

杂交玉米、水稻和辣椒种子 品种真实性和纯度的室内快速鉴定

严 敏, 王晓峰

(华南农业大学 生命科学学院, 广东 广州 510642)

摘要: 利用超薄等电聚焦电泳技术对杂交玉米、水稻和辣椒的 F_1 种子进行品种真实性和纯度鉴定, 发现所测杂交玉米组合 8×9 、辣椒组合 1×3 的 F_1 种子都同时具有父、母本特征带, 均为真实的杂交种子。所测杂交玉米粤优 1 号和杂交水稻华优 99 的 F_1 种子均不纯。

关键词: 杂交玉米; 杂交水稻; 杂交辣椒; 品种真实性; 纯度鉴定

中图分类号: S339.31

文献标识码: A

文章编号: 1001-411X(2003)02-0006-03

种子的纯度和品种真实性是种子检验的重要内容, 它不仅是种子质量的重要指标, 直接关系到作物产量的高低和品质的好坏, 而且也是申请作物新品种的重要指标。传统的鉴定方法主要是通过田间小区种植来进行, 它不仅费时、费力、成本高, 而且受环境、气候因素影响较大^[1]。种子蛋白质的超薄等电聚焦电泳技术(Ultrathin-Layer Isoelectric Focusing, 简称为 UTLIEF)是由 Radola^[2] 发展起来并经国外一些种子检验室改进的一种非常实用的电泳技术。该法用于检验种子纯度和品种真实性时, 具有简便、快速、准确、经济的特点, 已被写入 ISTA(International Seed Testing Association)种子检验规程^[3]。该法在胡椒^[4]、番茄^[5]、水稻^[6]等品种鉴定上取得了较好的结果。本文运用这种方法在室内对几个杂交玉米、水稻和辣椒组合的品种真实性和种子的纯度进行了鉴定。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试材料由广东省农业科学院经济作物研究所(杂交玉米粤优 1 号 F_1 种子)、广州市蔬菜所(辣椒杂交组合 1×3 的 F_1 及其亲本种子)、华南农业大学生命科学院叶绍文老师(玉米杂交组合 8×9 的 F_1 及其亲本种子)及华南农业大学开发公司种子种苗中心(杂交水稻华优桂 99 F_1 种子)提供。

1.2 试验方法

1.2.1 蛋白质的提取 辣椒: 取杂交组合 1×3 的 F_1 及其父母本种子各 4 粒, 单粒磨碎, 每粒加入 $\varphi = 30\%$ 的 2-氯乙醇 60 μL 提取蛋白质。

玉米: 取杂交组合 8×9 的 F_1 及其父母本种子各 3 粒, 单粒捣碎, 每粒加入 800 μL 氯化钠溶液(4 mmol/L); 随机选取杂交玉米粤优 1 号 F_1 种子 200 粒, 单粒捣碎, 按 5 $\mu\text{L}/\text{mg}$ 加入蛋白质提取缓冲液 [1000 mL 蛋白质提取缓冲液含 32.43 g 尿素、120 μL 乙二醇(化学纯)]。

水稻: 随机选取杂交水稻华优桂 99 F_1 种子 200 粒, 单粒粉碎, 每粒加 $\varphi = 30\%$ 的 2-氯乙醇 120 μL 提取蛋白质。

以上材料在常温下提取 1 h 后, 10000 r/min 离心 5 min。上清液用于电泳点样。

1.2.2 电泳 按参考文献[7]的方法进行。所加两性电解质(Servalyt)的 pH 范围: 辣椒为 pH 2~9; 玉米、水稻为 pH 6~9。

2 结果与分析

利用电泳技术判定 F_1 种子是否为真正的杂交种子, 主要是看它是否同时具有父本、母本的特征蛋白质带, 如有, 则为真实的杂交种子; 若只具有母本特征带而无父本特征带, 则为“假杂种”; 若既无父本特征带又无母本特征带, 则为品种混杂。从图 1 可看出, 杂交辣椒组合 1×3 中, 母本有 2 条特征带, 分别为 FMB1 和 FMB2; 父本有 3 条特征带, 分别为 MMB1、MMB2 和 MMB3; 所测的 4 粒 F_1 种子同时具有父本、母本特征带 FMB1、FMB2、MMB1、MMB2 和 MMB3, 所以均为真实的杂交种子。从图 2 可看出杂交玉米组合 8×9 中, 母本具有 1 条特征带 FMB, 父本具有 2 条特征带 MMB1 和 MMB2, 所测的 3 粒 F_1 种子

同时具有父、母本的特征带 FMB、MMB1 和 MMB2, 因此均为真实的杂交种子.

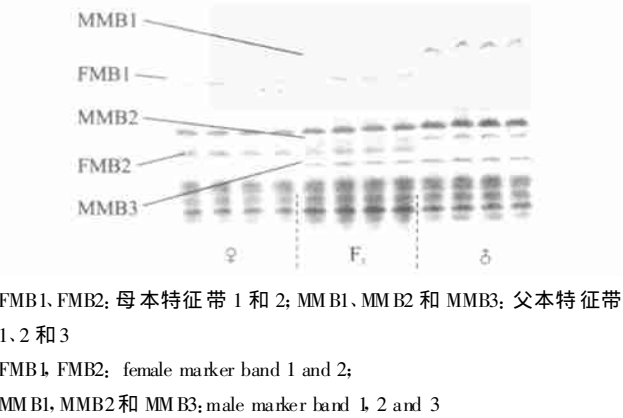


图1 杂交辣椒组合 1×3 的 F₁ 及父母本种子蛋白质超薄等电聚焦电泳图谱

Fig. 1 UTLIEF electrophoregram of proteins from parental and F₁ seeds of hybrid capsicum

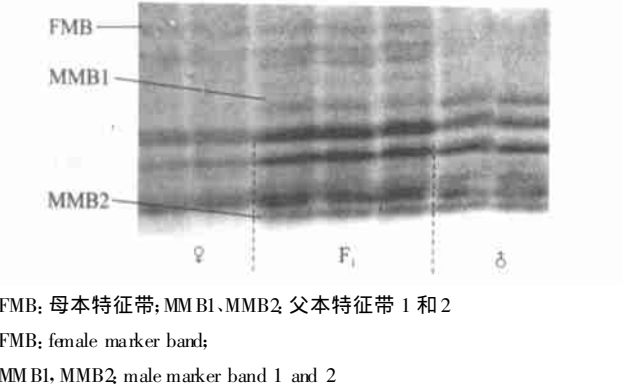


图2 杂交玉米组合 8×9 的 F₁ 及父母本种子蛋白质超薄等电聚焦电泳图谱

Fig. 2 UTLIEF electrophoregram of proteins from parental and F₁ seeds of hybrid maize

有时, 在无法得到父母本种子的情况下, 也可以通过观察 F₁ 种子蛋白质超薄等电聚焦电泳图谱的一致性来鉴定杂交种子的纯度. 如果所测种子的纯度为 100%, 则它们的蛋白质带型应完全一致, 如种子不纯, 则会出现不同的带型. 从图 3 可看出有 2 粒种子的蛋白质带型与大多数种子的蛋白质带型不同, 可以初步判定为其他品种的种子. 从图 4 可看出有 1 粒种子的蛋白质带型与大多数种子的蛋白质带型不同, 可以初步判定为其他品种的种子. 据此, 测定 200 粒(农作物种子检验规程中规定鉴定纯度时所需要的种子数)种子后, 发现杂交玉米粤优 1 号 F₁ 种子中有 10 粒的带型与其他种子不同, 杂交水稻华优桂 99 F₁ 种子中有 22 粒的带型与其他种子不同, 得出杂交玉米粤优 1 号 F₁ 种子的纯度为 95%, 杂交水稻华优桂 99 F₁ 种子的纯度为 89%.

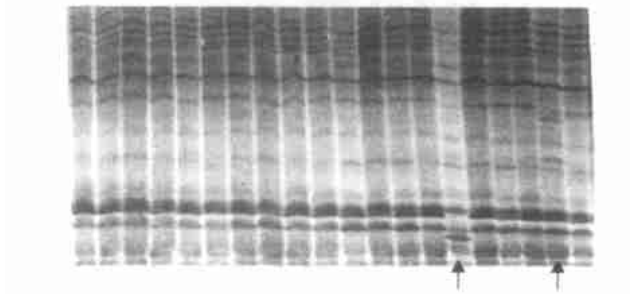


图3 杂交玉米粤优 1 号 F₁ 种子蛋白质超薄等电聚焦电泳图谱

图3 杂交玉米粤优 1 号 F₁ 种子蛋白质超薄等电聚焦电泳图谱

Fig. 3 UTLIEF electrophoregram of proteins from F₁ seeds of hybrid maize(cv. Yueyou 1)

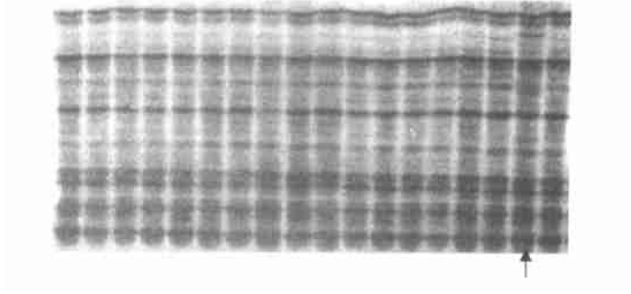


图4 杂交水稻华优桂 99 F₁ 种子蛋白质超薄等电聚焦电泳图谱

图4 杂交水稻华优桂 99 F₁ 种子蛋白质超薄等电聚焦电泳图谱

Fig. 4 UTLIEF electrophoregram of proteins from F₁ seeds of hybrid rice(cv. Huayougui 99)

3 讨论

蛋白质是基因表达的直接产物, 能够反映不同基因型之间的差异. 区别不同的品种, 从而可以用以鉴定杂交种子的品种真实性和纯度. 本试验利用种子蛋白质超薄等电聚焦电泳技术对杂交玉米、水稻和辣椒种子进行品种真实性和纯度鉴定, 取得了较好的结果. 超薄等电聚焦电泳技术是根据不同蛋白质具有不同的等电点的原理来区分各类蛋白质, 具有分辨率高的优点^[8]. 采用超薄等点聚焦电泳技术, 从样品的制备到凝胶脱色只需约 5 h, 因而半个工作日就可以得到鉴定结果^[9]. 由于采用水平平板电泳, 操作简便, 且可以同时点几十个样, 加上凝胶超薄, 所需药品很少, 所以成本较低. 因而, 该技术值得在品种真实性和种子纯度鉴定上推广运用.

参考文献:

[1] ROSTA K. Variety detemination in rice (*Oryza sativa* L.)

[J]. Seed Science and Technology, 1975, 3 (1): 161—169.

[2] RADOLA B J. Ultrathin-layer isoelectric focusing in 50—100 μ m polyacrylamide gels on silanized glass plates or polyester films[J]. Electrophoresis 1980, 1: 43—56.

[3] ISTA. International rules for seed testing-Annexes[J]. Seed Science and Technology, 1999, 27, Supplement: 1—333.

[4] LUCCHESI C, DINELLI G, MIGGIANO A, et al. Identification of pepper (*Capsicum* spp.) cultivars by field and electrophoresis tests[J]. Seed Science and Technology, 1999, 27: 37—47.

[5] WANG X F, KNOBLAUCH R, LEIST N. Varietal discrimination of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) by ultrathin-layer isoelectric focusing of seed protein[J]. Seed Science and Technology, 2000, 28: 201—213.

[6] VANANGAMUDI K, PALANISAMY V, NATESAN P, et al. Variety determination in rice-examination of the hulled grain[J]. Seed Science and Technology, 1988, 16: 457—464.

[7] WANG X F, KNOBLAUCH R, LEIST N. Identification of varieties and testing of hybrid purity of rice by ultrathin-layer isoelectric focusing of seed protein[J]. International Rice Research Notes 2001, 26(1): 18—19.

[8] 何忠效, 张树政. 电泳[M]. 第2版. 北京: 科学出版社, 1999. 59—104.

Varietal Identification and Genetic Purity Testing of Hybrid Maize, Capsicum and Rice in Laboratory

YAN Min, WANG Xiao-feng
(College of Life Science, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstract: Ultrathin-layer isoelectric focusing of seed protein was used for varietal identification and genetic purity testing of hybrid maize, capsicum and rice. It was found that the F₁ seeds of hybrid maize 8×9 and capsicum 1×3 had both of the male and female marker bands from parental lines, and were considered to be genuine hybrids. However, F₁ seeds of hybrid maize (cv. Yueyou 1) and rice (cv. Huaguiyou 99) were found to be not genetically pure.

Key words: hybrid maize; hybrid rice; hybrid capsicum; varietal identification; genetic purity

【责任编辑 柴 焰】