

夏澳运, 彭子艾, 李丹丹, 赵壮壮, 王慧, 陈志强, 郭涛. 一种适用于高通量基因分型的水稻 DNA 样本制备技术研究 [J]. 广东农业科学, 2019, 46(8): 1-7.

一种适用于高通量基因分型的水稻 DNA 样本制备技术研究

夏澳运, 彭子艾, 李丹丹, 赵壮壮, 王慧, 陈志强, 郭涛
(华南农业大学国家植物航天育种工程技术研究中心, 广东 广州 510642)

摘要: 【目的】提供一种基于 96 孔板的水稻根部 DNA 提取技术, 可显著提升 DNA 提取效率。【方法】在 96 孔深孔板的每个孔中放入一粒萌发的种子, 在深孔板下方对应放置 96 孔 PCR 板, 在适当光温下促使水稻根伸入 PCR 板中; 当水稻幼苗发育至一叶一心时, 将 PCR 板移至干冰与 95% 乙醇混合液体中, 利用冷冻处理捕获幼根; 用改良的 TRIS-EDTA 法批量提取 DNA 并进行浓度和纯度检测。【结果】从播种到根部组织样品的获取全部在 96 孔板中进行, 实现了样本组织的批量获取及目标个体的精确对应。改良的 TRIS-EDTA 法提取 96 个水稻样本 DNA 的效率显著高于传统的 CTAB 法。【结论】基于 96 孔板的水稻根部组织批量获取及 DNA 高效提取方法, 对于提升水稻分子育种效率具有实践意义。

关键词: 水稻; 根; 96 孔板; DNA 提取; 高通量

中图分类号: S511.01

文献标志码: A

文章编号: 1004-874X (2019) 08-0001-07

An Extraction Technique of Rice DNA Samples Suitable for High-throughput Genotyping

XIA Aoyun, PENG Ziai, LI Dandan, ZHAO Zhuangzhuang, WANG Hui, CHEN Zhiqiang, GUO Tao
(National Plant Space Breeding Engineering Technology Research Center,
South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: 【Objective】This paper provides a DNA extraction technique based on 96-orifice plates for rice roots, which can significantly improve DNA extraction efficiency. 【Method】A germinated seed was placed in each orifice of a 96 deep-orifice plate, and a 96-orifice PCR plate was placed under the deep orifice plate to promote the rice root stretching into the PCR plate at an appropriate light and temperature. When the rice seedlings developed with two leaves, the PCR plate was moved to a mixed liquid of dry ice and 95% ethanol, and the roots were captured by freezing treatment. DNA was extracted in bulk by using the modified TRIS-EDTA method and the concentration and purity of DNA was detected. 【Result】The results showed that all the processes from the seeding to the obtaining of root tissue samples were carried out in 96-orifice plates, which achieved the mass abtainment of the sample tissues and the accurate correspondence of the target individuals. Compared with other methods, the efficiency of extracting DNA from 96 rice samples by the modified TRIS-EDTA method was significantly higher than that of the traditional CTAB method. 【Conclusion】The batch obtainment of rice root tissues based on 96-orifice plate and DNA efficient extraction method reported in this paper has practical significance for improving of rice molecular breeding efficiency.

Key words: rice; root; 96-orifice plate; DNA extraction; high-throughput

收稿日期: 2019-06-08

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2016YFD0102102); 广东省科技计划项目 (2018B020206002); 国家现代农业产业技术体系建设专项 (CARS-01-12)

作者简介: 夏澳运 (1994—), 男, 在读硕士生, 研究方向为水稻遗传育种, E-mail: 1392633058@qq.com

通信作者: 郭涛 (1978—), 男, 博士, 教授, 研究方向为水稻遗传育种, E-mail: guo.tao@vip.163.com

【研究意义】水稻是世界上最重要的粮食作物之一，其产量占世界粮食总产量的 50% 左右，世界上半以上人口以稻米为主食^[1-2]。水稻新品种的选育对于提升粮食安全水平具有重要意义，而种质资源的不断创新是水稻新品种选育的基础。近年来，分子标记辅助选择技术已经在水稻抗病及品质种质创新方面开展了大量研究，显著提升了水稻新品种选育的效率^[3]。此外，诱变育种技术在丰富种质资源、加速育种进程方面也起到了重要作用^[4]。将分子育种、诱变育种与传统育种技术结合，可以不断丰富水稻遗传资源，提升水稻新品种选育效率。对于分子育种或诱变育种获得的遗传分离群体，利用分子标记获取不同个体的基因型来说，是种质资源精确鉴定的强有力手段^[5]。

【前人研究进展】对于植物基因分型来说，一般都需要从数量庞大的遗传分离群体中进行筛选，同时要实现单株与 DNA 样本一一对应，以便准确筛选出目标植株，而对某基因的定位也经常需要从成千上百份分离群体中提取 DNA 来筛选目标位点，其工作量之大显而易见^[6]。目前，普遍采用的方法是剪取植物的叶片并提取 DNA，但面对大批量样本采集时，该方法成本高、效率低且容易出现单株与 DNA 样本无法对应的错误^[7]。此外，目前普遍使用的 DNA 提取方法为 SDS 法或 CTAB 法，虽然这些方法提取的 DNA 质量、产量和纯度均较高，但操作步骤多、耗时长、成本高，成为限制水稻大规模基因分型中提高效率 and 降低成本的关键因素^[8-11]。

【本研究切入点】在大规模基于 PCR 的基因分型检测作业中，高效、快速、简便的模板 DNA 制备显得非常重要，针对目前组织样本获取和 DNA 提取效率低的问题，建立一种适用于高通量基因分型的简易、高效和低成本的水稻 DNA 提取方法十分迫切和必要。【拟解决的关键问题】为解决限制水稻 DNA 高效提取问题，探索快速有效的 DNA 提取方法，本研究从组织取样与 DNA 提取两个方面着手，设计了一次性可采集 96 个水稻植株的根部组织并快速提取 DNA 的方法，该方法克服了传统方法的工作量大、效率低的缺点，在水稻育种实践中具有较大价值，为水稻分子育种提供有效的技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

器材：水稻种子，96 孔深孔板，96 孔 PCR 板，金属球 ($d \approx 0.27 \text{ cm}$)，金属盘 ($32 \text{ cm} \times 22 \text{ cm} \times 3 \text{ cm}$)，24 微孔板金属热块 (QBLock-0.2)，高通量组织研磨机 (2010 Genogrinder)，玻璃棒 ($d \approx 0.35 \text{ cm}$) 等。

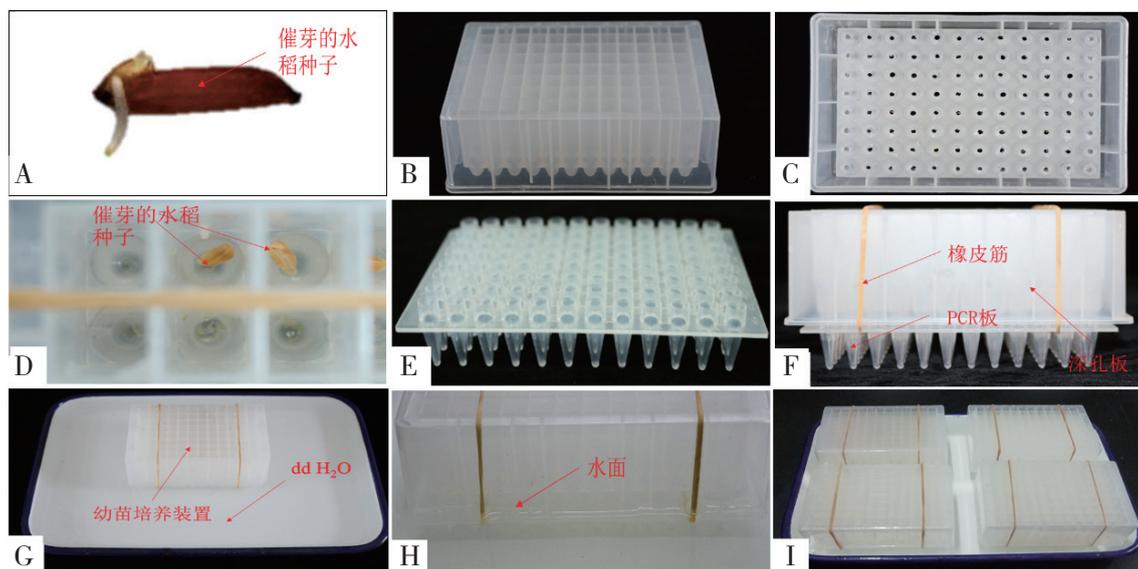
试剂：干冰，乙醇 (95% V/V)，2% CTAB 提取液，500 mmol/L TRIS (pH=8)，50 mmol/L EDTA (pH=9) 等。

1.2 试验方法

1.2.1 种子处理及培养 将水稻种子消毒、浸种、催芽后，挑选胚芽长 2.5 mm 左右的种子备用 (图 1A)。在 96 深孔板每个孔底部钻出小孔 (图 1B)，孔径约 3 mm (图 1C)。将萌发的水稻种子放入 96 深孔板中，胚向下，每孔 1 粒种子 (图 1D)。深孔板与 PCR 板上下叠放 (图 1E)，深孔板在上、PCR 板在下，两者的孔一一对应，即深孔板 A1 应对应 PCR 板 A1 孔，用橡皮筋将两端固定 (图 1F)。固定好的装置称为双层生长板，将生长板放入金属托盘中，加入蒸馏水漫过下部 PCR 板 (图 1G)，水深约 3 cm (图 1H)，使 PCR 板的每个孔中均充满蒸馏水。金属托盘及生长板 (图 1I) 放置于培养箱中培养约 9 d，培养条件：12 h 光照、12 h 黑暗，30 °C 恒温。培养过程中，注意观察液面高度，及时更换补充蒸馏水至 3 cm 深。

1.2.2 DNA 提取及扩增 (1) CTAB 法提取根部 DNA，参考 CHEN 等^[12]的方法进行。(2) 磁珠法提取样本 DNA，对获取的根部组织进行研磨和不研磨两种处理，参考 CHEN 等^[12]的方法分别提取样本 DNA。(3) 改良 TRIS-EDTA 法提取根部 DNA。将 25 μL TRIS-EDTA (500 mmol/L TRIS, pH=8; 50 mmol/L EDTA, pH=9) 溶液和根部组织放入含有 250 μL 蒸馏水的 PCR 板孔中密封，组织研磨机粉碎后，3 600 r/min 离心 10 min，取上清液进行检测并进行 PCR 扩增。

引物设计及 PCR 扩增方法：根据已报道的 GS3 基因第三外显子 (45 bp) 序列设计引物^[13]，引物序列由金唯智公司合成，正向序列：5' -GAACTTCGTCGATTGTGTGG-3'，反向序列：5' -GCTTCTCCGATGAACTGCTT-3'，扩



A: 催芽的水稻种子; B:96 深孔板, 即上部种子板; C: 底部钻有小孔的 96 深孔板; D: 催芽的水稻种子用镊子放入深孔板中, 胚向下;
E:96 孔 PCR 板; F:96 深孔板在上, PCR 板在下, 两者的孔一一对应, 使用两个皮筋固定二者;
G: 双层生长板装置放入金属盘中并加入蒸馏水; H: 金属盘液面位置; I: 种子幼苗的培养

A:Germinated rice seed; B:96 deep-orifice plate, i.e. the upper seed plate; C:96 deep-orifice plate with small holes at the bottom; D:The germinated rice seeds are placed into the deep-orifice plate with tweezers, and the embryos are downward; E:96-orifice PCR plate; F:96-deep orifice plate is on the top, PCR plate is at the bottom, the orifices of both are corresponding one by one, which are fixed by two rubber bands; G:A double-layer growth plate device is placed in a metal tray plates and distilled water is added; H:The position of the liquid level of the metal tray is indicated; I:Cultivation of seedlings

图 1 水稻种子的处理与幼苗培养

Fig. 1 Treatment of rice seed treatment and seedling cultivation culture

增产物大小为 250 bp。PCR 扩增体系为 10 μL : DNA 模板 1 μL ; Master Mix 5 μL ; 引物各 0.2 μL ; ddH₂O 3.6 μL 。反应程序: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; 然后按 95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 35 个循环; 最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 5 min。取 7 μL PCR 产物, 加入 5 μL 指示剂, 在 1% 琼脂糖凝胶中电泳 30 min, 用凝胶成像仪扫描拍照。

2 结果与分析

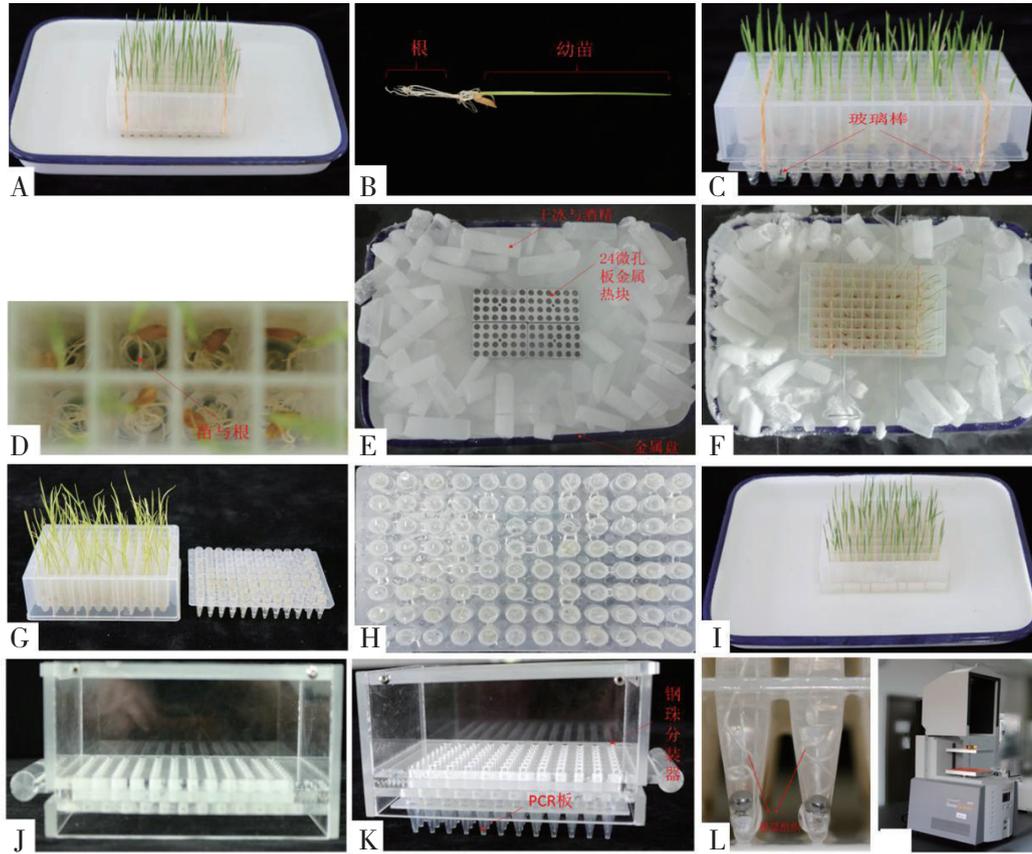
2.1 水稻幼苗根部组织捕获效率分析

水稻种子培养约 9 d 后, 下部 PCR 板的孔中存在大量的根, 可以进行根部组织的捕获。具体方法如下: (1) 从金属托盘中取出双层生长板 (图 2A), 此时水稻幼苗已发育完全 (图 2B)。将橡皮筋留在原位, 在两板之间打开一个间隙, 小心地在上下板之间插入玻璃棒, 在两个板之间形成一个间隙 (图 2C), 从孔中可以清晰的观察到内部的根与苗 (图 2D)。(2) 将 4 块 24 孔金属热块拼在一起放入金属盘中。小心地将 95% (V/V) 乙醇与干冰 (乙醇 500 mL, 干冰 3 kg) 倒入玻璃盘中, 直到混合液体的液面恰好低于金属热块的

表面。金属热块冷却约 30 min, 使温度达到平衡 (图 2E)。(3) 将双层生长板放置于金属热块上, 下部 PCR 板插入金属热块对应孔中。双层生长板放在金属热块上约 6 min, 在此期间下部 PCR 板中的水将冷冻为冰 (图 2F)。6 min 后将双层生长板从金属热块上移出, 移除橡皮筋, 并从板之间移除玻璃棒。向下按压上部深孔板, 然后小心地分开上部深孔板与下部 PCR 板, 清除下部 PCR 板表面的残冰 (图 2G)。此时, 下部 PCR 板的孔中即保留了冷冻后的根部组织 (图 2H)。收获根部组织后, 上部幼苗可转移到装满水或营养液的金屬托盘中, 以使幼苗继续生长 (图 2I)。利用此方法, 成功获得 96 个样本的根部组织, 样本捕获的成功率为 100%; 此外, 此方法获得的根部组织长度介于 2~3 cm, 重量约 0.03~0.06 g, 各样品组织均匀一致, 为 DNA 提取奠定了良好基础。与传统剪取叶片法比较, 本方法获取 96 个样本组织仅耗时约 10 min, 而剪取叶片法耗时约 30 min。

2.2 DNA 提取结果分析

对获得的根部样本, 采用 4 种方法进行 DNA 提取, 并比较 DNA 提取效率。结果 (表 1) 表明,



A: 金属盘中培养 9 d 左右的水稻幼苗; B: 培养 9 d 后水稻单株表型; C: 上部种子板和下部根板之间插入玻璃棒, 分隔两板, 能快速高效捕获水稻根部的幼根; D: 生长 9 d 后上部种子板孔中的幼苗与根; E: 金属盘中放入干冰与 95% 酒精, 中间放入 4 块 24 微孔板金属热块, 进行冰浴降温捕获水稻幼根组织; F: 在温度恒定后, 把图 C 装置放入金属热块中, 待下部结冰后, 取出捕获的水稻幼根组织; G: 冰浴后, 分离的上部苗板与下部种子板; H: 冰浴后, 分离的下部种子板, 内含捕获的幼根; I: 水稻幼根根部组织被捕获后, 把上部种子板放入金属盘中加入蒸馏水继续培养植株; J: 钢珠分装器; K: PCR 板与钢珠分装器组合装置, 可把单个钢珠准确的放入 PCR 板的孔中; L: 捕获的幼根与钢珠; M: 高通量组织研磨机, 用于容纳 96 孔 PCR 板, 批量研磨根部

A: Rice seedlings cultivated for about 9 days in a metal tray; B: Rice phenotype cultivated after 9 days; C: Inserting two glass rods between the upper seed plate and the lower root plate to separate the two plates, which can capture the rice roots quickly and efficiently; D: Seedlings and roots in the hole of the upper seed plate after 9 days of growth; E: Dry ice and 95% ethanol is put in the metal tray, 4 pieces of 24 microporous plate metal thermal block are put in the middle, and the rice root tissue is captured by ice bath cooling; F: After the temperature is constant, the device of Figure C is placed in a metal thermal block, and after the lower portion is frozen, the captured young root tissue of the rice is taken out; G: The separated upper seedling plate and the lower seed plate after ice bath cooling; H: The separated lower seed plate with captured young roots after ice bath cooling; I: After the roots of the rice are captured, the upper seed plate is placed in a metal tray and distilled water is added to continue the cultivation of the plants; J: Steel ball dispenser; K: PCR plate and steel ball dispenser combination device, which can accurately put a single steel ball into the orifices of the PCR plate; L: The captured young roots and steel balls; M: High-throughput tissue grinder for holding 96-orifice PCR plates for batch grinding of roots

图 2 水稻幼根捕获与 DNA 提取
Fig. 2 Rice root capture and DNA extraction

4 种方法均可提取水稻幼苗根部 DNA, 所获取的 DNA 可满足分子标记分析需求。从浓度与质量上来看, 相比较其他 3 种方法, 使用改良 TRIS-EDTA 法提取的 DNA 个体间差异较小, 整体浓度较高, 浓度平均值为 92.54 ng/vL, A260/280 平均值为 1.74, DNA 纯度较高; 基于磁珠的两种 DNA 提取方法, 所获得的 DNA 浓度差别较大, 其中根组织研磨后 DNA 提取浓度为 55.68 ng/ μ L, 显著高于不研磨的磁珠法。从效率上来看, 改良

TRIS-EDTA 法批量提取 DNA 的时间明显低于其他 3 种方法, 效率最高。此外, TRIS-EDTA 法提取 DNA 的费用约为 0.1 元/样品, 而 CTAB 法为 0.8 元/样品、磁珠法平均为 0.5 元/样品。可见, TRIS-EDTA 法提取 DNA 的产量高、效率高、费用低, 是比较理想的水稻根部 DNA 提取技术。

为了比较 4 种方法提取 DNA 的 PCR 扩增效果, 利用 GS3 基因引物分别扩增 4 种方法获得的模板 DNA。电泳检测结果 (图 3A) 表明, 4 种方

表 1 不同提取方法的 DNA 浓度、质量及提取时间

Table 1 DNA concentration, quality and extraction time of different extraction methods

方法 Method	样本数 Number of samples	浓度 Concentration			OD ₂₆₀ /OD ₂₈₀	DNA 提取时间 DNA extraction time (h)
		平均值 Mean (ng/μL)	范围 Range (ng/μL)	变异系数 CV		
CTAB 法 CTAB method	96	20.52	7.36–34.14	0.31	1.82	10
TRIS-EDTA 法 TRIS-EDTA method	96	92.54	25.6–156.74	0.29	1.74	0.3
磁珠法 (研磨) magnetic bead method tissue grinding	96	55.68	8.46–147.3	0.40	1.53	2.0
磁珠法 (不研磨) magnetic bead method tissue non-grinding	96	18.47	2.58–45.51	0.42	1.76	1.3

注: CTAB 法、磁珠法 (研磨)、磁珠法 (不研磨) 提取的 DNA 溶解于 60 μL TE 或蒸馏水中。

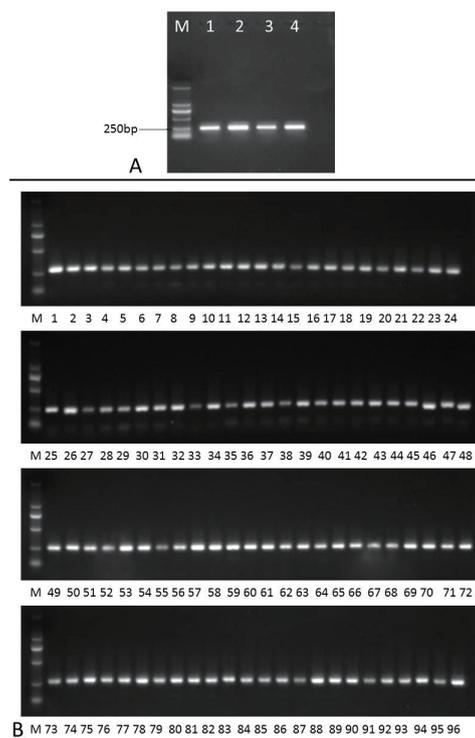
Note: DNA extracted by CTAB method, magnetic bead method (tissue grinding), magnetic bead method (tissue non-grinding) is dissolved in 60 μL TE or distilled water.

法所提取的 DNA 扩增产物均条带明亮、清晰, 片段大小符合预期, 说明 4 种方法所提取 DNA 均可用于分子标记分析。改良 TRIS-EDTA 法提取的基因组 DNA 在 96 个样本中均可扩增出清晰、明亮的目的条带, 具有较高的稳定性 (图 3B)。

3 讨论

随着越来越多的分子标记可供植物育种者使用, 迫切需要能对大量单株进行基因分型的高效方法 [14–15]。而大量样本的种植管理、样本组织的高效获取及 DNA 的有效提取是高通量基因分型的关键环节 [16–17]。

对于样本组织的获取, 目前普遍采用的方法是技术人员在田间收取植物的叶片或其他组织器官并编号, 但该方法过程烦琐, 成本较高, 较易出错, 不适于大规模的样本收集 [18–19]。针对传统方法缺点, 本研究将水稻种植于 96 孔板中, 实现根部组织的批量获取, 同时继续保留样本活体, 可以在获取基因型后把目标单株种植到田间。与前人方法相比, 本研究的组织获取方法可显著降低田间劳作强度, 且样品和 DNA 可以实现精确对应, 具有高效便捷、省时省力的优点。限制高通量基因分型的另一个因素是 DNA 的快速提取, 经典的 CTAB 或 SDS 可获得高质量的 DNA, 但提取过程烦琐, 成本较高, 不适于大规模的基因型检测 [10, 20]。目前也报道了各类简化 DNA 提取方法, 但是这些方法仍然存在提取效率不高的



A: 4 种方法提取 DNA 的 PCR 扩增产物检测, 1: CTAB 法, 2: TRIS-EDTA 法, 3: 磁珠法 (组织研磨), 4: 磁珠法 (组织不研磨); B: TRIS-EDTA 法批量提取 DNA 的 PCR 扩增产物检测。M: DL2000 DNA Ladder Marker

A: Detection of PCR amplification products of DNA extracted by four methods, 1: CTAB method, 2: TRIS-EDTA method; 3: Magnetic bead method (tissue grinding); 4: Magnetic bead method (tissue non-grinding); B: Detection of PCR amplification products of DNA for batch extraction by TRIS-EDTA method. M: DL2000 DNA Ladder Marker

图 3 PCR 产物琼脂糖凝胶电泳结果

Fig.3 Agarose gel electrophoresis results of PCR product

问题^[21-24]，如赵国珍等^[25]的方法提取 96 个样本 DNA 需耗时 1 h。而本研究改良 TRIS-EDTA 法批量提取 96 个样本 DNA 的时间约为 0.3 h，并且 DNA 质量完全满足分子标记需求。此外，改良 TRIS-EDTA 法提取 DNA 的费用约为 0.1 元/样品，而 CTAB 法为 0.8 元/样品。可见，本研究开发的 TRIS-EDTA 法提取 DNA 的产量高、效率高、费用低，是比较理想的水稻根部 DNA 提取技术，非常适合水稻的高通量基因分型。

4 结论

本研究开发的水稻根部组织 DNA 获取方法（TRIS-EDTA 法）克服了传统水稻 DNA 样本获取工作量大、费时费力的缺点，可有效服务于水稻分子育种和突变体基因型筛选。此外，该方法还可用于收集水稻根部组织进行代谢组、转录组或蛋白质组的高通量分析，对于其他作物的 DNA 高通量提取也具有参考价值。

参考文献 (References) :

- [1] 杨峰. 水稻育种技术发展对水稻产量的影响[J]. 吉林农业, 2016(8): 48-49. doi:10.14025/j.cnki.jlny.2016.08.015.
YANG F. Effects of rice breeding technology development on rice yield [J]. *Jilin Agriculture*, 2016 (8): 48-49. doi:10.14025/j.cnki.jlny.2016.08.015.
- [2] 谢放鸣, 彭少兵. 杂交水稻在国外的发展历程与展望[J]. 科学通报, 2016, 61 (35): 3858-3868. doi:CNKI:SUN:KXTB.0.2016-35-020.
XIE F M, PENG S B. Development and prospect of hybrid rice in foreign countries [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2016, 61 (35): 3858-3868. doi:CNKI:SUN:KXTB.0.2016-35-020.
- [3] 魏凤娟, 陈秀晨. 分子标记技术及其在水稻育种中的应用[J]. 广东农业科学, 2010, 37 (8): 185-187. doi:10.16768/j.issn.1004-874.2010.08.075.
WEI F J, CHEN X C. Molecular marker technology and its application in rice breeding [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2010, 37 (8): 185-187. doi:10.16768/j.issn.1004-874.2010.08.075.
- [4] 杨瑰丽, 陈莹, 郭涛, 黄明, 黄翠红, 王慧, 李文建, 陈志强. 碳离子束辐照水稻诱变效应及突变体的筛选[J]. 华南农业大学学报, 2018, 39 (2): 29-33.
YANG G L, CHEN Y, GUO T, HUANG M, HUANG C H, WANG H, LI W J, CHEN Z Q. Mutagenic effects of rice by carbon beam irradiation and screening of mutants [J]. *Journal of South China Agricultural University*, 2018, 39 (2): 29-33.
- [5] 斯琴图雅, 高德玉, 张玉宝, 王强, 梁宏斌, 纪东清. 我国水稻辐射诱变育种现状[J]. 黑龙江科学, 2013 (5): 42-43. doi:10.3969/j.issn.1674-8646.2013.05.020.
SI Q T Y, GAO D Y, ZHANG Y B, WANG Q, LIANG H B, JI D Q. Current status of radiation mutation breeding in rice in China [J]. *Heilongjiang Science*, 2013 (5): 42-43. doi:10.3969/j.issn.1674-8646.2013.05.020.
- [6] CLARK K A, KRYSAN P J. Protocol: An improved high-throughput method for generating tissue samples in 96-well format for plant genotyping (Ice-Cap 2.0) [J]. *Plant Methods*, 2007 (3): 8-15.
- [7] 刘毅, 赵洪阳, 唐金娟, 王加红, 刘国兰. 一种高通量水稻 DNA 提取方法及其在种子纯度检测中的应用[J]. 上海农业学报, 2016, 32(5): 8-10. doi:10.15955/j.issn1000-3924.2016.05.02.
LIU Y, ZHAO H Y, TANG J J, WANG J H, LIU G L. A high-throughput rice DNA extraction method and its application in seed purity detection [J]. *Shanghai Journal of Agricultural Sciences*, 2016, 32 (5): 8-10. doi:10.15955/j.issn1000-3924.2016.05.02.
- [8] 马文东. 水稻基因组 DNA 提取方法的研究[J]. 黑龙江农业科学, 2014 (1): 7-11. doi:10.3969/j.issn.1002-2767.2014.01.003.
MA W D. Study on extraction methods of rice genomic DNA [J]. *Heilongjiang Agricultural Sciences*, 2014 (1): 7-11. doi:10.3969/j.issn.1002-2767.2014.01.003.
- [9] 袁云香, 李海娟. 水稻基因组 DNA 提取方法的研究进展[J]. 湖北农业科学, 2010, 49 (4): 968-971. doi:10.3969/j.issn.0439-8114.2010.04.065.
YUAN Y X, LI H J. Advances in the extraction of rice genomic DNA [J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2010, 49 (4): 968-971. doi:10.3969/j.issn.0439-8114.2010.04.065.
- [10] TAN S C, YIAP B C. DNA, RNA, and protein extraction: The past and the present [J]. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2009, 2009 (5): 1-10.
- [11] 母洪娜, 曾继吾, 易干军, 陈金印. 一种快速高效适于柑桔 AFLP 分析的 DNA 提取方法 [J]. 广东农业科学, 2007 (3): 25-26. doi:10.16768/j.issn.1004-874X.2007.03.009.
MU H N, ZENG J W, YI G J, CHEN J Y. A rapid and efficient DNA extraction method for citrus AFLP analysis [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2007 (3): 25-26. doi:10.16768/j.issn.1004-874X.2007.03.009.
- [12] CHEN L K, GAO W W, CHEN S P, WANG L P, ZOU J Y, LIU Y Z, WANG H, CHEN Z Q, GUO T. High-resolution QTL mapping for grain appearance traits and co-localization of chalkiness-associated differentially expressed candidate genes in rice [J]. *Rice*, 2016, 9 (1): 48-64. doi:10.1186/s12284-016-0121-6.
- [13] 裔传灯, 李玮, 王德荣, 蒋伟, 王颖, 周勇, 梁国华, 顾铭洪. 水稻粒形基因 GS3 的功能标记开发与鉴定 [J]. 江苏农业科学, 2016, 44 (12): 64-67. doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.12.016.
SHI C D, LI W, WANG D R, JIANG W, WANG Y, ZHOU Y, LIANG G H, GU M H. Development and identification of functional markers of rice grain-shaped gene GS3 [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2016, 44 (12): 64-67. doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.12.016.
- [14] 高美凤, 王晓峰, 夏莲红, 曹月琴, 顾明飞, 杨建芳. 3 种水稻分子标记辅助育种技术的应用概况 [J]. 上海农业科技, 2017 (5): 49-

51. doi: CNKI:SUN:SLYK.0.2017-05-022.
- GAO M F, WANG X F, XIA L H, CAO Y Q, GU M F, YANG J F. Application of three kinds of rice molecular marker-assisted breeding techniques [J]. *Shanghai Agricultural Science and Technology*, 2017 (5): 49-51. doi: CNKI:SUN:SLYK.0.2017-05-022.
- [15] 姚姝, 陈涛, 张亚东, 朱镇, 赵庆勇, 周丽慧, 赵凌, 赵春芳, 王才林. 利用分子标记辅助选择聚合水稻 *Pi-ta*、*Pi-b* 和 *Wx-mq* 基因 [J]. *作物学报*, 2017, 43 (11): 1622-1631. doi:10.3724/SP.J.1006.2017.01622.
- YAO S, CHEN T, ZHANG Y D, ZHU Z, ZHAO Q Y, ZHOU L H, ZHAO L, ZHAO C F, WANG C L. Polymerization of *Pi-ta*, *Pi-b* and *Wx-mq* genes by molecular marker-assisted selection [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2017, 43 (11): 1622-1631. doi:10.3724/SP.J.1006.2017.01622.
- [16] 田孟祥, 张时龙, 余本勋, 何友勋, 叶永印, 李雪松. 一种应用 PCR 缓冲液快速制备水稻 DNA 模板的方法 [J]. *分子植物育种*, 2015, 13 (2): 438-442.
- TIAN M X, ZHANG S L, YU B X, HE Y X, YE Y Z, LI X S. A method for rapid preparation of rice DNA template using PCR buffer [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2015, 13 (2): 438-442.
- [17] 罗天宽, 张小玲, 朱世徐, 徐谦, 裘波音, 卢华金, 杨文清, 唐征, 刘庆, 荆赞革, 吴海涛. 应用水稻叶片直接 PCR 扩增的方法 [J]. *分子植物育种*, 2015, 13 (11): 2590-2592.
- LUO T K, ZHANG X L, ZHI S Y, XU Q, QIU B Y, LU H J, YANG W Q, TANG Z, LIU Q, JING Z G, WU H T. Direct PCR amplification of rice leaves [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2015, 13 (11): 2590-2592.
- [18] 李惠珠, 陈仕军, 刘朝东, 陶计叁, 傅荣富, 王慧. 优质水稻品种江航丝苗的选育及栽培技术要点 [J]. *中国稻米*, 2018, 24 (6): 116-117.
- LI H Z, CHEN S J, LIU C D, TAO J S, FU R F, WANG H. Breeding and cultivation techniques of high quality rice variety Jianghang silk seedlings [J]. *China Rice*, 2018, 24 (6): 116-117.
- [19] 陈立凯, 黄明, 刘永柱, 王慧, 陈志强, 郭涛. 水稻开颖半不育突变体的观察、遗传分析和基因定位 [J]. *中国农业科学*, 2016, 49 (1): 1-13. doi:10.3864/j.issn.0578-1752.2016.01.001.
- CHEN L K, HUANG M, LIU Y Z, WANG H, CHEN Z Q, GUO T. Observation, Genetic analysis and gene mapping of semi-sterile mutants in rice [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2016, 49 (1): 1-13. doi:10.3864/j.issn.0578-1752.2016.01.001.
- [20] 张菊平, 张长远, 张树珍. 苦瓜基因组 DNA 提取和 RAPD 分析 [J]. *广东农业科学*, 2002 (4): 18-20. doi:10.16768/j.issn.1004-874X.2002.04.008.
- ZHANG J P, ZHANG C Y, ZHANG S Z. Genomic DNA extraction and RAPD analysis of *Momordica charantia* [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2002 (4): 18-20. doi:10.16768/j.issn.1004-874X.2002.04.008.
- [21] 孙川, 陈刚, 饶玉春, 张光恒, 高振宇, 刘坚, 鞠培娜, 胡江, 郭龙彪, 钱前, 曾大力. 水稻基因组 DNA 简易制备方法 [J]. *中国水稻科学*, 2010, 24 (6): 677-680. doi:10.3969/j.issn.1001-7216.2010.06.021.
- SUN C, CHEN G, RAO Y C, ZHANG G H, GAO Z Y, LIU J, JU P N, HU J, GUO L B, QIAN Q, ZENG D L. Simple preparation method of rice genomic DNA [J]. *China Rice Science*, 2010, 24 (6): 677-680. doi:10.3969/j.issn.1001-7216.2010.06.021.
- [22] 孙川. 水稻基因组 DNA 简易制备方法研究以及分子标记辅助选择改良稻米品质 [D]. 扬州: 扬州大学, 2010. doi: 10.7666/dy1701963.
- SUN C. Simple preparation method of rice genomic DNA and molecular marker-assisted selection to improve rice quality [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2010. doi:10.7666/dy1701963.
- [23] 邓力超, 邱道寿, 屠乃美, 谭铭喜, 张振臣, 陈俊标, 李淑玲, 王泽清. PVP 对烟草基因组 DNA 提取的影响 [J]. *广东农业科学*, 2009 (5): 37-39, 57. doi:10.16768/j.issn.1004-874X.2009.05.017.
- DENG L C, LIU D S, TU N M, TAN M X, ZHANG Z C, CHEN J B, LI S L, WANG Z Q. Effects of PVP on the extraction of tobacco genomic DNA [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2009 (5): 37-39, 57. doi:10.16768/j.issn.1004-874X.2009.05.017.
- [24] 魏琦超, 畅丽萍, 周岩, 宫俊丽, 王慧娟. 一种简便实用的玉米干种子基因组 DNA 提取方法 [J]. *广东农业科学*, 2009 (6): 165-167. doi: 10.16768/j.issn.1004-874X.2009.06.052.
- WEI Q C, CHANG L P, ZHOU Y, GONG J L, WANG H J. A simple and practical method for extracting genomic DNA from dried corn seeds [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2009 (6): 165-167. doi:10.16768/j.issn.1004-874X.2009.06.052.
- [25] 赵国珍, 贾育林, 严宗卜, CHRISTOPHER W DEREN, MELISSAH JIA, 戴陆园. 一种高效便捷的水稻 DNA 提取法及其应用 [J]. *中国水稻科学*, 2012, 26 (4): 495-499. doi:10.3969/j.issn.1001-7216.2012.04.016.
- ZHAO G Z, JIA Y L, YAN Z B, CHRISTOPHER W D, MELISSAH JIA, L Y. An efficient and convenient method for rice DNA extraction and its application [J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2012, 26 (4): 495-499. doi:10.3969/j.issn.1001-7216.2012.04.016.

(责任编辑 邹移光)

丁迪云, 陈卫东, 陈杰雄, 王刚, 吴林瑛, 陈三有, 李品红. 狼尾草属牧草品种比较试验 [J]. 广东农业科学, 2019, 46(8): 8-13.

狼尾草属牧草品种比较试验

丁迪云¹, 陈卫东¹, 陈杰雄¹, 王刚¹, 吴林瑛¹, 陈三有², 李品红²

(1. 广东省农业科学院动物科学研究所, 广东 广州 510640;

2. 广东省畜牧技术推广总站, 广东 广州 510500)

摘要: 【目的】综合掌握适于本地种植的牧草种质资源品种, 优化牧草品种推广策略。【方法】通过对7个狼尾草属牧草品种进行田间种植试验, 比较其产草量和营养成分。【结果】热研4号王草的产草量最高, 每小区达到329.67 kg, 与其他品种差异显著, 矮象草株高及产量均为最低; 紫茎象草和优质象草粗蛋白含量较高, 分别为8.01%和7.83%, 其他品种介于6%~7%之间; 桂牧1号杂交象草粗纤维含量最高为33.68%, 其他品种介于29%~32%之间。【结论】结合产草量及营养成分分析结果, 建议主要狼尾草属牧草品种在本地推广利用顺序依次为热研4号王草、桂闽引象草、优质象草、桂牧1号杂交象草、华南象草、紫茎象草、矮象草。在实际生产中, 可结合不同需求, 因地制宜种植相应品种。

关键词: 狼尾草; 品种; 产草量; 营养价值; 推广

中图分类号: S543+.9

文献标志码: A

文章编号: 1004-874X(2019)08-0008-06

Comparative Test on Forage Grass Cultivars of *Pennisetum*

DING Diyun¹, CHEN Weidong¹, CHEN Jiexiong¹, WANG Gang¹, WU Linying¹, CHEN Sanyou², LI Pinhong²

(1. Institute of Animal Science, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China;

2. Guangdong General Station of Animal Husbandry Technology Extension, Guangzhou 510500, China)

Abstract: 【Objective】The study tried to have a comprehensive understanding of the forage germplasm resources suitable for local cultivation and to optimize the promotion strategy of forage species. 【Method】Through field-planting trial, the yield and nutritional components of 7 main forage grass cultivars were compared. 【Result】The *P.purpureum* × *P.typhoideum* cv Reyan No.4 had highest grass yield, with a yield of up to 329.67 kg each plot, which was significantly different compared with other cultivars. And the *P.purpureum* had lowest plant height and yield. The contents of crude protein was higher in *P.purpureum* Schumach and *P.purpureum* Schumab cv. Purple compared with that of others (6%~7%), with the contents of 8.01% and 7.83%, respectively. The content of crude fiber of *P.purpureum* cv. Guimu No.1 was 33.68%, and those of others were 29%~32%. 【Conclusion】Combined with the analysis results of the production and nutritional components, it is suggested that the local promotion and utilization order for the main forage grass cultivars of *Pennisetum* is: *P.purpureum* × *P.typhoideum* cv. Reyan No.4, *P.purpureum* Schum. cv. Guiminyin, *P.purpureum* Schumach, (*P.americanum* × *P.purpureum*) × *P.purpureum* cv. Guimu No.1, *P.purpureum* cv. Huanan, *P.purpureum* Schumab cv. Purple, *P.purpureum*. In practical production, different varieties can be planted according to different needs.

Key words: *Pennisetum*; cultivar; yield; nutritional value; promotion

收稿日期: 2019-05-07

基金项目: 广东省科技计划项目(2014A020208098)

作者简介: 丁迪云(1964—), 男, 硕士, 高级畜牧师, 研究方向为草牧业研究与开发, E-mail: dingdiyun@

gdlaas.cn

【研究意义】随着生活水平的提高,人们对食物的要求也从“价廉”转向“物美”,在选择肉的种类上,人们的观念开始改变,草食动物产品的消费比例逐年上升^[1]。全国牛羊肉产量占肉类总产量的14.8%,广东省仅为2.06%,远低于平均水平^[2]。发达国家畜牧业产值的50%以上是由牧草转化而来的,加快草牧业发展,不仅是农牧民增收致富的重要途径,农业供给侧结构性改革的重要内容,也是保护生态文明、建设绿水青山的重要举措。牧草品种种质资源的研究是草业研究的基础,从1981年开始,广东省从国内外引进的大量牧草品种中筛选出了一批适宜在广东种植的优良品种,包括柱花草属系列品种、卡松古鲁狗尾草、宽叶雀稗、大翼豆、新银合欢、象草等,最近又成功引进了杂交狼尾草、皇草(王草)、黑麦草等^[3]。

【前人研究进展】狼尾草属(*Pennisetum spp.*)牧草为禾本科多年生部分一年生草本植物根系发达,分蘖能力强,再生性好,生长快速,生物量大,喜温暖、湿润的气候条件,对土壤的要求不高,一般无病虫害,具有很强的无性繁殖能力和很高的利用价值^[4]。狼尾草主要分布于热带和亚热带,全世界约有140个种^[5],我国有15种(包括引种),在南方地区均有栽培^[6]。国内审定的狼尾草属牧草品种主要有杂交狼尾草(*P. americanum* × *P. purpureum*)、华南象草(*P. purpureum* cv. *Huanan*)、海南多穗狼尾草(*P. polystachyon* (Linn) Schult. cv. *hainan*)、热研4号王草(*P. purpureum* × *P. typhoideum* cv. *Reyan* No.4)、桂牧1号杂交象草(*P. Americanum* × *P. purpureum*) × *P. purpureum* cv. *Guimu* No.1)、桂闽引象草(*P. purpureum* Schum. cv. *Guiminyin*)、紫茎象草(*P. purpureum* Schumab cv. *Purple*)等^[7]。

【本研究切入点】近年来狼尾草属牧草的研究多集中在分子生物学研究方面,主要包括利用RFLP、SSR、SRAP等分子标记技术进行品种间遗传多样性分析、分子鉴定、遗传关系聚类分析,以及相关特异性功能基因的序列分析等^[8-14]。栽培生理与利用技术方面,主要有生理特性、重金属胁迫已耐受性、营养与施肥特性等方面^[15-19],研究的方向相对专一细化。本研究从推广利用的角度,为对适于本地种植的牧草种植资源品种有一定的综合掌握,开展多种优良狼尾草属牧草品种种植比较试验。【拟解决的关键问题】通过品种比较试验,掌握本地表现质优量高的牧草品种,

为广东省草地畜牧技术下乡、服务三农工作提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验于2016、2017年在广州市白云区钟落潭镇的广东省农业科学院白云试验基地进行,试验地(23° 17' N', 113° 23' E)土壤类型为砂壤,含全氮1.13 g/kg、铵态氮69.39 mg/kg、速效磷(纯P)65.60 mg/kg、速效钾(纯K)67.24 mg/kg、有机质21.4 g/kg^[20]。

参试7个狼尾草属牧草品种分别为华南象草、优质象草、热研4号王草、桂牧1号杂交象草、桂闽引象草、紫茎象草、矮象草(部分参试品种由广西畜牧研究所和广西牧草工作站提供)。

1.2 试验方法

试验设7个处理,每个品种为一个处理,3次重复,随机区组排列,小区面积20.4 m²(长12 m,宽1.7 m),周围设保护行。牧草种植株行距为55 cm × 60 cm,每穴扦插1根种茎(两个芽节)。播种后在苗高15~20 cm时进行补苗,之后进行中耕、除草、施肥(分别在苗期和刈割1周后施用复合肥300 kg/hm²)等日常管理。

2016年进行两次产量测定(小区全面积测产),2017年进行3次产量测定(小区全面积测产),并由广东省农业科学院农产品公共监测中心对相关品种进行营养成分测定。

试验数据采用Excel 2010进行基础整理及作图,采用SPSS17.0进行单因素方差分析,并用LSD、Duncan进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 供试狼尾草属牧草品种产草量

从表1可以看出,热研4号王草产草量最高,2016、2017年每小区产草量分别为185.5、329.67 kg,与其他品种差异显著;其次是桂闽引象草,2016、2017年每小区产草量分别为169.67、311.33 kg,与其他品种差异显著;优质象草、华南象草、桂牧1号杂交象草产量再次之,3者间差异不显著;紫茎象草和矮象草产量较低,且以矮象草最低,2016、2017年每小区产量分别为59.83、125.67 kg,与其他品种差异显著。整体来看,2016年和2017年的试验结果基本一致。

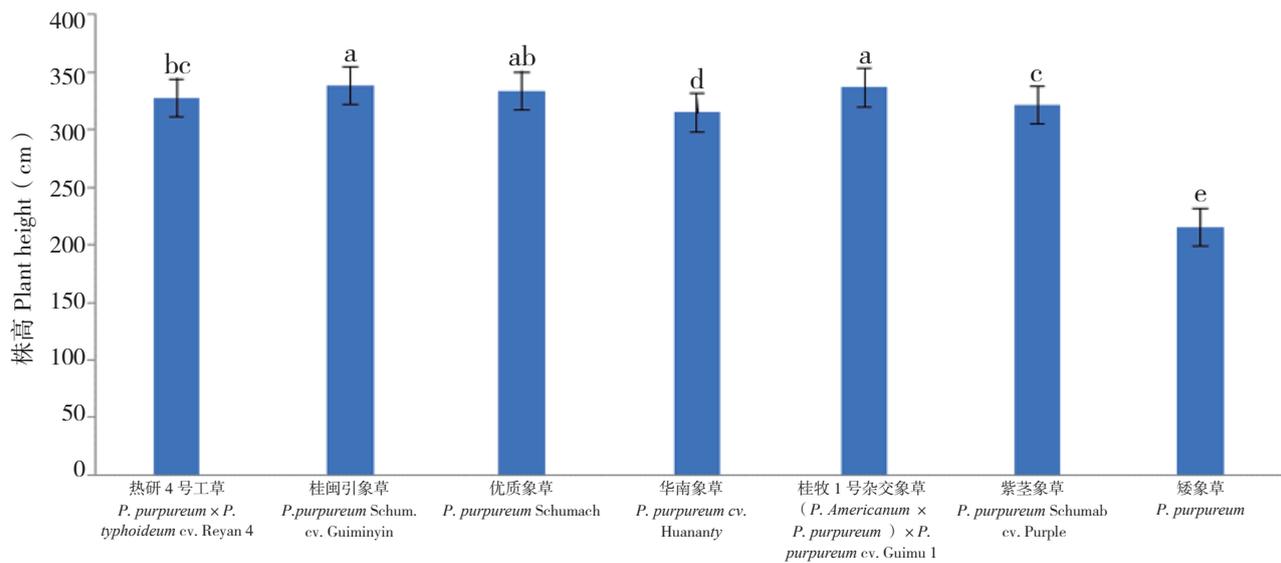
由图1可知,桂闽引象草植株最高为338.33

表 1 狼尾草属牧草品种比较试验产草量 (kg)
Table 1 Comparative test on yield of forage grass cultivars of *Pennisetum* (kg)

品种 Variety	2016 年		2017 年	
	小区产量 Plot yield	折公顷产量 Yield per hectare	小区产量 Plot yield	折公顷产量 Yield per hectare
热研 4 号王草 <i>P. purpureum</i> × <i>P. typhoideum</i> cv. Reyan 4	185.50 ± 1.87a	90931	329.67 ± 26.57a	161601
桂闽引象草 <i>P. purpureum</i> Schum. cv. Guiminyin	169.67 ± 3.49b	83170	311.33 ± 12.83b	152614
优质象草 <i>Pennisetum purpureum</i> Schumach	162.83 ± 3.49c	79820	281.5 ± 25.13c	137990
华南象草 <i>P. purpureum</i> cv. Huanan	158.17 ± 2.48d	77533	266.33 ± 32.28c	130556
桂牧 1 号杂交象草 (<i>P. Americanum</i> × <i>P. purpureum</i>) × <i>P. pur-pureum</i> cv. Guimu 1	155.67 ± 1.78d	76307	254.17 ± 21.03c	124592
矮象草 <i>P. purpureum</i>	117.17 ± 2.68e	57435	190.67 ± 18.83d	93464
	59.83 ± 2.68f	29330	125.67 ± 19.47e	61601

注：同列数据后小写英文字母不同者表示差异显著。

Note: Different lowercase letters in the same column represent significant differences.



柱状上小写英文字母不同者表示差异显著

Different lowercase letters represent significant differences

图 1 狼尾草属牧草品种株高比较 (2016)

Fig. 1 Comparison of plant height of forage grass cultivars of *Pennisetum* (2016)

cm, 其次为桂牧 1 号杂交象草和优质象草, 三者之间差异不显著; 矮象草株高最矮为 215.00 cm, 与其他品种差异显著。

2.2 供试狼尾草属牧草品种营养成分含量

从 7 个狼尾草属牧草品种的营养成分测定结果 (表 2) 可以看出, 紫茎象草和优质象草的粗蛋白质含量较高、分别为 8.01% 和 7.83%, 其次是桂闽引象草、桂牧 1 号杂交象草、热研 4 号

王草和矮象草, 介于 6%~7% 之间 (热研 4 号王草调整干物质为 90% 时, 则其粗蛋白质含量为 6.16%), 华南象草粗蛋白质含量最低; 粗脂肪含量以优质象草最高为 1.82%, 桂闽引象草最低为 1.03%, 其他品种介于 1.47%~1.74% 之间; 粗纤维含量以桂牧 1 号杂交象草最高为 33.68%, 其他品种介于 29%~32% 之间, 较接近 (调整干物质为 90% 时, 则其粗纤维含量都高于 29%);

Ca 含量以热研 4 号王草和华南象草较高、分别为 0.37% 和 0.36%，其次是紫茎象草和矮象草、分别为 0.33% 和 0.32%，再次是桂牧 1 号杂交象草和优质象草、分别为 0.28% 和 0.26%，桂闽引象草最低、为 0.21%；总 P 含量以矮象草最高、为 0.21%，其次是桂闽引象草和紫茎象草，分别为 0.18% 和 0.17%，其他品种介于 0.11%~0.15% 之间；粗灰分

含量以矮象草和紫茎象草较高、分别为 6.73% 和 6.54%，其他哦林中介于 5.46%~5.66% 之间。

3 讨论

2016、2017 年进行的狼尾草属牧草品种比较试验结果表明，热研 4 号王草的产草量最高，与

表 2 狼尾草属牧草品种营养成分测定结果 (%)

Table 2 Determination results of nutritional ingredients of forage grass cultivars of *Pennisetum*

品种 Variety	收割长度 (cm) Harvesting length (cm)	干物质 Dry matter	粗蛋白 Crude protein	粗脂肪 Crude fat	粗纤维 Crude fibre	钙 Ca	总磷 Total P	粗灰分 Ash
热研 4 号王草 <i>P. purpureum</i> × <i>P. typhoideum</i> cv. Reyan 4	320	81.4	5.57	1.65	26.77	0.37	0.12	5.46
桂闽引象草 <i>P. purpureum</i> Schum. cv. Guiminyin	348	84.9	6.61	1.03	27.68	0.21	0.18	5.60
优质象草 <i>P. purpureum</i> Schumach	335	90.8	7.83	1.82	31.83	0.26	0.15	5.66
华南象草 <i>P. purpureum</i> cv. Huanan	314	89.2	4.44	1.56	31.56	0.36	0.11	5.62
桂牧 1 号 (<i>P. americanum</i> × <i>P. purpureum</i>) × <i>P. purpureum</i> cv. Guimu 1	348	92.0	6.60	1.66	33.68	0.28	0.12	5.47
紫茎象草 <i>P. purpureum</i> Schumab cv. Purple	321	90.2	8.01	1.47	29.39	0.33	0.17	6.54
矮象草 (213) <i>P. purpureum</i>	213	87.6	5.92	1.74	28.47	0.32	0.21	6.73

其他品种差异显著；其次是桂闽引象草，产草量亦与其他品种差异显著；再次是优质象草、华南象草、桂牧 1 号杂交象草，三者相互之间差异不显著；紫茎象产草量较低，最低是矮象草，这与其本身的生物学特性一致，也显示出株高是影响狼尾草属牧草品种产量的重要因素。

但即使产草量最高的热研 4 号王草，2016、2017 年总产量分别为 90 931、161 601 kg/hm²，总体偏低。主要原因在于试验地土质偏沙、偏瘦，也没有使用有机肥，且由于该批牧草为 C4 植物，水、肥、热条件对其产量和质量影响较大，如在有粪污排放的养殖场（如养牛场）或鱼塘周边种植会取得较高产量；另外，刈割次数偏少，没有适时刈割也是一个重要原因。王草一般产量可达 225 000 kg/hm²，根据原华南农业大学奶牛场承包种植牧草（当时是种植华南象草）的工人介绍，奶牛场的肥水全部用于牧草生产，每年草场可以刈割 6~8 次，鲜草产量可达 450 000 kg/hm²。

从狼尾草属牧草营养成分测定结果来看，紫茎象草和优质象草粗蛋白质含量较高，分别为 8.01% 和 7.83%；其次是桂闽引象草、桂牧 1 号杂交象草、热研 4 号王草和矮象草，介于 6%~7% 之间，与最高值之间有 2% 左右的极差；华南象草粗蛋白质含量最低。粗纤维含量以桂牧 1 号杂交象草最高、为 33.68%，其他品种介于 29%~32% 之间，比较接近（调整干物质为 90% 时，则其粗纤维含量都高于 29%）。

从测定结果来看，营养成分明显偏低。这主要有两方面原因：一是在刈割时候植株明显老化，木质化较严重，影响了质量；二是肥水管理不到位，也在一定程度影响了质量。王草株高在 1.8~2.0 m 时收割，干物质粗蛋白为 11.84%；株高在 1.0 m 以下时收割，干物质粗蛋白高达 18.06%^[21]。另外，氮肥对王草的产量和品质有显著的促进作用，王草的干质量、株高、叶绿素 SPAD 值、含氮量和粗蛋白含量都与施氮量呈正相关，全磷、全钾、粗纤维含量与施氮量呈负相关^[22]。

4 结论

粗蛋白和粗纤维含量是判断牧草营养价值的重要指标,但从现实角度,产草量仍然是推广应用的首要因素,株高可以作为牧草生长特性的参考。主要狼尾草属牧草品种在本地推广利用可参考牧草生长特性和营养成分分析结果,建议推广牧草排名依次为热研4号王草、桂闽引象草、优质象草、桂牧1号杂交象草、华南象草、紫茎象草、矮象草。生产中可根据需要,结合不同品种自身特性,比如紫茎象草在环境绿化、美化方面有特色,矮象草在放牧场地和草山草坡改良方面有突出表现,综合其产量和质量选择适于种植的狼尾草属牧草品种。

参考文献 (References) :

- [1] 丁迪云,王刚,刘志昌,容庭,陈三有,李品红.广东草业发展模式及其效益分析[J].草业与畜牧,2016,228(5):8-13. doi: 10.3969/j.issn.1673-8403.2016.05.002.
DING D Y, WANG G, LIU Z C, RONG T, CHEN S Y, LI P H. The grass industry development model and its efficiency analysis of Guangdong Province [J]. *Journal of Grassland and Forage Science*, 2016, 228 (5): 8-13. doi: 10.3969/j.issn.1673-8403.2016.05.002.
- [2] 胡民强.广东草地畜牧业发展现状、潜力与对策//中国草业发展论坛论文集[C].广州:中国草学会,2006:196-199.
HU M Q. The Guangdong grassland animal husbandry development status, potential and strategy//Symposium on China grassland development forum [C]. Guangzhou: Chinese Grassland Society, 2006:196-199.
- [3] 丁迪云,杨贤智,罗建民,陈三有.广东农区草业的发展前景及对策[J].广东农业科学,1995(5):42-44.
DING D Y, YANG X Z, LUO J M, CHEN S Y. The development prospect and strategy of Guangdong Grassland [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 1995 (5): 42-44.
- [4] DURGESH K T, DEVENDRA K C, DHARMENDRA K, SHYTENDRA P T. Morphology, diversity and frequency based exploration of phytoliths in *Pennisetum typhoides* Rich [J]. *Research Article*, 2012, 35 (4): 285-289. doi: 10.1007/s40009-012-0050-x.
- [5] 陈卢亮.我国狼尾草属牧草主栽品种特性介绍[J].中国奶牛,2012,36(3):5-8. doi:10.3969/j.issn.1004-4264.2012.03.002.
CHEN L L. Introduction on the property of genus *Pennisetum* main cultivars in China [J]. *China Dairy Cattle*, 2012, 36 (3): 5-8. doi: 10.3969/j.issn.1004-4264.2012.03.002.
- [6] 陈志彤,何水林,黄毅斌.狼尾草属牧草研究进展[J].草地学报,2010,18(5):740-748. doi:10.11733/j.issn.1007-0435.2010.05.024.
CHEN Z T, HE S L, HUANG Y B. Progress in research on the genus *Pennisetum* [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2010, 18 (5): 740-748. doi: 10.11733/j.issn.1007-0435.2010.05.024.
- [7] 王文强,周汉林,唐军.狼尾草属牧草研究及利用进展[J].热带农业科学,2018,38(6):49-55,78. doi: 10.12008/j.issn.1009-2196.2018.06.011.
WANG W Q, ZHOU H L, TANG J. Research advances on development and utilization of forage of *Pennisetum spp* [J]. *Chinese Journal of Tropical Agriculture*, 2018, 38 (6): 49-55, 78. doi: 10.12008/j.issn.1009-2196.2018.06.011.
- [8] 石秀兰,陈平,于得水,韩瑞宏,刘萍.狼尾草属优质牧草 SRAP 遗传多样性分析与指纹图谱构建[J].广东农业科学,2018,45(10):55-60. doi: 10.16768/j.issn.1004-874X.2018.10.009.
SHI X L, CHEN P, YU D S, HAN R H, LIU P. Analysis of genetic diversity and construction of fingerprint of *Pennisetum* by SRAP [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2018, 45 (10): 55-60. doi: 10.16768/j.issn.1004-874X.2018.10.009.
- [9] 刘伟民,乔良普.狼尾草属牧草遗传多样性的 RAPD 分析[J].山东畜牧兽医,2016,37(5):5-7. doi: 10.3969/j.issn.1007-1733.2016.05.003.
LIU W M, QIAO L P. Analysis of genetic diversity of *Pennisetum* by SRAP [J]. *Shandong Journal of Animal Science and Veterinary Medicine*, 2016, 37 (5): 5-7. doi: 10.3969/j.issn.1007-1733.2016.05.003.
- [10] 叶健军,林洁荣,焦文静,陈碧成.福建省狼尾草属种质资源 RAPD 鉴定分析[J].广东农业科学,2015,42(7):128-132. doi: 10.16768/j.issn.1004-874x.2015.07.018.
YE J J, LIN J R, JIAO W J, CHEN B C. RAPD analysis of genetic diversity of *Pennisetum* germplasm resources in Fujian [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2015, 42 (7): 128-132. doi: 10.16768/j.issn.1004-874x.2015.07.018.
- [11] 林雄杰,范国成,林冬梅,林辉,胡茜青,鲁国东,林占熿.6份狼尾草属菌草的 ITS 和叶绿体 matK 序列分析[J].福建农林大学学报(自然科学版),2015,44(2):174-180. doi: 10.13323/j.cnki.j.fafu(nat. sci.).2015.02.012.
LIN X J, FAN G C, LIN D M, LIN H, HU H Q, LU G D, LIN Z X. Sequence analysis on ITS and chloroplast matK gene of six *Pennisetum* JUNCAO [J]. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition)*, 2015, 44 (2): 174-180. doi: 10.13323/j.cnki.j.fafu(nat. sci.).2015.02.012.
- [12] 梅嘉滔,黄小霞,王咏,朱美兰,林辉,阳宴清,卢运海.46份菌草种质资源 PEPC 基因的 PCR-RFLP 多样性分析[J].热带农业科学,2015,35(11):45-50. doi:10.3969/j.issn.1009-2196.2015.11.009.
MEI J M, HUANG X X, WANG Y, ZHU M L, LIN H, YANG Y Q, LU Y H. Polymorphism analysis of PEPC gene family among 46 Juncao germplasm by PCR-RFLP [J]. *Chinese Journal of Tropical Agriculture*, 2015, 35 (11): 45-50. doi: 10.3969/j.issn.1009-2196.2015.11.009.
- [13] 张怀山,夏曾润,栗孟飞,王春梅,杨世柱.中型狼尾草种质资源遗传多样性的 ISSR 分析[J].西北植物学报,2014,34(2):256-264. doi: 10.7606/j.issn.1000-4025.2014.02.0256.
ZHANG H S, XIA Z R, LI M F, WANG C M, YANG S Z. Genetic

- diversity of *Pennisetum lonissimum* var. intermedium germplasm resources using ISSR marks [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2014, 34 (2): 256-264. doi: 10.7606/j.issn.1000-4025.2014.02.0256.
- [14] 姚运法, 洪建基, 曾日秋. 狼尾草遗传多样性 SRAP 分析 [J]. 甘肃农业大学学报, 2013, 48 (4): 105-109. doi: 10.13432/j.cnki.jgsau.2013.04.021.
- YAO Y F, HONG J J, ZENG R Q. SRAP analysis on genetic diversity of *Pennisetum* [J]. *Journal of Gansu Agricultural University*. 2013, 48 (4): 105-109. doi: 10.13432/j.cnki.jgsau.2013.04.021.
- [15] 邵将, 陈瑶, 刘大林, 陈鸣晖, 吴亚, 黄玉婷. 硅对镉胁迫下不同狼尾草属牧草生理代谢的影响 [J]. 草地学报, 2018, 26 (5): 1223-1228. doi: 10.11733/j.issn.1007-0435.2018.05.001.
- SHAO J, CHEN Y, LIU D L, CHEN H H, WU Y, HUANG Y T. Effects of silicon on the physiological metabolism of different *Pennisetum* species under cadmium stress [J]. *Acta agrestia sinica*, 2018, 26 (5): 1223-1228. doi: 10.11733/j.issn.1007-0435.2018.05.001.
- [16] 杨佩, 文昭竹, 毕金鹏, 唐兴家, 胡锦勤, 张志飞. 耐酸铝狼尾草种质资源的筛选 [J]. 中国草地学报, 2014, 36 (5): 58-63.
- YANG P, WEN Z Z, BI J P, TANG X J, HU J Q, ZHANG Z F. Screening germplasm materials of *Pennisetum* for acid-aluminum tolerance [J]. *Chinese Journal of Grassland*. 2014, 36 (5): 58-63.
- [17] 张宇. 王草营养特性与优化施肥研究 [D]. 海口: 海南大学, 2011.
- ZHANG Y. Study on Nutritive Characteristics and Optimum Application of Kinggrass [J]. Haikou: Hainan University, 2011.
- [18] 邱崇洋, 杨炯超, 郭和蓉, 卢小良, 解新明. 8 种狼尾草属植物的生长性状比较分析 [J]. 中国农学通报, 2013, 29 (6): 97-101. doi: 10.3969/j.issn.1000-6850.2013.06.018.
- QIU C Y, YANG J C, GUO H R, LU X L, XIE X M. The comparative analysis on growth characteristics of eight kinds of *Pennisetum alopecuroides* [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2013, 29 (6): 97-101. doi: 10.3969/j.issn.1000-6850.2013.06.018.
- [19] 黄水珍, 谢善松. 闽北红壤山地狼尾草属牧草对比试验 [J]. 江西农业学报, 2012, 24 (10): 30-31, 35. doi: 10.19386/j.cnki.jxnyxb.2012.10.009.
- HUANG S Z, XIE S S. Contrast test of *Pennisetum* on hilly red soil in North Fujian [J]. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2012, 24 (10): 30-31, 35. doi: 10.19386/j.cnki.jxnyxb.2012.10.009.
- [20] 张水清, 钟旭华, 黄农荣, 吕国安. 稻草覆盖还田对华南双季晚稻物质生产和产量的影响 [J]. 中国水稻科学, 2011, 25 (3): 284-290. doi: 10.3969/j.issn.1001-7216.2011.03.009.
- ZHANG S Q, ZHONG X H, HUANG N R, LV G A. Effects of straw mulching on dry matter production and grain yield of double cropping late-season rice (*Oryza sativa*) in South China [J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2011, 25 (3): 284-290. doi: 10.3969/j.issn.1001-7216.2011.03.009.
- [21] 丁迪云. 高产牧草王草青贮在奶牛生产中的应用 [J]. 广东畜牧兽医科技, 2015 (6): 7-9. doi: 10.3969/j.issn.1005-8567.2015.06.003.
- DING D Y. Application of king grass silage in dairy industry [J]. *Guangdong Journal of Animal and Veterinary Science*, 2015 (6): 7-9. doi: 10.3969/j.issn.1005-8567.2015.06.003.
- [22] 李威, 温翠平, 漆智平, 唐树梅. 施氮水平和方式对王草生产特性和品质的影响 [J]. 草业科学, 2012, 29 (8): 1262-1271.
- LI W, WEN C P, QI Z P, TANG S M. Effects of different N fertilization models and rates on the production and quality of kinggrass [J]. *Pratacultural Science*, 2012, 29 (8): 1262-1271.

(责任编辑 邹移光)