

作物育种研究与进展

主 编 刘后利
副主编 吴兆苏
米景九

东南大学出版社

作物育种研究与进展

(第2卷)

主 编 刘后利

副主编 吴兆苏 米景九

东南大学出版社

(苏)新登字第 012 号

内 容 简 介

本卷集中刊载有专题论文 16 篇, 涉及具有中国特色的湖北光敏感核不育水稻研究, 水稻广亲和性研究, 小麦品质遗传改良和杂种优势利用研究, 大麦、高粱、谷子遗传育种和杂种优势利用研究, 新疆长绒棉和甘蓝型油菜的育种和杂种优势利用研究, 芝麻品种资源和黄麻遗传育种研究, 甘蔗育种和品种繁育, 农作物的辐射育种, 以及在作物遗传育种中采用的相关分析和试验设计。

责任编辑: 是雅蓓 钱俊秋

作物育种研究与进展

主 编 刘后利

副主编 吴兆苏 米景九

*

东南大学出版社出版发行

(南京四牌楼 2 号 邮编 210018)

南京航空航天大学飞达印刷厂印刷

*

开本 787×1092 毫米 1/16 印张: 17 字数: 413 千

1994 年 4 月第 1 版 1994 年 4 月第 1 次印刷

印数: 1—1000 册

ISBN 7-81023-887-6/S·27

定价: 25.00 元

(凡因印装质量问题, 可直接向承印厂调换)

前 言

中国是很多栽培植物或农作物的原产地,据中国学者卜慕华(1981, 1991)和刘后利(1984)考证,水稻、大豆、谷子(粟)、芝麻、白菜、芥菜、白菜型油菜、芥菜型油菜、香菇、茶树、桃、蜜柑、枣、桑、荔枝、龙眼、枇杷等20余种作物均原产于中国,或者中国是它们的起源中心之一;其中如大豆、茶树、桑树、枇杷等几种作物,中国是它们的单一起源中心,也就是说中国是它们唯一的起源地,并由此分布到世界各地的。中国学者对这些作物以及由此衍生的旁系或枝系,都曾进行了大量研究工作,积累了大量科学资料,有些已在国内外专业书刊上发表,有些尚未见诸报道。

为了总结和宣扬建国40年来中国作物遗传育种科学及其相关学科的科学成就,我们先后组织了中国作物遗传育种学科及其相关基础学科的一些著名专家教授,分别编撰了各项专题的学术论文,它涉及的内容非常广泛,如栽培植物(含草本到木本植物)的生态分类、种质资源、起源进化、遗传育种和生理育种、辐射育种、品质改良、杂优利用、细胞遗传、数量遗传、分子遗传、生物统计、相关回归、试验设计和电脑应用以及细胞工程、染色体工程、基因工程等方面。它综合地阐述了作物科学在遗传育种科学领域里的研究成就及其进展,特别是具有中国特色的各种作物的突出成就和在世界科学发展中的重要意义;它记载了中国学者在作物科学发展的历史长河中的足迹,也深入地介绍了他们在作物科学领域中的各种学术见解及其学术贡献,其中也包括了脱颖而出的中青年学者的学术成就。这些学术成就和贡献,可以鼓舞我国学者在改革开放的新时代里奋发图强,继续前进。在世界科学宝库里,中国学者必将而且应当在作物科学领域里作出更大贡献。

这部丛书现已编成三卷,第一卷除代序外,有科学论文15篇,由北京农业出版社出版;第二和第三卷各有16篇,由南京东南大学出版社出版。这些论文都是学有专长并闻名国内外的专家教授执笔,既概述了国内外有关学科的进展,也系统深入地陈述了在作物学科各个学术领域中的研究内容、研究方法和研究成就,因而每篇论文实质上代表了各个学科领域中的全貌,对从事作物学科的教学、科研和生产等方面都是不可缺少的重要图书。

编者

1993年12月

目 录

作物辐射诱变育种研究与进展	王琳清 (1)
湖北光敏核不育水稻光温特性研究	元生朝 张自国 (17)
水稻光敏雄性核不育性及两系杂交稻育种研究进展	李泽炳 (32)
水稻广亲和基因的研究与利用	邹江石 (51)
小麦品质遗传改良研究与进展	吴兆苏 (62)
小麦杂种优势利用研究与进展	范 濂 (74)
大麦遗传育种研究与进展	罗树中 (91)
高粱杂种优势利用研究与进展	张文毅 (109)
中国谷子遗传育种研究与进展	李荫梅 刁现民 (125)
新疆长绒棉育种研究与进展	张运生 邢振东 (142)
甘蓝型油菜杂种优势利用研究与进展	刘后利 傅廷栋 (155)
中国芝麻品种资源的研究与利用	陈翠云 (164)
黄麻遗传育种研究与进展	卢浩然 (179)
甘蔗育种与品种繁育	王鉴明 (192)
遗传育种中的性状相关分析法	高之仁 荣廷昭 (209)
植物育种中的试验设计	莫惠栋 (231)

作物辐射诱变育种研究与进展

王琳清

(中国农业科学院原子能利用研究所)

摘要 辐射能够诱发作物遗传基因突变,促进基因重组,是丰富作物遗传资源、选育优良品种的有效途径。本文阐述了作物诱变育种的主要成就和进展;提高诱变效率的方法技术及其基础,如作物的辐射敏感性,辐照亲本材料的正确选择,诱变因素及处理方法,突变体的鉴定筛选技术;诱发突变与生物技术结合解决诸如促成远缘杂交,诱导外源有益基因转移等的作用和效果。本文也叙述了诱发突变改良作物的发展前景。

关键词 作物改良;诱发突变;突变体;诱变剂(因素)

ADVANCES IN INDUCED MUTATIONS IN CROP BREEDING BY RADIATION

Wang Linqing

(Institution of Application of Atomic Energy,
Chinese Academy of Agricultural Sciences)

ABSTRACT Use of induced mutation generates greater genetic variability, promotes genetic recombination. A lot of successful examples of mutation induction have proved that mutation breeding is a profitable approach for crop improvement. The achievements made in the induced mutation of plants in China and abroad are described. Methods and techniques, such as the radiosensitivities of plants, the choice of appropriate initial materials for treatment, the physical mutagens used in connection with chemicals and the methods of identification and selection have been applied and remarkable advances have been made in the improvement of mutation efficiency in crop breeding. Combined use of mutation induction and in vitro biotechniques has been practiced to solve certain problem, e.g. to enhance wide-crosses and to introduce alien desired genes into receptor species. The prospects of induction mutation for crop improvement are described as well.

Key words crop improvement; induced mutations; mutants; mutagens

作物辐射诱变育种是近 30 多年来兴起的一门现代育种技术,也是核技术农业应用的重要组成部分,对提高育种效率,促进农业增产有着很大潜力。

1 辐射诱变育种的基本特点及其在作物改良中的地位

利用具有辐射能的各种射线(如 α 射线、 γ 射线、 β 射线、中子、电子束、离子束等)能够诱发基因突变、促进遗传基因重组,提高重组率,从而产生多种多样变异。其育种的主要特点是:(1)提高突变频率,扩大突变谱,创造新类型;(2)有效地改良作物品种的某些个别性状;(3)打破性状连锁,促进遗传基因重新组合。此外,近期不少研究还表明,辐射可使作物育性发生改变,在克服植物自交不育和杂交不亲和促成远缘杂交,实现外源基因转移方面有其特殊的作用和效果。

国内外育种实践证明,辐射诱变育种是获得新遗传资源、选育新品种、以及解决育种某些特殊问题的有效途径,是常规育种的有力补充;因其具有上述特点,因此又是常规育种难以取代的一种手段,在育种上占有重要地位。

辐射诱变育种存在的主要问题是:诱发产生的有益突变频率不够高,以及目前尚难有效地控制变异的方向和性质。因此在利用诱发突变选育品种的同时,还须进一步研究提高诱发突变育种效率的方法和技术及其诱变机理,不断提高诱变育种水平。

2 辐射诱变育种的发展和成就

2.1 世界各国辐射诱变育种的发展和成就

1927年H. J. Muller在第三届国际遗传会议上,论述了 α 射线能诱发果蝇产生大量多种类型的突变,并认为诱发突变将在植物改良上发挥重要作用。Stadler(1928)证明 α 射线和镭对玉米和大麦有诱变效应。Nilson-Ehle和Gustafsson(1930)利用辐射在大麦上获得了有实用价值突变体。1934年Tollenaar利用 α 射线诱变育成了第一个作物突变品种——烟草“Chlorina”。此后的20多年间,虽亦育成一些菜豆、豌豆、芥菜等作物突变品种,但成效不大;而在诱发突变的方法技术等应用基础问题上却进行了比较系统的研究。

60年代以来,随着原子核技术及其应用研究的发展,诱发突变在作物改良中的作用逐渐为人们所认识。1964年联合国粮农组织(FAO)/国际原子能机构(IAEA)联合处成立。60年代后期美国利用热中子辐照,首次育成了抗枯萎病的工业用薄荷品种Todd's Mitcham,控制了这种病害的严重危害;日本利用 γ 射线辐照育成了著名的矮秆抗倒伏、抗寒的高产水稻品种“黎明”,在北海道广泛种植;印度辐射育成生育期比原品种缩短150天早熟蓖麻品种Aruna。这些成就引起了世界各国育种家的重视。1969年FAO/IAEA联合处举办了国际植物突变育种培训班,出版发行了《突变育种手册》,组织了国际突变育种合作研究。这一年被认为是植物突变育种由基础性研究向实际应用的转折年。近20多年来植物辐射诱变育种发展迅速,取得了显著成就。

2.1.1 利用诱发突变改良植物的种和品种显著增加 据FAO/IAEA联合处A. Micke等(1990)不完全统计,截至1989年世界各国已在136种植物上育成推广了1330个品种(详见原文)。

利用辐射诱变改良植物的种比1981年(69种)增加了97.1%,比1988年(88种)增加

了 54.5%；由一年生禾谷类和豆类等扩大应用于油料、工业原料、果木、蔬菜、糖料、牧草以及热带、亚热带植物等。

突变品种的数量比 1975 年 (197 个) 增加 6.8 倍, 比 1981 年 (518 个) 增加 2.5 倍, 是 1987 年 (844 个) 的 157.6%。其中主要粮食作物 (水稻、小麦、大麦、玉米) 546 个, 油料作物 (大豆、花生、油菜) 63 个, 纤维作物 (棉花、黄麻、亚麻) 39 个, 共计 648 个, 约占作物突变品种 (852 个) 的 3/4。

2.1.2 优良突变品种的推广促进了农业增产 突变品种的育成和生产利用, 促进了农业生产, 取得了明显的经济和社会效益。例如前捷克斯洛伐克共和国 1965 年辐射育成分蘖力强、矮秆、高产、品质好的大麦优良品种 Daimant, 1972 年种植面积占该国大麦面积的 43%, 1965~1971 年间累计面积为 163.2 万 hm^2 , 增产大麦 1.468 亿 kg ; 在此后 1972~1989 的 18 年间, 又利用它作亲本在其国内和其他国家分别育成 27 个和 108 个新品种, 目前在全欧的种植面积达 256 万 hm^2 , 占大麦面积的 54.6%。

美国加利福尼亚州 1976 年利用辐射诱变获得了水稻 Sd-6 半矮秆突变基因, 育成矮秆品种 Calrose 76, 利用它作亲本在 1977~1987 年间又育成 9 个半矮秆优良品种, 这些品种的种植面积已由 1988 年占该州水稻面积的 58% 增加到 1989 年的 74%, 取得了很大的经济和社会效益。

意大利通心粉著称于世, 制作通心粉的硬粒小麦 10 个主栽品种都是由 Casaccia 核研究中心直接或间接利用突变体育成的。为首的 Creso 高产稳产品质好、适应性强, 是过去 12 年中种植面积最大的一个品种, 每年增产小麦 4.5 亿 kg , 使硬粒小麦生产达到自给, 年增加收益 1.8 亿美元, 相当于该国过去 15 年给予该项研究投资的 51.4 倍。

此外, 日本的水稻, 瑞典的大麦, 保加利亚的小麦、蔬菜和荷兰的花卉, 利用辐射诱变育种也均取得很大成就。

2.1.3 辐射诱发获得了大量遗传资源 目前世界各国已在多种植物上诱发获得了数以万计的各种类型的遗传资源。例如早熟、矮秆优良株型、抗病、抗虫、优质、抗旱和盐碱、雄性不育、育性恢复、高光效, 以及可满足育种某些特殊要求的突变等等。瑞典 1928 年开始, 以大麦为重点的突变育种研究, 除育成突变品种生产利用外, 获得了近万份突变种质资源, 对多种类型突变进行了系统的遗传、生理、生态、抗病虫性、农艺性状及育种利用价值的研究, 成效显著。优异的各种作物抗病资源及其他资源已先后分别在育种上利用, 育成优良品种在生产上推广。

2.1.4 开展诱变育种研究的国家增多, 取得成效, 并加强了国际间的合作与交流 近年来开展并取得明显育种成效的国家日益增多, 据 FAO/IAEA 1990 年资料取得诱变育种成效的国家依次为: 中国 (264)、印度 (196)、荷兰 (171)、前苏联 (96)、日本 (87)、德国 (86)、美国 (75)、前捷克斯洛伐克 (34)、巴西 (30)、法国 (28)、圭亚那 (26)、意大利 (23)、瑞典 (21)、比利时 (21)、保加利亚 (20)、加拿大 (19)、英国 (18)、象牙海岸 (16)、奥地利 (15)、波兰 (13)、巴基斯坦 (11)、芬兰 (10) 等等。

此外, 通过组织多种类型的国际的、区域性的协作研究; 每年举办植物突变育种培训班和专业进修; 召开国际学术会议; 选派专家进行专家服务; 定期或不定期的出版育种通讯和专题出版物, 有力地推动了突变育种在世界范围的发展。

2.2 中国辐射诱变育种的发展和成就

中国作物辐射诱变育种自 50 年代后期起步,经历了开拓创建时期(1956~1965)、逆境发展时期(1966~1975)、迅速发展(1976~1985)时期,现在已作为重要的育种途径进入稳步发展阶段。30 多年来取得了很大成就:

2.2.1 育成推广了大量新品种,效益显著 据 1989 年不完全统计,已在 29 种植物上育成 325 个优良品种。其中农作物 23 种,通过省级以上审定推广的品种 282 个。其中约 80% 是利用突变体直接选育而成的,用突变体作亲本杂交育成的占 20%。1985 年以来年种植面积稳定在 0.09 亿 hm^2 左右,比 1975 年增加 8 倍,比 1980 年增加近一倍。优良突变品种的利用价值提高,其中种植面积在 3.33 万 hm^2 以上 9 种作物品种有 78 个,著名的有水稻品种原丰早、浙辐 802,小麦的山农辐 63、棉花的鲁棉一号等。其中比原品种 IR8 早抽穗 45 天的水稻原丰早,解决了我国南方多熟制对水稻早熟的要求的问题,1975~1983 年间累计面积达 600 余万 hm^2 ;种植面积最大的棉花品种鲁棉一号,80 年代初年已超过 200 万 hm^2 ;对棉花增产曾起过重大作用;丰产优质的大豆品种“铁丰 18”曾占辽宁大豆面积的 2/3。全国利用辐射育成的突变品种,每年可为国家增产粮食 30~40 亿 kg,棉花 1.5~1.8 亿 kg,油料 0.5~0.75 亿 kg。因此,中国利用辐射诱变育成的品种数量(占世界各国作物突变品种的 1/3)、种植面积及取得的实际经济效益居世界各国之首。

2.2.2 辐射诱变获得了大量有价值的遗传资源 作物遗传资源的数量和质量决定作物育种的成就和水平。通过辐射诱变可以创造多种类型的突变遗传资源,对选育突破性品种具有重要意义。辐射诱变除获得上述品种外,还有生育期比原品种早熟 32 天的大豆哈-6222;比原品种早开花 51 天的彭阳早熟沙打旺;生育期 85 天、株高 80cm 的向日葵晋葵一号,株高 70cm 的小麦显性矮源辐矮一号;受一对隐性基因控制、株高约 40cm 的特矮秆水稻和抗白叶枯病的辐竹二;抗三种锈病和白粉病的小麦原冬 3 号;抗白背飞虱的水稻 M112;小麦雄性不育系 85EA;水稻恢复系辐恢 06 等。

目前全国已收集了 24 种植物 7 种类型(早熟、矮秆、抗病、优质、丰产、高光效等)840 个突变遗传资源,丰富了作物种质资源。对这些资源作了全面整理性鉴定,并对其中部分材料作了遗传分析。许多突变遗传资源已在作物育种上利用,近 10 多年来利用突变资源作亲本已育成 53 个品种(或杂交种),累计种植面积在 667 万 hm^2 以上。

2.2.3 研究体系、网络的形成促进诱变育种发展 目前全国各省、自治区、农业科学院大多设有原子能应用(或核农)研究所(室);全国成立了中国原子能农学会,创办了《核农学报》和《核农学通报》。21 个省、市成立了省市级原子能农学会。70 年代以来一直组织开展了全国性辐射育种协作研究及学术交流,有力地推动了辐射诱变育种的发展。

3 提高辐射诱变效率的方法和技术

辐射诱变改良作物从总体看,已进入成熟阶段,但目前存在的主要问题是:诱发有益突变的频率不高,难以控制变异的方向和性质。因此以提高诱变效率和选择效率为核心进行了比较系统的研究,以有效地改进诱变育种技术,提高诱变育种水平。

3.1 作物的辐射敏感性与诱变效率

辐射敏感性是评定植物对辐射作用最重要的指标之一,也是辐照处理原材料的选择和确定诱变剂量范围的重要依据。植物的辐射敏感性是指个体、组织、器官、细胞或细胞内含物对一定辐照剂量相对应的形态上和机能上的反应。以在一定辐照条件下,作物对射线作用后反应的强弱、反应时间的快慢来衡量;也常用产生一定的生物学效应需要的剂量大小来表示。

3.1.1 测定植物辐射敏感性的指标 在个体水平上,广泛采用半致死剂量(LD_{50}),即经辐照后植株存活率比未经辐照的减少一半的剂量;半致矮剂量(HD_{50}),即经辐照后植物幼苗高度比对照降低一半的剂量。近年来研究建立了以活力指数下降一半的剂量(VID_{50})为指标表示植物适宜辐照剂量的新方法,这种方法准确快速,克服了 LD_{50} 和生长势下降一半的剂量(GRD_{50})指标误差较大的缺点,使测定值更接近育种应用剂量。

活力指数(VI) = 幼苗生长势(S ,根长或第一叶长) × 发芽指数(Gi)

发芽指数(Gi) = $\frac{\sum Gi(\text{第 } t \text{ 天的发芽增值数})}{tD_i(\text{相应的天数})}$

$VI\% = \frac{VI(\text{辐照})}{VI(\text{对照})} \times 100\%$

按照多靶单击模型的公式 $Y = 1 - (1 - e^{-vD})^n$ 做出 $VI\%$ 剂量效应曲线,找出 VID_{50} 值。式中 Y 为某一指标产生辐射效应后的剩余值, D 为照射量, v 为敏感系数, n 为常数。

在细胞水平上,采用分裂间期细胞核体积(INV)及与其相应的染色体体积(ICV)的大小作为比较不同物种间辐射敏感性指标。比较品种间辐射敏感性多以植物根尖细胞或花粉母细胞各个分裂期染色体畸变类型(包括断片、着丝点、桥、微核等)和频率的高低来表示。研究表明,染色体畸变频率与微核细胞率有明显的对应关系,而且微核细胞易于观察识别,方法简便。因此,近年来对辐照后作物多采用以微核细胞率的高低,来判断植物的辐射敏感性。这些细胞学指标与上述个体生物学指标存活率高低相对应。

在分子水平上,DNA的含量与细胞核体积、辐射敏感性密切相关。因此多以DNA含量和植物辐照后DNA合成受抑制程度的高低,表示植物的辐射敏感性。赵孔南等(1992)还利用某些酶的酶谱变化来判断植物的辐射性强弱。

3.1.2 植物辐射敏感性差异 植物科间、属间、种间、品种间、类型间、器官和组织细胞间辐射敏感性存在很大差异。许多研究者对数以百计的植物作了辐射敏感性研究,一般认为十字花科植物(如油菜、芥菜、白菜等)对辐射有较大的耐受性。顾瑞琦(1986)研究表明,芥子碱普遍存在于十字花科植物中,它可对胸腺嘧啶起辐射保护作用;其次是禾本科作物(如水稻、小麦、玉米等)和豆科植物辐射敏感性较强。

植物的倍数性与辐射敏感性有关。不少研究表明,多倍体植物对辐射的抗性比二倍体的强,多倍体的诱发突变频率比二倍体要低得多,即倍性水平越低对辐射愈敏感。但也有研究认为倍性水平与植物辐射敏感性并不普遍存在这样的相关关系。

品种间和类型间的辐射敏感性差异可达2~3倍。水稻中,糯稻比粳稻敏感、粳稻比籼稻敏感,水稻又较陆稻敏感;大麦中,裸大麦比皮大麦敏感,六棱大麦比四棱和二棱大麦敏感;玉米杂交种对辐射的抗性比自交系的高。赵孔南等(1990)提出这种敏感性差异似与其进化的迟早有一定的关系。冯志杰等(1985、1990)采用农艺性状、细胞学、生物化学等多种指标及模糊聚类分析数学方法,研究了中国北方麦区小麦品种以及大麦品种的辐射敏感性差异,

并进行了科学分类,将其划分为极敏感型、敏感型、中间型、迟钝型和极迟钝型 5 类。品种的辐射敏感性基本遵从正态分布,辐射育成品种和农家品种在迟钝和极迟钝两类品种中所占的比例较大,杂交育成的品种大多数属敏感型和中间型。

品种的辐射敏感性受遗传控制。Ukai 等 (1980) 将大豆敏感型品种与迟钝型品种杂交,其 F_1 接近迟钝型, F_2 迟钝型和敏感型符合孟德尔的 3:1 分离规律,认为品种间的辐射敏感性差异是受一对等位基因控制,这对基因同时控制植物生长和染色体畸变。

不同器管、组织、细胞间辐射敏感性不同。一般情况下正在生长的部分比老熟的部分敏感性强。根比芽敏感;鳞茎、块茎比种子敏感。在各种组织中分生组织的敏感性最大;分生组织中性细胞的敏感性大于体细胞;性细胞中卵细胞敏感性大于花粉细胞,合子休眠期细胞最为敏感。离体培养组织中愈伤组织比种子敏感得多;花药愈伤组织又比体细胞愈伤组织敏感等。

不同生长发育时期辐射敏感性不同。生长旺盛期对辐射最敏感,生殖生长期比营养生长期敏感,开花期较幼苗期敏感,减数分裂期较幼穗形成期敏感,雄配子发育时期的辐射敏感性依序为减数分裂期>单核期>二核期>三核期,合子期的中期是合子对辐射敏感的高峰期。

3.1.3 辐射敏感性与诱变效率的关系 辐射敏感性与诱变效率的关系,是辐射诱变育种中研究辐射敏感性的关键所在。近期冯志杰等 (1987, 1991) 在小麦、大麦个体、细胞和分子水平上研究品种辐射敏感性的结果表明,品种辐射敏感性强弱与诱发突变频率的高低有明显的对应关系,即辐照敏感性强的品种,诱发突变的频率亦高。辐照小麦敏感型品种 M_2 的突变频率 (15.5%) 是中间型品种 (4.08%) 的 3.8 倍,是极迟钝型品种 (1.6%) 的 9.7 倍。辐照敏感性强的单细胞系统材料雄配子和合子,其 M_2 的突变频率比处理干种子突变频率提高约 30%。

上述结果为提高辐射诱变育种效率,正确选择辐照材料提供了参考依据。

3.2 辐照 (诱变处理) 材料的选择

辐照材料的遗传背景 (基因型) 对诱变效果有重要作用。辐照材料的正确选择是提高育种效率关键之一,也是诱变育种获得成功的首要环节。

3.2.1 原始材料的选择 一般多以选择综合性状优良,但又有 1~2 个缺点须改良的品种为原始材料。过去大多数 (约 80% 以上) 的突变品种是利用这类材料辐照育成的,如水稻原丰早、小麦鄂麦 6 号、油菜甘油 5 号、棉花新海 2 号等。为了实现不同的育种目标,须注意选择不同类型的材料处理。

3.2.2 杂合材料的选用 杂合材料作为一种基因型特性,可以影响突变的类型和效果。辐照杂合材料能够促进基因重组,提高重组率,从而提高辐射诱变育种效果。Okhrimenko (1979) 辐照小麦杂种,打破了性状间连锁,提高了突变频率。保加利亚 (1979) 辐照小麦杂种二代种子,育成了多穗、抗病、高产品种 Altimir 67,已大面积种植;Savov (1990) 又育成了矮秆抗倒状、适应性广、产量提高 15% 的新品种 Zlatostrui 及配套系列品种推广。

中国在 214 个作物突变品种中,有 52 个是辐照杂合材料育成的,占直接利用突变体育成品种数的 24.3%,其中小麦和大豆的育种成效尤为突出,分别占各该作物突变品种的 47.7% 和 43.8%。例如大面积种植的小麦山农辐 63、原冬 3 号、龙辐麦 4 号和大豆黑岩 26、黑农 32 等。

辐照杂合材料能较大幅度提高诱发突变频率。王琳清等(1985)、孙光祖等(1989)研究表明,辐照杂合材料的诱变频率比辐照纯合材料提高20%以上,高的可达30%,比未经辐照的杂种,第二代的突变频率提高6%~20%(随组合不同而有差异)。薛小平等(1989)研究比较了 γ 射线辐照小麦杂合材料和亲本品种后代(F_1M_1 和 M_1),根尖细胞和花粉母细胞分裂各时期染色体变异类型和频率,杂种辐射后代的变异频率高于品种辐射后代,也高于未经辐照的杂种后代,比二者染色体变异频率之和还高8.54%(根尖细胞分裂间期)~32.21%(分裂中期)。杂种辐射后代细胞分裂间期出现微核细胞;中期以断片、双着丝点变异频率最高;后末期以断片、桥最多。易位、倒位等对于后代性状变异有重要作用。双着丝点是断裂、易位的结果,杂种辐射后代双着丝点出现多,表明染色体易位、交换频率较高,从而提高了基因重组率,后代出现更多变异。对上述 F_1M_1 、 M_1 和 F_1 过氧化物酶同工酶进行的扫描分析也表明,辐照杂合材料不是杂交重组和辐照两者的相加,而是出现了质和量的变化。提出了辐照杂合材料诱发突变频率高的实验依据。从杂种辐射一代染色体变异与辐射二代性状变异关系之间的相关性证明了这点。同时优良品种(品系)的育成和利用进一步验证了辐照杂合材料对提高诱变效率的有效性和可靠性。

辐照杂交当代种子,由于杂交分离世代与辐射分离世代同步,有利于选择。问题是必须作大量杂交获得杂种种子。因此也有人主张辐照杂种第一代生产的种子。

3.2.3 辐照雌、雄配子,合子和离体培养物 为了克服辐照种子(纯合和杂合)易产生嵌合体和二倍体选择,提高诱变效率,许多研究者提出利用各种诱变因素处理单细胞原胚,可获得均质突变体。Phan-Phai等(1976)用x射线和化学诱变剂处理毛茛科植物黑种草(*Nigella damascena* L.)的配子、合子和原胚,得到了相当于处理种子二倍的突变率,处理水稻和大豆突变频率提高了二倍半。Filev等(1981)用x射线辐照硬粒小麦的雌雄配子, M_3 代育成了早熟、抗倒优、抗寒、高产、品质好的品系。施巾幅等(1987)诱变处理小麦雄配子和合子,突变频率达17.0%,有益突变频率分别为4.8%和12.5%,处理雄配子的适宜时期在二核期和三核期。张伯林等(1989)探明了小麦合子的辐射敏感高峰期为合子细胞DNA合成期,纯合子在授精后8~10h,杂合子在授精后11~13h,这时期 γ 射线辐照, M_2 代突变频率显著提高。辐照授精后12h的杂合子,第二代性状总突变频率和有益突变频率分别为16.6%和4.4%相当于处理干种子的二倍多,比处理授精后8h的杂合子突变频率提高了35%。辐照水稻合子,早代获得了有利用价值的均质突变体。同时还建立了合子未成熟胚培养的技术和程序,克服了辐照合子后成苗率低的缺点。这些技术均已在诱变育种上利用,在水稻、小麦等作物上育成新品种。辐照花粉也有良好的诱变效果,Филгуба(1986)辐照棉花塔什干2号的花粉,获得了果枝节位下降、结铃性增加、早熟和大铃突变体。陈万金等(1985)辐照玉米自交系花粉,育成早熟抗病自交系原辐17,进而育成单交种中原单4号推广。

作物离体培养物对辐射有较强的敏感性。近年来随着生物技术的发展,开展了辐照离体培养物的研究。尹道川等(1985)辐射花药进行单倍体育种,育成推广了水稻品种“R462”。郑企成等(1990)利用低剂量的 γ 射线处理小麦各种外植体和愈伤组织,不仅避免了嵌合体的形成,而且提高了诱发突变频率,早代获得的突变大部分可以遗传, γ 射线处理小麦丰抗8号的幼穗外植体,获得了粒色由红色变为白色的突变系。虞秋成等(1989)用较低的剂量辐照颖花分化期的水稻幼穗,提高了幼穗愈伤组织对稻瘟病原菌的抗性。

3.2.4 辐照不定芽 无性繁殖作物中,二倍体选择往往降低突变和改变突变谱,为了克服这种影响,常选用幼龄的芽、鳞茎、块茎等材料进行辐照。辐照单细胞分生组织,可获得较多的同质突变体,诱变效果亦好。有的辐照作物的离体组织,诱发不定芽,得到非嵌合突变体。崔广琴等(1991)提出选择起源于单细胞分生组织突变点作辐照材料,可以消除嵌合体,获得遗传基质一致的同质突变体,采用快中子辐照甘薯杂交种子,在温室条件下,诱发其下胚轴表皮体细胞发生变异,并分化形成不定芽,获得了抗病、优质、早结薯、株型紧凑等多种遗传资源,已育成三个抗病、优质新品种在生产上应用。

3.3 诱变因素利用的发展

在辐射诱变育种中应用最多的是电离辐射。它是一种能量较高的辐射,能引起物质的电离和激发。目前使用的主要有 γ 射线、x射线、中子、 β 射线,以及紫外线等。据Micke等(1990)对世界各国利用各种诱变因素育成的突变品种作了统计, γ 和x射线诱变育成的分别占总数的55.5%和28.4%。

x射线是早期用于植物诱发遗传变异的主要物理因素。前期突变品种多数是用x射线诱变育成的,目前应用仍较广。随着原子能事业的发展, γ 射线的应用已发展为主要的、应用最广泛的诱变因素。中子的应用亦有发展,因其诱变作用好,曾有人预测,中子的应用有可能进一步超过或取代 γ 射线,但目前因其成本高、能谱测量和重演性等问题,实际应用受到影响和限制。

随着现代科学技术和诱变育种的发展,我国利用的诱变因素逐步增多。王琳清(1990)对我国近25年来利用各种诱变因素育成的作物品种数作了统计, γ 射线处理的品种占总数的79.6%,激光和电子束处理的各占5.8%,x射线处理的占4%。对诱变因素的开拓应用,也比世界各国发展快,成果亦明显。顾德发(1984,1990)利用软x射线对洋葱、元麦、水稻等作物研究表明,软x射线电离密度大,诱变效率比硬x射线高;利用钼靶软x射线处理产量和抗性较差而味香、优质的特种稻品种,育成二个味香、质优、矮秆、多抗的高产新品种在生产上推广。

激光育种是20年来发展起来的一种育种新技术,可以诱发染色体变异和性状变异。Илaxo6(1971)用激光处理,育成早熟、糖分和维生素C含量高的番茄品种。80年代前期全苏棉花育种和良种繁育研究所利用He-Ne激光处理育成几个棉花新品系。中国70年代开始激光育种研究,在水稻、小麦、大豆、蚕豆、洋葱等多种作物比较研究 CO_2 、He-Ne、 Ar^+ 、 N_2 和红宝石激光的诱变效应,研究和实践证明,激光诱发作物的突变谱与射线相似,有早熟、矮秆、株型及粒形变异等,目前已在水稻、小麦等作物上育成10多个优良品种在生产上利用。

电子束是由直线加速器产生的,具有辐射损伤效应轻、诱发突变频率较高和突变谱宽的特点,是一种有利用前景的诱变因素。郭宝江(1981)、徐向忱(1983)、安道昌(1985)、张燕凌(1987)等在小麦、大麦、水稻上研究结果得到证实。中国农科院原子能利用研究所用电子束处理育成了易于保持、恢复源较宽、有别于提型的小麦雄性不育系85EA。

离子束,离子注入是80年代中期中国首先应用于育种的诱变因素。余增亮(1989)提出离子注入作物,具有损伤轻、突变率高、突变谱宽的特点,利用它的高激发性、剂量集中性和可控制,可能发展成一种有发展前景的新诱变因素。目前在水稻上已获得有利用价值的突变系。

诱变处理的方法和技术,近年来也有较大的改进。一般多采用急性外照射,即受照射的作物在较短的时间(几分钟、几小时)接受的全部辐照量来自外部辐射源。近年来根据作物育种要求和条件,又开展了慢照射、分次照射和重复照射研究,均取得了良好的诱变效果。慢照射比急性照射有较高的诱变效率,已为许多研究者所证实。中国近年来在四川省建成 60 钴 γ 射线苗圃,开始在多种作物上研究慢照射的方法、剂量和诱变效率,填补了中国这项研究的空白。

内照射(指用放射性同位素 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{131}I 等引入植物组织细胞内,使射线在植物体内起作用的照射方法)的利用也有发展。近年审定推广的品种龙辐麦 5 号、川辐麦 1 号和在花生育种较广泛利用的突变种质辐狮等是利用 ^{32}P 内照射的方法育成的。由于对内照射的吸收剂量难以作出精确的测量和计算,经处理过的样本在一定时间内带放射性不宜食用和饲用,因此目前对内照射的方法尚未普遍应用。

物理和化学诱变因素复合利用,能发挥各自的特异性,起相互配合的作用,提高突变频率。辐射能改变作物细胞生物膜的完整性和渗透性,促进后处理的化学物质的渗入,产生累加或超累加(协同)诱变效应。保加利亚 Gechera (1984) 用理化因素复合处理,育成大豆优良品种“Boriana”。王彩莲等(1990)用 γ 射线与 EMS 复合处理水稻,其叶绿素、抽穗期和株高的突变频率高达 13.4%,分析相互作用系数表现为正协合作用。梁劬(1987)、李社荣(1989)分别用 γ 射线与 EMS、 γ 射线与 NaN_3 处理小麦种子,结果证明,复合处理提高了诱发突变频率,表现出累加或协合效应,其最佳的剂量组合,分别为 20KR γ 射线+0.2%EMS 和 20KR γ 射线+2mM NaN_3 ;发现了复合处理后 M_1 代生物学损伤效应与 M_2 代诱变频率高的剂量组合之间的对应关系,提出了在 M_1 代预测后代诱变效率的生物学指标。而有些化学因素如半胱氨酸和十字花科作物中的芥子碱等与 γ 射线等因素处理,表现出辐射的保护效应。目前利用的化学诱变剂主要是烷化剂、叠氧化钠和气态化学诱变剂等:如甲基磺酸乙酯(EMS)、硫酸二乙酯(dES)、亚硝基乙基脲(NEH)、乙烯亚胺(EI)、N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍(MNNG、MNG、NG)和叠氮化钠(NaN_3)等。

辐射处理时的外界条件如:氧气、温度、种子含水量、光照,以及处理后的贮存时间条件对诱变效应均有影响,已为多数学者所证实。氧对生物辐射损伤有致敏作用,能够提高染色体和性状变异的频率。温度对辐射损伤和诱变效应有较大影响。Nakai (1979) 在 -196°C 极低温条件下辐照水稻和大麦,减轻了 M_1 生物学损伤,而未降低 M_2 性状突变频率。金卫等(1990),用适宜剂量在 -196°C 极低温条件下辐照,再进行热冲击(65°C)提高了突变频率。柏建明(1991)研究极低温(-196°C)条件下 γ 射线辐照大麦干种子和极低温辐照结合热冲击后处理结果表明,极低温下辐照和结合热冲击处理,均能显著减轻大麦 M_1 代的生理损伤和染色体畸变率,其 LD_{50} 分别提高 13kR 的 30kR,在此条件下用高剂量辐照,没有加重 M_1 代的辐射损伤,而 M_2 的突变率则显著增加。

环境相对湿度与种子含水量对辐射效应有重要影响。林音等(1985)研究了环境相对湿度对小麦、油菜、甘蓝等 19 种粮、油、蔬菜作物辐射效应的影响,在相对湿度为 65%~90%条件下,辐射效应比较稳定。因此在辐照干种子前,应在相对湿度 80%~90%条件下平衡种子水分一周。司徒明等(1980)研究小麦种子含水量对辐射作用的影响表明,种子含水量在 13%以下和 19%以上时,含水量的微小变化都能引起辐射效应的很大变化,在 14%~18%时

表现较稳定。因此,对辐照前种子含水量的平衡是很重要的。

种子辐照后贮存时间和条件对辐射效应也有明显影响。张自立(1978)和吕秀珍(1983)研究表明,大豆染色体畸变率随贮存时间的延长而提高。丘泉发(1983)发现水稻辐射损伤程度,随贮存时间的增加而明显加剧。后查明这种效应主要是氧的作用,并与温度和水分有关,贮存效应又与种子的新、陈、含水量和温度条件有关。也有研究表明,种子经辐照后,在一定贮存时间内,辐射损伤效应随时间的加长渐加剧,然后又渐减轻。因此种子经辐射处理后不要立即播种,从育种的实际情况看,于播种前15~30天内辐照较为适宜。

3.4 突变体的鉴定筛选技术及选育

为了提高选择效率,加速育种进程,需要根据诱发突变的频率,确定诱变后代的群体,采用正确的鉴定筛选突变体的技术,和根据诱变后代的特点和育种要求对后代进行选育。

3.4.1 突变频率的估算 经辐射诱变处理的作物,会在早熟、矮秆株型、抗病虫性、对不良条件的抗(耐)性、光周期、品质、育性以及产量构成因素等经常发生突变,一般有益突变频率较低($10^{-5} \sim 10^{-3}$)。估算突变频率对选择诱变因素和适宜剂量及其诱变效果是必要的。过去多数育种者采用突变个体数与 M_2 植株总数的比值估算。即:

$$\text{突变频率} = \frac{M_2 \text{ 出现的突变株数}}{M_2 \text{ 群体的总株数}} \times 100\%$$

辐射诱发的突变体,在多数情况下受单基因控制,且多为隐性突变,突变体的变异较大,易于从未突变的表型中检出。应用多种数学模型估算诱发突变频率,近十几年来有一定的发展。辐射育种所改良的经济性状一般属于数量性状,变异的连续性和易受环境条件影响,需要用度量单位测量。应用较多的是临界值法,即以平均数为基准,由标准差或方差为临界点确定数量性状突变的方法。增山公式*统计数量性状突变多应用于改良的单一性状、筛选由主基因控制的大突变。对筛选二个性状同时发生突变的个体,赵孔南等(1985)提出用椭圆法**更科学,能提高筛选效率,选出的突变体能反应出二个性状的突变方向。

3.4.2 诱变后代群体数量的确定 许耀奎等(1985)介绍下列方法:根据诱发目标性状突变的难易估算 M_1 群体大小,如突变为单基因突变,突变率为 μ ,突变检出的机率为 P_1 ,则用下述方程计算所需照射的细胞数。

$$n = \frac{\log(1 - P_1)}{\log(1 - \mu)}$$

假定 $\mu = 10^{-3}$, $P_1 = 0.90$ 则 $n = 2326$ 如果 M_1 群体的植株由一个细胞分化而成,则 M_1 群体有2500株即可。如 M_1 植株由多细胞种子长成,群体可相应扩大。

M_2 群体数量的大小,直接关系到能否选择到所需有益突变。根据性状的突变率和 M_2 株系分离比(α)(指在 M_2 株行或穗行的植株中突变株所占的比例)和产生纯合突变体的机率(P_2)两个参数,建立计算 M_2 家系植株数的方程:

$$n = \frac{\log(1 - P_2)}{\log(1 - \alpha)}$$

* 增山公式:根据一定的显著水准求出原始品种正常变化范围的临界值,视出现在临界值外的个体为突变,其突变个体数与观察总个体数的比值为突变频率。

** 见浙江农业大学学报,1985,11(3):271~279。辐射处理 M_2 群体中二个性状突变在表型上呈连续分布,根据二个性状值之间的相关性,用椭圆法筛选突变体。

令 $\alpha = 1/4, P_2 = 0.99$ 则 $n = 16$, 也就是每株系需要种植 16 个 M_2 株系, 才有把握在株系中产生纯合突变体。

3.4.3 鉴定筛选突变体的方法技术 采用快速有效鉴定筛选突变体, 提高选择效率, 是提高诱变育种效果的重要环节。在鉴定筛选可见的形态突变体, 根据育种目标一般采用常规的方法。但对某些突变则宜尽可能采用先进的快速有效小样本测定的方法, 例如为了检出蛋白质含量高的突变体, 可利用染料粘合法 (dye-binding method)、中子活化分析法*、x 射线光电子能谱法 (ESCA 或 IEE); 油分突变可用核磁共振波谱法; 研究突变体的基因型特性, 可用同功酶及限制性内切酶分析法。宋高友 (1988) 根据花粉中淀粉类型与籽粒淀粉类型的相关性, 采用碘液检验法, 田间预选糯、粳类型突变, 可靠性可达 98%~99%, 已在高粱品质育种上利用。张维强等 (1990) 根据作物细胞膜损伤程度与抗旱性, 以及分蘖节细胞液浓度变化与抗旱性的关系, 用细胞渗透势测定仪筛选抗旱和抗寒突变体的有效简易方法。唐秀芝等 (1988) 用淀粉凝胶电泳分析玉米突变自交系酯酶同功酶, 并观察幼苗叶鞘色泽, 说明突变系在基因位点上发生了变异。

近年来随着生物技术的发展, 建立了诱发突变与离体培养技术结合筛选抗病、抗盐碱等突变体的方法和程序, 可在人工控制的条件下, 用较小的空间对较大的群体, 在较短时间内完成, 提高了诱变和选择效率。如孙光祖等 (1989) 在小麦原胚期用较低剂量的 γ 射线辐照幼胚, 然后培养在含有根腐病 (*Bipolaris sorokiniana*) 粗毒素的培养基上, 筛选抗性强的突变, 使 S_2 植株抗病能力有不同程度提高, 发病指数降低, 育成了抗病株系 RB400。虞秋成 (1989) 研究利用含 LS^{-5} 最佳抗稻瘟病培养基, 并结合田间选择, 获得了抗稻瘟病株。甲元启介 (1991) 利用 x 射线辐照和在含有 AK-毒素培养基离体培养结合筛选的方法, 育成了抗黑斑病的梨树品种。

3.4.4 辐射 M_1 、 M_2 处理方法 M_1 代是直接由辐照当代细胞衍生出来的, 遗传上是一个复杂的嵌合体, 主要表现损伤效应; 突变大多为隐性, M_1 不显现; 出现的某些形态结构变化一般不遗传到后代。通常 M_1 不进行选择。如果处理单倍体或单细胞系统材料, M_1 发生突变, 则应根据育种目标进行选择。

诱发产生的突变, 多在 M_2 显现。由于诱发产生的有益突变频率较低, M_2 需有一个较大数量的群体。因此根据育种要求和实际条件, 可采用穗行法、株行法或混合法种植。为此 M_1 即须相应采用单穗法、单株法或混合法进行收获。但为了节省土地和提高选择效率, 许多单位采用一穗一粒或几粒法收获, 在一定条件下有利于筛选出较多的突变体。 M_3 以后的选育方法和程序与常规育种相同。

4 拓宽辐射诱变应用范围, 开辟创造新种质的途径

4.1 拓宽应用辐射诱变改良作物的范围

中国辐射诱变育种多集中于粮食、棉花、油料等主要农作物。近年来, 除上述已明显收

* 中子活化分析法 利用中子处理种子使之发生核反应, 将待测元素活化成放射性核素, 根据其放出的能量和强度, 对种子内元素进行定性定量分析, 可在不破坏种子的情况下测定种子粗蛋白质的含量。

到育种成效的 23 种农作物外,又拓宽到蔬菜、果树、糖料、工业原料、牧草、药用和观赏植物共 22 个科 75 种,同时研究了适宜辐照剂量范围,详见司徒明等(1990)的报道。

4.2 开辟创造新遗传资源的途径

植物不同物种间遗传转移是创造新遗传资源和促进植物进化的重要途径。辐射处理与远缘杂交结合,在克服植物不亲和性,提高染色体易位频率,促成异源基因转移有其独特的作用和效果。

4.2.1 克服植物自交不亲和性 Linskens 等(1960)利用 x 射线辐照的花粉粒授粉,在适宜剂量(2KR)下克服了矮牵牛自交不亲和性。Pandey(1975)在烟草、Roggen(1975)在甘蓝、Dayton(1974)在苹果等十种植物中取得成功。

4.2.2 克服植物杂交不亲和 日本小川(1974)利用 γ 射线慢照射克服了栽培番茄与野生番茄杂交不亲和性,育成抗病丰产的新品种强力玲光。Pandey(1974)辐照克服了烟草种间杂交不亲和性。郑秋英(1983)辐照克服了小麦和小黑麦属间杂交不亲和性。杨平华等(1990)利用 γ 射线慢照射克服了大麦与小麦杂交不亲和性,正反交结实率分别提高了 53.8%和 57.6%,通过离体培养获得了杂种植株。

4.2.3 提高染色体易位频率 在远缘杂交中利用辐射诱导染色体易位提高易位频率,已为许多学者的研究所证实。Sears(1956)用 x 射线辐照将小伞山羊草中的抗叶锈基因易位到普通小麦,Driscott(1975)利用同样方法把偃麦草的一些基因导入普通小麦。渡边好郎(1984)用 γ 射线照射种子以及 γ 圆慢照射小麦,观察到当代减数分裂中染色体畸变的主要类型是易位。朝井小太郎(1985)辐射诱导水稻提高了易位频率。李集临(1985)辐射诱变获得了有实用价值的黑麦—小麦易位系。孙光祖等合子期对辐射敏感高峰期(1990)辐射处理小黑麦与小麦杂交的当代种子,育成 6BS/6RL 小麦易位系品种“龙辐麦 4 号”,已在生产上推广应用。中子、 ^{32}P 、 γ 射线等均可诱发染色体易位,选用适宜的剂量诱导频率高。选择适宜的材料是诱导易位设计的关键。辐照多种材料如种子、植株、幼穗、受精卵,代换系、附加系及双二倍体等,均可诱导易位;而以辐照单价体附加系最为适宜。与此同时,要准确快速进行细胞学鉴定,提高效率,可借助 M_1 植株育性(育性低于 30%时易位最多)进行易位个体的筛选,然后鉴定。

4.2.4 辐照花粉实现外源基因转移 辐照花粉作为基因转移技术是近期发展起来的。Pandey(1975)在克服烟草自交不亲和研究时发现,利用辐照花粉可将父本部分基因转给母本,产生带有少数父本性状的偏母后代。国际水稻所(1981)用辐照过的花粉授粉杂交,可把水稻品种优良品质性状导入高产多抗品系中。Powell(1983)用辐照抗白粉病大麦品种花粉与不抗病品种杂交,获得了抗病而其他性状与母本品种相同的后代。此外在小麦(Snape, 1983)、玉米(Pandey, 1983)、番茄(Zamir, 1983)、豌豆(Davies, 1984)、油菜(Banga, 1984)、辣椒(Daskalov, 1985)和番薯(Saccardo, 1987)等植物上实现了外源基因转移。陶舜华、王琳清等(1989)用低剂量的 γ 射线辐照大赖草(*Leymus recemosus*)花粉,给波斯小麦和新疆小麦(普通小麦亚种)授粉,再进行幼胚培养,杂交获得率提高 21.6%,得到了具有某些大赖草特征的普通小麦。这种结果是用单纯杂交方法难以得到的。因此,利用辐照实现外源基因转移创造新遗传资源,是值得进一步研究利用的技术。

4.3 与其他育种技术结合提高育种效率

20 多年来,作物育种理论水平的提高,多种育种新技术的开拓和技术革新有了很大发展,