

作物诱变育种

许耀奎 顾光炜 邬信康 编



上海科学技术出版社

作物诱变育种

许耀奎 顾光炜 郭信康 编

作物诱变育种

许耀奎 顾光炜 邬信康 编

上海科学技术出版社出版

(上海瑞金二路450号)

本书在上海发行所发行 上海东方印刷厂印刷

开本 787×1092 1/32 印张 9 字数 195,000

1985年3月第1版 1985年3月第1次印刷

印数: 1—4,600

统一书号: 16119·821 定价: 2.05元

本书的绪言及第二章由江苏农学院顾光炜同志编写，其余章节由吉林农业大学许耀奎、邬信康同志编写。由于编者水平的限制，不论在题材选择和编写的内容上都可能存在缺点和不妥之处，这里恳请读者和同行们给予批评和指正。

——编者

目 录

绪 言	1
第一章 诱变育种的遗传基础	7
一、基因和核酸	7
(一) 两种核酸及其分子结构	9
(二) DNA 的复制	15
二、遗传密码与蛋白质合成	17
三、诱发突变的种类	23
(一) 染色体畸变	23
1. 缺失	25
2. 重复	26
3. 倒位	27
4. 易位	28
(二) 基因突变	29
1. 基因突变的类别	29
2. 基因突变的原因	31
3. 基因突变的频率和时期	32
4. 基因突变的特点和性状表现	33
第二章 核辐射诱变育种	38
一、核辐射育种的简史和进展	38
(一) 核辐射诱变历史的简述	38
(二) 提高突变率和定向诱变的可能性	41
(三) 应用核技术提高谷物的蛋白质和作物的抗病性	43
(四) 突变体的间接利用	47
二、农业上常用的核辐射诱变源	55

(一) γ 射线的物理特征	57
1. 放射性核素钴-60 和铯-137	57
2. γ 射线与物质的相互作用	58
3. γ 射线的强度和剂量	60
(二) γ 射线的照射设备和方法	63
1. 照射室	64
2. 照射圃	65
3. 瞄准式照射装置	66
(三) 中子的物理特征	66
1. 中子的特性	66
2. 中子与物质的相互作用	68
3. 中子的强度和剂量	70
(四) 中子射线的照射设备和方法	71
1. 同位素中子源	71
2. 加速器中子源	72
3. 反应堆中子源	74
(五) β 射线的物理特征	74
1. β 射线的特性	74
2. β 射线与物质的相互作用	77
3. β 射线的强度和剂量	79
(六) β 射线的照射设备和方法	79
1. 外部照射法	79
2. 内部照射法	79
三、与核辐射育种有关的放射生物学原理	83
(一) 击中、靶和细胞内的间接作用	85
1. 击中和靶	85
2. 细胞内的间接作用	88
(二) 核辐射在 DNA 上引起的分子损伤	91
1. 碱基结构的破坏	91
2. DNA 上化学键的破坏	94
3. 碱基的脱落与插入	97

(三) 辐射生物学现象	97
1. 农作物的辐射敏感性	97
2. 作物经辐射处理后的嵌合现象	101
3. 辐射引起的代谢紊乱	105
(四) 突变体形成的生物学过程	108
四、影响突变的因素和条件	110
(一) 诱变源和诱变剂量(照射量)	110
1. 选择诱变源	110
2. 诱变剂量(或照射量)	114
3. 综合利用诱变源	124
(二) 急、慢性照射和重复照射	128
1. 急、慢性照射与照射量率	128
2. 重复照射	130
(三) 处理材料和环境条件	131
1. 处理材料与诱发突变的关系	131
2. 影响突变的环境条件	138
五、农作物辐射育种的程序 and 选择方法	148
(一) 以种子、植株为处理材料的育种程序 and 选择方法	149
1. 突变世代的划分	149
2. 原始材料的选择和世代群体数量的估计	150
3. M_1 代的种植	154
4. M_2 代的种植和选择法	156
5. 对 M_3 代及以后各代的种植和选择	158
(二) 以无性繁殖作物为处理材料的育种程序 and	
选择方法	159
1. 诱变材料及其处理	161
2. 无性繁殖作物辐射诱变的选择方法	164
3. 无性繁殖作物的辐射育种程序	168
第三章 紫外线和激光诱变育种	171
一、光及其生物效应	172

(一) 光学的一些基本知识·····	172
(二) 激光的特性·····	173
1. 自发辐射发光和受激辐射发光·····	173
2. 激光的特性·····	175
(三) 光的生物学作用·····	177
二、紫外线诱变育种·····	178
(一) 植物细胞对紫外线的吸收·····	178
1. 蛋白质和核酸对紫外线的吸收·····	179
2. 染色体对紫外线的吸收·····	180
(二) 紫外线诱变的作用机制·····	181
1. 紫外线照射和电离辐射对机体作用的差异·····	181
2. 紫外线诱发的染色体畸变·····	182
3. 紫外线照射引起的 DNA 的变化·····	183
(三) DNA 损伤的修复·····	185
1. 光复活作用·····	186
2. 切除修复·····	188
3. 重组修复·····	190
4. 链断裂和交联的修复·····	191
5. 修复的遗传效应·····	192
(四) 诱变的有效波长和照射剂量·····	193
1. 波长范围·····	193
2. 光源·····	194
3. 适宜剂量·····	195
(五) 紫外线诱变的处理对象和方法·····	196
1. 照射花粉·····	196
2. 照射种子·····	199
3. 照射顶端分生组织·····	201
4. 照射花柱, 克服自交不亲和性·····	201
5. 照射组织培养的细胞·····	202
6. 紫外线与其他理化因素配合进行复合处理, 提高诱变效率·····	203

三、激光诱变育种	205
(一) 激光的生物效应	206
1. 光效应	206
2. 热效应	207
3. 压力效应	208
4. 电磁场效应	208
(二) 育种上应用的激光器种类和性能	211
1. 激光器的类型	211
2. 农业上常用的几种激光器的输出性能	212
(三) 激光诱变的方法	212
1. 有效波长和适宜照射剂量	212
2. 处理对象和方法	213
(四) 激光诱变的特点及后代选择要点	217
第四章 化学诱变育种	219
一、化学诱变育种简史	219
二、化学诱变剂的种类	219
(一) 碱基类似物诱变剂	221
(二) 直接改变 DNA 结构的诱变剂	221
(三) 诱发移码突变的诱变剂	224
三、化学诱变剂的诱变效应	225
(一) 碱基类似物及其衍生物	225
1. 5- 溴尿嘧啶	227
2. 2- 氨基嘌呤 (AP)	229
(二) 烷化剂	231
1. 分类	232
2. 烷化剂作用的方式及分子机制	232
3. 烷化剂作用的遗传效应	235
(三) 抗菌素	237
1. 作用于 DNA 复制系统	237
2. 抑制蛋白质的生物合成	237
(四) 其他种类的化学诱变剂	239

1. 亚硝酸	239
2. 叠氮化钠	239
3. 羟胺及其衍生物	242
4. 吖啶	242
四、化学诱变过程与 DNA 损伤的修复	246
五、化学诱变方法及其影响因素	247
(一) 处理材料和方法	247
(二) 影响化学诱变效应的作用因素	248
1. 化学诱变剂的理化特性	249
2. 处理材料的遗传特性	251
3. 处理的剂量	251
4. 其他因素	256
六、在化学诱变育种中提高诱变效率的途径	264
(一) 诱变因素的综合处理	264
(二) 诱变剂的筛选	265
(三) 利用细胞敏感期	266
(四) 与杂交育种相结合	266
附 录	268

绪 言

作物人工诱变育种是人为的利用物理、化学等因素,诱发作物产生突变,通过突变体的选择和鉴定,直接或间接的培育成生产上能利用的新品种。

1927年缪勒用X射线处理果蝇,发现X射线有诱发突变的作用。1946年奥尔巴赫明确指出,某些化学物质(如硫-芥等),可以有效地诱发果蝇产生突变。除电离辐射与化学诱变剂之外,紫外线、激光以及由人工核反应制造的核辐射源等,也相继应用到人工诱变中来,人们开始了用人工的方法强迫生物体产生变异的新阶段。

人工诱变育种与常规育种的不同之处是前者与近代物理学、化学有着更为密切的关系。首先要有诱变工具,人工诱发生物产生突变才能成功。1925年伦琴发现X射线,两年之后人们才用X射线对生物体进行诱变的实验;虽然在本世纪初已发现一些化学物质能提高突变频率,但是更有效的、系统的进行化学诱变要等到各种碱基类似物、烷化剂、吖啶类诱变剂等化合物出现之后。中子是目前具有较高诱变效率的一种辐射源,但是在反应堆和加速器未问世之前,利用中子进行作物诱变当然是不可能的。同时,各种物理化学因素加之于生物机体,产生的反应和作用机制,又各有异同和各具特点,不研究这些反应和机制就不可能进行有效的人工诱变。所有这些都反映了人工诱变育种不仅是生物学范畴内的工作,而且是扩

展到物理、化学领域中去的一种育种技术。根据 1978 年在苏联莫斯科召开的第十四届国际遗传学会上的报告资料来看,近年来在诱变源的使用上也出现了明显地更替变化。虽然各种辐射源(电离的、非电离的)仍然是有效的诱变源,但化学诱变剂的种类和应用范围有日益扩大之势,这可能是因为化学诱变剂能与遗传物质上的各种化学基团产生各种特异反应(所谓热点),从而希望对定向诱变能有所裨益之故。在化学诱变剂中 EMS 和 EI,正逐步被亚硝基脲等化合物所代替;在核辐射之中,各种能量的中子有替代 γ 射线之势。此外,对微束辐射诱变也引起了大家的重视,激光的光束直径已能聚焦到 0.25 微米以下,如果利用这样的微束激光可以在细胞水平内进行“手术”,再通过细胞培养术培育成植株,有可能从另一个方面逐步做到定向诱发变异。总之,随着诱变工具的不断出现和改善,诱发突变的效率正在不断提高。

进行人工诱变,首先要对生物机体的遗传物质(如 DNA)引起结构上的损伤,经过复制发生分子水平的突变,然后经过一系列的生物学历程出现具有突变类型的突变体,这也就是育种工作者所要选择的对象。从发生突变到出现突变体是一个包含着物理、化学和生物学的复杂过程。要影响这一过程的进行,与各种因素有关,如选择处理材料,选择诱变源、诱变量,各种不同的处理方法,处理前后的不同条件等等。从目前情况来看,育种工作者对上述各种因素已经给予足够的重视,并正在进行大量的研究和探索。在发生突变以后,由于生物学历程中的种种原因,如嵌合体的干扰,突变细胞在选择过程中的淘汰等,也能使已经发生的突变由此而消失。同时由于选育程序不当和选择筛的效果较差,也常常使育种工作者不能得到已经处在可选择状态的突变体。关于发生突变体后由于

生物学的和筛选技术上的原因引起突变的损失，也已经引起了诱变育种工作者的注意和关切。人们通过单细胞培养和单倍体培养术，以及通过照射一定时期的雌雄配子体、受精合子等方法，来减少或避免突变细胞的竞争和嵌合体的干扰。育种工作者也正在研究和改进选育程序和筛选技术，如种子作物各世代的种植方式和选择原则， M_1 代的畸变类型与 M_2 代出现突变性状的关系， M_2 代突变体的形态变异与品质（如蛋白质）含量之间的相关，无性繁殖作物诱变处理后，短截和扦插对分离突变体的作用等等。可以预期，随着上述各方面研究工作的深入，诱变育种的效率还能得到较大幅度的提高。

作物诱变处理后，机体对损伤的修复作用，对发生突变来说是一大障碍，目前育种工作者已经试用各种修复抑制剂来提高突变频率（如在诱变处理中附加咖啡因、EDTA、BLM 等修复抑制剂），但对修复体系在作物诱变育种中所起的作用和机制还研究得很少。修复作用与提高突变率之间的重要关系，可能至今还没有得到诱变育种工作者的注意。

每一种诱变因素由于其理化性质的特点，对机体的作用有一定的局限性。近年来，诱变育种工作者们对综合因子处理越来越感兴趣，综合处理能互补各种诱变因素的不足，用综合因子进行诱变处理不仅提高了突变率，并且扩大了突变谱。一般用辐射处理加化学诱变剂，以达到增效作用；也有用辐射处理和防护剂以减少辐射损伤，在不降低突变率的前提下，可望获得较多的突变体；或者在各种诱变处理中（物理的、化学的）附加修复抑制剂，使得已发生的损伤不致因修复作用而减少，以增加突变频率等等。由于综合处理给诱变育种带来的良好效果，目前正在进一步的研究和广泛应

用之中。

人工诱变的方法被引用到作物育种中并在生产实践中取得成果,是从本世纪五十年代开始的,特别是随着分子遗传学、近代物理和化学的进展,人工诱变育种不论在理论上或技术上都有了迅速的发展。从目前看来,诱变育种仍然是常规育种的一个有力的补充手段,但又是一种不可置代的手段。人工诱变具有最重要的特点之一,是可以诱发产生新的基因,创造新的基因型和新的突变性状。而常规育种只是利用自然基因库,进行基因的重新组合。目前,随着我国农业生产的发展,对育种工作必然会提出更多更新的要求,不但要求人们寻找快速而有效的育种途径,并且要求培育出更多优质高产和抗逆力、适应性强的新品种,由于诱变育种在解决这些问题上具有独特的优点,而且在实践上也已经取得一定的成果。因此,人工诱变育种在作物育种中的地位就越来越显得重要。

人工诱变对基因型有修饰的作用,可以使综合性状较好而在某一方面有缺点的品种得到改良,而其他主要性状保持不变。当然,由于遗传物质上诱发突变的随机性,以及突变基因的多效性,因此经过人工诱发的品种,有时在其他性状上也会出现较大的变异。人工诱发的性状,一般有稳定得较快的特点,因而使得育种年限大大缩短,这对加快农作物的育种周期来说,是十分重要的。但是也有些突变性状,可能由于具有较复杂的遗传背景,很难得到稳定。

当品种的某一优良性状与不良性状呈紧密连锁时,通过辐射可以使染色体断裂,把两个连锁基因分开,再通过染色体片断的转移,以新的方式联系起来,实行基因重排。在远缘杂交育种中,也可以利用辐射诱发的易位效应,把一个亲本的某

一优良性状,转移给另一亲本,而不带入该亲本的其他不良性状。另外,人工诱变可以增加远缘杂交的亲本性。当然,利用人工诱变打破基因连锁和获得远缘杂交成功的机率还是非常低的。

目前,在利用突变体上有直接利用和间接利用两种方式。直接利用是对诱发的突变体,根据育种目标,通过人工选择、鉴定,培育成新的品种,目前我国大部分的突变品种,都是直接在突变体中选择而育成的。直接利用的结果是创造和积累了大量的亲本资源,为有计划的利用这些资源,培育出突破性的新品种提供了物质条件。间接利用就是把那些综合性状不良,但具有某些突出优点的突变体作为亲本资源,采用杂交的方法,把突变体与其它相应的品种杂交育成新品种。当前国外的诱变育种已开始从直接利用为主的阶段逐渐进入间接利用为主的阶段。可以预期,由于诱发突变有变异谱广的特点,新的突变材料必将不断出现,突变体间接利用的范围将越来越广,贡献也将越来越大。与此相应,人们对搜集、整理、研究和保存突变资源必将更为注意和重视。

总之,人工诱变育种在短短半个世纪的时间内所取得的进步是巨大的。更重要的是,越来越多的作物育种家们已开始注意到用人工的方法迫使作物产生变异,为作物育种展示了美好的前景。但是,人工诱变育种与常规育种的历史相比,毕竟是短的,无论是基础理论还是技术水平,虽然进展迅速,但无可讳言,目前还处在比较低的水平,如人工诱发突变率很低,有利突变率则更低,如果要达到定向诱变则差得更远;又如我们的处理方法还处于简单和初级的阶段,并且只能从统计线索来分析各种处理方法的效果,而不能从机理上来解释;如各种诱变因素与作物之间的相互作用和反应过程,我们研

究得很少，因而在进行人工诱变时就有较大的盲目性等。所有这些向诱变育种工作者们提出，只有进一步完善诱变工具和处理方法，继续提高选择水平，深入研究农作物诱变的机制和规律，只有在这样的基础上，人们才能在人工诱变的领域里不断克服诱发突变的盲目性，从而获得更多的成果和更大的自由。

第一章 诱变育种的遗传基础

生物的遗传性除了由于基因的重组和交换而引起的变异外，还有由于染色体结构和数目的改变引起的变异以及基因本身化学结构改变引起的变异，后一种变异叫基因突变。基因的重组和交换或者染色体数目的改变都不能产生新的基因，只是原有基因之间关系的变动而已，而突变是指遗传物质所发生的变化，能产生新的基因，即产生原来所没有的新的变异。这种基因突变才是新变异发生的真正源泉。

在各种物理和化学因素的作用下能诱发突变。为了弄清诱发突变的机制，首先应了解其遗传基础。

一、基因和核酸

遗传学上通常把控制生物性状遗传的物质单位，叫做基因。例如小麦植株的高矮、芒的有无都是受一定的基因所支配。

自从1900年重新发现孟德尔的豌豆杂交试验以后，就在微粒基因理论的基础上，继续向前发展。大家都知道，染色体是基因的载体，而人们对染色体结构的认识是逐步深入的。近年来，特别是1974年以后由于引用了生物化学和生物物理学的方法，对染色质的超显微结构的研究有所突破，因此对染色体的各个方面有了新的认识。一般认为在间期核S期中，每条染色体已含有两条染色线。每一条染色线含有一个DNA