

化学诱变在花卉育种中的应用

李雪娇, 黄丽萍, 余朝秀, 王玉英, 李枝林

(云南农业大学花卉研究所, 昆明 650201)

摘要:通过对化学诱变育种发展历程、诱变剂种类、诱变机理、育种特点及在花卉上的应用研究等五方面进行综述, 得出了花卉化学诱变育种具有的优势, 同时指出了花卉化学诱变育种存在的主要问题, 并指出了其发展趋势。

关键词:花卉; 化学诱变育种; 诱变剂; 应用

中图分类号:S681.03.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2007)02-0060-04

花卉化学诱变育种是人工利用化学诱变剂诱发花卉产生遗传变异, 再通过多世代对突变体进行选择 and 鉴定、培育成具有较高观赏价值花卉新品种的技术。

1 化学诱变育种简述

1.1 化学诱变育种的发展历程

化学诱变育种始于 20 世纪初。1943 年 Oehlkers 用脲烷处理月见草以后, 化学药剂的诱变作用得到了肯定。Gustafsson 等于 1948 年用芥子气处理大麦获得突变体, 开创了化学诱变在农作物育种上应用的先河。20 世纪 50 年代的研究较为广泛并逐渐取得成果, 此后农作物化学诱变育种在世界各国得以推广。到 1990 年为止, 利用化学诱变育种育成的新品种(系)有 106 个, 约占诱变育成品种(系)的 70%, 以禾谷类居多, 其中大麦 15 个, 水稻 12 个, 小麦 9 个, 玉米 7 个^[1]。

我国化学诱变育种起步于 20 世纪 50 年代后期, 经 40 年发展取得了令世人瞩目的成就, 诱变育成的品种数量和种植面积居世界首位。据不完全统计, 至 1994 年底, 我国已在 40 多种植物上育成了 430 多个优良突变品种, 年种植面积 900 万 hm^2 以上, 增产粮棉、油 50 亿 kg, 创造了巨大的社会效益和经济效益。

1.2 化学诱变剂种类

化学诱变剂早年常用芥子气, 到现在新的诱变剂不断被发现和应用, 约 300 多种, 有特殊诱变效果的 30 余种, 主要有以下几类^[2]:

烷化剂类:如甲基磺酸乙脂(EMS)、乙基磺酸乙脂(EES)、甲基磺酸甲脂(MMS)、丙基磺酸丙脂(PPS)、甲基磺酸丙脂(PMS)等; **核酸碱基类似物:**

5-溴尿嘧啶(5-BU)、5-溴去氧尿嘧啶核苷(5-BUDR)、8-氮鸟嘌呤、咖啡碱、马来酰肼等; **吡啶类(嵌入剂):**吡啶橙、二氨基吡啶、人工合成 ICR 化合物; **无机类化合物:** H_2O_2 、LiCl、亚硝酸、 MnCl_2 、 CuSO_4 等; **简单有机类化合物:**抗生素、丝裂霉素、重氮丝氨酸、中性红、甲醛、乳酸等; **异种 DNA:**嘌呤及其衍生物等; **生物碱:**石蒜碱、秋水仙碱、喜树碱、长春花碱等。

1.3 化学诱变机理

1.3.1 碱基与突变 DNA 结构中有 4 种碱基, 即腺嘌呤、鸟嘌呤、胸腺嘧啶、胞嘧啶, 一般腺嘌呤与胸腺嘧啶配对, 鸟嘌呤与胞嘧啶配对。如碱基系列中一个碱基被另一个碱基对所代替, 叫做碱基替换, 以嘌呤替代嘌呤或嘧啶替代嘧啶的替换过程称替换。如嘌呤替代嘧啶或嘧啶替代嘌呤称颠换。碱基替换过程中只改变替换碱基的那个密码子, 也就是说每一次碱基替换只改变一个密码子, 不会涉及到其它密码子。如在碱基系列中插入一个新的碱基或在碱基系列中丢失一个碱基, 造成后面的整个 DNA 上的密码子都被改变称移码突变^[2]。一般来说, 单个植株发生突变的频率介于千分之一至万分之一之间。单个基因则介于十万分之一至百万分之一之间, 然而人工诱变可使自然突变提高千倍以上, 从而使人们定向创造和筛选变异成为可能。

1.3.2 碱基类似物的诱变机制 碱基类似物是一些非标准的核酸碱基, 它们的分子结构与天然碱基非常相似, 它可在 DNA 复制中替代天然碱基, 引起配对错误, 从而由一种碱基对替换另一种碱基对。如 2-氨基嘌呤(2AP), 它主要置换腺嘌呤, 从而引起 A-T 到 G-C 的转换。

1.3.3 化学物质诱变机制 一些烷化基、亚硝酸盐及羟胺都能改变核酸中的核苷酸的化学结构, 导致碱基的替换。亚硝酸具有氧化脱氨的作用, 它能使腺嘌呤脱去氨基成为次黄嘌呤。次黄嘌呤不能与胸腺嘧啶配对, 却能与胞嘧啶配对, 这样受亚硝酸处理的

第一作者简介:李雪娇, 女, 1983 年生, 在读硕士研究生, 主要从事兰花化学诱变育种研究。

通讯作者:李枝林, E-mail: lzl yn@sohu.com

基金项目:国家自然科学基金项目, 编号: 3060074; 云南省重点科学基金项目, 编号: 2002C003P; 教育部“春晖计划”项目, 编号: Z2005-2-65008。

收稿日期: 2006-09-11



DNA 分子中就具有次黄嘌呤, 经过 DNA 复制, 使原来的 A-T 对转换成 G-C 对。烷化基能使 DNA 分子中的碱基烷基化, 导致配对时出现误差, 产生碱基替换。如甲基磺酸乙脂(EMS) 主要与鸟嘌呤作用, 嘌呤环的 N-7 上接上烷基, 造成 G-C 向 A-T 的转换或 T-A 向 C-G 的颠换。羟胺(HA): 是一种还原剂, 作用于胞嘧啶上, 使它的氨基变成醇基, 不再与鸟嘌呤配对, 因此在 DNA 复制时, 能将 G-C 对转换成 A-T 对。

1.3.4 嵌入剂 是一类能引起移码突变的化合物, 常用的有吡啶橙、二氨基吡啶(原黄素和吡啶黄素等吡啶衍生物)。它们都是扁平的三环化合物, 大小和嘌呤-嘧啶对大致相等, 它能结合到 DNA 上, 并插入邻近的碱基之间, 使 DNA 骨架变形, 导致染色体配对交换过程中不等价交换, 形成两个重组分子, 一个多一个碱基对, 另一个少一个碱基对, 造成识别和阅读错误产生移码突变。吡啶类物质诱发的移码突变只能由吡啶剂诱发回复^[2]。

1.3.5 关于控制遗传可能性 目前已知突变对所研究的作物的作用同下述遗传背景有关: 不同基因复制的非同步性与某些诱变剂作用先于 DNA 合成; 病毒及游离体的相互作用与染色体某些部位有关; 在控制因子作用下的基因变异的特异性与副突变; 特殊的抗突变系统; 基因易位、抑制某些基因的机能与操纵子; 二倍体及单倍体选择等等^[4-5]。

1.4 化学诱变育种的特点

1.4.1 操作方法简便易行 与辐射诱变相比价格低廉, 不需昂贵的 X 光机或 γ 射线源, 只要有足够的供试材料, 便可大规模进行, 并可重复试验。

1.4.2 专一性强 特定的化学药剂, 仅对某个碱基或几个碱基有作用, 因此可改变某品种单一不良性状, 而保持其它优良性状不变。

1.4.3 化学诱变剂可提高突变频率, 扩大突变范围。化学诱变可诱变出自然界往往没有或很少出现的新类型, 这就为人工选育新品种提高了丰富的原始材料。

1.4.4 化学诱变剂是靠其化学特性与遗传物质发生一系列生化反应造成的, 多基因点突变, 且有迟发效应, 在诱变当代往往不表现, 在诱导植物的后代, 才表现出性状的改变。因此, 至少需要经过两代的培育、选择, 才能获得性状稳定的新品种。

1.4.5 诱变后代的稳定过程较短, 可缩短育种年限: 经过化学诱变剂处理后, 用种子繁殖的一、二年生草花, 一般 F_3 代就可稳定, 经 3~6 代即可培育出新品种。天然异花授粉或常异交植物, 应注意防止种间或品种间天然杂交引起后代分离。对木本、宿根花卉和能用无性繁殖的植物, 应采用营养繁殖以保持其品种特性。

2 化学诱变在花卉育种中的应用

花卉化学诱变育种主要是利用秋水仙素诱导多

倍体的产生, 从而产生新品种。多倍体花卉新品种往往具有植株粗壮、叶大、花器官增大、花色更娇艳等特征, 增加了花卉的观赏价值和商业价值, 这在百合、萱草、金鱼草、马蹄莲、报春花等众多花卉上均获成功。

2.1 国外花卉化学诱变育种研究及应用概况

到 1937 年, 美国布勒克斯里(Blakeslee) 与艾鸟芮(Avery) 二人应用秋水仙碱处理植物的种子, 一举获得了 45% 以上的同源多倍体。有用 EMS 2.5% 诱导麝香石竹的花色突变, 1978 年美国用 EMS 4% 处理紫薇 1h, 获得叶小而厚、花小、茎粗壮、抗白粉病耐干旱的突变体^[3]。乌克兰人用 0.01% N-乙基-N-亚硝基脲处理夹竹桃植物, 诱导出晚花, 有特异花色的突变体, 用 0.02% N-乙基-N-亚硝基脲及氨基苯酸处理菊花, 得到二株白色突变体, 还实现了 5 个玫瑰品种的花色改变。Kashikar 以二倍体矮牵牛的白花品系为材料, 用甲烷乙磺酸盐(EMS) 和 γ 射线处理, 使其花色发生突变, 从中选育新花色的矮牵牛品种^[4]。Mazumder 和 Bhowmik 用 γ 射线和 EMS 对紫花苞舌兰(*Spathoglottis plicata*) 的原球茎进行处理获得了 8 个叶绿素的突变体。在高浓度的激素作用下, 万代兰属花色发生变异, 蕙兰属花瓣变厚, 蝴蝶兰属整个植株发生变异^[5]。Hansen 等(1996) 用 125 nag/L 秋水仙素处理五唇兰(*Doritis pulcherrima* Lindl.) 的原球茎, 再生植株中有 46% 为四倍体。

2.2 我国花卉化学诱变育种研究及应用概况

我国花卉的化学诱变育种起步晚, 目前已培育出多倍体重瓣大岩桐^[6]。武汉植物所通过染色体加倍诱导, 已获得一批荷花四倍体品系, 用四倍体与二倍体杂交, 又选出一批三倍体品系。这些荷花花瓣宽厚, 花朵增大, 色艳, 开花时花朵不完全开放, 别具姿色。现今菊花(*Dendranthema × grandiflorum*)、月季(*Rosa hybrida*)、郁金香(*tulipa gesneriana*)、百日草(*Zinnia elegans*)、大丽花(*Dahlia hybrida*) 等著名品种也几乎都是多倍体^[7]。

黄济明(1983) 在百合的诱导试验中, 得到的多倍体百合植株具有花大、粗壮、耐贮藏运输等优点。张教方等(1990) 在诱导金鱼草(*Antirrhinum majus* L.) 的研究中, 结果表明, 用浓度为 0.3%~0.5% 的秋水仙素溶液处理种子 24 h 的效果较好, 同时四倍体的金鱼草的花加大 0.5~0.8 倍, 花瓣增厚、重瓣效果增强, 可大大提高其观赏性。岳桦等(1992) 以 0.05% 的秋水仙素处理金鱼草红色品种 48h 诱变率为 36%, 诱变获得的多倍体金鱼草显著增大, 长平均增加 25%, 宽平均增加 20.3%, 雄蕊瓣化, 重瓣效果显著。1995 年, 杜仙明等利用二倍体矮脚小白菜经秋水仙素诱变后, 已初步育成四倍体品种。邓国础(1997) 以春兰(*Cymbidium goeringii* Rchb. f.) 的圆球茎为材料, 利用秋水仙素进行人工诱变处理, 出现了植株变矮, 叶片增宽、增厚等变异。林芬(1997) 用

秋水仙素对春兰的原球茎处理,原球茎明显增大,幼叶明显变宽变厚。王鸿鹤等(1998)以重瓣大岩桐(*Sinningia speciosa*)叶片为外植体,经秋水仙素处理得到大量的多倍体植株。陈发棣(1999)利用秋水仙素对二倍体菊花脑[*Dendranthema nankingens* (Hand—Mazz) X. D. Cui]浸种诱导多倍体获得四倍体菊花脑。牛维和等对君子兰(*Clivia Lindl.*)种子进行诱变处理,用浓度0.25%的秋水仙素处理36h,所得到的多倍体诱变率为40%。Chen等采用剥去生长点外幼叶后用秋水仙素溶液滴苗或涂抹取得了明显的效果,剥滴处理诱导变异频率提高到52.6%,处理效果提高到30.4%;剥涂处理变异率提高到60%,处理效果提高到29.4%。雷家军(1999)采用组织培养并结合秋水仙素诱导多倍体的方法,成功地获得珍贵野生资源五叶草莓(*Fragaria pentaphylla* A. Los.)的加倍植株。张兴翠等(2000)报道了互叶白千层(*Melaleuca leucadendra* L.)快速繁殖方法及运用秋水仙素诱导处理培养多倍体的几种途径。

王俐等(2001)在组织培养条件下,对库拉索芦荟(*Aloe vera* L.)用秋水仙素进行染色体加倍的诱导处理,诱变率达50%,得到了叶片变厚、叶色变深、叶片变大的四倍体植株。随着植物组织培养技术的发展,越来越多的作物可以通过组织培养再生植株,这使秋水仙素在离体组织水平上诱导细胞内染色体加倍成为可能。郭英等(2002)对小叶绿萝(*Epipremnum aureum*)不定芽及愈伤组织用0.05%秋水仙素溶液浸泡法振荡培养3d,长大的植株表现出茎、叶柄增粗,叶片增大变厚,多倍体诱导率为12.5%。郑思乡等(2003)以0.1%~0.2%秋水仙素处理三色堇(*Viola tricolor* L.),以12~36h为佳,最高诱变频率可达到26%。张兴翠(2003)等以浓度为0.1%的秋水仙碱溶液浸泡处理药用百合丛生芽3d效果最好,得到的变异芽75%为纯合的四倍体。马新才等(2003)用1.0%的秋水仙素处理虞美人(*Papaver rhoeas* L.)48h,诱变率达55.0%,获得大量的四倍体、八倍体。郑思乡、毛琪等(2004)在离体培养下利用秋水仙素诱导东方百合2n配子杂交后代多倍体,突变率50%,结果突变后代不但出现四倍体而且出现一定数量的三倍体和不稳定的非整倍体。郑思乡、章海龙等(2004)用0.05%的秋水仙素处理东方百合24h的诱变效果最佳,诱变频率高达50%。上海园林科研所直接剥下百合试管苗中的鳞片用秋水仙素溶液浸泡处理后,加倍得到了“雨虹”(‘Rainlxm-hybrid’)和“粉完美”(‘Pink perfection’)两个品系。李培旺等(2004)用0.25%秋水仙碱浸泡和共培养48h以上均能诱导绿玉树(*Euphorbia tirucalli*)产生大量的四倍体小苗。张兴翠(2004)以浓度为0.2%的秋水仙素溶液浸泡处理花叶绿萝(*Scindapsus aureus* cv. Wilcoxii)24h效果最好,得到的变异芽71%

为纯合的四倍体。瞿素萍、熊丽等(2004)以0.05%的秋水仙溶液处理香石竹(*Dianthus caryophyllus* L.)50h,变异率达21%^[18-19]。

3 花卉化学诱变育种的优势

3.1 化学诱变剂引起的突变频率较高,尤其是产生非常高的叶绿素突变频率,在大部分情况下,就突变的数量而言,化学诱变剂要比辐射有效得多。化学诱变剂有特异性,遗传变异定位的程度比辐射高,诱发的突变性状有明显的专一性,有利于定向培育新品种。

3.2 化学诱变育种的作用是迟发突变,即化学物质在细胞分裂、DNA转录时才起作用,化学诱变是一种修饰性变异,几乎不产生染色体畸变,只是产生一些替代作用,通过对广大基因位点的温和的修饰,综合影响数量性状,使其表现出较大的变异,是花色育种的一个良好技术手段^[20]。

3.3 化学诱变育种是改变材料园艺性状的主要手段,对花的颜色、大小、重瓣性、彩斑与花叶的变化都有影响,但对花色与不规则彩斑的影响较大。现如今经常采用的组织培养和化学诱导的技术组合不但提供了变异技术,而且提供了无性扩繁技术及最后的纯合稳定技术,是一项较成熟的技术组合,是花卉育种工作的一种重要手段^[20]。

3.4 花卉育种的主要目标之一是提高观赏特性,与粮食作物的育种相比,可以不用过多考虑诱变后植物的安全性,为花卉化学诱变育种中化学诱变剂的选择提供更大的空间。

3.5 多倍体在植物花卉上表现很多的优点,如巨大性、可孕性低、适应性强、有机合成速率提高、克服远缘杂交不亲和等,为花卉在育种上的突破提供了较大帮助。通过化学诱变多倍体育种,还可以产生畸形花,通过不断的选育和稳定,能快速创造出新品种^[21]。

4 化学诱变育种在应用中存在的问题

4.1 花卉的育种尤其是草本花卉在实际应用中还存在一些问题:一是幼苗期生命力弱,在条件差的地区难以直播;二是开花后易感病、早衰,影响景观效果;三是宿根品种少,需每年种植。而草花育种不仅要求园艺性状上求新求异,而且要求生活力强、抗性与耐性高,同时育种手段应当便于操作、效果好、成本低。因此,要想很好的结合化学诱变技术仍是一个困难而艰巨的过程^[20]。

4.2 化学诱变育种自身也存在一些问题,如必须考虑处理的安全性、诱变剂的稳定性及其不利代谢产物等。除了要注意诱变剂本身的理化特性、处理材料的遗传背景、以及某些作用因素如剂量、温度、浓度等外,还必须考虑诱变处理材料的选择以及后代的鉴定与筛选等,因此,如何将化学诱变与其他育种手段及现代生物技术结合以增加突变频率,提高育种效果,仍然是作物诱变育种工作的重要课题。

4.3 化学诱变剂有迟效作用, 即诱变能引起生物学损伤和染色体断裂, 但并不立即表现和断开, 而且存在残留药物的后效作用, 在后代中引起的生物损伤大。由于引起的突变范围广, 后代选择需要足够大的群体; 突变频率尚不够高, 突变方向难以掌握, 具有很大的随机性; 后代突变体的鉴定工作量大; 很多化诱剂毒性较大, 具有残留效应等^[1]。

4.4 大部分化学诱变剂能致癌, 使用中必须十分谨慎, 要避免化学诱变剂与皮肤接触和吸入其蒸汽, 即使已处理完的废液亦需妥善处理。

4.5 在用秋水仙碱处理时由于细胞发育的不同步性, 有的细胞已经变成四倍体, 有的变成八倍体, 也有的没有变化。如何从众多嵌合体组织中筛选出我们所需要的多倍体还是个难点, 因此嵌合体问题限制了多倍体育种的发展^[22]。

5 发展趋势

5.1 在花卉的化学诱变育种过程中, 选择诱变频率高, 诱变效果好, 且毒害作用较小的诱变剂和探索新的诱变方法仍是今后化学诱变育种研究的重要内容之一。

5.2 合子期化学诱变在很多作物上已取得了较好的效果, 采用注射化学药剂或切断受精后的花柱滴加化学药剂, 化学药剂可以通过花粉管通道进入胚囊^[23], 诱导胚囊内细胞变异, 从而促进了诱变方法的多样性发展。

5.3 用化学诱变剂处理花粉粒或卵细胞再进行杂交育种, 形成 2N 配子育种体系, 有助于形成 3 倍体和多倍体植株, 这种 2N 配子育种方法有一定的应用前景。

5.4 植物材料经诱导后损伤较为严重, 从而影响处理后材料的正常生长, 因此, 在采用不同处理方法尤其是结合组织培养技术诱导处理不同材料后, 植株的及时复壮及其有效复壮配方的研究和筛选也是化学诱变育种发展中应解决的关键问题。

5.5 植物诱变后代多为嵌合体, 形成的多倍体细胞在生存竞争中不一定占有优势, 也可能逐步消失, 这对化学诱变育种是非常不利的。因此, 用组培方式分离多倍体细胞就显得格外重要, 而不同植物组培配方研究就成为解决嵌合体问题的重要发展内容。

综上所述, 化学诱变在花卉育种方面具有明显的优势, 但也存在一些问题, 研究中要充分利用化学诱变的优势和采取措施克服不足, 同时努力寻找新的更加有效而安全的途径和方法, 特别是结合现代生物技术等不同复合处理技术, 才能在花卉诱变育种方面取

得新的更大进展。

参考文献:

- [1] 安学丽, 蔡一林. 化学诱变及其在农作物育种上应用[J]. 核农学报, 2003, 17(3): 239-242
- [2] 程金水. 园林植物遗传育种学[M]. 北京: 中国林业出版社, 2002, 12: 170-174
- [3] 董颖苹, 连勇, 何庆才, 等. 植物化学诱变技术在育种中的运用及其进展[J]. 种子, 2005, 24(7): 54-58
- [4] 宋希强, 刘华敏, 李绍鹏, 等. 观赏植物新品种选育的方法与途径[J]. 世界林业研究, 2004, (12): 6-10.
- [5] 王卜琼, 李枝林, 余朝秀. 兰花育种研究进展[J]. 园艺学报, 2005, 32(3): 551-556
- [6] 刘小莉, 刘飞虎. 花卉育种技术研究进展[J]. 亚热带植物科学, 2003, 32(2): 64-68
- [7] 孙莉. 加快我国花卉育种进程的途径[J]. 长春大学学报, 2004, 14(4): 76-81.
- [8] 张晓曼, 周怀军, 张启翔, 等. 花卉多倍体育种研究[J]. 河北林果研究, 2004, 19(3): 288-294
- [9] 郭英, 梁国鲁. 小叶绿萝同源多倍体诱导研究初报[J]. 西南园艺, 2002, 30(4): 1-3
- [10] 郑思乡, 胡秀, 雷小云, 等. 离体培养条件下三色堇多倍体诱导研究[J]. 云南农业大学学报, 2003, 18(4): 397-400
- [11] 李培旺, 李昌珠, 周朴华, 等. 绿玉树多倍体诱导及其抗寒性研究[J]. 湖南林业科技, 2004, 31(5): 7-9.
- [12] 张兴翠. 花叶绿萝的多倍体诱导及快速繁殖[J]. 西南农业大学学报(自然科学版), 2004, 26(1): 58-60
- [13] 瞿素萍, 熊丽, 莫锡君, 等. 香石竹的多倍体诱导及其变异研究[J]. 西南农业大学学报(自然科学版), 2004, 26(5): 609-612
- [14] 瞿素萍, 王继华, 张颢, 等. 多倍体育种在园艺作物中的应用[J]. 北方园艺, 2003, (6): 58-60
- [15] Sandra, De Schepper, Leen Leus, Tom Eeckhaut, etc. Somatic Polyploid Petals; Regeneration Offers New Roads for Breeding Belgian Pot Azaleas[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2004, 76(2): 183-188
- [16] 郑思乡, 章海龙, 董志渊, 等. 东方百合多倍体诱导及种球繁育的研究[J]. 西南农业大学学报, 2004, 26(3): 260-263
- [17] 岳桦, 任俐, 王雁. 不同品种金鱼草多倍体诱导方法的研究[J]. 东北林业大学学报, 1992, 7, 20(4): 102-107.
- [18] 郑思乡, 毛琪, 吴福川, 等. 东方百合 2n 配子杂交后代多倍体诱导研究初报[J]. 云南农业大学学报, 2004, 19(6): 635-637.
- [19] 马新才, 戴建民, 李培环, 等. 虞美人多倍体化学诱变研究初报[J]. 莱阳农学院学报, 2003, 20(3): 172-174
- [20] 时学工, 王丽萍. 组织培养和化学诱导在草本花卉育种中的应用[J]. 种子科技, 2002, (1): 35-26
- [21] 谢利娟, 李涵, 李灏. 中国花卉育种存在的问题及对策[J]. 中国农学通报, 2004, 20(5): 203-205
- [22] 李云, 冯大领. 木本植物多倍体育种研究进展[J]. 植物学通报, 2005, 22(3): 375-382
- [23] 周平兰, 梁满中, 陈良碧. 合子期化学诱变在作物育种中的应用[J]. 核农学报, 2004, 18(6): 453-456
- [24] 罗静, 周厚成, 王永清. 园艺植物化学诱变与抗性突变体筛选研究进展[J]. 中国农学通报, 2005, 21(8): 302-305