

利用空间诱变育成“太空椒”系列新品种(品系)研究

郭亚华, 谢立波, 邓立平

(黑龙江省农科院园艺分院生物技术室, 哈尔滨 150069)

摘要: 利用空间特殊环境条件, 诱导辣椒干种子, 产生遗传变异, 经多代选育, 首次获得辣椒空间新品种“宇椒一号”及一批具有不同农艺性状的辣椒系列优良新品系。

关键词: 空间诱变; 辣椒; 品种(品系); 遗传变异

中图分类号: S641.303.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2003)06-0041-03

1 研究依据

随着科技的发展, 社会的需求, 空间资源正在被开发利用, 利用空间特殊条件诱导植物种子, 进行优良性状的选育, 已引起我国乃至世界育种家的关注。

20世纪80年代中期, 美国NASA报告中记载, 1984~1990年间的IDEF(Long Duration Exposures Facility)搭载番茄种子, 收回后分给全美学生及其它一些国家, 进行与地面对照的种子的发芽率与生长特征的观察, 分析表明, 航天种子与地面对照相比, 出现营养层和表层多孔、微量元素等发生了变化。美国航天生物学家Halstend TW研究了空间条件下植物细胞、胚及发育的生理、生化及遗传变化, 探索空间植物的相关影响因素。1995年美国航天局投入巨资在北卡罗纳州立大学建立了引力生物中心, 重点研究植物对引力的感受和反映。1996~1999年俄罗斯等国在“和平号”空间站成功的种植出小麦、白菜和油菜等植物。

国外空间生物学研究中一直把微重力因素的影响作为一个重要的研究内容, 结果指出: 微重力环境可能干扰DNA损伤修复系统的正常运作, 即阻延或抑制了DNA双链断裂修复, 空间辐射特别是其中高能重离子(HZE)能有效的引致细胞中的DNA双链断裂, 因而微重力与空间辐射的协同作用特别是这种抑制DNA损伤修复机制的研究和确认可能在一定程度上对低剂量空间辐射诱导植物种子产生较强的突变作出解释。

我国自1987年以来, 先后9次成功的利用科学返地卫星搭载植物种子, 经国内30多个省、市、地区, 50多个研究单位科技工作者的地面试验, 取得了可喜成果, 培育出高产、优质、多抗的水稻、小麦、青椒、番茄等新品种(品系)。多年试验证明空间诱变具有变异多、变幅大、稳定快的特点, 而且可以克服性状间的负相关, 打破性状连锁, 培育出通过地面育种手段难以得到的集高产、质佳、抗病为一体的优良突变体, 是一种高效的育种新途径。本项研究自1987年开始, 参加我国第一次卫星搭载瓜果类干种子试验及诱变育种研究, 并列为黑龙江省“八五”、“九五”、“十五”重要研究项目, 2002年开始进入国家高技术研究发展计划(863)。

2 研究目的

通过空间诱变快速培育出集高产、质佳为一体的辣(甜)

椒新品种及独具优异特性的新品系(资源), 丰富黑龙江省菜篮子工程及为辣椒质佳、抗逆新品种选育提供新种质资源; 通过对搭载后代的细胞学、生理生化及分子生物学检测, 探讨变异机理, 为空间诱变育种提供理论依据。

3 研究内容

空间诱变辣椒突变体筛选及遗传稳定性研究; 利用空间诱变辣椒新资源进行杂种优势利用研究; 对突变体及其后代的跟踪检测, 探索变异机理。

4 试验设计

4.1 材料与方法

4.1.1 供试品种(品系)及卫星

龙椒二号: KL94-1-KL94-5(重复搭载); KL94-6-KF96-1-KL96-5; AE068等12份试材。搭载卫星: “870805”、“921006”、“940703”、“961020”。

4.1.2 种子处理

供试材料取自交系的成熟饱满的种子。每个试材分成两份, 一份搭载于返地卫星上, 一份留作地面对照。卫星携带种子在空间飞行(分别为5 d(天)、7 d(天)、15 d(天)、14 d(天)等), 种子接受空间特殊条件处理。

4.1.3 变异的检测

对搭载后代做种子发芽率及幼苗长势检测、果实及叶片同工酶与营养成分分析; 突变系RAPD分子标记检测等。

4.1.4 田间试验

各处理的种子返回陆地后, 逐代在地面进行栽培与选育, 小区试验取垅作, 垅长5 m(米), 垅宽0.7 m(米), 2~4垅区(视种子量而定), 重复3次, 行株距 $0.7 \times 0.3 \text{ m}^2$ (平方米), 一垅双株。对逐代材料进行生物学、植物学性状观察并逐株实收测产及抗性调查, 采用集团法与系谱法相结合进行筛选, 培育新品系(突变系), 并用稳定的突变系做亲本配制杂交组合, 获得具有明显优势的杂种后代。

4.2 结果与分析

4.2.1 变异的检测

4.2.1.1 种子发芽率的检测 表1指出: 卫星搭载的青椒SP₁代种子发芽率有增有减的现象, 凡一次搭载的材料, SP₁代芽率无变化或多数表现芽率降低, 而重复搭载的试材SP₁代全部表现芽率提高。但到SP₂代无论是在SP₁代提高或降低都恢复了原来的水平, 即与对照无明显差异。引起SP₁代青椒种子发芽率减少, 是否由于卫星起飞或着地时受到强烈

震动与快速的冲击波造成种皮细胞生理损伤,有些失去了发芽率所致,而重复搭载的试材表现的芽率增高,可能材料本身由于曾接受了第一次空间条件的影响,产生了变异,使其机体的生理机制明显的不同于没有搭载过的材料。

SP₂代种子发芽率得以恢复的事实,说明由于空间条件引起的发芽率的变异属生理性变异,因而不能遗传。

表 1 种子发芽率测定						
处理 时间	试材 代号	处理	SP ₁		SP ₂	
			发芽率%	与 CK 比±%	发芽率%	与 CK 比±%
1987	龙椒二号	S	66.0	—	88.6	+4.40
	龙椒二号	G	66.0	0	84.8	0±
1992	龙椒二号	S	74.28	-5.41	85.96	-0.14
	龙椒二号	G	78.30	0	85.98	0
1994	K194-1	S *	68.0	+11.2	83.2	+0.12
		G	56.8	0	83.1	0
	K194-2	S *	58.3	+26.1	76.5	+1.19
		G	32.2	0	75.6	0
	K194-3	S *	67.8	+24.2	84.8	+1.07
		G	43.6	0	83.9	0
	K194-4	S *	72.7	+125.07	89.6	+1.35
		G	32.3	0	88.4	0
	K194-5	S *	77.1	+33.86	86.6	+1.52
		G	57.6	0	85.3	0
	K194-6	S *	5.6	-314.29	87.8	+1.05
		G	23.2	0	86.9	0
1996	K196-5	S	4.31	-732.9	11.2	+1.02
		G	35.9	0	10.04	0

注:凡有*的为重复搭载的试材

4.2.1.2 空间条件对青椒苗期的影响 上表所列数据是于幼苗出土后 34 d(天),随机取样每个试材 20 株,逐株调查,取其平均值。从表中各项指标明显看出,突变系 87-2 明显优于对照。

表 2 青椒苗期调查							
试材	株高(cm)	真叶数	主根长(cm)	侧根数	地上鲜重(g)	地下鲜重(g)	茎粗(mm)
卫星 87-2	5.68	2.2	9.7	14	2.8	1.0	1.44
CK	4.22	1.8	6.93	9.8	1.6	0.4	1.16

4.2.1.3 空间条件对青椒同工酶的影响 本试验曾检测了 SP₁代幼苗同工酶的变异及突变系 87-2 果实及叶片同工酶的变异。对 1987 年处理的 SP₁代幼苗同工酶分析结果,酯酶同工酶没有什么变化,而过氧化物酶同工酶比 CK 增加了两条谱带,其 Rf 值为 0.73、0.81。对突变系 87-2SP₉ 及 KL94329 的果实及叶片做同工酶分析结果,两份材料的酯酶及过氧化物酶同工酶均有明显变异(见表 3、表 4)。

表 3 过氧化物酶同工酶谱带序号(自负极至正极)										
部位	试材	1	2	3	4	5	6	7	8	9 10
叶片	CK	—	0.281	0.320	0.335	0.367	0.392	0.408	0.430	
	87-2SP ₉	0.092	0.281	0.320	—	0.367	0.392	—	0.430	
	CK	—	0.281	—	0.320	0.335	.0367	0.39	—	0.408 0.430
	KL94329	0.095	0.281	0.304	0.320	0.335	0.367	—	0.396	
果实	CK	0.316	—	0.332	—	—	—	—	0.520	
	87-2SP ₉	—	0.322	—	0.355	0.372	0.388	0.408	0.520	
	CK	—	0.322	0.349	0.368	0.398	0.506	0.520		
	KL94329	0.260	0.322	0.349	0.368	0.398	0.506	0.520		

由表 3、表 4 看出:87-2SP₉ 的叶片过氧化物酶同工酶比 CK 少了两条带(Rf 为 0.335、0.408),而增加了一条带(Rf 的

表 4 酯酶同工酶谱带序号(自负极至正极)

部位	试材	1	2	3	4	5
叶片	CK	0.934	0.946	0.965		
	87-2SP ₉	—	0.946	0.965		
	CK	0.938	—	0.965		
	K194329	—	0.942	0.965		
果实	CK	0.084	0.682	0.958	0.977	
	87-2SP ₉	0.084	0.682	0.958	0.977	
	CK	0.958	0.977			
	K194329	—	0.977			

0.092);其果实的过氧化物酶比 CK 少了两条带(Rf 为 0.316、0.332);而增加了五条带(Rf 为 0.322、0.355、0.372、0.388、0.408);青椒 KL94329 的叶片过氧化物酶同工酶比 CK 少了三条(Rf 为 0.392、0.408、0.430);又增加了三条带(Rf 0.095、0.304、0.396);其果实的过氧化物酶同工酶比 CK 增加了一条带(Rf 为 0.316)。

对两份试材的果实及叶片的酯酶同工酶分析结果,87-2SP₉ 的叶片酯酶谱带少了一条 Rf 为 0.934 的带,而果实的酯酶谱带与 CK 相同;KL94329 的叶片酯酶同工酶谱带少了一条 Rf 为 0.938 的带,而增加一条 Rf 为 0.942 的带,其酯酶同工酶比 CK 少了一条 Rf 为 0.958 的带。

表 5 突变系果实营养成分及叶绿素含量分析								
试材	Vc (mg/100g)	与 CK 比 ±%	可溶性 固形物%	与 CK 比 ±%	叶绿素 (mg/g·FW)	chl _a	chl _b	chl _b /chl _a
87-2SP ₉	42.1	+16	3.83	+63.6	16.732	12.756	3.779	0.312
CK	36.16	0	2.34	0	13.430	9.756	3.665	0.375
KL94329	45.57	+34	3.11	+40.0	14.856	11.076	3.976	0.341
CK	34.67	0	2.22	0	13.430	9.756	3.665	0.375

4.2.1.4 空间条件对青椒果实营养成分的影响 分析了突变系 87-2SP₉ 及 KL94329 的果实 Vc 及可溶性固形物及叶片的叶绿素含量结果如表 5。表 5 指出:突变系 87-2SP₉Vc 提高 16%,可溶性固形物增多 63.3%;叶绿素含量提高 24.59%,chl_b/chl_a 降低了 14.4%,而 KL94329 的 Vc 比 CK 提高 34%,可溶性固形物增多 40%,其叶片的叶绿素含量提高 10.61%,chl_b/chl_a 降低 9.55%。

4.2.1.5 突变体的分子检测 a.用新品系卫星 87-2 和 CK 进行 RAPD 分子标记分析;在使用 42 个引物中,38 个引物得到扩增,有 33 个引物在两组扩增了相同的产物,表明两组材料的遗传基础是一致的;有 4 引物的扩增序列初扩增出一些共同的产物外,卫星 87-2 组较对照组多出 2 个扩增产物,这反映了两组材料的 DNA 序列的基础基本是一致的。出现了一些差异,这些差异仅为卫星 87-2 序列所特有,显然,这是由于空间条件对其基因组 DNA 的影响造成的。b.突变系 KL96541 及其对照做 RAPD 分子检测,在供试的 60 个随机引物中,绝大多数引物扩增产物相同,其中 OBX₁₀ 在 1200、1110、5506P 处比 CK 多了三条带,说明了基因组发生了点突变,染色体互换或片段缺失而造成的结果。

综上所述,通过一系列分析及检测,报告了空间条件下引起的变异是深刻的、全面的。从植物生态学、生物化学及分子生物学等各方面全面分析了诱变体的突变,证实了变异的真实性、可靠性。为进一步开展空间诱变育种,提供了理论依据。

4.3 田间选育
多年来,对卫星搭载的试材,进行田间逐世代跟踪观察发

现搭载后代的变异多出现在 SP₂ 代, 有时在 SP₁ 代也表现变异。如: 新品系卫星 87—2 是 1987 搭载的龙椒二号 SP₂ 代突变系 L₅; KL9262 是 1992 年诱变的龙椒二号 SP₂ 的第 62 个单株突变体的株系; KL94329 是 1994 年用卫星 87—2 重复搭载的突变体 L₂₉; 唯有 KL96541 是 1966 年搭载的试材 96—5SP₁ 代的突变体 L₄₋₁ 的后代。每个突变体的田间表现如下。

4.3.1 突变系的产量变异

对每个突变体后代跟踪记载, 历年的产量统计见表 6。统计历年突变系的小区产量均明显高于对照, 并且高产优势在后代得到了保持。

表 6		突变系世代产量记载					
搭载年份	代号	产量(kg/区)					平均±%
		SP ₂	SP ₃	SP ₄	SP ₅	SP ₆	
1987	L ₅ 突变体筛选	19.20	33.54	36.14	28.08		+51.99
	CK	13.39	16.12	27.30	22.60		0
1992	L62 突变体筛选	25.3	32.4	41.01			+58.88
	CK	18.4	26.6	18.87			0
1994	L29 突变体筛选	38.64	30.9	31.99			47.32
	CK	28.08	24.4	18.0			0
1996	L4-1	25.9	29.0				50.81
	CK	15.2	22.1				0

4.3.2 突变系的抗病性变异

在产量测定的同时, 对突变体的抗性也做了跟踪调查, 观察 3 年试验小区的病毒病发生情况, 统计见表 7。

表 7		突变系的病情调查				
年代	代号	世代	病毒病 病情指数	比CK±%	发病率%	比CK±%
1997	87—2	SP9	14.83	—218.81	63.3	—35.23
	CK		47.28	0	85.6	0
	KL9262	SP5	18.75	—152.16	64.5	—32.71
	CK		47.28	0	85.6	0
	KL94329		SP3	20.77	—12.33	48.7
CK	23.33	0		56.6	0	
1998	87—2	SP10	16.67	—330.47	63.33	—57.90
	CK		71.76	0	100	0
	KL9262	SP6	18.72	—283.33	56.6	—76.68
	CK		71.76	0	100	0
	KL94329		SP4	20.12	+20.70	78.8
	CK	16.67		0	63.3	0
	KL96541	SP2	4.85	—544.3	24.24	—299.69
	CK		31.25	0	96.88	0
1999	87—2	SP11	12.45	—90.76	10.52	—43.54
	CK		23.75	0	15.1	0
	KL9262	SP7	15.67	51.56	13.6	—11.03
	CK		23.75	0	15.1	0
	KL94329		SP5	12.8	+2.8	10.36
	CK	12.45		0	10.25	0
	KL96541	SP3	1.33	—401.5	6.45	—510.7
CK	6.67		0	39.39	0	

对四份突变系, 在自然条件下, 进行抗性鉴定, 连续 3 年观察结果如表 7。四份突变系只有 KL94329 在 1998 年抗性略低于对照外, 其余年份及其它三份材料在 3 年中, 无论是发病病情指数或发病率均较对照明显减轻。说明空间条件对青椒抗性的影响也很深刻。而且, 这种影响所产生的变异得以遗传。

4.3.3 诱变产生的植物学性状变异

突变体的植物学性状变异也是明显的, 表 8 所列数据明显看出每个突变体的特征特性。87—2 具有果大、叶片肥大

表 8		青椒植物学性状记载						
代号	株高 (cm)	株幅 (m ²)	果形	果色	果长×果宽 (m ²)	单果重 (g)	单株 果数	叶长×叶宽 (m ²)
87—2	61.62	64.6	大方	深绿	11.45×11.3	175.46	12.5	18.76×10.03
CK	59.54	62.12	方	深绿	7.38×7.28	102.17	10.4	15.45×7.9
KL9262	78.65	70.8	梯	深绿	12.5×8.6	145.4	26.5	18.6×10.2
CK	59.54	62.12	方	深绿	7.38×7.28	102.16	10.4	15.45×7.9
KL94329	42.25	49.5	大方	深绿	12.32×12.0	202.0	12.6	14.75×8.35
CK	46.25	47.75	方	深绿	7.38×7.28	102.17	10.4	12.1×7.43
KL96541	63.6	64.2	粗羊角	深绿	14.68×3.24	34.36		13.92×7.42
CK	50.6	49.0	长羊角	浅绿	15.32×2.86		14.1	16.7×8.5

果重明显高于对照; KL9262 果形变异明显, 从方形变为梯形, 而且果面光滑, 无褶皱, 单株结果数比对照多一倍以上, 叶片肥大; KL94329 在果形上与 87—2 相似, 但它在熟性上变异明显, 花期提前 5 d~7 d(天), 而且前期产量增产 50% 以上, 具有特殊的经济效益。KL96541 是尖椒型, 其果形变异明显, 从长羊角、果顶带弯勾、多数为 2 心室的果形、果色浅绿, 变为粗羊角、果尖无勾、3 心室、果色深绿。叶片变小, 但叶数明显增多。单株叶片数为 360 多片, 而对照只有 160 多片, 平均增多 2 倍以上。而且抗性明显提高, 单株结果数提高 1 倍以上。

综上所述, 通过四次卫星搭载青椒干种子, 引起了青椒的后代变异, 经多代选育, 有益变异得以遗传, 并能较快的稳定。从而, 获得四个不同果型、不同熟期及不同特征特性的高产、抗病优良的新品系。其中卫星 87—2 已在全国各地大面积试种, 并于 2002 年初通过黑龙江省品种审定, 并命名为“宇椒一号”。

4.4 杂种优势利用

为拓宽空间诱变新品种的优势, 近年来, 黑龙江省农科院园艺分院将空间诱变育种与杂交育种相结合。利用空间诱变的优良新品系(资源)为亲本, 开展杂交组合的配制及组合力测定的研究。经多代培育, 已获得一批优良自交系, 并开展了杂交育种, F₁ 代在田间表现极其优势, 不仅产量超双亲, 而且抗病、质佳、田间长势喜人, 已筛选出 L_{A1}×L_{A3}; L_{A3}×L₀₁; L₉₂₆₇×L₉₂₅; L₉₆₄₁×L₉₂₆₇; L₉₂₆₇×L₉₂₆₄; L_{A1}×L_{A10} 等 6 个优势组合。目前, 进一步做小区鉴定及异地鉴定, 使其尽快推向市场。

5 结论

通过对空间条件处理后几种突变体的生理生化及 RAPD 分子生物的分析, 证实了辣椒在空间条件下引起了生理性及遗传性变异, 尤其是采用分子标记检测, 快速、准确的报告了 DNA 信息, 为空间诱变育种提供了真实可靠的理论依据。

通过四次卫星搭载辣椒干种子, 均出现了有益变异, 经多代选育, 育成“宇椒一号”新品种, 及系列辣椒新品系 4 个, 并已在全国各地大面积试种(1 700 余公顷)。

参考文献:

[1] 邓立平, 郭亚华等. 空间诱变在甜椒育种中的应用[J]. 空间科学学报. 1996. 16 卷增刊.
[2] 蒋兴村. 863 空间诱变育种进展及前景[J]. 空间科学学报. 1996. 16 卷增刊.
[3] 孙野青等. 空间环境对青椒、番茄遗传变异的影响[J]. 植物研究. 1997 年 17 卷 2 期.
[4] 梅曼彤. 空间诱变的进展. 空间科学学报. 1996. 16 卷增刊.