

微生物诱变育种方法研究进展

李荣杰 (安徽丰原集团有限公司, 安徽 蚌埠 233010)

摘要: 概述了 3 种不同的诱变剂 (物理诱变剂、化学诱变剂和生物诱变剂) 对微生物诱变育种的研究进展, 介绍了诱变效应、作用机制及在实践中的应用。

关键词: 微生物; 诱变育种; 筛选

中图分类号: S182 **文献标识码:** A **文章编号:** 1008-1631 (2009) 10-0073-04

Research Progress of Microbial Mutation Breeding Techniques

LI Rong-jie (Anhui Fengyuan Group Limited Company Bengbu 233010 China)

Abstract The progress of the microbial mutation breeding techniques with three kinds of mutagens are summarized. The ir mutagenic effects, mechanisms and applications are introduced.

Key words Microbe; Mutation breeding; Screen

常规的诱变育种方法主要为物理诱变育种和化学诱变育种。微生物的诱变育种, 是以人工诱变手段诱发微生物基因突变, 改变遗传结构和功能, 通过筛选, 从多种多样的变异菌体中筛选出产量高、性状优良的突变株, 并且找出发挥这个突变株最佳培养基和培养条件, 使其在最适的环境条件下合成有效产物。以人工诱发突变为基础的微生物诱变育种, 具有速度快、收效大和方法简单等优点, 是菌种选育的 1 个重要途径, 在发酵工业菌种选育上具有卓越的成就, 迄今为止国内外发酵工业中所使用的生产菌种绝大部分是人工诱变选育出来的。

诱变筛选方法相对简便, 是菌种选育的基本、常规和经典方法。特别是对遗传背景不很清楚的对象, 诱变育种更是必不可少。近年来, 随着新诱变因子的不断发现和筛选体系的进一步完善, 微生物诱变育种有了长足的发展。

1 微生物诱变育种的作用

从自然界分离的野生菌种, 不论是在产量上还是在质量上, 均难适合工业化生产的要求。理想的工业化菌种必须具备遗传性状稳定、纯净无污染、能产生许多繁殖单位、生长迅速、能于短时间内生产所要的产物、可以长期保存、能经诱变产生变异和遗传、生产能力具有再现性、具有高产量和高收率等特性。

微生物发酵工业中, 诱变育种主要有以下作用: 提高有效产物的产量; 改善菌种特性, 提高产品质量; 简化工艺条件; 开发新品种, 产生新物质; 用于研究推测产物的生物合成途径; 与其他育种方法相结合^[1,2]。

2 菌种选育的方法

2.1 自然随机筛选

不经人工处理, 利用微生物在一定条件下可产生自发突变的原理, 通过分离筛选排除衰退菌落, 从中选择维持原有生产水平的菌株的方法, 称为自然随机选育。自然突变由 2 种原因引起: 多因素低剂量效应和互变异构效应。自然突变可能会产生 2 种不同的结果, 一种是菌种退化而导致目标产量或质量下降; 另一种是对生产有益的突变。利用自发突变可以分离高生产能力的菌种再用于生产, 同时也可以利用自发突变而出现的菌种性状的变化, 去选育优良的菌株。也可以用来选育高产菌株, 但微生物自发突变频率很低 ($10^{-8} \sim 10^{-6}$), 正变频率更低。通过自然选育提高菌种生产能力、筛选高产菌株的效率较低, 效果不明显。因此, 在生产实践中, 自然选育的主要目的是用来纯化、复壮和稳定菌种。

2.2 诱变育种

凡能诱发生物基因突变, 并且突变频率远远超过自发突变率的物理因子或化学物质, 称为诱变剂 (*Mutagen*)。主要包括物理诱变剂和化学诱变剂, 现在还有生物诱变剂。诱变剂是自 1927 年用 X 射线诱发果蝇遗传性状变异而引起科学工作者注意的, 此后陆续发现了许多物理因子与化学物质都具有诱发基因突变的作用。近年来, 随着基因工程技术的不断发展, 蛋白质工程中点突变的重要技术——基因诱变在菌种选育中得以应用, 使生物诱变剂也受到很大重视, 并取得了可喜发展。现根据诱变剂的不同, 介绍诱变育种方法的研究进展。

2.2.1 物理诱变 物理诱变通常使用物理辐射中的各种射线, 包括紫外线、X 射线、 γ 射线、 α 射线、 β 射线、快中子、微波、超声波、电磁波、激光射线和宇宙射线等。近年来, 随着重离子束的获得, 离子辐照诱变育种也成为诱变育种的 1 种新方法。

收稿日期: 2009-09-10

作者简介: 李荣杰 (1962-), 男, 安徽蚌埠人, 正高级工程师, 硕士, 从事生物化工研究。

2.2.1.1 紫外线。紫外线本身能够作为能量被物质吸收,所以广泛地用作微生物诱变剂。紫外辐射诱变的作用机制有很多解释,但较为确定的是紫外辐射使DNA分子形成嘧啶二聚体,阻碍碱基正常配对,并可能引起突变或死亡。另外,嘧啶二聚体的形成,还会妨碍双链的解开,因而影响DNA的复制和转录。紫外诱变技术是诱变和筛选优良菌株的常规育种方法。其由于设备简单、诱变效率高、操作安全简便等,而被广泛应用。此外,紫外诱变在核酸中往往造成比较单一的损伤,所以在DNA的损伤与修复研究中也有一定的意义。

申玉香等^[3]将APV菌株经紫外线诱变后筛出苯黄隆抗性菌株 β 菌株,发酵双乙酰峰值为0.36mg/L,真正发酵度为65.8%。Walid A Lotfy等^[4]用紫外线柠檬酸产生菌*Aspergillus-niger* UM IP2564获得成品收率达到60.25%的变异菌株W5。石一珺等^[5]采用紫外线2次复合诱变处理内生真菌哈茨木霉,获得了突变株UV-5-3大大提高了原始菌株发酵液的活性,其抗生素含量远远超出出发菌株。

2.2.1.2 激光。激光具有能量密度高、靶点小、单色性和方向性好、诱变当代即可出现遗传性突变等特点,因此,在工业微生物育种中得到广泛应用。激光辐射可以通过产生光、热、压力和电磁场效应的综合作用,直接或间接地影响生物有机体,引起细胞DNA或RNA、质粒、染色体畸变效应,酶的激活或钝化,以及细胞分裂和细胞代谢活动的改变^[6]。激光与微生物相互作用机理普遍认同的1种解释是光照活化效应,在激光辐照机体时产生光照活化效应,使核仁器抑制机体时产生光照活化效应,使DNA-RNA-蛋白质系统活性提高、核糖体上蛋白质合成作用的活性增强,这可使机体内的生物合成增强^[7]。郭爱莲等^[8]采用He-Ne激光白腐真菌*L₁*原生质体选育出1株木质素降解率达43.03%的菌株*L_x*,比出发菌株*L₁*提高了50%。孙毅^[9]利用激光技术进行纤维素酶产生菌绿色木霉的育种研究,处理的菌株酶活提高103.2%。

2.2.1.3 γ 射线。 γ 射线是1种高能电磁波,其诱发的突变率与射线剂量有直接关系,它能产生电离作用,直接或间接地改变DNA结构,直接的效应是导致碱基的化学键、脱氧核糖的化学键、糖-磷酸相连接的化学键断裂;间接的效应是电离辐射使水和有机分子产生自由基,自由基作用于DNA分子,特别是对嘧啶的作用较强,可引起缺失和损伤,造成基因突变,还可引起染色体断裂,引起倒位、缺失和易位等畸变,从而改变微生物遗传性状^[10]。⁶⁰Co γ 射线辐射诱变既能获得较高的突变率和较宽的突变谱,同时还有利于筛选新的突变型。据统计,诱变育成的品种中使用⁶⁰Co γ 射线的占75.0%~84.2%。目前,用于工业化生产的抗生素高产菌株几乎无一不是经过⁶⁰Co γ 射线辐照诱变途径的^[11]。徐丽等^[11]应用⁶⁰Co γ 射线照射阿维链霉菌H20-16得到发

酵单位比出发菌株提高173.3%的高产菌株Co39-15。Namkyu Sun等^[12]通过 γ 射线辐射类胡萝卜素产生菌*Phaffia rhodozyma*,得到产量比出发菌株提高50%的变异菌株3A4-8。

2.2.1.4 离子束。重离子属带电粒子,能直接引起电离。重离子束与其他辐射(如中子、电子、X射线、 γ 射线)相比,在与生物材料相互作用中具有明显优势,主要表现在:①重离子束具有高传能线性密度(Let),且在射程的末端还有尖锐的电离峰(Bragg峰)。这使重离子能在生物介质中产生高密度的电离和激发事件,同时产生的高活度自由基造成间接损伤,从而引起较强的生理生化作用,可引起染色体的重复、易位、倒位、缺失或使DNA分子取代、补充、断裂等,从而使遗传物质在基因水平或分子水平上发生改变或缺失,大幅提高变异的频率^[13]。④在峰值范围内,注入离子与生物的相互作用是局部的、不易修复的,因此突变体稳定较快。④重离子诱变参数的多样性,使所获得的突变谱广。这些参数包括:离子种类、离子电荷态、离子具有的能量、剂量及剂量率等。离子注入处理作为1种集物理和化学诱变特性为一体的诱变育种新方法,将在扩大菌种来源、筛选优良菌株及提高诱变效率方面发挥重要的作用。

卫军等^[14]采用N离子束对谷氨酸棒杆菌进行诱变处理,筛选磺胺胍抗性突变菌株,选育出1株L-精氨酸产量较高和产酸性能比较稳定的突变菌株,比出发菌株提高了24.8%。蒋世春等^[15]将抗肿瘤抗生素柔红霉素产生菌——天兰淡红链霉菌激光株经N⁺等离子体诱变处理后再经摇瓶筛选,获得1株高产柔红霉素突变株,其柔红霉素效价较亲株提高了25.8%。

2.2.1.5 中子。自1945年Myers和Hanson用回旋加速器产生的中子处理青霉素产生菌以来,快中子辐射已经成为微生物诱变育种的1种手段。快中子也是间接电离粒子,快中子在组织内能量损失主要是通过与H原子核等的弹性碰撞而产生的反冲质子使组织中的原子激发和电离,引起生物分子中化学键的断裂。

杜润洋等^[16]用快中子对灰色链霉菌进行诱变,得到链霉素产量提高26.7%的高产菌株。

2.2.1.6 新型诱变剂。①微波。微波作为1种高频电磁波,它与生物组织的相互作用主要表现为热效应和非热效应。能刺激水、蛋白质、核酸、脂肪和碳水化合物等极性分子快速震动,这种震动能引起摩擦,能够对氢键、疏水键和范德华力产生作用,因此可以使得单孢子悬液内DNA分子间强烈摩擦,孢内DNA分子氢键和碱基堆积化学力受损,使得DNA结构发生变化,从而发生遗传变异^[17]。

李永泉^[18]采用微波辐照,对黑曲霉聚糖酶产生菌进行诱变处理,结果选育到1株产量较高的生产菌A.nigeHD-3.6发酵单位从15000U/mL提高到

21 500U /mL, 提高了 43.3%。朱传合等^[19]利用微波诱变阿维拉霉素产生菌 SV 获得 1 株阿拉维霉素, 产量达到 21.5mg/L, 较出发菌株提高 119.4% 的突变菌株 SV-15。④超高压。高压导致细胞体积减小, 胞内物质浓缩, 使得先前互不接触的各种酶、蛋白质及核酸类物质接触, 这种接触必然会导致一些不可预测的反应发生, 如 DNA 在高压下会与切割 DNA 的核酸内切酶接触而使得 DNA 发生变化。研究发现, DNA 在高压长时间处理下, DNA 合成对压力敏感。高压可以影响到 DNA 的超螺旋结构, 甚至影响 DNA 母链的解旋, 还使得 DNA 失去紧急修复的应急反应 (SOS) 机制。

在传统的诱变剂反复使用、诱变产量提高到极限易发生退化的情况下, 超高压可望作为 1 种新型的物理诱变育种手段, 而且具有操作简便、无污染等优点。高翔等^[20]用 220MPa 高压处理大肠杆菌 TG1、DH5 α 和 HB101, 得到了耐压的突变株 TG1R、DH5 α P 和 HB101P。④空间诱变。自空间探索以来, 人们一直致力于研究空间特殊环境中, 诸如微重力、高能粒子辐射等诱变因素对微生物的复合影响, 其中微重力和空间辐射是主要的诱变因素。在空间特殊条件中, 微生物的变异频率较高。DNA 和生物膜是射线作用的靶子, DNA 结构的损伤主要有单、双链断裂, 碱基和糖的损伤, DNA 与 DNA、DNA 与蛋白质交联等。其中单、双链断裂较多见, 富含胸腺嘧啶的区域最易受到破坏, 膜损伤有膜结构的改变、膜结合酶活性和膜受体功能降低等^[21]。白骅等^[22]通过空间诱变选育毒三素链霉菌, 正变率达到 39%, 产量提高 19.2%。王璋等^[23]利用“神舟”4 号无人飞船搭载生产微生物转谷氨酰胺酶的链霉菌进行空间诱变, 得到 1 株高产酶菌株, 酶活性提高了 40% 以上, 达到 3.62U /mL。

近年来, 随着人们对育种技术的不断探索和追求, 有许多新的育种技术相继应用于实践, 除前面阐述的空间、超高压和微波以外, 还有红外线、双向复合磁场^[24]、高能电子流^[25]、高温等新诱变技术相继应用于微生物育种中^[26]。

2.2.2 化学诱变 使用化学物质处理微生物使其性状发生改变的方法称为化学诱变方法。化学诱变的作用机制与物理诱变剂有很大区别, 其作用机制都是与 DNA 起化学作用。化学诱变剂往往具有专一性, 它们对基因的某部位发生作用, 对其余部位则无影响, 突变主要为基因突变, 并且主要是碱基的改变, 其中尤以转换为多数。各种具有诱变作用的化学物质和碱基接触起化学反应, 通过 DNA 的复制使碱基发生改变而起到诱变作用。通常使用的化学诱变剂包括 4 大类: 烷化剂、碱基类似物、移码突变剂以及其他种类等。

2.2.2.1 烷化剂。烷化剂是诱发突变中一类相当有效的化学诱变剂, 这类诱变剂具有 1 个或多个活性烷基, 它们易取代 DNA 分子中活泼的氢原子, 使 DNA 分子上

的碱基及磷酸部分被烷化, DNA 复制时导致碱基配对错误而引起突变。常用的烷化剂有亚硝基胍 (NTG)、乙基硫酸甲烷 (又称甲基磺酸乙酯, 简称 EMS)、硫酸二乙酯 (DES)、乙烯亚胺等。周希贵等^[27]用亚硝基胍对多粘类芽孢杆菌进行诱变, 获得 1 株发酵单位比出发菌株提高 106% 的菌株。王璋等^[28]使用亚硝基胍处理萌发状态的链霉菌 WZFF 孢子悬浮液, 结果得到 1 株转谷氨酰胺酶活比出发菌株提高 1.2 倍的突变菌株 WZFF.W-12. vaMN-35。

2.2.2.2 碱基类似物。碱基类似物是一类与天然的嘧啶嘌呤等 4 种碱基分子结构相似的物质, 是 1 种既能诱发正向突变, 又能诱发回复突变的诱变剂。这类诱变剂在微生物细胞处于代谢旺盛期时掺入到 DNA 分子中, 在 DNA 分子复制时由于其本身分子结构的酮式 \rightarrow 烯醇式变化引起变异。对于处在静止或休眠状态的细胞是不合适的。用于诱发突变的碱基类似物有 5-氟尿嘧啶 (5-FU)、5-溴尿嘧啶 (5-BU)、5-碘尿嘧啶 (5-I)、2-氨基嘌呤 (AP)、6-巯基嘌呤 (6MP) 等。程世清等^[29]用 5-BU 对产色素菌 (分歧杆菌 T17-2-39) 细胞和原生质体进行诱变, 生物量分别平均提高 22.5% 和 16.4%。

2.2.2.3 移码突变剂。这类化合物的平面三环结构可插入 DNA 双螺旋的临近碱基对之间, 使 DNA 链拉长, 2 个碱基间距离拉宽, 造成 DNA 链上碱基的添加或缺失, 从而造成碱基突变点之后的全部遗传密码转录和翻译错误, 引起菌种性状的变异。主要包括吡啶橙、吡啶黄、原黄素 (2,8-二氨基吡啶)、ICR-171、ICR-191 等化合物。王世梅等^[30]通过吡啶橙对阿扎霉素 (Azalmycin) B 产生菌 *Streptomyces hygroscopicus* NND-52 菌株进行诱变处理, 筛选到 1 株突变菌株, 其产量达到了 1100mg /mL, 比出发菌株提高 3 倍以上, 且传代稳定。

2.2.2.4 其他化学诱变剂。还有一些其他的化学诱变剂, 如脱氨基、羟化剂、金属盐类、秋水仙素和抗生素等。脱氨基剂可直接作用于正在复制或未复制的 DNA 分子, 脱去碱基中的氨基变成酮基, 改变碱基氢键的电位, 引起转换而发生变异。羟化剂具有特异诱变效应, 专一地诱发 G \rightarrow C \rightarrow A: T 的转换。用于诱变处理的金属诱变剂主要与其他诱变剂复合处理, 如 LCl₂ 又称为助诱变剂。秋水仙素是诱发细胞染色体多倍体的诱变剂。抗生素一般也与其他诱变剂复合使用。李春丽等^[31]利用秋水仙素染色体加倍技术构建的纯合的二倍体糖基化酵母, 糖基化酶活性比其单倍体亲株有不同程度的提高, 幅度在 17% ~ 244%。胡海峰等^[32]组合庆大霉素和利福平 2 种抗性突变提高蜡状芽孢杆菌 2045 合成抗生素 FR-900493 的水平, 产量较野生株提高 5~6 倍。

2.2.3 生物诱变 噬菌体、基因诱变剂——点突变技术在蛋白质工程的广泛应用, 特定寡核苷酸在突变技术中起着介导作用, 使基因成为 1 种新的分子水平的生物诱变剂。基因诱变剂可以是特定噬菌体, 如 M13DNA 介

导的 1 段寡核苷酸; 也可以是细菌质粒 DNA PCR 介导中作为引物的 1 段寡核苷酸; 也可以是 DNA 转座子。可以引起碱基的取代和断裂, 产生 DNA 的缺失、重复和插入等突变。目前认为, 生物诱变剂按诱变方式可以分为 3 类: 转导诱发突变、转化诱发突变和转座诱发突变。查冬兴等^[33]利用转座子 Tn5gusA5 诱变甘蓝黑腐病黄单胞菌, 获得 3 个胞外多糖突变体菌株 T106、T113 和 T117。王玉飞等^[34]诱导转座子 Tn917 随机插入炭疽杆菌染色体, 产生在不同位点突变的突变体库, 从中筛选出 6 株芽孢形成缺陷型突变株。

2.2.4 复合诱变 物理和化学诱变剂具有不同的诱变效应, 在诱变育种中常使用 2 种或 2 种以上的诱变剂复合处理来提高诱变效应。复合诱变包括: 2 种或多种诱变剂的先后使用; 同一种诱变剂的重复作用; 2 种或多种诱变剂的同时使用。普遍认为, 复合诱变具有协同效应; 如果合理搭配使用 2 种或 2 种以上诱变剂, 复合诱变较单一诱变效果好。白玉明等^[35]对产植酸的青霉菌株 A2 进行诱变, 分别以 HNO₂-UV 和 UV-5BU 复合处理, 筛选得到 1 株 A2-UV59-2Q 其产酶为出发菌株 A2 的 2 倍多。江宁等^[36]通过紫外线、亚硝基胍、亚硝基胍加 5-氟尿嘧啶 3 次诱变处理假单胞菌 J43 得到的突变菌株 M39 产海因酶活力比出发菌株提高了 13.7 倍。

3 结语

目前, 重组 DNA 和原生质体融合等方法已用于菌种选育, 但用于大规模生产的还不多, 常规的诱变和筛选方法在微生物育种工作中仍占主导地位。近年来随着分子生物学的发展出现了一些新的菌种选育方法, 但利用传统的理化因子诱变育种的方法, 因其具有简单、快速、有效等优点, 至今仍被广泛使用。对于遗传背景不很清楚的菌株, 诱变育种更是可行的有效手段。

参考文献:

- [1] 施巧琴, 吴松刚. 工业微生物育种学 [M]. 北京: 科学出版社, 2003.
- [2] 余凤玉. LA5 菌株发酵生物学特性研究及抗生素高产诱变育种 [D]. 儋州: 华南热带农业大学, 2005.
- [3] 申玉香, 汪志君, 方维明. 紫外诱变及苯黄隆抗性处理选育低双乙酰啤酒酵母 [J]. 酿酒科技, 2007, (5): 39-41.
- [4] Walid A Loffy, Khaled M Ghanem, Ehab R El-Helw. Citric acid production by a novel *Aspergillus niger* isolate I. Mutagenesis and cost reduction studies [J]. Bioresource Technology, 2007, 98 (18): 3464-3469.
- [5] 石一珺, 申屠旭萍, 俞晓平. 木霉菌素产生菌的诱变育种 [J]. 安徽农业科学, 2008, 36 (29): 12806-12807, 12812.
- [6] 陈有为, 李绍兰, 杨丽源, 等. 激光诱变微生物的遗传和刺激效应机理及育种研究 [J]. 激光生物学, 1996,

5 (1): 800-803.

- [7] 陈云琳, 刘晓娟, 闻建平. 激光诱变微生物技术的研究进展 [J]. 生物物理学报, 2003, 19 (4): 353-358.
- [8] 郭爱莲, 徐金贵, 杨琳. He-Ne 激光选育高木质素降解率的白腐真菌 *Lx* [J]. 光子学报, 2001, 30 (6): 684-687.
- [9] 孙毅. 激光照射与氮离子注入对绿色木霉纤维素酶的生物效应研究 [D]. 乌鲁木齐: 新疆大学, 2006.
- [10] 赵丽坤, 张利平, 石楠, 等. 阿维菌素高产菌的诱变育种研究 [J]. 安徽农业科学, 2008, 36 (19): 8062-8064.
- [11] 徐丽, 张怡轩, 王勇.⁶⁰Co γ 射线技术在阿维菌素产生菌诱变育种中的应用 [J]. 安徽农业科学, 2007, 35 (13): 3797-3799.
- [12] Namkyu Sun, Seunghee Lee, Kyung Bin Song. Characterization of a carotenoid-hyperproducing yeast mutant isolated by low-dose gamma irradiation [J]. Food Microbiology, 2004, 94: 263-267.
- [13] 梁慧星. 离子注入技术在微生物诱变育种中的研究 [J]. 安徽农业科学, 2007, 35 (9): 2564-2565.
- [14] 卫军, 景建洲, 宋德贵. L-精氨酸产生菌的离子束诱变育种 [J]. 广西师范大学学报, 2006, 24 (2): 97-100.
- [15] 蒋世春, 吴建平, 白骅. 应用等离子体辐射技术选育柔红霉素产生菌——天兰淡红链霉菌 [J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2001, 19 (2): 133-137.
- [16] 杜润洋, 李雪康, 叶文忠, 等. 灰色链霉菌快中子诱变育种 [J]. 复旦学报, 1981, 20 (4): 372-376.
- [17] 李豪, 车振明. 微波诱变微生物育种的研究 [J]. 山西食品工业, 2005, (2): 5-8.
- [18] 李永泉. 微波诱变选育木聚糖酶高产菌 [J]. 微生物学报, 2001, 17 (1): 50-53.
- [19] 朱传合, 贺亚男, 路福平, 等. 微波对阿维拉霉素产生菌诱变效应的研究 [J]. 现代生物医学进展, 2006, 6 (4): 32-34.
- [20] 李文革, 彭玲, 刘宣承. 产生菌黑曲霉 Co9-6 的研究 [J]. 激光生物学, 1994, 3 (3): 509-512.
- [21] 田兴山, 张玲华, 郭勇, 等. 空间诱变在微生物菌种选育上的研究进展 [J]. 生物技术通讯, 2005, 16 (1): 105-108.
- [22] 白骅, 郎莉莉. 空间选育毒三素链霉菌 [J]. 激光生物学报, 2004, 13 (1): 38-40.
- [23] 王璋, 刘新征, 王亮, 等. “神舟”4 号空间飞行对搭载的转谷氨酰胺酶链霉菌选育的影响 [J]. 航天医学与医学工程, 2004, 17 (4): 275-281.
- [24] 杨生玉, 卫军, 刘宇鹏, 等. 双向复合磁场在诱变育种中增变作用的研究 [J]. 微生物学通报, 2003, 30 (5): 82-86.
- [25] 殷翱, 林开春, 何进. 农抗 120 生产菌高能电子流诱变育种与发酵性能研究 [J]. 化学与生物工程, 2005, (11): 39-41.

(下转第 78 页)

子指、叶片大小均大幅度降低，铃重和衣分有所提高。表明营养器官的杂种优势逐步降低，基因向纯合稳定趋势发

展；铃重和衣分的趋优是对其进行陆地棉型单株选择的效果，同时也证明铃重、衣分与马克隆值存在负相关关系。

表 2 不同世代农艺性状的变化
Table 2 The agronomic characters of different generations

代数	生育期 (d)	株高 (cm)	株型	叶型	花冠和花药颜色	叶片大小	铃型	铃重 (g)	子指 (g)	衣分 (%)
二代	146	155.0	塔形, 茎秆粗壮	叶裂 3~5个, 叶缘波状	花冠浅黄色, 花药米黄色	大	圆锥形, 大, 皮厚	4.1	16.3	29.7
三代	138	116.0	塔形, 茎秆粗壮	叶裂 3个, 叶缘波状	花冠浅黄色, 花药米黄色	中等偏大	圆锥形, 大, 皮较厚	4.8	14.7	31.5
四代	131	88.3	塔形, 茎秆较粗壮	叶裂 3个, 叶缘波状	花冠浅黄色, 花药米黄色	中等偏大	圆锥形, 大, 皮较厚	5.1	13.9	33.6

2.3 回交品种的选择与效果

(陆地棉 × 索马里棉) × 海岛棉属于种间杂种，后代性状严重分离，农艺性状极差，如生育期长、铃重小、衣分低、叶片大等，需用陆地棉进行回交来逐步改变。石远 321 是黄河流域大面积种植的陆地棉品种，来源于陆地棉 × 瑟伯氏 × 海岛棉三元杂种，用它做回交品种，原因之一是其遗传物质与 (陆地棉 × 索马里棉) × 海岛棉同源或近源的可能性较大，染色体重组比较容易，杂交成功率和性状遗传、稳定性较大；原因之二是利用这些同源性或近源性有可能激活某些隐性有利基因的表达。H287 的创制过程和结果说明了这些设想具有一定的可能性。

3 讨论

陆地棉和海岛棉有许多可以互补的性状，相互杂交没有障碍，然而利用两者杂交育成常规品种的实例甚少，因为二者杂交的 F₂ 及其后代性状表现迅速回到了亲本型，基因重组失败。因此，利用三元杂交有可能打破陆地棉和海岛棉遗传连锁的负相关，达到优良基因互补的效果。

用陆地棉对三元杂种进行回交，可以使其后代接近

陆地棉的丰产性、适应性等优良性状。但纤维品质性状与诸多丰产性状间的遗传存在不同程度的负相关^[5]。因此，回交次数很重要。回交次数少了，丰产性和适应性较差；回交次数多了，会导致野生棉或海岛棉的优良性状丢失。本研究初步证明，通过种间杂交的方式要达到利用野生棉优良性状的目的，需要海岛棉作为中间品种来实现基因重组，再用陆地棉回交 3 次，可能是种质资源创新的有效途径。

参考文献:

[1] 杨伟华, 项时康, 唐淑荣, 等. 20年来我国自育棉花品种纤维品质分析 [J]. 棉花学报, 2001, 13 (6): 377-384.
 [2] 李颖, 何鉴星, 张欣雪. 四倍体栽培棉与索马里棉异源五倍体杂种的细胞遗传学研究 [J]. 棉花学报, 2003, 15 (4): 195-200.
 [3] Douwes H. The Cytological relationships of *Gossypium aegyptium* Desf. [J]. Journal of Genetics, 1953, 51: 611-624.
 [4] 何鉴星, 姜茹琴, 张欣雪, 等. 陆地棉 × 索马里棉异源六倍体杂种的细胞遗传学和纤维特性 [J]. 科学通报, 2000, 45 (16): 1742-1747.
 [5] 梁正兰. 棉花远缘杂交的遗传和育种 [M]. 北京: 科学出版社, 1999.

(上接第 76 页)

[26] 汪杏莉, 李宗伟, 陈林海, 等. 工业微生物物理诱变育种技术的新进展 [J]. 生物技术通报, 2007, (2): 114-118.
 [27] 周希贵, 戴鹏高, 刑维玲. 粘杆菌素高产菌株的选育 [J]. 微生物学通报, 2001, 28 (5): 49-51.
 [28] 王璋, 王灼维, 莫湘筠. 微生物转谷氨酰胺酶的生产菌种诱变和发酵生产分析 [J]. 生物加工过程, 2003, 1 (1): 52-59.
 [29] 程世清. 产色素菌 T17-2-39 的诱变育种试验 [J]. 江苏食品与发酵, 2000, (2): 9-12.
 [30] 王世梅, 黄为一, 崔凤元. 阿扎霉素 B 产生菌吸水链霉菌 NND-52 的诱变筛选 [J]. 微生物学通报, 2001, 28 (1): 64-67.
 [31] 李春丽, 金国英, 李桃生. 原生质体融合和秋水仙素染色体加倍构建强发酵淀粉的糖化酶酵母研究 [J]. 河南农业大学学报, 2002, 36 (1): 1-6.
 [32] 胡海峰, 张琴, 朱宝泉, 等. 组合庆大霉素和利福平二

种抗性突变提高蜡状芽孢杆菌 2045 合成抗生素 FR-900493 的水平 [J]. 中国抗生素杂志, 2003, 28 (1): 53-54.
 [33] 查冬兴, 唐纪良, 马庆生. 转座子诱变甘蓝黑腐病黄单胞菌所获得胞外多糖突变体的验证 [J]. 广西农业大学学报, 1996, 15 (4): 279-284.
 [34] 王玉飞, 王恒樑, 袁静, 等. 转座子 Tn917 诱变的炭疽杆菌芽孢形成缺陷株的筛选 [J]. 生物技术通讯, 2006, 17 (3): 305-307.
 [35] 白玉明, 陈开明, 孟钊红, 等. 产植酸青霉菌株的诱变研究 [J]. 山西大学学报, 1997, 20 (4): 416-419.
 [36] 江宁, 任永娥, 强亚静. 用底物类似物抗性法选育海因酶高产菌种 [J]. 微生物学报, 1995, 35 (5): 342-345.
 [37] Zhao XJ, Zhang HX. Study on tissue culture and radiation mutation of *Astragalus membranaceus* Bge var *mongolicus* (Bge.) hsiao [J]. Agricultural Science & Technology, 2009, 10 (2): 37-40.