

植物育种：用于作物改良的诱发突变技术

IAEA 塞伯斯多夫实验室的科学家正在帮助育种者
培育性状更优良的作物

F. J. Novak 和
H. Brunner

现 有的一切生命形式，都是下面三种因素的产物：

- 突变，可遗传变异的基本来源；
- 环境因素，影响对能生存和繁殖下来的那些突变的选择；及
- 时间，基因型与环境在时间的长河中不断相互作用，实现进化性变异。

自然界中已发现的遗传变异并不是自发突变的原始谱系，而是群体中基因型重组和持续地与环境因素相互作用的结果。

绿色植物是人类生存所需资源即食物、衣着和能源的最终来源。史前人以打猎为生，但也利用自然界丰富的植被，采集有营养的和无毒的果实、种子、块茎等充饥。随着人口增加，人类不得不寻找更多更安全的食物来源，于是渐渐地发展起以植物驯化为基础的种种生产体系。

从历史上看，作物驯化一直受到生态条件、农业条件以及食物采集者的爱好的影响。通常，人们总是选择能适应广泛的气候和土壤条件的基因型进行栽培。产量较高作物的栽培成功，曾促进人口增长、定居和社会的发展。驯化什么样的作物，这不仅取决于籽粒数量或果实大小，还取决于味道、适口性等因素。

世界上有将近 20 万种植物，适于驯化的只有很少一部分。已被人类作为食物、纤维和调味品等利用的约 3000 种，其中最终已被驯化为农作物的有 200 种。目前，这

200 种农作物中，只有 15—20 种是特别重要的粮食作物。

培育供人类栽培和利用的新植物品种的活动称为植物育种。最初，育种主要是选种，即选优汰劣。人们学会了不吃掉所有“最好的果实”，而是挑选一部分果实的种子栽种。

19 世纪中叶，摩拉维亚的修道士 J. G. 孟德尔发现了一些遗传定律之后，遗传学便成了植物育种的一门基础科学。在发明了杂交方法之后，植物育种得到了进一步的发展。杂交的目的就是把许多种植物的各种优良特性集中到一种植物身上，而不单是选优汰劣。杂交法还常常得到诱发突变产生的种质的补充，现已成为通过有性繁殖培育植物新品种的最常用方法。

然而，有些作物（如香蕉、苹果、木薯和甘蔗）是无性繁殖的，完全不结果实因而没有种子的那些作物更是如此。对于这一组重要的作物，人们不得不开发另外的育种办法，即利用体细胞组织的操作技术，如突变育种和生物技术。

突变育种

植物育种需要使其性状产生有利于作物改良的遗传变异。但常常缺乏合意的变异。于是人们要利用辐射和某些化学品之类的诱变因素诱发突变和产生遗传变异，再从中选择合意的突变体。

诱发突变已成为在某一种作物品种范围内创造变异的成熟方法。利用这种方法，

Novak 博士是 IAEA 塞伯斯多夫实验室植物育种股股长，Brunner 博士是该股高级科学家。



遗传变异的一种自然进化产物:矮种椰子树突变体。

有可能诱发出在自然界找不到的或在进化过程中已丧失的所需属性。当在现有基因库中找不到抗特定病害或耐恶劣环境的某种或某几种基因时,植物育种者除尝试诱发突变外别无他法。

用诱变因素处理,可改变基因或破坏染色体。自然发生的基因突变是由脱氧核糖核酸(DNA)复制过程中的差错引起的。这类差错大部分能被修复,但某些差错可以通过下一次的细胞分裂作为自发突变固定在该种植物的后代身上。

虽然在特定的基因中观察到的突变事件极少,但高等植物的细胞中大约有 10 万个基因。这意味着每种植物也许会把一次或多次自发突变传给下一代。没有表型(可见)表现的遗传突变人们通常并不知道。结果是遗传变异显得相当有限,因而科学家不得不诉诸诱发突变。在改变基因方面,除长时间等待自发突变发生外,别的办法都是很费钱的。

利用电离辐射人工诱发突变,可追溯到 20 世纪初。但人们花了约 30 年的时间,才证明这类变化可用于植物育种。在植物身上诱发突变的最初尝试,大多利用 X 射线;后来,进入“原子时代”后不久,人们便利用 γ 辐射和中子辐射,因为一些新建的

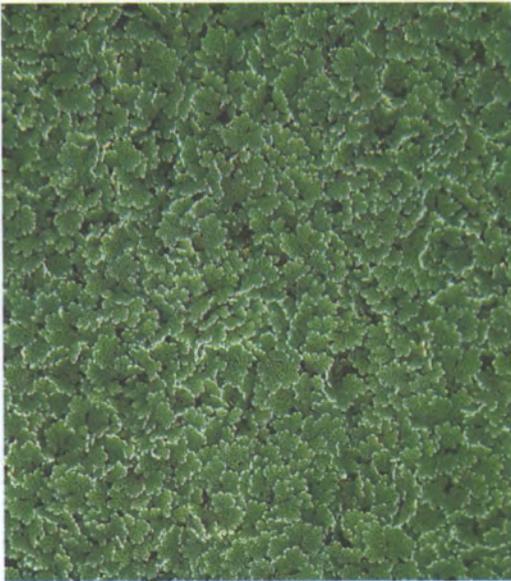
核研究中心很容易提供这类电离辐射。

在诱发突变工作的这个初始阶段,人们主要致力于确定实现再现性所需的最佳处理条件。研究重点放在把“随机”的诱发突变变成比较定向的能获得更合意和可经济地利用的突变的诱变发生法。然而,这未曾使突变体谱发生所希望的变化。限制因素是,植物损伤程度随辐照剂量的加大而增加,以及可经济地利用的突变的出现频率较低。这就促使科学家寻找可能更好的诱变因素。结果是,科学家们发现了辐射处理的新方法以及具有诱变力的化学试剂。

植物的生物技术

旨在改良植物栽培品种的育种工作是建立在遗传变异和选择这两个原理的基础之上的。这项工作极其费力费时,需要投入大量脑力劳动和体力劳动。(见第 28 页方框。)然而,过去 20 年来植物细胞和组织培养方面的发展,已使部分育种工作可从田间转到实验室。

大量的研究工作已产生了植物育种的新领域,即“植物生物技术”和“遗传工程”。它们都基于细胞的全能性,即从分离出的器官(分生组织)、部分组织、单个细胞及原



+

植物育种的某些手段和成果(自左上顺时针): 电离辐射诱发的水稻突变体; 薯蓣及其它块根和块茎作物可通过突变育种进行遗传改良; 组织培养和离体诱变发生法是改良作物用生物技术的基本方法; 市场价值提高了一种苹果突变体“改良黄香蕉”(Golden Haidegg), 是塞伯斯多夫实验室辐照“美国黄香蕉苹果”(Golden Delicious) 插条后诱发出来的; 突变育种提高了红萍对恶劣环境的耐力, 红萍是一种可在水稻田中充当绿肥的水生蕨类植物。

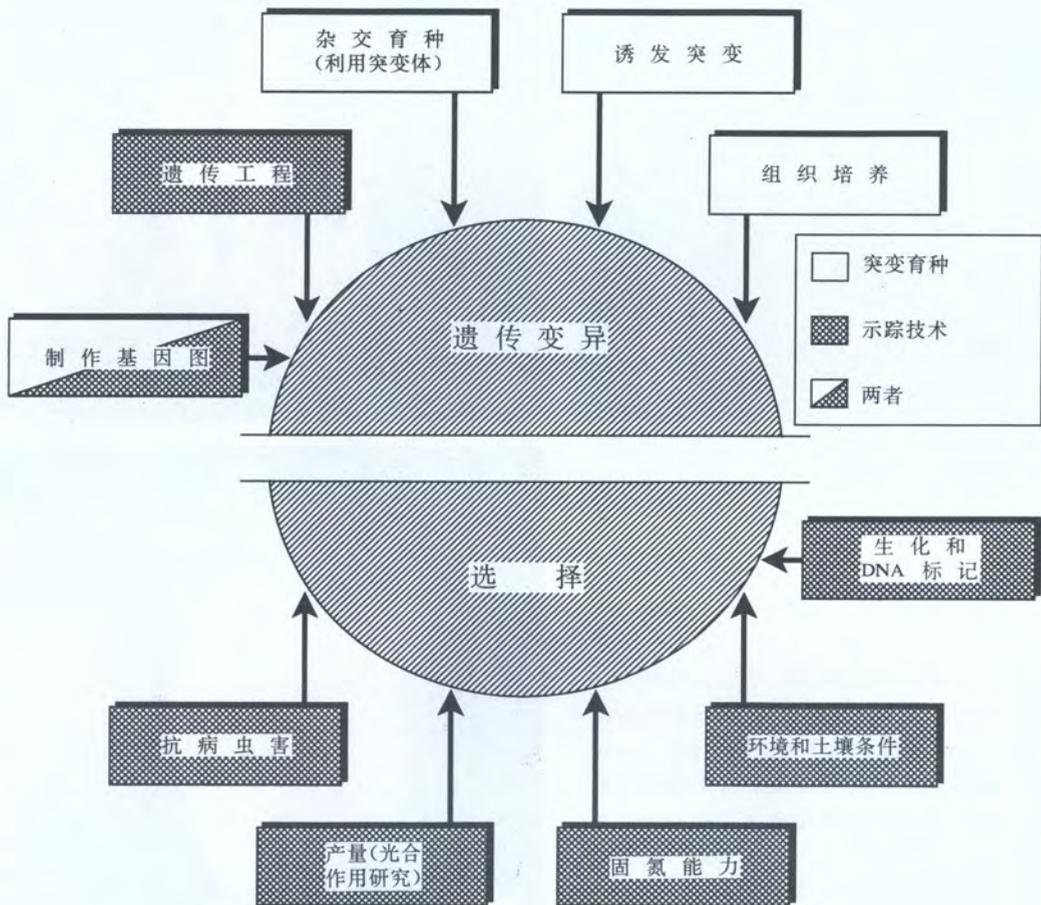


突变育种的一般流程

不管哪个国家,培育一个作物新品种都需要 12—15 年的艰苦努力。其基本步骤如下:

代 别	主 要 特 点
	种子、花粉、茎叶或组织培养物经物理(辐射)或化学诱变因素处理。
$M_1(M_1V_1)$	由经处理的种子(M_1)或无性繁殖体(M_1V_1)长出的植株。
$M_2(M_1V_2)$	分别从 M_1 或 M_1V_1 收摘的种子(M_2)或茎叶(M_1V_2)长出的植株群体。可以从这一代或下一代开始选择合意的突变体。
M_3-M_8 ($M_1V_3-M_1V_8$)	通过连续的选择巩固突变系的遗传性,放大和稳定突变系的田间表现。
以后 2—3 代	不同年份和不同地点的突变系的比较分析。
以后 2—3 代	作为新品种推广前正式试种。

核技术在植物育种中的应用



作物改良基于两项基本原理:遗传变异和选择。诱变辐照和同位素示踪技术是非常重要的手段,它们已被纳入各种育种方法中。

生质体开始长成植株的整体再生能力。这些分离出的植株部件,一般放在无菌试管里在化学组成已知的人工培养基中培养(离体培养)。它们在严格控制的条件下形成植物苗,随后移到土壤中生长,直至成熟。

组织培养已大量用于微量繁殖园艺植物(如草莓、马铃薯和观赏植物)的无病原种。离体培养技术在整个育种过程的不同阶段都是有用的,例如种质保存、无性繁殖和远缘杂交。

辐射突变育种和同位素技术同组织培养相结合,已对植物育种作出重大贡献。它们给诱发遗传变异、改良选择技术及缩短育种时间带来了一些新技术。(见方框。)

称为花药培养或花粉培养的另一方法,使得有可能从具有半数染色体——单倍体的雄性配子再生出植株。与含有全部染色体(二倍体)的植株相比,突变育种中利用单倍体较为有利,因为在诱变之后可以立即检测出突变。业已证明,单倍体方法可以大大加快例如水稻、大麦和蔬菜等新品种的育种过程。

遗传工程方法可把从一种物种的细胞中取出的遗传物质(DNA)转移到另一种无遗传关系生物的细胞中。例如,可以把细菌细胞的一段DNA加进某种植物细胞的基因组中,形成转移基因植物。这种新的DNA(基因)将在由这个转移基因细胞再生的植物表型上表现出来。一些以同位素标记的核酸基为基础的核技术,已在遗传工程中被用来识别和分离适于转移的基因,用作把基因引入受体细胞的运载系统,以及检测受体生物中新的遗传物质。

遗传工程已产生一批具有新的优良性状(如抗病虫害和早熟)的植物。然而,人们对正在推广的转移基因植物对环境的潜在危害的议论越来越多,因而早期那种积极性正在减弱。

已经出现的另一个问题是,这种技术的商业化和发展中国家的使用权问题。植物生物技术的最新进展,已导致将大量资本和高级科技人才投入许多工业化国家的

商业部门。在此过程中,科学知识及其技术性应用正在越来越成为商业立法的课题,包括专利、工业秘密和办理许可证的政策等。因此,发展中国家在获得生物技术成果的使用权及在本国计划中实际应用这些成果方面面临许多困难。

在这一方面,联合国的一些专门机构——包括粮农组织(FAO)、联合国教科文组织(UNESCO)、联合国工业发展组织(UNIDO)以及IAEA——正在起重要的作用。已开辟了若干计划,重点是选择和传播适用于发展中国家的生物技术,并培训其人员。这样做的结果是,发展中国家在这一领域的研究与开发能力正在得到加强。

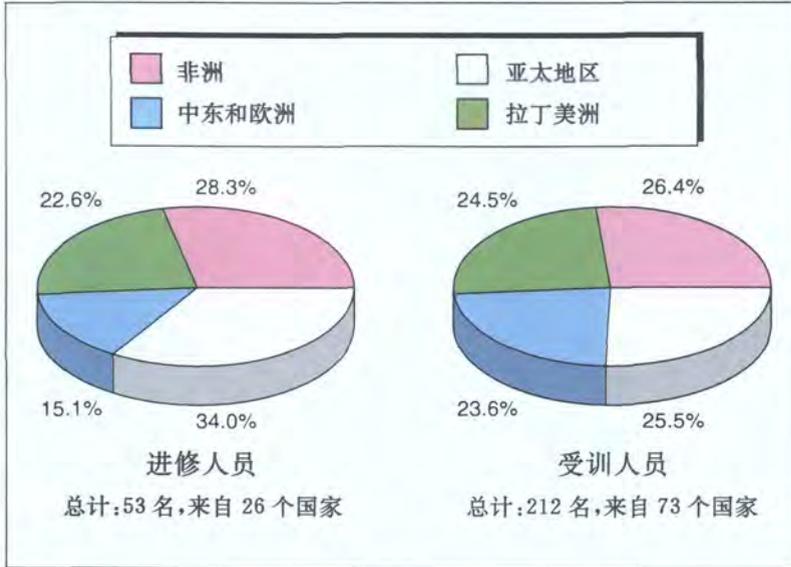
植物育种为农业的可持续发展服务

植物育种和生物技术,将对环境适宜农业的建立作出重大贡献。关键是建立一个供作物改良用的包罗万象的基因库。

为阻止植物物种丧失生物多样性,已开发了一些新技术。例如,木薯、香蕉和芭蕉、马铃薯、薯蓣、甘薯和椰子等植物的组织培养技术,正在成为种质保存和国际交换无性系物质所优先采用的方法。分子标记技术被用于栽培品种及相关野生物种的分类与基因分析。杂交育种、体内和离体突变育种等植物育种方法,也常常含有核技术的成分。这些技术被诱发突变、重组和选择采用后,使基因资源增加。

大多数育种项目的任务,是开发抗病虫害力比原始植物强的新植物栽培品种。这些品种能够减少对农药的依赖性。不管是工业化国家还是发展中国家,这种依赖性是影响农业的可持续发展的基本因素。抗性育种会有助于避免大田作物的病害流行,包括加纳可可树的肿枝病病毒流行病及某些热带和亚热带地区香蕉的马拿马萎蔫病。

可持续的植物育种今天面临着几项大任务。具体地说是要培育固氮能力和利用养分能力更强的植物。有土壤学家和植物育种者参与的综合性研究,已在粒用豆类



塞伯斯多夫实验室 植物育种股的培训 活动, 1982 - 1992 年

(大豆、菜豆)及其它植物物种(包括某些乔木)中识别出了合意的基因型。

对许多发展中国家来说,培育耐土壤中的碱和酸的作物是高度优先的项目。目前的育种战略(包括诱发突变和离体选择)在使不同物种具有程度不等的耐性方面显然是十分成功的。将遗传工程用于培育抗恶劣环境植物的工作,将取决于能否识别出能适应特殊恶劣环境的特殊基因。

在热带国家里,农业实践是以“间作”而不是增加单一作物栽培量的方法来保持不同作物的产量的。培育作物使其具有生产生物量、改良土壤与水的利用能力和制造堆肥等多重功能,是对发展中国家农业的可持续发展最好的支持。主要作物与特定的覆盖作物(如饲料豆类或牧草)混合种植,可使除草剂用量减至最少。

塞伯斯多夫实验室的作用

IAEA 塞伯斯多夫实验室植物育种股建于 60 年代中期,目的是支持 FAO/IAEA 联合处的作物遗传改良计划。该股通过在突变育种及相关生物技术方面的研究与开发,开发出了一批可用于植物育种的核技术,并通过培训来自发展中国家的科学家以及提供辐照服务和技术咨询等,将这些

技术传给了发展中国家。

植物育种股最初的研究重点,是开发利用电离辐射和化学诱变剂诱发突变的方法,目的是实现较高的突变效率,即在植物损伤程度最小和重复可能性最大的条件下使出现所需突变的频率较高。这就要求从剂量均一性角度规定辐射源的特性,并利用合适的剂量测定法精密评估生物靶的吸收剂量。由于操作简便、影响辐射敏感性的诸因素易于标准化及重复性好,所以通常利用 γ 射线和中子照射种子。控制电磁辐射的放射生物学响应中依赖氧的各种效应的方法的创立,是一大成就。塞伯斯多夫实验室通过开发相应的设备,积极致力于在核反应堆内进行种子中子辐照的标准化。已开发出的设备包括游泳池式反应堆用标准中子辐照装置(SNIF)和 Triga 型反应堆用铀屏蔽辐照装置(USIF)。

这项研究是 IAEA 塞伯斯多夫实验室为全世界提供种子辐照服务的基础。这种利用快中子和热中子进行的辐照,剂量精度高,诱变效应重复性好。此外,该实验室借助同位素标记化合物开发出了用化学诱变剂(多半是烷化剂和叠氮化物)高效而准确地处理种子的方法,并把这些处理方法与电离辐射诱发突变相比较。植物育种股一直在进行有关禾谷类作物、豆类作物、工业原料作物及无性繁殖作物突变育种的支助性研究。

由于各种作物的繁殖能力(每一植株的后代数)不同,繁殖方式各异(自花传粉或异花授粉有性繁殖,或无性繁殖),不可能开发出万能的育种方法,必须采用因物种而异的方法。大多数靠无性繁殖的物种,难以靠传统的杂交和突变育种方法改良遗传性。利用生物技术与诱发突变相结合的办法,可以比较容易地解决这类物种的育种问题。植物育种股从 80 年代中期开始从事离体突变育种活动。IAEA 塞伯斯多夫实验室选择了若干种对保障发展中国家粮食供应有重要意义的热带粮食作物,作为生物技术植物育种的研究开发活动及培训活动的重点。

研究与开发活动

植物育种股将 FAO/IAEA 的协调研究计划与技术合作计划作为提供支助的重点。为众多的项目提供了专门知识方面的援助,包括用于建造植物组织培养和诱变处理设施、测定诱变辐照剂量的质量控制以及植物改良用核技术的开发与转让等方面的专门知识。

正在进行的研究与开发活动包括应用核方法及相关的先进技术(诸如离体培养和分子遗传学技术)通过突变育种来提高多种作物的产量。高度优先地开发用于培育对发展中国家有重要意义的无性繁殖作物的生物技术方法。

目前,植物育种股正在开展的研究与开发活动包括以下几方面:

- 体细胞无性繁殖和突变诱发的变异。该股正在进行系统化的研究,以比较由组织培养(体细胞无性繁殖)变异引起的遗传变异与由辐照和化学试剂诱发的遗传变异。正在对由离体培养物质经过体细胞胚发生法培育出的玉米植株中的遗传变异进行研究,旨在鉴定体细胞无性繁殖变异和突变诱发变异的性质及实际用于育种的可能性。

- 香蕉和芭蕉的诱发突变和育种技术。香蕉和芭蕉(芭蕉属)的遗传变异几率小和不育性,是利用常规育种技术进行遗传改良的障碍。该股正在研究茎尖培养和离体植株再生,以便用于诱发突变和突变体选择。体细胞胚发生法和由芭蕉细胞悬浮液再生的植株,被用来开发供香蕉和芭蕉育种用的体细胞操作方法。利用组织培养方法研究筛选抗巴拿马萎蔫病的此种植株的方法。生物化学标记(过氧化物酶)被用来识别耐力强的基因型。DNA 标记被用来识别突变体和表征芭蕉属的栽培品种和物种。塞伯斯多夫实验室识别出的突变体无性系,正在一些热带国家进行田间试种。

- 通过突变育种增强红萍对恶劣环境的耐力。红萍是一种很小的水生蕨类植物,它与具有固氮作用的蓝细菌鱼腥藻共生。

在适宜的田间条件下,红萍每 3—5 天能使其重量增加一倍。这种红萍—鱼腥藻共生系可为灌溉作物(尤其是水稻)提供绿肥。诱发突变发生法已培育出耐高碱度、耐有毒铝水平和(或)耐除草剂的红萍变种。该股正在田间条件下研究耐力更强的植物,以便证实可遗传的改变能使植物对恶劣环境的耐力增强。

- 热带块根和块茎作物(木薯和薯蓣)的诱发突变和育种方法。木薯和薯蓣都属于低洼热带地区最重要的主食作物。正在开发突变育种技术,以增加植物株高、氰化物含量及抗病虫害方面的变异。离体培养技术被用来繁殖健壮的植株和改良无性系。正在借助离体诱发发生法及随后的体细胞操作开发改良木薯和薯蓣用的体细胞胚发生法。正准备将一些突变体和多倍体的无性繁殖系提供给成员国进行田间试种。

- 可可树组织培养是一种效率较高的突变育种方法。培育抗病害可可树的尝试仅获得很有限的成功。一个主要制约因素是,现有的栽培品种几乎不存在变异。正在开发体细胞胚发生法,以便繁殖合乎需要的基因型,并正在加纳借助离体诱发发生法和花粉诱发发生法把这种方法用于诱导抗病毒可可树。

塞伯斯多夫实验室的植物育种研究是直接根据问题和委托人的要求进行的。来自发展中国家的一些年轻科学家,在以 IAEA 进修金培训计划名义安排的进修期间,取得了许多有意义的科研成果。他们把热带国家当地的一些栽培品种和基因物质带到塞伯斯多夫实验室,转换成组织培养状态后用于实验研究。这样一来,为某种作物和特定的基因型专门开发的操作协议和技术,就能直接用于一国的计划。塞伯斯多夫实验室还给发展中成员国发放准备用于田间试种的、起源于突变系和无性繁殖系的育种物质,以支助它们的育种计划。

培训植物育种人员

植物育种方面的培训是塞伯斯多夫实

实验室技术转让活动中最活跃的部分。20年来,植物育种股一直在支助机构的进修金培训计划并组织跨区域培训班。培训活动的与作物改良和在育种中应用核技术的研究与开发工作紧紧地连在一起的。(见第30页的图。)在3—12个月的进修期间,进修人员通常在其本国栽种的植物品种上从事辐射或化学诱变研究。只要有可能,植物育种股就组织由2—5名进修人员参加的小组,以解决共同的问题。实验项目都是分别设计的,以保证实验室的技术和成果在他们返回国内的研究机构后能直接采用。

进修人员的科研工作产生的许多科学论文,已发表在国际公认的杂志和学术会议论文集上。进修人员常常以参加IAEA的协调研究项目与技术合作项目作为在塞伯斯多夫实验室的进修金培训的继续。

自1982年以来,FAO/IAEA一直在塞伯斯多夫实验室举办“在植物育种中诱发和利用突变”的跨区域培训班。每年批准来自FAO和IAEA不同成员国的20名学员参加这种通常为6—8周的强化培训班。通过授课、实验室实习、田间试验讲评、研讨会和实地考察,使学员们能了解到作物改良方面的最新的先进突变技术以及生物技术与分子生物学的方法。还专门传授辐射源、放射性同位素和特别危险的化学诱

变剂的安全操作知识。每期培训班结业时,学员们能够谈论和估计诱发突变及先进的生物技术在他们本国的禾谷类作物、豆类作物、油料作物、饲料、蔬菜、水果、块根与块茎作物、棕榈、橡胶及其它植物的育种计划中的潜在作用。

支助各国计划

向FAO和IAEA成员国无偿提供辐射处理服务,以便加快核技术在作物改良计划中的应用和给发展中国家的植物育种人员提供直接帮助。用精确的 γ 和快中子辐射剂量,对种子、球茎、块茎、幼芽、插条及组织培养物(“离体物质”)进行诱变处理。辐射剂量经过仔细校准,以保证效应可再现。要求享受此种服务的用户报告其突变育种项目的目标,并提供足够数量的材料(群体规模),以确保高几率地发生所需性状的诱发突变。此外,经常在温室中预先进行辐射敏感性试验,以确定各种各样的生物样品在突变育种中需使用多大的辐射剂量。待处理的材料需按详细的辐照协议寄送,并要求报告在突变第一代和第二代中诱发出的辐射效应。要求提供这种信息反馈的目的,是为了改进对来自不同环境条件的物种和栽培品种的辐射敏感性的估算值。

最近25年来,植物育种股已提供了来自FAO和IAEA大部分成员国的20000多个样品的辐照服务。(见左表。)其中大多数是用钴-60 γ 射线辐照的种子样品。

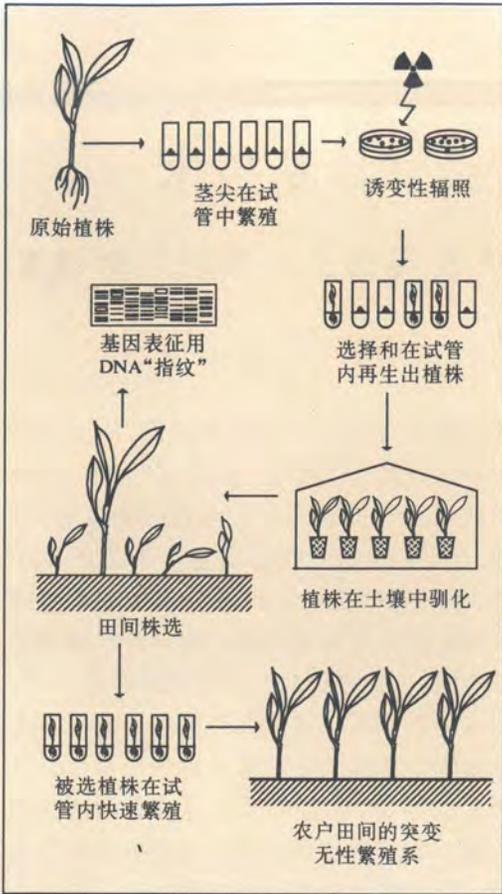
然而,最近要求对离体物质进行诱变剂处理和要求用快中子辐照的请求日益增多。这表明生物技术和分子遗传学在植物改良计划中越来越重要。

在开展辐照服务以前,植物育种股正式推广的突变品种不到80个。最近25年来,已经推广的属性大有改进的农作物和观赏植物的栽培品种超过1500个,属性中包括单位面积产量增加、品质改善、市场价值提高、抗病害和(或)耐力增强。这些突变品种中,有些来源于塞伯斯多夫实验室提供的辐射服务。 □

辐射服务统计数字, 1967—1992年

处理过的样品	20 329
处理过的物种	217
处理过的栽培品种	1 134
受援成员国	108
种子样品	17 872
无性繁殖的植物	1 046
钴-60 γ 射线处理	14 382
快中子处理	5 416
其它诱变剂处理	531

注:处理过的主要植物物种包括:禾谷类(水稻、小麦、大麦、triticale、黍、谷草),豆类(大豆、花生、菜豆、豇豆、绿豆),块根和块茎作物(木薯、薯蓣、椰子薯、马铃薯),水果(柑桔、苹果、杏、桃、葡萄),观赏植物(菊花、金鱼草、耐寒萱苔、郁金香)及其它(油菜、芝麻、苋属、茶藨、油菊)。



由利用电离辐射诱发变异的育种技术开发出的香蕉植株。左图：香蕉突变育种方法简图。

培育抵抗力较强的香蕉品种

香蕉、芭蕉及大蕉，在植物学中是芭蕉属的三个不同的栽培品种和物种。香蕉“树”实际上是大型草本植物，其果实是发展中国家数亿人民最重要的食物之一。全世界的年产量为7000多万吨，其中约90%在出产国作为食物吃掉。香蕉工业每年可给出口香蕉的发展中国家带来17亿美元的收入。

香蕉和芭蕉的栽培受到由病原真菌、再生出细菌、病毒和线虫引起的几种病害的严重威胁。其中有的病害可靠农药加以防治；然而，最流行的病原菌——镰刀菌是一种土壤生真菌，它可导致巴拿马萎蔫病。没有一种化学方法能有效控制这种真菌在受侵袭土壤中扩散。巴拿马萎蔫病洗劫了中美洲的几十万公顷香蕉种植园，并在非洲造成严重后果。在非洲，许多人把芭蕉和大蕉作为他们的主食之一。解决这一问题的唯一办法是培育具有抗病力的品种。

世界上的香蕉生产主要依靠为数不多的几个靠自然界挑选后经过驯化但未经遗传改良的无性繁殖系。虽然杂交育种对香蕉育种也有一点点贡献，但其最重要的一些品种是完全不育的，因此不可能用常规的育种技术进行改良。

用辐射照射和辅助性的组织栽培技术诱发香蕉突变的研究工作，已于1985年在塞伯斯多夫实验室展开。从几种经济价值较高的香蕉和芭蕉栽培品种上取下茎尖，将其放入试管中，在人工培养基中进行微量繁殖。用不同的射线（ γ 射线和快中子）和照射量对茎尖顶端生长旺盛的细胞进行诱变辐照，再让这些辐照过的茎尖再生出植株。这项研究的成果是开发出了生食香蕉中最重要的栽培品种的突变无性繁殖系——“Grand Nain”。目前几个国家正在试验这些变种，以了解其农艺生产性能，如产量、果质和早熟等。

塞伯斯多夫实验室负责支助有关改良芭蕉属作物育种工作的协调研究计划，并帮助实施在哥伦比亚、巴拿马、哥斯达黎加、古巴、加纳、马来西亚和泰国建立本国育种计划的几个技术合作项目。

分子生物学的最新进展，使得表征植物基因组和识别出植物育种中可实际使用的标志基因成为可能。给香蕉栽培品种和突变体加遗传“指纹”的技术，为这些遗传方面“顽固的”作物的育种开辟了新的前景，而这些作物对发展中国家的人民来说实在太重要了。