

辣椒种质资源创新的技术途径

张菊平, 张兴志 (河南科技大学林学院, 河南洛阳471003)

摘要 介绍辣椒种质资源创新的常用技术和复合技术。

关键词 辣椒; 资源创新; 技术

中图分类号 S641.3 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)01-00188-02

辣椒是重要的蔬菜作物, 选育各具特色的辣椒品种是辣椒产业化的要求。由于它原产于南美洲, 我国资源相对贫乏, 辣椒育种面临着育种材料遗传基础越来越狭窄、基因库日益贫乏, 而有利重组体的数量受到遗传资源狭窄的限制, 使育种工作进展缓慢, 甚至停滞不前。种质资源不足已成为选育突破性辣椒品种的瓶颈, 因此, 辣椒资源创新是辣椒育种持续发展的重要战略^[1]。

1 辣椒种质资源创新的技术类型

1.1 花药培养 花药培养是应用于辣椒育种较为有效的手段, 可比常规育种方法缩短2~4年。因为单倍体植株不存在显隐性的问题, 一旦发生突变, 即可以表达, 有利于性状的选择。王立浩等(2003)研究指出硝酸银、抗坏血酸均可以通过降低组织褐化程度提高胚状体的发生率, 而活性炭的加入可以降低愈伤组织的发生率, 从而使得花药培养从胚状体的途径发生^[2]。王焯等(2004)研究表明, 低温和无碳源处理对提高小孢子存活率的作用明显^[3]。多年来, 北京市海淀区组织培养研究室致力于花药培养研究, 利用花药培养技术分离纯化了多份优良育种材料, 育成4个新品种。

1.2 人工诱变 人工诱变包括物理诱变和化学诱变。物理诱变剂主要有射线、中子和激光等, 其中以射线利用最多, 由于其穿透力较强, 可以激活原子内层的电子, 使其离子化可以与其他原子或者分子相结合, 造成原子结合方式的转变。化学诱变效率大约是自发突变的100~1000倍。化学诱变剂主要包括EMS(甲基磺酸乙酯)、DMS(硫酸二甲酯)、H(乙烯亚胺)、NEH(亚硝基乙基脒)、秋水仙素^[4]、NaN₃(叠氮化钠)、HNO₂(亚硝酸)等。EMS是目前使用最广和效果最好的化学诱变剂, 其诱导的突变大多是点突变。化学诱变的材料主要是种子、花粉等。不同理化诱变因素复合处理是提高突变频率、扩大变异谱的有效方法。据淑明等(2003)用⁶⁰Co-射线与HNO₂复合处理辣椒干种子, 获得早熟突变体、矮秆突变体和叶绿体缺失突变体^[5]。赵会芳等(2005)用⁶⁰Co-射线与NaN₃复合处理的最优组合是0255品种用⁶⁰Co-射线照射30(1×10) Gy后再用1 mmol/L NaN₃浸种2 h或用⁶⁰Co-射线照射50(1×10) Gy后再用1 mmol/L NaN₃浸种2 h; 0257品种用⁶⁰Co-射线照射30(1×10) Gy后再用1 mmol/L NaN₃浸种4 h, 或用⁶⁰Co-射线照射50(1×10) Gy后再用1 mmol/L NaN₃浸种4 h; 0238品种用⁶⁰Co-射线照射30(1×10) Gy后再用1 mmol/L NaN₃浸种0 h。⁶⁰Co-射线与NaN₃复合处理后对M代根长、侧根数、茎长的影响最大^[6]。

1.3 空间诱变 空间诱变即“航天育种”, 就是在距离地球20万~400万km的高空环境进行各种农作物种子飞行搭载处理, 返地后种植选育。研究表明, 空间辐射, 特别是其中的高能重离子, 能有效的导致细胞中DNA双链断裂。因而微重力环境、空间辐射的协同作用可能在一定程度上对低剂量的空间辐射诱导植物种子产生较强突变的现象作出解释。刘敏等(1999)对卫星搭载后育成的甜椒87-2品种与对照进行RAPD分子检测, 从42个随机引物中筛选出4个在扩增物上有差异, 表明太空甜椒的遗传物质发生了变化^[7]。1987年卫星搭载处理甜椒种子, 于1992年获得4心室的太空椒, 门椒质量达250 g, 1993年经过精心栽培, 最大果质量可达500 g, 1998年在江苏省沛县种植培育出600 g的大果后代, 其VC含量提高20%, 可溶性固形物提高25%左右, 和地面对照相比, 增产30%~120%^[8-9]。

1.4 离子注入诱变 注入离子具有高传能线密度(LET)尖锐的电离峰(Bragg峰)及低氧增比, 并可精确控制入射深度和部位, 经加速后的离子具有一定的静止质量, 注入生物体后可以使质量、能量和电荷共同作用于生物体, 不同的质量数、电荷数和能量又可以根据需要进行组合。因此, 离子注入生物体后, 能、电的联合作用比其他电离辐射对生物体的作用内容更为丰富和复杂。离子注入诱变育种一般要比自然变异率高1000倍以上, 且变异谱宽, 变异速度快, 技术稳定可靠, 简便易行^[10]。辣椒经离子束处理的所有品种果实的果径都大于果长, 果型变短, 肉质变厚^[11]。

1.5 胚培养 辣椒的常规育种多利用杂种优势育种, 即选用两个杂交配合力高、杂种优势表现明显和性状互补性强的纯系品种或自交系进行人工授粉制造杂交种子。然而, 子代杂种胚往往会存在早期败育问题。采用胚培养可克服胚的败育, 缩短选育时间, 提高常规杂种优势育种的效率^[12]。Mria L等对未成熟和成熟的合子胚进行诱导, 通过体细胞胚胎发生途径获得再生植株, 建立和完善了合子胚早期鉴别的方法和离体培养技术。国内只有徐矿红等进行了辣椒成熟胚培养的研究, 利用组织培养手段, 选用1/2 MS固体培养基, 对辣椒成熟胚进行培养, 使其萌发成苗, 然后移栽于大田, 便可以采收到在遗传上无异于亲代的种子。这一技术对于辣椒种质资源的搜集提供了一条新的有效途径^[13]。

1.6 原生质体培养 原生质体是进行遗传操作和遗传转化较理想的受体, 其培养可克服远缘杂交中存在的生殖障碍, 实现物种间的体细胞杂交, 从而产生远缘杂交后代。何晓明等(1996)利用子叶原生质体为试材, 比较了液体浅层培养、琼脂糖珠培养及琼脂糖固体平板培养3种培养方法后, 发现液体浅层培养原生质体形成愈伤组织的效果最好, 为进一步开

展辣椒的原生质体培养及融合提供了有效的试验体系^[14]。

2 辣椒种质资源创新的复合技术

2.1 理化诱变与组织培养相结合 植物组织器官(包括花药等)在离体培养过程中本身的遗传性会发生改变,可以应用于植物品种的改良、种质的创新。两者的结合具有以下优点:培养密度高,极大地提高选择频率,减少土地占用和人力消耗;单细胞的培养突变几乎可以立刻表现出来,其表现不受相邻细胞的干扰,没有嵌合体现象;利用适当的选择剂,可以将突变细胞从混合细胞中有效地选择出来。

2.2 花药的诱变处理 射线、射线辐照以后,剥取花药接种于适当的培养基上,诱导愈伤组织,照射到诱导培养之前可以间隔2~3 d,以利于花药恢复生长提高其出愈能力。采用这种办法,能够避免射线对培养基的不良反应,但可能影响到培养的效果。先将处于单核靠边期的花药接种到培养基上,再进行照射,可以在一定程度上提高花粉发育的整齐度。

2.3 愈伤组织的诱变处理 愈伤组织诱变可以明显增加变异的程度及离体突变选择的应用,可以作为诱变处理的对象,与常规材料处理的不同之处在于愈伤组织是处于无菌的环境条件下,可以直接照射生长于培养皿或者三角瓶中的愈伤组织,避免污染。化学诱变可以采取直接向愈伤组织添加或者滴加诱变剂的方法。愈伤组织包括胚培养、幼胚培养、花药培养、子房培养等各种组织培养法得到的愈伤组织。

2.4 愈伤组织导入外源 DNA 采取向愈伤组织滴加一定量的DNA溶液的方法,促使DNA的导入。因为任何具有活跃的代谢活动和持续分裂的地方都具有增加外源DNA导入频率的作用。

(上接第176页)

曲线以及面包烘烤品质评价等,对小麦育种材料进行综合评价,将会大大提高育种效率,加快我国面包小麦品质育种进程。

参考文献

- [1] 林作楫. 食品加工与小麦品质改良[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994.
- [2] 魏益民. 主要食品对小麦籽粒品质的要求分析(1)[J]. 西部粮油科技, 2002(6): 10-12.
- [3] POMERANZ Y. Advances in cereal science and technology[M]. St Paul Minnesota: U.S.A. AACC, 1976: 158-236.
- [4] 李冬梅, 田纪春, 翟红梅. 小麦蛋白质含量测定方法比较[J]. 山东农业科学, 2006(3): 83-84.
- [5] 王光瑞. 浅谈烘烤面包对小麦品质的要求[J]. 农作物杂志, 1985(2): 4-7.
- [6] 李宗智, 孙馥亭. 不同小麦品种品质特性及其相关性的初步分析[J]. 中国农业科学, 1990, 23(6): 35-41.
- [7] 陈锋, 何中虎, 崔党群. 利用近红外透射光谱技术测定小麦品质性状的研究[J]. 麦类作物学报, 2003, 23(3): 1-4.
- [8] WANG C, KOVACS MI P. Swelling index of gluten test. application in prediction of dough properties and end use quality[J]. Cereal Chem, 2002, 79: 190-196.
- [9] 张晓科, 魏益民, 胡新中, 等. 谷蛋白溶胀指数在小麦早代品质选择中的应用价值分析[J]. 西北植物学报, 2004, 24(6): 971-974.
- [10] 周艳华, 何中虎, 阎俊. 中国小麦硬度分布及遗传分析[J]. 中国农业科学, 2002, 35(10): 1177-1185.
- [11] 郭世华, 何中虎, 马庆. 小麦籽粒硬度研究进展[J]. 麦类作物学报, 2005, 25(2): 107-111.

2.5 r 融合 r 融合可以克服远缘杂交的不亲和现象,是一种使存在生殖隔离的物种形成杂交的技术,即通过来自一个物种的核与来自另一个物种的细胞质不对称融合形成胞质杂种,这里的细胞质供体可以通过诱变而来,其最大特点是能够转移个别基因或极少的一段染色体物质,产生的后代是比较稳定可育的。能够改良物种的某个或某几个不良性状,也可克服原生质体融合产生杂种存在的缺点,这种技术目前还处于试验阶段。

参考文献

- [1] 张宝玺, 王立浩, 毛胜利, 等. 我国辣椒育种研究进展[J]. 中国蔬菜, 2005(10/11): 4-7.
- [2] 王立浩, 张宝玺, 郭家珍, 等. 辣椒花药培养中若干影响因素的研究[J]. 园艺学报, 2004, 31(2): 199-204.
- [3] 王焯, 张宝玺, 连勇, 等. 不同预处理对辣椒小孢子存活率的影响[J]. 中国蔬菜, 2004(4): 4-6.
- [4] 吕善勇. 世界蔬菜诱变育种及发展趋势[J]. 北方园艺, 1993(1): 16-17.
- [5] 琚淑明, 巩振辉, 李大伟.⁶⁰Co 射线与HNO₂复合处理对辣椒椒代的诱变效应[J]. 西北农林科技大学学报, 2003, 31(5): 47-50.
- [6] 赵会芳. 辣椒诱变及其诱变机理的研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2005.
- [7] 刘敏, 张赞, 薛淮, 等. 卫星搭载的甜椒87-2过氧化物同工酶检测及RAPD分子检测初报[J]. 核农学报, 1999, 13(5): 291-29.
- [8] 虞秋成, 黄宝才, 严建民. 作物空间诱变育种的现状及展望[J]. 江苏农业科学, 2001(4): 3-6.
- [9] 李金国. 蔬菜航天诱变育种[J]. 中国蔬菜, 1999(1): 4-5.
- [10] 郝爱平, 詹亚光, 尚洁. 诱变技术在植物育种中的研究新进展[J]. 生物技术通报, 2004(6): 30-34.
- [11] 吐尔逊·伊不拉音, 李茜, 武宝山. 离子束诱变蔬菜、药材等种子M₁生物效应[J]. 种子, 2001(5): 3-4.
- [12] 缪武, 刘志敏. 辣椒离体培养研究进展[J]. 辣椒杂志, 2005(2): 1-4.
- [13] 徐矿红, 张子天, 田云. 辣椒成熟胚培养技术在种质资源搜集中的应用[J]. 辽宁农业科学, 2000(1): 28-29.
- [14] 何晓明, 王鸣, 王喜之, 等. 辣椒叶片离体培养与植株再生[J]. 西北农业大学学报, 1996, 24(1): 93-96.
- [15] WESER H, KIEFFER R, LELLEY T. The influence of 1B/1R chromosome translocation on gluten protein composition and technological properties of bread wheat[J]. Sci Food Agric, 2000, 80: 1640-1647.
- [16] 刘建军, 何中虎, PENA R J, 等. 1BL/1RS易位对小麦加工品质的影响[J]. 作物学报, 2004, 30(2): 149-153.
- [17] 刘艳玲, 田纪春, 陈洪. 小麦面筋强度研究进展[J]. 山东农业科学, 2005(1): 74-78.
- [18] PAYNE PI, CORHELD K G, BLACKMAN J A. Identification of a high molecular weight subunits of glutenin and bread making quality in wheats of related pedigree[J]. Theor Appl Genet, 1979, 55: 153-159.
- [19] 赵和, 卢少源, 李宗智. 普通小麦高分子量麦谷蛋白亚基遗传变异及与其他性状的关系[J]. 河北农业大学学报, 1993, 16(1): 8-12.
- [20] 栗站稳, 兰坠, 卢少源. 早代筛选小麦HMW麦谷蛋白优质亚基的SDS-PAGE方法[J]. 北京农业科学, 1995(6): 17-20.
- [21] 李学军, 曹丽华, 王辉. 半籽粒小麦高分子量麦谷蛋白亚基的SDS-PAGE分析方法[J]. 河南农业大学学报, 2003(9): 209-212.
- [22] D'OMIDIO R, PORCEDDU E, LAHANDRA D. PCR analysis of genes encoding allelic variants of high molecular-weight glutenin subunits at the Glu-D1 locus[J]. Theor Appl Genet, 1994, 88: 175-180.
- [23] SMITH R L, SCHWEDER M E, BARNETT R D. Identification of glutenin alleles in wheat and triticale using PCR-generated DNA markers[J]. J. Gen. Sci., 1994, 34: 1373-1378.