率靶点进行稳定遗传转化, 从而降低编辑失败的风险; (3) 适当增加靶点数目, 例如 multiplex gRNA-CRISPR/Cas9 在紫花苜蓿中应用可以明显提升编辑效率^[15]; (4) 应用单碱基编辑系统 (Base Editor) 可以不产生 DSBs (DNA Double-Strand Breaks), 减少靶点位置切割后随机插入/缺失突变, 精准实现特定碱基的编辑^[16, 17]; (5) 引导编辑可以在基因组靶点位置实现精准的任意碱基的替换和小片段的删除和插入, 是基因编辑技术的重大变革 (图 1)。目前 CRISPR 系统基因编辑技术虽已经成功应用于饲草中, 但引导编辑等技术目前在牧草中尚未实现, 如何提高多倍体自交不亲和和饲草基因的有效编辑效率仍然是今后饲草基因组编辑研究需要突破的重点与难点。

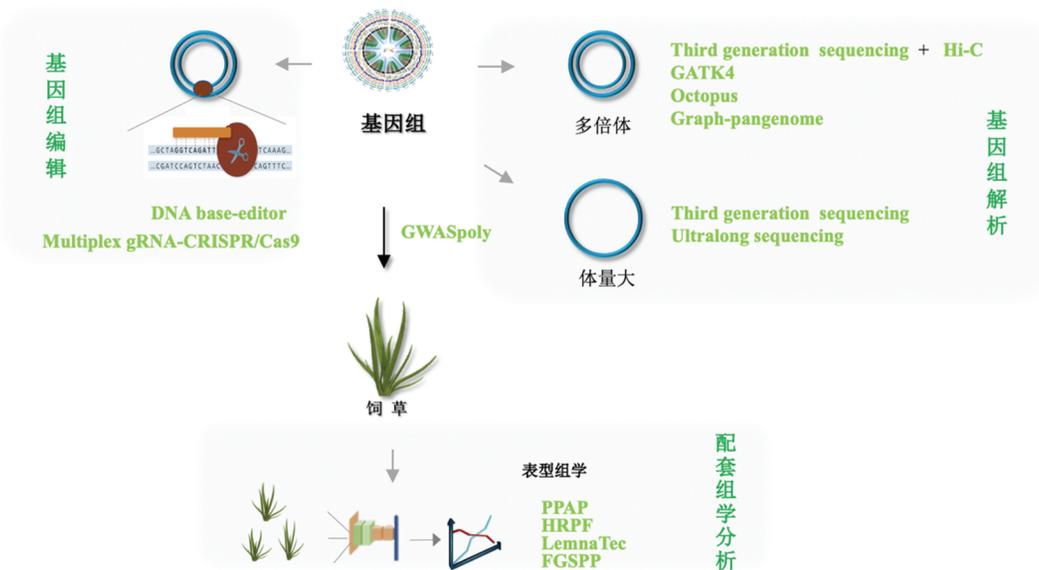


图1 饲草基因组解析方法及相关组学分析

注:饲草基因组体量大、多倍体化,测序及拼装通过 Third Generation Sequencing 及 Hi-C 辅助实现,变异鉴定和检测需要借助于 GATK4 和 Octopus 等软件,基于 Graph-pangenome 可对多倍体饲草遗传变异进行全面鉴定、估计;饲草多倍体基因组编辑需要 Multiplex gRNA-CRISPR/Cas9、Base-editor 提高编辑效率;表型组学平台 PPAP、HRPF、LemnaTec、FGSPP 为饲草表型分析提供工具;饲草基因组与表型关联分析可通过 GWASpoly 等实现。

2 饲草重要性状功能基因挖掘与调控策略

2.1 饲草生物量形成与高产

饲草生物量属于复杂性状,与株高、株型、叶层高、营养枝数、叶片面积等多种表型因子相关。总体而言,生物量的积累与光合效率直接相关。光能利用效率的提高可以促进生物量的积累并提高其生长速率。此外,影响饲草生物量的因素还包括环境因素(光照、水分、土壤结构、土壤质地、土壤肥力等)、生物因素(草地杂草、病虫害、化感作用)和管理因素(放牧、灌溉,杂草防除、施肥等)。

增加生物量最普遍使用的策略是提高株高和分枝数这两个与生物量紧密相关的生物学指标。紫花苜蓿中降低紫花苜蓿独脚金内酯类(Strigolactone, SL)受体同源基因 *MsD14* 表达可增加分枝数从而提高产量^[18],过表达褪黑激素最终合成酶 N-乙酰 5-羟色胺甲基转移酶编码基因 *MsASMT1* (*N-Acetylserotonin Methyltransferase1*) 增加植株高度、茎粗、分枝数、叶片面积等^[19]。调节饲草营养生长到生殖生长转换时间也是增加其产量的重要策略。例如紫花苜蓿开花时间延迟会增加其营养生长的时间,有助于生物量的增加,如 *SPL13* (*Squamosa Promoter Binding Protein-like 13*) 基因表达会导致侧枝数量增加和开花时间延迟^[20]。

多年生饲草具有耐刈割和再生的特性。再生

能力强弱一般以再生速度、刈割次数、再生草量三个指标来测定,一方面取决于饲草本身生物学特性,另一方面也跟生长环境和刈割管理密切相关。刈割再生的分子机制目前尚不明确,有待进一步研究。

2.2 饲草耐逆分子基础与稳产

饲草分布广泛,一般具有较强耐逆性。全球气候变化使得极端高/低温和干旱灾害频频出现,解析饲草逆境胁迫耐受分子机制可为进一步确保饲草稳产奠定基础。紫花苜蓿耐逆研究开展相对较早,过表达 *MsLEA-D34* 增强紫花苜蓿对渗透和盐胁迫的耐受性^[21],过表达 *RCI2* (*Rare Cold-Inducible 2*) 基因家族成员 *MsRCI2D* 和 *MsRCI2E* 增强细胞膜的稳定性和抗氧化酶的活性从而提高耐盐性^[22],过表达半胱氨酸合成酶(Cysteine Synthase, CSase)基因提高脯氨酸、可溶性糖和半胱氨酸水平从而提高耐碱性^[23],过表达 *NF-YC2* 基因增强植株耐碱性^[24],过表达硫代谢相关基因 *MsSiR* 会增强紫花苜蓿在碱胁迫下拥有更高的抗性^[25];过表达钙调素样蛋白编码基因 *MsCML10* 的增强紫花苜蓿耐旱性^[26],硫胺嘧啶合酶编码基因 *MsTH11* 可能通过增强光合作用和抗氧化防御系统来增强紫花苜蓿的耐旱性^[27];过表达 γ -生育酚甲基转移酶基因 γ -TMT 降低叶片气孔密度和蒸腾速率从而增强耐旱性^[28]。生长发育调节模块 *miRNA156/SPLs* 途径参与

控紫花苜蓿耐逆性, *miRNA156* 过表达紫花苜蓿转基因株系显示出更强的耐旱性, 过表达 *miRNA156* 或降低 *SPL13* 基因表达可增强紫花苜蓿转基因株系对热胁迫的耐受能力^[29]。此外, 在黑麦草中也有包括 *LpPPH*^[30]、*NON-YELLOW COLORING 1*^[24, 31]、*NOL*^[32]、*LpNAL*^[33]、*LpSGR*^[34] 和 *LpNYCI*^[35] 等数个抗逆基因得到鉴定, 羊草耐逆基因已进行转录组、异源表达分析^[36, 37], 但确切功能和分子机制亟待进一步研究。

饲草因其旺盛的生命力和良好的逆境耐受能力也可用于对受到污染的土地进行净化。例如, 近期报道了紫花苜蓿中编码泛素结合 E2 酶 UBC24 基因 *PHO2* (*Phosphate 2*) 的基因编辑株系积累磷离子水平提高 3~6 倍, 具有从磷污染土壤中回收磷的应用前景^[38]。紫花苜蓿中脱水蛋白 MsDHN1 与下游水通道蛋白存在相互作用并正调控紫花苜蓿根尖草酸分泌以及铝的积累, 有助于提高紫花苜蓿对铝胁迫的耐受性^[39]。

2.3 饲草营养品质的调控基因

饲草营养品质性状构成与粮食作物的显著不同, 主要包括消化率、适口性、养分含量和抗营养因子等四个方面, 其中消化率、相对饲喂价值 (Relative Feed Value, RFV)、蛋白含量、能量密度等是近年来饲草营养品质研究关注的重点。粗蛋白质含量和相对饲喂价值越高, 饲草营养品质就越好, 饲料转换率更高。优质苜蓿是奶牛养殖的刚需饲料, 而我国苜蓿生产仍以中低端产品为主, 对优质苜蓿进口依赖性强, 因而亟需加强高蛋白、大茎叶比优质苜蓿品种培育, 同时田菁 (*Sesbania cannabina*)、柱花草 (*Stybsanthes guianensis*) 的等优质豆科饲草的选育也可增强我国高蛋白饲草的供给能力, 而甜高粱 (*Sorghum bicolor*)、燕麦 (*Avena sativa*)、黑麦草、羊草 (*Leymus chinensis*)、杂交狼尾草 (*Pennisetum Americanum* x *P. purpureum*) 等禾本科饲草的优质品种培育急需在不损失能量密度和产量优势的前提下提高蛋白含量和营养价值。此外, 新型紫草科饲草聚合草的蛋白含量堪比豆科饲草, 比禾本科饲草高一倍, 此优异品质形成机理值得深入挖掘并应用于饲草品质改良。

目前饲草品质调控基因的获得及功能鉴定仍极为有限。降低木质素是提供饲草消化率和适口性的有效策略。目前仅苜蓿中大部分木质素单体合成基因已进行功能鉴定, 包括 *Cinnamate 4-Hydroxylase* (*C4H*)、*Coumarate 3-Hydroxylase*

(*C3H*)、*Caffeoyl CoA 3-O-Methyltransferase* (*CCoAOMT*) (*CCoAOMT*)、*Cinnamyl Alcohol Dehydrogenase 1* (*CAD1*)、*Ferulate 5-Hydroxylase* (*F5H*)、*Caffeicacid 3-O-Methyltransferase* (*COMT*) (*COMT*) 等。通过 RNAi 下调 *CCoAOMT* 基因创制了低木质素、高消化率的商业化苜蓿品种 HarvXtra^[40]; 而美国 S&W Seed 公司利用 TALEN 基因编辑技术失活 *COMT* 基因创制免监管的低木质素苜蓿系列品种, 但木质素含量过低触发生长发育异常和适应性下降需进一步优化^[41]。对禾本科高粱褐色叶中脉突变体 *bmr6* (*brown midrib 6*) 和 *bmr12* 的研究表明适当降低木质素也可以提高饲草的消化率, 并可协调产量与消化率性状冲突^[42]。木质素与纤维素和半纤维素等多糖的交联互作也是影响消化率及适口性的主要因素。深入解析木质素调控和细胞壁结构多糖交联互作的分子机制将促进饲草消化率等品质性状的分子改良。

饲草蛋白含量与叶型和氮素获取等密切相关。叶片作为饲草优质粗蛋白的主要来源, 叶片持绿性和茎叶比等性状对于饲草品质至关重要。例如, 紫花苜蓿中降低 *MtSGR* (*Stay-Green*) 表达使得干草制备中保持绿色更久, 同时粗蛋白含量较野生型增加 2.3%~5.5%^[43]; 过表达 γ -生育酚甲基转移酶基因 γ -TMT 也可使叶片更久保持绿色, 有助于生产高质量的紫花苜蓿干草^[28]; 降低 *PLP* (*Petiolute-Like Pulvinus*) 表达, 可调节激素稳态及细胞壁重塑和降解, 使叶片不易脱落, 以减少干草生产中的损耗^[44]。另一方面, 豆科饲草可以与根瘤菌形成共生关系, 从而固定大气中的氮元素, 根瘤的数量会直接影响饲草的蛋白质含量。紫花苜蓿中过表达 *miRNA156* 或沉默其靶标 *SPL12* 基因, 可增加根瘤数、增强固氮能力, 从而提高紫花苜蓿蛋白质和生物量积累^[45], 而过表达 *SIMK* 促进根毛伸长和根瘤成簇形成, 明显增加了地上部分的生物量^[46]。近年来, 对苜蓿根系结瘤和共生固氮作用的研究取得了长足进展, NPF7.6 等多个关键蛋白被陆续鉴定^[47], 但仍需进一步挖掘可提高苜蓿蛋白含量的优异等位变异。此外, 在苜蓿中过表达异源储存蛋白 SFA8、 γ -gliadin- δ -zein 以及甲硫氨酸合成相关酶可提高蛋白含量及含硫氨基酸丰度, 改善饲草品质。

提高禾本科饲草的蛋白含量比较困难, 但近几年研究也取得一定进展。对黑麦草 *LpSGR* 以及 *LpPPH*、*LpNYCI* 等持绿性基因的研究表明: 调控叶绿体降解、延长叶片光合作用, 可提高禾本科饲草

蛋白质含量和营养品质^[30, 34, 48]。最近研究发现,将野生玉米优良天冬酰胺合成酶基因 *Thp9-T* 导入玉米自交系,可使种子蛋白质含量增加约 35%,叶片和茎中的氮含量分别增加约 18%和 94%^[49],这为禾本科饲草蛋白含量的提高和驯化改良提供了新策略。而解析新型紫草科饲草聚合草高蛋白含量性状形成的分子基础,也将有助于提高禾本科饲草蛋白含量、改善饲草营养品质。

饲草品质除木质素和蛋白含量还受其它成分含量,包括粗纤维、可溶性糖分、风味物质和抗营养因子,和耐刈割、收获期及干制贮存等多方面影响。高粱持汁性驯化基因 *Dry* 的功能鉴定为茎秆可溶性糖含量改良提供了分子依据和靶标^[50],而下调原花青素调节基因 *TT8* 表达或过表达 *MtPAR* 等基因可提高苜蓿原花青素含量,提高饲草营养品质^[51]。紫花苜蓿中丰富的三萜类皂苷次生代谢物,可调节食草动物瘤胃微生物发酵及消除炎症反应,过表达三萜皂苷关键催化酶角鲨烯合成酶基因(*Squalene Synthase*, *SQS*)可提高植株总皂苷的积累,有助于牲畜健康^[52]。总之,急需挖掘更多的营养品质调控基因,加速饲草品质分子改良,促进优质饲草品种培育。

2.4 饲草繁育生物学的分子机制

自交不亲和是饲草作物的显著特征。赵洪^[2]等最近系统全面地综述了 1 类至 5 类自交不亲和机制,包括常见于车前科(Plantaginaceae)、茄科(Solanaceae)、蔷薇科(Rosaceae)和芸香科(Rutaceae)的配子体 1 类(Type 1)SI,十字花科(Brassicaceae)的孢子体 2 类(Type 2)SI,罂粟科(Papaveraceae)的配子体 3 类(Type 3)SI 以及分别发现于报春花科(Primulaceae)和时钟花科(Turneraceae)的异型花柱 4 类(Type 4)和 5 类(Type 5)SI^[2],而禾本科自交不亲和机制为 6 类(Type 6)SI。其中,起源于真双子叶植物的最近共同祖先的 1 类 SI 最为古老,而 2~5 类 SI 则为丢失了 1 类 SI 后分别在十字花科、罂粟科、报春花科和时钟花科中进化产生的新的 SI 机制^[53](图 2)。由于 S 位点在不同物种基因组中长度跨度大,结构复杂,因此鲜有物种的 S 位点被完整重构。最近中国科学院研究团队在对 1 类 S 位点(Type 1)研究中,得到杂合二倍体自交不亲和金鱼草的染色体级别的单体型基因组,首次得到了超基因 S 位点的两个完

整单体型结构,对解析 S 超基因位点的进化机制和精准遗传操作具有重要意义^[54]。

禾本科自交不亲和机制被归纳为第 6 种类型^[55],是禾本科特有的配子体型 SI,由两个独立的含有复等位基因的位点(S 和 Z 位点)控制(图 2)。花粉和花柱的 S 和 Z 基因的单倍体型同时匹配时,自交被抑制。多年生黑麦草和大约 20 个其他禾本科物种 S 和 Z 位点都含有 2 个 *DUF247* 基因和 1 个小蛋白 *SP/ZP* 基因,在自交亲和物种中,这些基因经常被丢失或者突变。基因表达数据暗示 *DUF247* 和 *SP/ZP* 基因分别是花粉和花柱 S 基因^[56]。通过对多年生黑麦草 Z 位点精细定位,认为花粉和花柱 SI 分别由编码 *DUF247* 结构域蛋白的两个基因(*ZDUF247-I* 和 *ZDUF247-II*)和 *sZ* 基因决定。花粉和花柱 S 基因在染色体上串联定位且遗传连锁,具有等位基因高度多态性和基因表达组织特异性,符合 SI 决定因子的预期特征。S 位点具有与 Z 位点相似的基因组成和结构,支持禾本科的双位点 SI 系统的重复起源的假设。对禾本科自交亲和、自交不亲和物种的比较基因组分析表明,六个假定的 SI 决定因子中至少一个的功能拷贝缺失伴随着自交亲和表型^[57]。不过,这些工作还缺乏突变体遗传学证据来最终证明他们的结论。最近,中国科学院研究团队发现 *OlHPS10-S₁* 和 *OIDUF247I-S₁* 控制禾本科植物非洲野生稻(*Oryza longistaminata*)的自交不亲和性。他们发现 *OlHPS10-S₁* 编码一种雌蕊特异的定位于细胞外的小肽,*OIDUF247I-S₁* 编码一种花粉特异的跨膜蛋白,两者可以通过蛋白的互作形成一个基于细胞膜上的信号模块。利用 CRISPR-Cas9 基因编辑技术,分别获得了非洲野生稻 *OlHPS10-S₁* 和 *OIDUF247I-S₁* 基因多个独立的敲除突变体。遗传分析表明突变体导致 *S₁* 单倍型的雌蕊因子和花粉因子控制的 SI 被分别打破,表明它们以一种自我识别的方式控制自交不亲和性。这些结果表明,非洲野生稻雌蕊 *OlHPS10-S₁* 和花粉 *OIDUF247I-S₁* 共同形成一个自我识别系统,控制非洲野生稻的配子体型自交不亲和性,从而揭示了被子植物中一种禾本科特异的自交不亲和机制创新^[55]。可以预见,这项重要进展将对禾本科饲草自交不亲和机制研究和育种工作产生巨大的推动作用。

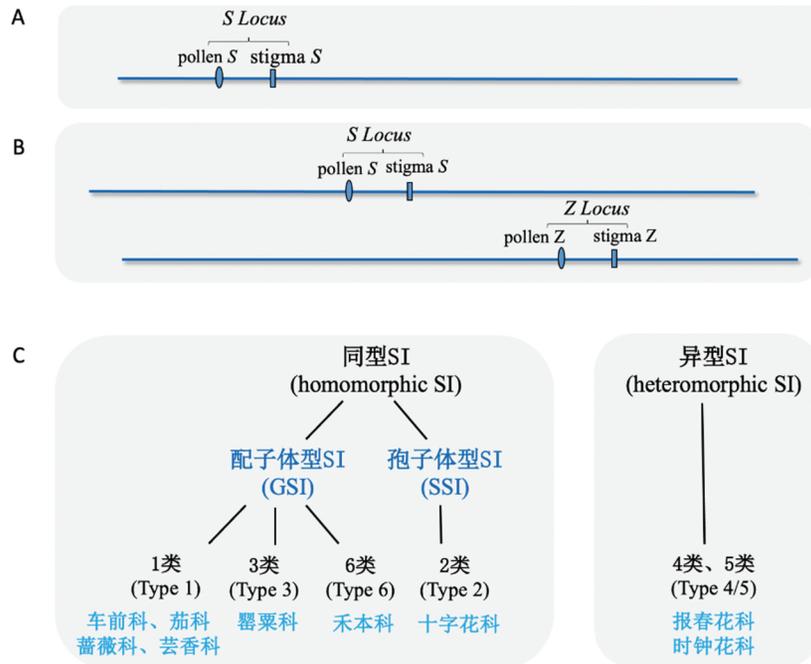


图 2 自交不亲和机制(本图改编自赵洪等^[2])

注: A. S 位点一般包含两类基因: 决定花柱识别特异性的花柱 S 基因和决定花粉识别特异性的花粉 S 基因。二者紧密连锁, 构成 1 个独立的遗传单元, 称为 S-单倍型。B. 禾本科自交不亲和性由 S 和 Z 位点控制, 分别位于不同的染色体的着丝粒附近。C. 已知的 6 类自交不亲和作用机制。1 类: 车前科、茄科、蔷薇科和芸香科亲和反应中, S-RNase(花柱 S) 识别异己花粉的 SLF(花粉 S) 并被后者降解, 花粉管在花柱中生长并完成授粉; 不亲和反应中, S-RNase 不识别自己花粉的 SLF, S-RNase 发挥细胞毒作用, 花粉管生长被抑制, 不能完成授粉。2 类: 十字花科不亲和反应中, 花柱乳突细胞特异表达的跨膜受体激酶 SRK(花柱 S) 和花药绒毡层细胞特异表达并且分泌于花粉表面的小的配体 SCR 互作(自己识别), 抑制自己花粉萌发; 亲和反应中, 柱头 SRK 不识别异己花粉 SCR, 花粉萌发并完成授粉。3 类: 罂粟科不亲和反应中, 花柱 S 基因 *PrsS* 编码的小的分泌蛋白可作为配体与花粉 S 基因 *PrpS* 编码的定位于花粉细胞膜上的受体进行自己识别, 并最终引发自己花粉的细胞程序性死亡; 亲和反应中, 柱头 *PrsS* 不识别异己花粉 *PrpS*, 花粉萌发、生长并完成授粉。4 类和 5 类: 报春花科和时钟花科 4 类和 5 类自交不亲和性由 S 超基因位点控制。短型花柱(短花柱和长花药)与长型花柱(长花柱和短花药), 两种不同形态的花杂交时表现为完全亲和, 而自交时则为不亲和或结实率极低, S 超基因位点的基因产物通过调控花柱中油菜素内酯含量实现 SI。6 类: 禾本科自交不亲和性是一种禾本科特有的配子体型 SI, 由两个独立的含有复等位基因的位点(S 和 Z 位点)控制。花粉和花柱的 S 和 Z 基因的单倍型同时匹配时, 自交被抑制。禾本科植物非洲野生稻 (*Oryza longistaminata*) 的自交不亲和性是由 *OlHPS10-S₁* 和 *OlDUF247I-S₁* 控制的。*OlHPS10-S₁* 编码一种雌蕊特异的定位于细胞外的小肽, *OlDUF247I-S₁* 编码一种花粉特异的跨膜蛋白, 两者可以通过蛋白互作形成一个基于细胞膜上的信号模块。

最近的研究表明, 马铃薯中具有严重的自交衰退, 有害突变是导致自交衰退的主要原因^[58]。通过遗传重组清除有害突变, 或者使有害突变保持在杂合状态, 可以实现马铃薯杂种优势利用^[59]。在玉米中存在自交衰退的表观遗传调控, DNA 甲基化也介导玉米自交衰退^[60]。饲草自交衰退遗传基础还不清楚, 有待深入解析。

关于饲草杂种优势利用, 传统观点认为既然饲草是高度杂合的, 已经是杂交后代, 所以饲草已经利用了天然的杂种优势, 无需再考虑杂种优势利用。我们从水稻杂种优势的研究中可以得到启示。我国科学家鉴定出了控制水稻杂种优势的主要基因位点, 其杂合状态时大多表现出不完全显性, 通过杂交育种产生了全新的基因型组合, 从而在杂交一代高

效地实现了对水稻花期、株型、产量各要素的理想搭配, 形成杂种优势^[61]。水稻产量相关杂种优势的遗传机制不是由于双亲基因“杂”产生的超显性互作效应, 而是主要基于双亲优良基因以显性和不完全显性的聚合效应。进一步发现水稻产量性状杂种优势基因 *GW3p6* (*OsMADS1*) 显著提高水稻产量、增加粒重和粒长, 但是不影响其它农艺性状。同时将 *GW3p6* 与另一个分蘖相关杂种优势基因 *PN3q23* 聚合, 进一步提高了水稻产量^[62]。这些结果证明在自交系中聚合优良的纯合型杂种优势基因, 可以不通过培育杂交稻的方式, 同样实现杂种优势类似的产量增加。饲草中可以借鉴水稻的研究结果, 但考虑到相当一部分饲草与水稻亲缘关系较远, 具体杂种优势机制还需进一步研究。

3 饲草生物育种策略与科技路径

3.1 深度解析饲草特化生物学性状形成的分子基础

饲草育种水平与栽培作物相比相对落后,其重要原因在于其特化的生物学性状阻碍了可跟踪研究模式的建立。饲草的自交不亲和性是其中一个重要因素。通过比较可以发现,绝大多数栽培作物都是自交亲和,而同科饲草或野生近缘种大多是自交不亲和。在上述6种类型的自交不亲和性机制中都观察到了这些现象。例如,禾本科作物水稻、小麦(*Triticum aestivum*)、玉米、高粱、谷子(*Setaria italica*)、大麦(*Hordeum vulgare*)为自交亲和,而饲草黑麦草、多花黑麦草(*Lolium multiflorum*)、鸭茅(*Dactylis glomerata*)、非洲野生稻为自交不亲和。根据最新研究结果,上述禾本科自交不亲和植物的S和Z位点共有6个基因控制,它们的单体型一致时表型为自交不亲和;而上述禾本科自交亲和植物中这6个基因全部缺失,或者至少有1个失去功能^[57]。通过基因编辑敲除非洲野生稻自交不亲和基因可将其转变为自交亲和型。

豆科栽培作物豌豆(*Pisum sativum*)、大豆(*Glycine max*)、扁豆(*Labiab purpureus*)等是自交亲和,而饲草紫花苜蓿、红三叶草(*Trifolium pratense*)、黄花草木樨(*Melilotus officinalis*)是自交不亲和。豆科植物自交不亲和性机制可能比较复杂,有分析认为不同豆科植物可能自交不亲和发生的部位不同,可以在柱头、花柱、或者子房中^[63]。虽然豆科植物的自交不亲和分子机制尚不清楚,但是可以推测在自交亲和物种中,控制自交不亲和的基因缺失或者丧失功能。

栽培禾本科和豆科作物都是自交亲和植物,且豆科作物也不需要传粉者,使其育种相较于饲草获得了巨大的成功。栽培禾本科和豆科作物的自交亲

和性可能是其祖先野生种本身进化的结果,也可能是通过人类驯化获得。自交亲和性使它们在育种中具备了优势,在长期的生产和育种中逐渐克服了导致自交衰退的有害突变,得到纯合系,并最终形成自花授粉的禾本科和豆科栽培作物。栽培豆科作物无需传粉者参与授粉过程是一个重要性状,可以减少杂交和外界因素的干扰,提高育种效率和种子产量。对于紫花苜蓿来说,由于培育切叶蜂等传粉者费时费力且有较大难度,所以,消除对传粉者的依赖将简化紫花苜蓿种子生产环节,并提高育种效率。因此,打破饲草自交不亲和,构建亲和材料,通过分子设计使其成为真正的自花授粉植物,消除传粉者的依赖,可以作为未来饲草育种的重要方向。

3.2 饲草驯化性状分子调控与高效制种

饲草种类繁多,且其育种起步早晚不一,总体上可以分为4个阶段:驯化育种1.0、遗传育种2.0、分子育种3.0和智能育种4.0(表1)。饲草所处育种阶段各不相同,有些饲草(如无芒隐子草)还处于驯化育种阶段,相当一部分饲草(如羊草)等已经迈入遗传育种阶段,此阶段成为饲草育种中所占比例最大的部分,其中黑麦草、柱花草虽然可以进行遗传转化操作,但尚未达到分子育种阶段,只有少数牧草(如甜高粱、紫花苜蓿等)可以实现遗传转化、基因编辑,进入分子辅助育种阶段。受饲草自身生物学机制复杂、研究基础薄弱等多种因素限制,目前饲草尚无品种进入智能育种阶段。

处于不同阶段饲草的育种目标各异,前期积累不同,面临的发展瓶颈和科学问题也各不相同。驯化育种实现了“从无到有”的突破,遗传育种则推动了“从有到优”的跨越。目前国内外饲草育种技术主体处于遗传育种2.0时代^[64]。遗传育种主要是通过染色体重组,逐代增加群体内部优异等位基因的频率,从而进一步改善目标性状。遗传育种技术主要包括选择育种、杂交育种、回交育种、诱变育种、远

表1 不同饲草育种进程比较

育种阶段	驯化育种 1.0	遗传育种 2.0	分子育种 3.0	智能育种 4.0
饲草品种	无芒隐子草、歪头菜、聚合草等	羊草、箭筈豌豆、黑麦草、田菁、柱花草等	甜高粱、紫花苜蓿等	无
育种目标	减少落粒率、提高发芽率、株型直立等	干草产量高、种子产量高、抗逆等	抗除草剂、品质高、干草产量高等	品质高、干草产量高、抗病虫、资源利用率高等
育种技术	收集野生种质、表型选择、优化栽培技术等	杂交育种、轮回选择等	转基因、分子标记辅助、基因编辑等	高通量表型组学、全基因组选择等
依托平台	种质资源库等	种质资源库、各类遗传群体等	遗传转化和基因编辑体系、基因组数据、功能基因和分子模块等	重测序数据、多组学数据、个体育种值、育种加速器等

缘杂交育种、倍性育种、杂种优势利用、内生真菌接种技术等,其中选择育种和杂交育种是饲草育种中最常用的技术。

3.3 饲草驯化改良可借鉴近缘模式作物分子基础实现育种阶段跨越

饲草物种繁多,仅我国天然草原上就有 6 000 多种饲用植物^[65]。绝大多数饲草驯化时间短,大部分饲草品种的育种基本都始于或正在经历驯化育种。与提高籽实产量为主要目标的粮食作物驯化不同,饲草驯化的主要目标是提高地上部营养体生物量。因此,饲草驯化的性状包括:高地上部营养体生物量、低落粒(低裂荚)、低休眠率、高结实率、高抽穗率、株型直立、低茎叶毒性(低抗营养因子)、短芒等^[66]。在驯化过程中,育种者选择性状优异的单株,使其形成性状稳定的育种群体,优化栽培管理条件,进而育成具有应用价值的新品种。

饲草驯化在很大程度上可以借鉴农作物驯化规律和机制,并在此基础上加以改进。农作物驯化是一个漫长的历史过程,始于 12 000 年前,经过人类漫长的驯化选择,野生植物逐渐失去其野生祖先种的遗传和表型特征,形成能满足人类需求的栽培品种。水稻、玉米、大豆等主要农作物经历了 5 000~10 000 年的驯化历史,完成其从野生祖先到目前栽培作物的蜕变。尽管其表型发生了巨大改变,但实际上只有几个关键基因改变所导致。例如,人类将大刍草驯化为栽培玉米只有 5~6 个关键基因改变,还有约 1 200 个控制产量和品质的基因受到改良,占基因组总量的 3%左右^[67]。饲草作物大多属于禾本科和豆科植物,在驯化过程中可以分别参考禾本科模式作物水稻、玉米和豆科模式作物大豆的同源驯化基因或遗传位点,缩短选育周期,提高选育效率,进行分子设计育种或者从头驯化。

饲草种子相关性状如结实率、落粒率、休眠等是驯化育种的重要内容。在自然条件下,饲草大多存在抽穗率低、结实率低和发芽率低的“三低”现象。相比于主要粮食作物而言,饲草的种子结实率问题更为复杂。有些饲草发芽率更是由于本身的休眠特性与严重败育的问题而远远低于其它主栽饲草,而有些饲草种子结实率低除由花粉发育异常等败育问题导致外,自交不亲和近交衰退也是其结实率低下的主要因素之一。与通过提高种子结实率来提高饲草种子产量而言,降低种子休眠和落粒性是提高种子质量和产量的另一重要手段。饲草种子休眠和落粒性是在物种进化和适应环境中的一种重要生存策

略,对于维持种群的繁衍具有重要意义,但却是人工驯化中需要摒弃的性状。种子休眠减弱或丧失、落粒性减低是作物驯化的一个典型特征。三大作物(水稻、玉米和小麦)的栽培品种由于人工驯化时间较长,其种子休眠和落粒性与野生或驯化时间较短的品种相比较低。由于饲草作物大都未经过长时间的人工驯化,因此种子休眠以及落粒性较高,对种子生产可造成不利影响,严重制约了饲草作物制种和种子的繁育。

种子休眠和落粒性大都是由主效基因和多个微效基因共同控制的数量性状。多种涉及到赤霉素(Gibberellin, GA)、脱落酸(Abscisic Acid, ABA)等激素合成和代谢酶基因或其调控基因,离区的形成、发育和降解相关基因都直接影响了植物种子的休眠和落粒性^[68-71]。目前对于种子结实率、休眠和落粒性的调控机制研究主要集中在水稻、小麦、大麦等粮食作物以及大豆等经济作物上。饲草作物由于遗传背景复杂,基因组庞大,多倍体基因组的相似性高,遗传转化技术不成熟,利用正向遗传学手段对相关基因进行定位并利用基因编辑等技术实现饲草作物种子结实率、休眠和落粒性的定向改良和驯化难度较大,研究较少,且大多为上述性状的田间观察与评价。目前,通过 QTL(Quantitative Trait Locus)定位等方法已经从水稻、小麦、大麦等多种栽培作物中定位到多个调控种子结实率、休眠和落粒性的相关基因,同时利用基因工程、基因编辑等手段实现了对目标基因的定向调控和对目标作物种子性状的定向驯化(图 3)。饲草可以借鉴近缘作物中已经建立的分子基础,利用分子育种技术对结实率、种子休眠和

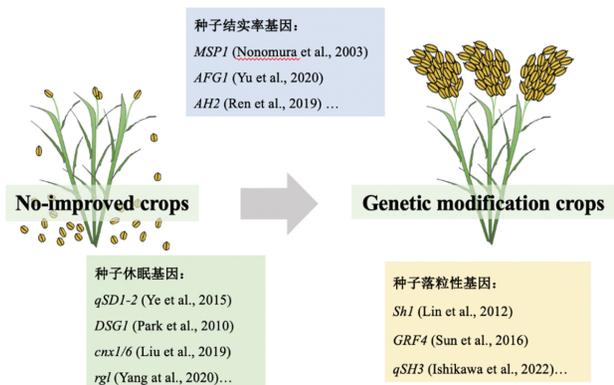


图 3 作物种子驯化改良相关基因^[72-81]

注:基因名小写斜体表示降低或敲除基因表达后实现目标性状改良;基因名大写斜体表示增强或增加目标基因表达后实现目标性状改良。

落粒性的相关基因进行鉴定和调控,从而提高饲草作物种子产量,实现饲草育种跨阶段发展。

饲草驯化的重要内容是培育理想株型新品种,而株型(分蘖/分枝数目、茎秆粗细、叶夹角等)决定饲草的产量、生长状态、抗倒伏能力,是饲草育种关注的重要农艺性状。近期通过分子调控获得不同株型饲草已经实现。水稻与柳枝稷(*Panicum virgatum*)中建立的 miR156-SPL 模块介导独角金内酯合成与信号传导途径的调控模型表明,独角金内酯与 miR156-SPL 模块是控制禾本科植物分蘖形成的关键因子。进一步通过对 miR156-SPL 分子模块的设计,研究人员创制了多个分蘖数多、茎秆增粗、抗倒伏的高产高品质柳枝稷种质新资源,揭示了禾本科饲草分蘖形成与发育过程中 miR156-SPL 分子模块的一因多效作用^[82],为饲草理想株型的分子设计提供了范例。

3.4 饲草育种的终极目标“理想饲草”

“理想饲草”的主要特征包括:自花授粉、无需传粉者,同时聚合杂种优势基因、有效利用杂种优势,抗病、高生物量、优质、高蛋白、耐盐碱、耐冷、耐旱、耐刈割、耐贫瘠土壤等。简言之,“理想饲草”就是根据分子设计育种的理念,通过基因编辑等现代分子育种手段,将饲草设计成为与水稻或豌豆类似的栽培作物。目前饲草生物学特征方面的研究虽然进展迅速,但距离获得“理想饲草”还有很长的路要走。深入解析饲草自交不亲和、自交衰退、杂种优势分子机制,发展饲草基因组编辑方法和技术,才能最终实现饲草的分子设计育种(图4)。

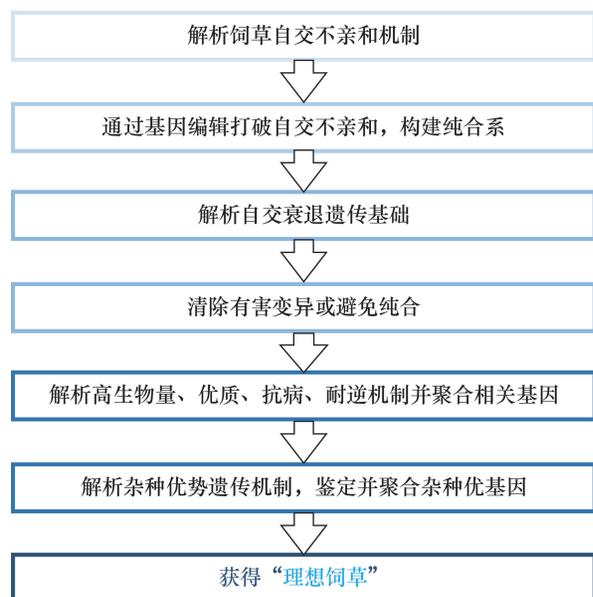


图4 “理想饲草”的分子设计路线图

4 前瞻布局饲草生物学与生物育种基础研究

4.1 我国饲草分子育种核心竞争力分析

饲草全基因组测序和遗传转化技术的发展为分子育种奠定了基础。分子育种将分子标记、基因工程、合成生物学等技术手段应用于遗传育种中,通常包括分子标记辅助选择育种、转基因育种与基因编辑育种等。随着基因组信息、遗传转化工具等相关条件成熟在饲草分子育种也得到大力推动和实施。2023年1月13日,农业农村部发布“农业转基因生物安全证书批准清单”,允许转基因苜蓿草产品首次踏进国门,为饲草分子育种打开了绿色通道。

我国大力倡导饲草育种的发展,以加强饲草领域的核心竞争力。目前,国内科研人员先后成功获得紫花苜蓿、燕麦、黑麦草、狗牙根、黑麦等饲草的全基因组序列,建立了紫花苜蓿、羊草、冰草(*Agropyron cristatum*)、老芒麦(*Elymus sibiricus*)、柳枝稷、甜高粱、饲用燕麦和田菁等饲草的遗传转化与基因编辑体系,发展了单基因与多基因转化、CRISPR/Cas 介导的基因编辑,创制了多个高产优质抗逆饲草新材料,其中紫花苜蓿、饲用燕麦等饲草在全基因组序列信息获得、遗传转化体系建立方面进展迅速,表现出较强的核心竞争力(表1)。

当前,基因编辑技术已成为国内外饲草分子育种争夺的高地,由于大多数饲草遗传转化效率低下,且对品种/基因型依赖严重,从而制约了基因编辑技术在饲草新品种培育中的应用。在报道的植物遗传转化方法中,约有80%采用农杆菌介导的遗传转化。然而针对不同类型的饲草,农杆菌介导的遗传转化体系采用的外植体也存在差异。一般豆科饲草的遗传转化以叶圆盘法为主,而禾本科饲草由于难以从叶片中获得足够数量的胚性细胞更多使用种子或幼穗诱导和筛选的胚性愈伤细胞系作为外植体,从而限制了禾本科饲草遗传转化的成功率。最新研究表明,增强表达 *Wus2/Bbm* 能够在包括玉米、高粱等多个禾本科植物中实现叶片作为外植体的遗传转化^[83]。该技术有望为禾本科饲草遗传转化的攻克提供新的解决方案。因此,今后需深入解析影响饲草遗传转化效率的分子机制,突破饲草遗传转化效率低和基因型依赖的技术瓶颈,建立高通量、高效饲草遗传转化和基因编辑技术平台,为创建饲草分子育种技术体系提供有力支撑,增强我国饲草的核心竞争力(表2)。

表 2 不同饲草分子育种核心技术的建立

	全基因组序列	遗传转化系统	基因转化	基因组编辑	性状解析	分子育种
紫花苜蓿 <i>Medicago sativa</i>	✓	✓	✓	✓	✓×	✓×
甜高粱 <i>Sorghum dochna</i>	✓	✓	✓	✓	✓×	✓×
饲用燕麦 <i>Avena sativa</i>	✓	✓	✓	✓	✓×	✓×
黑麦草 <i>Lolium perenne</i>	✓	✓	✓	×	✓×	×
羊草 <i>Leymus chinensis</i>	×	✓	✓	×	✓×	×
田菁 <i>Sesbania cannabina</i>	×	✓	✓	×	✓×	×
杂交狼尾草 <i>Pennisetum americanum x P. purpureum</i>	✓	×	×	×	✓×	×
柱花草 <i>Stybsanthes guianensis</i>	×	×	×	×	✓×	×
聚合草 <i>Symphytum officinale</i>	×	×	×	✓	×	×

4.2 大数据时代新技术应用助力饲草迈入智能育种

饲草育种与作物育种相比起步晚,发展滞后,主体尚处于遗传育种阶段。近年来随着新一代基因编辑、全基因组选择、合成生物等育种前沿技术快速发展,并与大数据、人工智能等信息技术交叉融合,催生智能设计育种技术。饲草育种如果能够在分子基础等条件满足的情况下大胆应用大数据、人工智能等新技术、新方法,有望实现育种的阶段跨越。对于少数基因控制的简单性状,分子标记辅助选择育种和转基因育种可以实现高效选择育种,但对于多基因控制的复杂性状,只能通过全基因组选择技术预测育种群体中个体育种价值^[1]。目前,个别饲草如紫花苜蓿和高粱的全基因组选择育种尚处于训练模型阶段,尚未应用于育种。

饲草基因组的多倍化、杂合化、复杂化是其育种体系发展的障碍,为此新的分析方法和技术不断涌现,例如基于基因编辑介导的单倍体诱导技术可实现多倍体饲草的基因组降维分析,将多倍体基因组降维为单倍体(Haploid)或双单倍体(Doubled Haploids, DHs)基因组,助力目标性状迅速筛选并通过加倍技术获得纯系个体以满足生产需求。近期,中国农业科学院研究团队借助基因编辑技术在

豆科植物蒺藜苜蓿中创制了体内单倍体诱导体系,为解析豆科植物单倍体诱导机制以及创建紫花苜蓿等豆科牧草和作物单倍体育种技术体系提供了新思路。

精准智能育种新体系的建立可以显著提升育种效率,助力饲草育种发展,主要包括智能环境控制系统、表型鉴定系统、高效制种技术。智能环境控制主要通过温度、湿度、光照、二氧化碳浓度及其它逆境等环境因素控制饲草生长繁育,并定制适应的环境控制条件,有利于饲草营养生长及诱导型营养生长向生殖阶段转化的最佳环境调控方式,不但相较于室外环境能够有效缩短饲草生育周期和提高繁育的效率,而且能够实现高通量微环境精准环境控制,用于环境型与基因型互作分子机制挖掘,快速模拟饲草在多区域适应性的精准评价。表型鉴定系统开发智能视觉捕捉系统,实现高通量自动取样、鉴定和分析,实现复杂的基因组与表型组关联分析,加速模块化的饲草分子选育。高效制种技术的建立:对依赖虫媒等方式进行授粉的饲草的繁殖形成了阻碍,因此需创制在人工模拟环境下提高虫媒室内授粉的效率,探索适宜的气候环境、装置以及技术体系,提高室内制种效率,获得基础遗传材料。

未来,在对饲草基因组学、泛基因组学、高通量表型组学等大数据整合的基础上,建立和优化重要饲草的遗传转化体系,实现对关键农艺性状调控基因的快速挖掘与机制解析;通过基因敲除、敲低/高、碱基替换、引导编辑等基因编辑技术,以及染色体工程与合成生物学技术,开展饲草重要性状的分子设计与遗传改良;最后结合遗传育种、分子育种、单倍体育种、全基因组选择技术、温湿光肥一体化育种加速器、智能不育高效制种等方法和技术,形成饲草高通量、精准智能育种新体系。

参 考 文 献

- [1] 景海春, 田志喜, 种康, 等. 分子设计育种的科技问题及其展望概论. 中国科学: 生命科学, 2021, 51(10): 1356—1365.
- [2] 赵洪, 宋丽珍, 张玉娥, 等. 饲草自交不亲和性与近交衰退. 植物学报, 2022, 57(6): 742—755.
- [3] Bhandari HS, Pierce CA, Murray LW, et al. Combining abilities and heterosis for forage yield among high-yielding accessions of the alfalfa core collection. *Crop Science*, 2007, 47(2): 665—671.
- [4] Ramu P, Esuma W, Kawuki R, et al. Cassava haplotype map highlights fixation of deleterious mutations during clonal propagation. *Nature Genetics*, 2017, 49(6): 959—963.
- [5] Duvick DN. The contribution of breeding to yield advances in maize (*Zea mays* L.). *Advances in Agronomy*, 2005, 86: 83—145.
- [6] Feng XW, Cheng HY, Portik D, et al. Metagenome assembly of high-fidelity long reads with hifiasm-meta. *Nature Methods*, 2022, 19(6): 671—674.
- [7] Peng YY, Yan HH, Guo LC, et al. Reference genome assemblies reveal the origin and evolution of allohexaploid oat. *Nature Genetics*, 2022, 54(8): 1248—1258.
- [8] Yan HD, Sun M, Zhang ZR, et al. Pangenomic analysis identifies structural variation associated with heat tolerance in pearl millet. *Nature Genetics*, 2023, 55(3): 507—518.
- [9] Frei D, Veekman E, Grogg D, et al. Ultralong Oxford nanopore reads enable the development of a reference-grade perennial ryegrass genome assembly. *Genome Biology and Evolution*, 2021, 13(8): evab159.
- [10] Karamoko N, Bryan G, Bailey Jeffrey A. An optimized GATK4 pipeline for *Plasmodium falciparum* whole genome sequencing variant calling and analysis. *Research Square*, 2023, doi: 10.21203/rs.3.rs-2561857/v1.
- [11] Cooke DP, Wedge DC, Lunter G. A unified haplotype-based method for accurate and comprehensive variant calling. *Nature Biotechnology*, 2021, 39(7): 885—892.
- [12] Heller D, Vingron M. SVIM-asm: structural variant detection from haploid and diploid genome assemblies. *Bioinformatics*, 2021, 36(22/23): 5519—5521.
- [13] Yang WN, Feng H, Zhang XH, et al. Crop phenomics and high-throughput phenotyping: past decades, current challenges, and future perspectives. *Molecular Plant*, 2020, 13(2): 187—214.
- [14] Rosyara UR, De Jong WS, Douches DS, et al. Software for genome-wide association studies in autopolyploids and its application to potato. *The Plant Genome*, 2016, 9(2): 1—10.
- [15] Wolabu TW, Cong LL, Park JJ, et al. Development of a highly efficient multiplex genome editing system in outcrossing tetraploid alfalfa (*Medicago sativa*). *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11: 1063.
- [16] Cai YP, Chen L, Zhang Y, et al. Target base editing in soybean using a modified CRISPR/Cas9 system. *Plant Biotechnology Journal*, 2020, 18(10): 1996—1998.
- [17] Zong Y, Wang YP, Li C, et al. Precise base editing in rice, wheat and maize with a Cas9-cytidine deaminase fusion. *Nature Biotechnology*, 2017, 35(5): 438—440.
- [18] Ma L, Zhang YC, Wen HY, et al. Silencing of MsD14 resulted in enhanced forage biomass through increasing shoot branching in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Plants (Basel, Switzerland)*, 2022, 11(7): 939.
- [19] Cen HF, Wang TT, Liu HY, et al. Overexpression of MsASMT1 promotes plant growth and decreases flavonoids biosynthesis in transgenic alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11: 489.
- [20] Gao RM, Gruber MY, Amyot L, et al. SPL13 regulates shoot branching and flowering time in *Medicago sativa*. *Plant Molecular Biology*, 2018, 96(1): 119—133.
- [21] Lv AM, Su LT, Wen WW, et al. Analysis of the function of the alfalfa *Mslea-D34* gene in abiotic stress responses and flowering time. *Plant & Cell Physiology*, 2021, 62(1): 28—42.
- [22] Zhang DP, Zhang ZY, Li CX, et al. Overexpression of MsRCI2D and MsRCI2E enhances salt tolerance in alfalfa (*Medicago sativa* L.) by stabilizing antioxidant activity and regulating ion homeostasis. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(17): 9810.
- [23] Yuan YY, Song TT, Yu JQ, et al. Genome-wide investigation of the cysteine synthase gene family shows that overexpression of CSase confers alkali tolerance to alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Frontiers in Plant Science*, 2022, 12: 792862.
- [24] Yu G, Xie Z, Chen W, et al. Knock down of NON-YELLOW COLOURING 1-like gene or chlorophyllin application enhanced chlorophyll accumulation with antioxidant roles in suppressing heat-induced leaf senescence in perennial ryegrass. *Journal of Experimental Botany*, 2022, 73(1): 429—444.

- [25] Sun N, Song TT, Ma ZY, et al. Overexpression of *MsSiR* enhances alkali tolerance in alfalfa (*Medicago sativa* L.) by increasing the glutathione content. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2020, 154: 538—546.
- [26] Yu SH, Wu JX, Sun YM, et al. A calmodulin-like protein (CML10) interacts with cytosolic enzymes GSTU8 and FBA6 to regulate cold tolerance. *Plant Physiology*, 2022, 190(2): 1321—1333.
- [27] Yin H, Wang ZY, Li H, et al. *MsTH11* overexpression improves drought tolerance in transgenic alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 992024.
- [28] Ma JT, Qiu DY, Gao HW, et al. Over-expression of a γ -tocopherol methyltransferase gene in vitamin E pathway confers PEG-simulated drought tolerance in alfalfa. *BMC Plant Biology*, 2020, 20(1): 226.
- [29] Arshad M, Feyissa BA, Amyot L, et al. *microRNA156* improves drought stress tolerance in alfalfa (*Medicago sativa*) by silencing *SPL13*. *Plant Science*, 2017, 258: 122—136.
- [30] Zhang J, Yu GH, Wen WW, et al. Functional characterization and hormonal regulation of the PHEOPHYTINASE gene *LpPPH* controlling leaf senescence in perennial ryegrass. *Journal of Experimental Botany*, 2016, 67(3): 935—945.
- [31] Xu B, Li H, Li Y, et al. Characterization and transcriptional regulation of chlorophyll *b* reductase gene *NON-YELLOW COLORING 1* associated with leaf senescence in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Environmental and Experimental Botany*, 2018, 149: 43—50.
- [32] Yu GH, Xie ZN, Zhang J, et al. *NOL*-mediated functional stay-green traits in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) involving multifaceted molecular factors and metabolic pathways regulating leaf senescence. *The Plant Journal*, 2021, 106(5): 1219—1232.
- [33] Yu GH, Xie ZN, Lei SS, et al. The NAC factor *LpNAL* delays leaf senescence by repressing two chlorophyll catabolic genes in perennial ryegrass. *Plant Physiology*, 2022, 189(2): 595—610.
- [34] Zhang J, Li H, Huang XR, et al. *STAYGREEN*-mediated chlorophyll a catabolism is critical for photosystem stability during heat-induced leaf senescence in perennial ryegrass. *Plant, Cell & Environment*, 2022, 45(5): 1412—1427.
- [35] Zhang J, Li H, Jiang YW, et al. Natural variation of physiological traits, molecular markers, and chlorophyll catabolic genes associated with heat tolerance in perennial ryegrass accessions. *BMC Plant Biology*, 2020, 20(1): 520.
- [36] Peng XJ, Zhang LX, Zhang LX, et al. The transcriptional factor *LcDREB2* cooperates with *LcSAMDC2* to contribute to salt tolerance in *Leymus chinensis*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 2013, 113(2): 245—256.
- [37] Gao Q, Li XX, Jia JT, et al. Overexpression of a novel cold-responsive transcript factor *LcFIN1* from sheepgrass enhances tolerance to low temperature stress in transgenic plants. *Plant Biotechnology Journal*, 2016, 14(3): 861—874.
- [38] Miller SS, Dornbusch MR, Farmer AD, et al. Alfalfa (*Medicago sativa* L.) *pho2* mutant plants hyperaccumulate phosphate. *G3 (Bethesda)*, 2022, 12(6): jkac096.
- [39] Lv AM, Wen WW, Fan NN, et al. Dehydrin *MsDHN₁* improves aluminum tolerance of alfalfa (*Medicago sativa* L.) by affecting oxalate exudation from root tips. *The Plant Journal*, 2021, 108(2): 441—458.
- [40] Barros J, Temple S, Dixon RA. Development and commercialization of reduced lignin alfalfa. *Current Opinion in Biotechnology*, 2019, 56: 48—54.
- [41] Zhao Q, Tobimatsu Y, Zhou R, et al. Loss of function of cinnamyl alcohol dehydrogenase 1 leads to unconventional lignin and a temperature-sensitive growth defect in *Medicago truncatula*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(33): 13660—13665.
- [42] Sattler SE, Funnell-Harris DL, Pedersen JF. Efficacy of singular and stacked *brown midrib 6* and *12* in the modification of lignocellulose and grain chemistry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(6): 3611—3616.
- [43] Zhou CE, Han L, Pislariu C, et al. From model to crop: functional analysis of a *STAY-GREEN* gene in the model legume *Medicago truncatula* and effective use of the gene for alfalfa improvement. *Plant Physiology*, 2011, 157(3): 1483—1496.
- [44] Du J, Lu SY, Chai MF, et al. Functional characterization of PETIOLULE-LIKE *PULVINUS (PLP)* gene in abscission zone development in *Medicago truncatula* and its application to genetic improvement of alfalfa. *Plant Biotechnology Journal*, 2021, 19(2): 351—364.
- [45] Nasrollahi V, Yuan ZC, Kohalmi SE, et al. *SPL12* regulates *AGL6* and *AGL21* to modulate nodulation and root regeneration under osmotic stress and nitrate sufficiency conditions in *Medicago sativa*. *Plants*, 2022, 11(22): 3071.
- [46] Hrbáčková M, Luptovčíak I, Hlaváčková K, et al. Overexpression of alfalfa *SIMK* promotes root hair growth, nodule clustering and shoot biomass production. *Plant Biotechnology Journal*, 2021, 19(4): 767—784.
- [47] Wang Q, Huang YG, Ren ZJ, et al. Transfer cells mediate nitrate uptake to control root nodule symbiosis. *Nature Plants*, 2020, 6(7): 800—808.
- [48] Yu GH, Cheng Q, Xie ZN, et al. An efficient protocol for perennial ryegrass mesophyll protoplast isolation and transformation, and its application on interaction study between *LpNOL* and *LpNYC1*. *Plant Methods*, 2017, 13: 46.

- [49] Huang YC, Wang HH, Zhu YD, et al. THP9 enhances seed protein content and nitrogen-use efficiency in maize. *Nature*, 2022, 612(7939): 292—300.
- [50] Zhang LM, Leng CY, Luo H, et al. Sweet *Sorghum* originated through selection of dry, a plant-specific NAC transcription factor gene. *The Plant Cell*, 2018, 30(10): 2286—2307.
- [51] Li PH, Dong Q, Ge SJ, et al. Metabolic engineering of proanthocyanidin production by repressing the isoflavone pathways and redirecting anthocyanidin precursor flux in legume. *Plant Biotechnology Journal*, 2016, 14(7): 1604—1618.
- [52] Kang JM, Zhang QY, Jiang X, et al. Molecular cloning and functional identification of a squalene synthase encoding gene from alfalfa (*Medicago sativa* L.). *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(18): 4499.
- [53] Zhao H, Zhang Y, Zhang H, et al. Origin, loss, and regain of self-incompatibility in angiosperms. *The Plant Cell*, 2022, 34(1): 579—596.
- [54] Zhu SH, Zhang YE, Copsy L, et al. The snapdragon genomes reveal the evolutionary dynamics of the S-locus supergene. *Molecular Biology and Evolution*, 2023, 40(4): msad080.
- [55] Wang Y, Zhao H, Zhu S, et al. Control of gametophytic self-incompatibility in the African wild rice. *Research Square*, 2023, doi: 10.21203/rs.3.rs-2121145/v1.
- [56] Herridge R, McCourt T, Jacobs JME, et al. Identification of the genes at S and Z reveals the molecular basis and evolution of grass self-incompatibility. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 1011299.
- [57] Rohner M, Manzanares C, Yates S, et al. Fine-mapping and comparative genomic analysis reveal the gene composition at the S and Z self-incompatibility loci in grasses. *Molecular Biology and Evolution*, 2023, 40(1): msac259.
- [58] Zhang CZ, Wang P, Tang D, et al. The genetic basis of inbreeding depression in potato. *Nature Genetics*, 2019, 51(3): 374—378.
- [59] Zhang CZ, Yang ZM, Tang D, et al. Genome design of hybrid potato. *Cell*, 2021, 184(15): 3873—3883. e12.
- [60] Han TW, Wang F, Song QX, et al. An epigenetic basis of inbreeding depression in maize. *Science Advances*, 2021, 7(35): eabg5442.
- [61] Huang XH, Yang SH, Gong JY, et al. Genomic architecture of heterosis for yield traits in rice. *Nature*, 2016, 537(7622): 629—633.
- [62] Wang CS, Tang SC, Zhan QL, et al. Dissecting a heterotic gene through GradedPool-Seq mapping informs a rice-improvement strategy. *Nature Communications*, 2019, 10(1): 1—12.
- [63] Delaney LE, Igić B. The phylogenetic distribution and frequency of self-incompatibility in Fabaceae. *International Journal of Plant Sciences*, 2022, 183(1): 30—42.
- [64] 金京波, 王台, 程佑发, 等. 我国饲草育种现状与展望. *中国科学院院刊*, 2021, 36(6): 660—665.
- [65] 南志标, 王锁民, 王彦荣, 等. 我国北方草地 6 种乡土植物抗逆机理与应用. *科学通报*, 2016, 61(2): 239—249.
- [66] 刘志鹏, 周强, 刘文献, 等. 中国牧草育种中的若干科学问题. *草业学报*, 2021, 30(12): 184—193.
- [67] Chen L, Luo JY, Jin ML, et al. Genome sequencing reveals evidence of adaptive variation in the genus *Zea*. *Nature Genetics*, 2022, 54(11): 1736—1745.
- [68] Ali F, Qanmber G, Li FG, et al. Updated role of ABA in seed maturation, dormancy, and germination. *Journal of Advanced Research*, 2022, 35: 199—214.
- [69] Wang HT, Zhang YM, Xiao N, et al. Rice *GERMIN-LIKE PROTEIN 2-1* functions in seed dormancy under the control of abscisic acid and gibberellic acid signaling pathways. *Plant Physiology*, 2020, 183(3): 1157—1170.
- [70] Arnaud N, Girin T, Sorefan K, et al. Gibberellins control fruit patterning in *Arabidopsis thaliana*. *Genes & Development*, 2010, 24(19): 2127—2132.
- [71] Patterson SE. Cutting loose. abscission and dehiscence in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 2001, 126(2): 494—500.
- [72] Nonomura KI, Miyoshi K, Eiguchi M, et al. The *MSP1* gene is necessary to restrict the number of cells entering into male and female sporogenesis and to initiate anther wall formation in rice. *The Plant Cell*, 2003, 15(8): 1728—1739.
- [73] Yu XQ, Xia SS, Xu QK, et al. *abnormal flower and grain 1* encodes *osmads6* and determines palea identity and affects rice grain yield and quality. *Science China Life Sciences*, 2020, 63(2): 228—238.
- [74] Ren DY, Cui YJ, Hu HT, et al. *AH 2* encodes a MYB domain protein that determines hull fate and affects grain yield and quality in rice. *The Plant Journal*, 2019, 100(4): 813—824.
- [75] Ye H, Feng JH, Zhang LH, et al. Map-based cloning of seed Dormancy1-2 identified a gibberellin synthesis gene regulating the development of endosperm-imposed dormancy in rice. *Plant Physiology*, 2015, 169(3): 2152—2165.
- [76] Park GG, Park JJ, Yoon J, et al. A RING finger E3 ligase gene, *Oryza sativa* Delayed Seed Germination 1 (*OsDSG1*), controls seed germination and stress responses in rice. *Plant Molecular Biology*, 2010, 74(4): 467—478.
- [77] Liu X, Wang J, Yu Y, et al. Identification and characterization of the rice pre-harvest sprouting mutants involved in molybdenum cofactor biosynthesis. *The New Phytologist*, 2019, 222(1): 275—285.
- [78] Yang LW, Jiang ZM, Liu SR, et al. Interplay between *REVEILLE1* and *RGA-LIKE2* regulates seed dormancy and germination in *Arabidopsis*. *The New Phytologist*, 2020, 225(4): 1593—1605.
- [79] Lin ZW, Li XR, Shannon LM, et al. Parallel domestication of the *Shattering1* genes in cereals. *Nature Genetics*, 2012, 44(6): 720—724.

- [80] Sun PY, Zhang WH, Wang YH, et al. OsGRF₄ controls grain shape, panicle length and seed shattering in rice. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2016, 58 (10): 836—847.
- [81] Ishikawa R, Castillo CC, Htun TM, et al. A stepwise route to domesticate rice by controlling seed shattering and panicle shape. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2022, 119 (26): e2121692119.
- [82] Yang RJ, Liu WW, Sun Y, et al. *LATERAL BRANCHING OXIDOREDUCTASE*, one novel target gene of *Squamosa* Promoter Binding Protein-like 2, regulates tillering in switchgrass. *New Phytologist*, 2022, 235 (2): 563—575.
- [83] Wang N, Ryan L, Sardesai N, et al. Leaf transformation for efficient random integration and targeted genome modification in maize and sorghum. *Nature Plants*, 2023, 9 (2): 255—270.

Fundamental Biology and Molecular Breeding of Forage Crops

Haichun Jing¹ Jingyu Zhang¹ Jingbo Jin¹ Zhipeng Liu² Baocai Zhang³
 Chunxiang Fu⁴ Youfa Cheng¹ Hao Lin⁵ Hongwei Cai⁶ Chengzhi Liang³
 Yao Zhou¹ Xiaofeng Cao³ Kang Chong^{1*}

1. *Institutes of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093*
2. *College of Pastoral Agriculture Science and Technology, Lanzhou University, Lanzhou 730020*
3. *Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101*
4. *Qingdao Institute of Bioenergy and Bioprocess Technology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266101*
5. *Biotechnology Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081*
6. *College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100083*

Abstract Forage crops are of paramount importance to food security in China. The healthy development of forage industry requires systematic layout of fundamental biology research and molecular breeding technology strategy of forage crops. This paper reviews the species and biological characteristics of major forage crops, the research progress of genomics and functional genes of major traits, and analyzes the molecular basis of the formation of forage specific biological traits and the molecular regulation of forage domestication traits to design "ideal forage" in forage biological breeding, and solves the frontier progress of food crop domestication research to achieve the de novo rapid domestication of forage crops. It is suggested to give full play to our country's leading advantages in forage genomics and gene editing, vigorously develop new technologies and theories driven by big data and artificial intelligence, and lead the basic biology and biological breeding of forage crops.

Keywords forage crops; fundamental biology; molecular breeding; specialized traits; molecular domestication and design

(责任编辑 刘敏 张强)

* Corresponding Author, Email: chongk@ibcas.ac.cn

附表 1 主要饲草的生物学特性

科属分类	饲草	基因组	生长特性	繁育特性	驯化性状与阶段	种子大小(千粒重)	生产利用	品质	制种技术
豆科	紫花苜蓿	<i>Medicago sativa</i> / 测序品种‘Zhongmu No. 1’,基因组约 816 Mb,共鉴定到 49 165 个基因/2n=4X=32	豆科苜蓿属多年生草本植物。高 1 米左右。花期 5—7 月,果期 6—8 月。喜温暖半湿润到半干旱的气候条件,主要分布于我国长江以北地区。根系发达,可固氮	种子繁殖(异花授粉植物,自交不亲和)	产量性状和品质性状	0.9~1.8 克	放牧、青饲、青贮、调制干草、草颗粒,年鲜草产量约 80 吨/公顷,年干草产量约 15 吨/公顷	粗蛋白质含量非常高(18%~24%)	综合品种较多,主要是杂交种
	田菁	2n=24	一年生亚灌木状草本植物。喜温暖、湿润的环境,耐盐、耐涝、耐瘠、耐旱、抵抗病虫	种子繁殖		14.0~16.0 克	绿肥、青饲、青贮和干草,年产鲜草 2~3 吨/亩	粗蛋白约 12%~17%	
	苕子	毛叶苕子(<i>Vicia villosa</i> Roth)2n=2x=14,基因组大小约 3G;光叶苕子(<i>Viciavillosa</i> Roth var. <i>glabrescens</i>), 2n=2x=14	豆科野豌豆属一年生或越年生草本植物	种子繁殖,常异花授粉		20.0~35.0 克	放牧、青饲和绿肥兼用作物;鲜草约 16 吨/公顷,干草约 3.5 吨/公顷;	粗蛋白约 20%,粗脂肪约 3%,粗灰分 12%,酸洗纤维 35%,中洗纤维 45%	
	箭筈豌豆	<i>Vicia sativa</i> , 2n=12,基因组已测序,大小 1.65 G,杂合度 0.09%	2n=14,基因组 1.8 G	豆科野豌豆属一年生或越年生草本,生长速度快、生育周期短;箭舌豌豆性喜冷凉、干燥气候,耐寒,怕热,生育期间最适温度为 20℃左右	种子繁殖,自花授粉		33.0~70.0 克	放牧、青饲、青贮、绿肥;干草约 6 吨/公顷	粗蛋白约 17%~22%,粗脂肪约 2.8%,粗灰分 11%,酸洗纤维 33%,中洗纤维 43%
	三叶草	<i>Trifolium pratense</i> 红三叶/2n=2X=14/基因组 423 Mb; <i>Trifolium repens</i> 白三叶/异源四倍体,2n=4X=28/基因组 1075 Mb。	三叶草又名车轴草,是豆科车轴草属多年生冷季型草本植物,原产欧洲。其中,红三叶和白三叶是利用最广泛的优良牧草,长日照植物,最适生长温度 15%~25℃	种子繁殖,异花授粉植物,自交高度不亲和	含氰化物	0.8~1.2 克	青饲、放牧、青贮和调制干草。利用年限长。年干草产量 8~14 吨/公顷	叶茎比例大,适口性好,粗蛋白含量高(约 15%—20%),粗纤维含量低,营养丰富	综合品种育种

(续表)

科属分类	饲草	基因组	生长特性	繁育特性	驯化性状与阶段	种子大小(千粒重)	生产利用	品质	制种技术
百脉根	<i>Lotus japonicus</i> , 基因组已测序, 约 550 Mb, 2n = 2x = 12	多年生草本, 百脉根原产于欧亚两洲的温暖地带, 喜温暖湿润气候; 长日照植物, 适应的年均温度为 5.7~23.7°C	种子繁殖, 异花授粉			0.9~1.2 克	鲜草产量 20~40 吨/公顷, 干草产量 5~9 吨/公顷	粗蛋白 14%~20%	
柱花草	热研 5 号, 2n = 2X = 20, 1. 173 Gb。柱花草多为 二倍体, 也存在 四倍体等多倍体	豆科蝶形花亚科柱花草属, 原产于中南美洲, 属直立或半直立的多年生草本或小灌木。柱花草属约有 50 种, 种间形态学鉴定困难	种子繁殖, 自花授粉植物	高产、耐寒、耐酸性土壤、抗炭疽病		2.8~3.7 克	具有饲料、肥料和水保三大功能。作为牧草可青饲、制作叶粉饲料、放牧, 绿肥	粗蛋白含量高(约 15%~20%)	诱变育种、选择育种
沙打旺	二倍体(2n=16)	适宜于我国东北、华北、西北地区的多年生草本植物, 耐旱耐寒性好	种子繁殖, 异花授粉			1.5~1.8 克	放牧、青饲、干草、绿肥, 亩产鲜草 5~8 吨	具有良好的饲用价值, 营养成分丰富, 与其他饲料混合饲喂	驯化、单倍体育种、辐射育种
紫云英	<i>Astragalus sinicus</i> , 2n = 2x = 16, 基 因组 595 M	二年生草本植物, 适宜于长江流域各省区	种子繁殖, 异花授粉			3.0~3.5 克	放牧、青饲、绿肥	粗蛋白 22%, 粗脂肪 4.6%, 粗纤维 11.8%	
黄花草木樨	<i>Melilotus officinalis</i> , 二倍体(2n = 2x = 16)	豆科草木樨属一至两年生草本, 分布于中国东北、华北、西北及四川、西藏、长江流域以南地区, 耐热性好	种子繁殖, 自花授粉			2.0~2.5 克	青饲、青贮、放牧、调制干草或干草粉; 鲜草产量约 40~52 吨/公顷, 干草产量 8~10 吨/公顷	含香豆素, 影响采食率; 粗蛋白约 12%, 粗脂肪约 1.8%, 粗纤维约 38%	
白花草木樨	<i>Melilotus albus</i> , 基因组已测序, 大小约 1.04 G, 2n = 2x = 16, 41 910 个基因	一年或二年生草本, 耐寒性好, 适合我国西北、东北、华北等地区	种子繁殖, 自花授粉			2.0~2.5 克	饲料作物、药用植物、绿肥作物、盐碱地改良作物及蜜源植物; 年产鲜草约 28 吨/公顷, 干草约 5~7 吨/公顷	含香豆素, 影响采食率; 粗蛋白约 18%, 粗脂肪约 1.5%	

(续表)

科属分类	饲草	基因组	生长特性	繁育特性	驯化性状与阶段	种子大小(千粒重)	生产利用	品质	制种技术
禾本科	燕麦	<i>Avena sativa</i> L./ 2n = 6x = 42, AACCCDD/基因组 10.76 Gb	禾本科燕麦 属一年生草 本植物。燕 麦为须根 系,耐旱,耐 瘠薄,适应 性广。适于 生长在气候 凉爽、雨量 充足的地区, 不耐高温	自花授粉植 物,异交率 低于1%	产量性状和 抗性性状	15.0~ 35.0克	粮饲兼用作 物。青绿燕 麦柔嫩多 汁、适口性 好,可青刈、 青贮或调制 干草。 年鲜草产量 30~50吨/ 公顷。干草 12~18吨/ 公顷	粗蛋白含量 8%~14%	杂交种、系 谱法育种 均可
	高羊茅	约8G/无基因组 测序信息/六倍 体/2n=6x=42/ 1:5 ⁹ / ₈ GB/已测 序/四倍体 2n= 4x=28	多年生草 本,抗逆性好	有性繁殖: 自交不亲和	分蘖强	10.0~ 15.0克	干草、青贮 饲料、放牧	粗蛋白12% ~14%	杂交
	早熟禾	1:5 ⁹ / ₈ GB/已测 序/四倍体 2n= 4x=28	多年生草本	有性繁殖: 自交不亲和	抗逆性	0.3~ 0.4克	干草、青贮 饲料、放牧	粗蛋白7% ~10%,干草 富含维生素, 每千克含胡 萝卜素373.3 毫克,核黄素 11.0克	杂交
	黑麦草	多年生黑麦草: 2.28 GB/已测 序/二倍体 2n= 14/;意大利黑麦 草:4.5 GB/已测 序/天然种为 2n =14,商品中多 为四倍体 2n= 4X=28	一年生或多 年生	有性繁殖: 异花授粉、 自交不亲 和,高度杂 合	耐落粒、高 黑麦草碱、 耐高温	1.5~ 3.5克	青饲、干草、 青贮饲料、 放牧	粗蛋白10% ~18%左右	杂交
	鸭茅	同源四倍体鸭茅 (2n=4x=28), 二倍体鸭茅(2n =2x=14)。二 倍体鸭茅已测 序,基因组大小 为1.84 Gb	多年生优质 饲草,适应 能力强,耐 旱且耐瘠薄	异花授粉	驯化时间较 短,驯化并 未对鸭茅遗 传多样性产 生巨大影响	0.8~ 1.2克	青饲、干草、 青贮饲料、 放牧,鲜草 年产量约40 ~60吨/公 顷,干旱约6 ~12吨/公顷	粗蛋白约 12%~15%, 粗脂肪约 5%~7%,粗 纤维约21% ~28%	杂交
	美洲狼尾草	<i>Pennisetum gla- ucum/Cenchrus americanus</i> /基因 组已测序,大小 为1.72 GB,共检 测到38579个基 因/draft genome, 未拼接到染色体 水平/2n=2x=14	又名珍珠 粟,是一种 起源于非洲 的粮饲兼用 型一年生C4 植物,生长 快速,耐高 温,耐旱。 秆直立,高 1~3米,分蘖	种子繁殖 (异花授粉 植物,由于 雌雄蕊不同 期成熟,异 花受精率 80%以上)		4.0~ 10.0克	再生性好, 可多次刈 割,既可割 草青饲、青 贮、调制干 草。一般情 况下,鲜草年 产量80~150 吨/公顷。	粗蛋白质 8%~19%	杂交

(续表)

科属分类	饲草	基因组	生长特性	繁育特性	驯化性状与阶段	种子大小(千粒重)	生产利用	品质	制种技术
			多,茎粗叶宽,草质柔嫩。珍珠粟种子发芽适温为20~25℃,生长适温为30~35℃,属短日照植物。有些品种对光周期不敏感						
象草	Elephant grass/ <i>Cenchrus purpureus</i> /	基因组已测序基因型为CIAT6263/2.07 G/A' A' BB/2n=4x=28	禾本科狼尾草属多年生牧草。起源于非洲,生长快速,分蘖性好,耐高温,耐旱。重要饲草和能源作物。株高2~6米	种子结实率和发芽率都较低,常采用营养繁殖。		同美洲狼尾草。	再生性好,可多次刈割,青饲、青贮、调制成干草。年产鲜草约120~200吨/公顷	粗蛋白7%~12%,质地比美洲狼尾草差,粗纤维40%~55%	杂交
柳枝稷	异源四倍体 (KKNN,		2n=4x=36)或同源异源八倍体(auto-allopolyploids, KKKKNN-NN, 2n=8x=72), AP13四倍体柳枝稷的单倍体基因组大小为1.13Gb	多年生饲草,环境适应性强及生物量大	自交不亲和、杂合度高		5.0~9.0克	年产鲜草8~15吨,	粗蛋白约7%~12%
芦竹	2n=60,72,84,108,110,112; 绿煤102基因组1.41G,翠绿101基因组2.95G		多年生粗壮丛生草本植物,喜光照充足、耐半阴;喜温暖、水湿,较耐寒;秆粗大直立,高3~6米	有地下茎,可采用播种、分株、扦插方法繁殖		2.8~3.8克	造纸原料、固堤护坡、观赏;年产鲜草8~10吨/亩	幼嫩枝叶的粗蛋白质达12%	
芒草	2462.35 Mb(五节芒)/已测基因组/二倍体2n=2x=38/1.89%		多年生,分蘖能力强,抗逆性好	有性繁殖:异花授粉、自交不亲和;无性繁殖	抗逆性、高产	0.3~0.5克	青饲、青贮饲料	粗蛋白10%,总有效营养成分含量超过55%	杂交、无性扩繁

(续表)

科属分类	饲草	基因组	生长特性	繁育特性	驯化性状与阶段	种子大小(千粒重)	生产利用	品质	制种技术
甜高粱	<i>Sorghum bicolor</i> /二倍体 2n = 20/甜高粱 测序基因型为 Rio, 729. 4Mb/2n = 2X=20	禾本科高粱属。一年生 C4 草本植物	种子繁殖	含糖量(Dry 基因)	16.0~28.0 克	鲜草产量高, 亩产 8~15 吨左右; 平均亩产籽粒 200kg 左右。甜高粱的汁液中含有 20%~30% 的糖。甜高粱汁可以使用酿酒酵母直接发酵成乙醇。可用于制糖、酒精、燃料。可用作饲草	茎的汁液富含蔗糖; 粗蛋白 8%~15%, 粗脂肪 1.8%~2.9%, 粗纤维 31%~39%	三系配套杂交	
苏丹草	<i>Sorghum sudanense</i> or <i>S. bicolor</i> ssp. <i>drummondii</i> /测序基因型为 S722, 716 Mb, 共 35 243 个编码蛋白基因/ 2n = 2X = 20	禾本科高粱属。是籽粒高粱和其近缘野生亚种 (<i>S. bicolor</i> ssp. <i>Verticilliflorum</i>) 产生的杂交种。与其他高粱种相比, 苏丹草的氢氰酸含量较低	种子繁殖	超低氢氰酸品种	10.0~15.0 克	一般年刈割 2~3 次, 年产鲜草 75~120 吨/公顷, 干草 15~22 吨/公顷。适于青饲, 也可青贮和调制干草	拔节期的粗蛋白约 12%。与玉米相比, 种植成本低, 纯收入高	杂交	
狗牙根	非洲狗牙根: 454. 4 Mb/已测序/二倍体 2n = 2x = 18/杂合度 1.40%; 普通狗牙根: 1.01 Gb/已测序/四倍体 2n = 4x = 36, 杂合度 1.92%	多年生	主要依赖无性繁殖; 茎段有性繁殖; 自交不亲和	直立、耐低温、绿期长	0.2~0.3 克	干草、青贮饲料	粗蛋白含量 16%~23%	杂交、茎段无性扩繁	
羊草	二倍体(2n=28)	多年生根茎型草本, 适应性强, 耐旱、耐碱, 耐牛马践踏, 是优秀的草种。根茎发达, 分蘖力强	种子、根茎繁殖。结实率低、发芽率低; 繁殖率低;	改变野生羊草抽穗率低、结实率低、发芽率低; 主要通过杂交方式驯化	2.0~2.5 克	放牧、青饲、调制干草; 亩产鲜草 1~2 吨	粗蛋白质 14.8%、粗脂肪 2.9%、粗纤维 41.7%、无氮浸出物 34.9%、粗灰分 5.7%	草地直接采收	

(续表)

科属分类	饲草	基因组	生长特性	繁育特性	驯化性状与阶段	种子大小(千粒重)	生产利用	品质	制种技术
	披碱草	异源六倍体 ($2n=6x=42$)	多年生禾本科牧草,须根系强大,深者达1米。茎直立,疏丛型,高80~150厘米,有3~6节。叶披针形,长10~30厘米、宽0.8~1.2厘米,扁平或内卷,叶表面粗糙,背面光滑	根茎和种子繁殖		4.5克左右	适口性好,草食家畜喜采食;草原恢复,生态改良等。每亩产干草250~300千克,高者达400~500千克,草利用期为4~5年	粗蛋白质8.3%、粗脂肪3.1%、粗纤维44.2%、无氮浸出物37.7%、粗灰分6.6%	人工草地直接采收
	冰草	($2n=28$),为同源四倍体	多年生草本,抗寒、耐旱,适宜于干旱和寒冷的温带地区种植。在年降雨量230—380 mm的地区生长良好。对土壤的适应性强,耐瘠,也耐盐碱,不耐热,锈病严重。广泛分布于欧亚大陆温带草原,是典型的旱生植物	根茎和种子繁殖		2.0克	放牧和调制干草;亦可作为干旱地区水土保持和绿化植物	粗蛋白质11.6%、粗脂肪3.0%、粗纤维34.1%、无氮浸出物45.5%、灰分6.8%	人工草地直接采收
	无芒雀麦	$2n=4x=28=22m(2SAT)+6sm(2SAT)$	雀麦属多年生草本植物,秆直立,疏丛生,高可达120厘米	根茎和种子繁殖		3.2~4.0克	优良牧草,营养价值高,适口性好,耐寒旱,耐放牧,也是建立人工草场和环保固沙的主要草种	抽穗至开花末期牧草(干物质)粗蛋白质含量8.3%~11.5%	人工草地直接采收

(续表)

科属分类	饲草	基因组	生长特性	繁育特性	驯化性状与阶段	种子大小(千粒重)	生产利用	品质	制种技术
	长穗偃麦草	十倍体长穗偃麦草 (<i>Thinopyrum ponticum</i>), 2n = 10x = 70, 基因组大小为 20 ~ 30 G; 二倍体长穗偃麦草 (<i>Thinopyrum elongatum</i>) 2n = 2x = 14, 基因组已测序, 大小为 4.63 G	偃麦草属多年生植物。抗寒、耐旱, 较耐盐碱, 适宜冷凉干燥的气候条件。在含盐量 0.6% 的盐土上可以全部成活, 在含盐 0.4% 以下的盐土地上可以获得较好的产草量	根茎和种子繁殖			放牧、青饲或晒制干草	抽穗—开花期长穗偃麦草青干草的粗蛋白含量 9.9%~11.2%, 中性洗涤纤维 75.5%~78.4%, 酸性洗涤纤维 44.2%~50.3%	人工草地直接采收
其他科属	饲用油菜	约 1 000 Mb/已测序/四倍体 2n = 4x = 38	一年生	异花授粉	低芥酸、低流贷葡萄糖甙、抗倒伏、耐落粒	芥菜型为 1.0~2.0 克, 白菜型 2.0~4.0 克, 甘蓝型 3.0~5.0 克	青贮、青饲	N 型饲草。粗蛋白, 粗脂肪, 粗纤维, 粗灰分等含量分别为 25.6%、2.4%、16% 和 16.85%	细胞质雄性不育三系法杂交
	籽粒苋	<i>Amaranthus hypochondriacus</i> 千穗谷 (391 Mb, 基因组测序已拼接到染色体水平, 2n = 32); <i>A. cruentus</i> 老鸦谷 (368 Mb, 基因组测序已拼接到染色体水平, 2n = 34)	苋科苋属的一年生 C4 草本植物	种子繁殖, 常异花授粉植物。	多为 landrace, 人工杂交选育的品种较少	0.5 克左右	一般亩产鲜草 5~10 吨, 收种子 100~150 千克; 可制作青贮饲料、叶粉饲料或者调制干草	蛋白质含量高, 高达 14%~18%	自交或异交均可
	食叶草	鲁梅克斯酸模与皱叶酸模(羊蹄叶)杂交; 二倍体	蓼科酸模属多年生草本、一年可刈割 5~6 次	种子繁殖		2.2~2.3 克	精饲料、青贮饲料、鲜绿饲料; 亩产鲜草 15~20 吨(干草 1.5~2 吨)	蛋白质含量高, 干料蛋白质含量达 30% 以上; 维生素矿物质也很高	杂交种