

特优系列杂交稻种子纯度的鉴定

胡群宝* 陈森 夏清华 蔡惠娇 何德银

农业部农作物种子质量监督检验测试中心, 广州 510500

Identification of Seed Purity from Hybrid Rice (*Oryza* spp.) of A Series of Teyou Varieties

HU Qun-Bao*, CHEN Sen, XIA Qing-Hua, CAI Hui-Jiao, HE De-Yin

Crop Seed Quality Supervising and Testing Center of the Ministry of Agriculture of China, Guangzhou 510500, China

摘要 用等电聚焦技术(IEF)对特优系列品种及其亲本种子蛋白进行了分析, 2-氯乙醇不能提取 F_1 代的亲本互补蛋白带, 而用40%的2-氯乙醇与15%的巯基乙醇混合液则能有效提取 F_1 代亲本互补带。采用此种互补谱带, 可鉴定“特优524”和“特优721”品种的种子样品, 其结果与田间小区种植鉴定的差异较小。

关键词 等电聚焦; 杂交稻; 特优系列品种; 纯度鉴定

我国杂交稻的常年种植面积为1.5亿 hm^2 左右, 占水稻总播种面积的50%~55%。种子纯度鉴定一直是困扰种子生产单位和管理部门的问题。近几年来, 胡群宝等^[1]用蛋白质的等电聚焦技术(isoelectric focusing, IEF)^[2]鉴定杂交稻种子纯度, 已在少数几个水稻品种上取得成功^[4~10]。这一技术能否在生产中应用, 还需进一步试验。

特优系列杂交稻品种是以“龙特浦A”为母本交配选育而成的一系列品种。“特优524”(粤审稻1997004)和“特优721”(粤审稻2002009)系广东省汕头市农业科学研究所用“龙特浦A”分别与“R524”和“R721”组配而成的杂交稻组合, 分别于1997年和2002年通过广东省农作物品种审定委员会审定。

本文以“特优524”和“特优721”及其亲本为材料, 探讨蛋白质等电聚焦技术在杂交稻种子纯度鉴定中的应用前景。

材料与方法

1 材料

水稻(*Oryza* spp.)杂优系列“龙特浦A”、“R524”、“R721”、“特优524”和“特优721”种子由广东省汕头市农业科学研究所提供。

2 方法

聚丙烯酰胺凝胶的制备参照Westermeier^[2]的方法进行, 种子蛋白的提取、点样、电泳条件的设置、缓冲液浓度的配置、染色、田间种植

对比鉴定等过程按文献1的方法进行。

结果与讨论

1 提取液种类与浓度对种子贮藏蛋白谱带的影响

在研究鉴定特优系列杂交稻种子的真实性与纯度时发现, 45%的2-氯乙醇^[1]不能有效提取 F_1 代的亲本互补蛋白带, 不同浓度的2-氯乙醇提取液也没有效果。为了寻找最佳种类的提取液, 我们分别对不同浓度乙醇、乙醇胺、磷酸缓冲液(0.1 mmol·L⁻¹)、巯基乙醇、乙二醇、氯化钠(0.1 mol·L⁻¹)共6种试剂进行了试验。结果表明, 只有40%的巯基乙醇能够提取1条父本带, 染色较浅。2-氯乙醇和巯基乙醇混合使用时的效果比单独使用巯基乙醇的好。对不同浓度的2-氯乙醇和巯基乙醇混合提取液反复多次试验结果表明, 40%的2-氯乙醇与15%的巯基乙醇混合液能有效提取 F_1 代亲本互补带。

2 “特优524”的IEF图谱

采用上述提取液, 得到了“特优524”的IEF图。从图1可以看出, 亲本与杂种 F_1 代间明显有2条互补谱带, 杂种有一条与母本相同的a带, 还有一条与父本相同的b带, a、b两条带同时在杂种中出现, 在亲本中只出现1条。据

收稿 2005-03-23 修定 2005-09-13

致谢 工作中得到华南农业大学生科院王晓峰先生的指导。

*-mail: huqunbao@126.com, Tel: 020-37288067

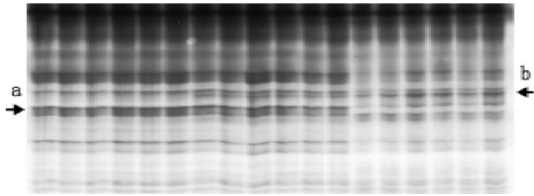


图1 “特优524”的IEF电泳
从左到右依次是：母本、F₁、父本各6条。

此，我们认为它是识别“特优524”真假杂种的关键，也是进行纯度鉴定的依据。

3 “特优721”的IEF图谱

图2是“特优721”的IEF图谱。从图2中可以看出，“特优721”与“特优524”的带型有些不同，说明基因型上是有明显差异的，显示a、b两条互补带是可用于识别“特优721”真假杂种的依据。

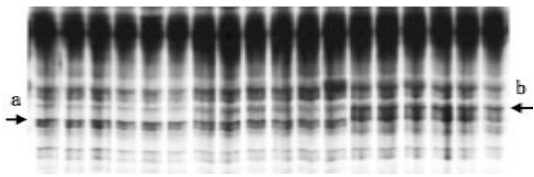


图2 “特优721”的IEF电泳
从左到右依次是：母本、F₁、父本各6条。

4 “特优524”和“特优721”种子纯度鉴定的比较

根据a、b带型的有无，我们对“特优524”和“特优721”的种子纯度快速鉴定与田间种植鉴定作了对比。结果是，样品编号为C040004和C040006的“特优721”的种子田间鉴定结果分别为97.6%和89.2%，而室内快速鉴定的纯度分别为98%和88%；样品编号为C040028和C040029的“特优524”的种子田间鉴定结果分别为93.6%和66.0%，而室内快速鉴定的纯度分别为90%和69%。由此可见，两种鉴定方法所得到的结果差异较小，显示IEF技术快速鉴定杂交稻种子纯度

是比较可靠的。

总之，寻找亲本的特征蛋白或标志基因片段是水稻杂交种子的真实性与纯度鉴定的基础。品种间DNA水平上的差异一般都能通过在蛋白水平上表达反映出来。由于不同品种的特性差异较大，一种蛋白提取液往往不能提取出所有品种的特征性蛋白，单独使用2-氯乙醇能提取“华优桂99”^[1]、“博优3550”^[5]、“博优998”^[6]等品种的特征蛋白，而对“特优524”和“特优721”却无效，这正是杂交稻种子纯度室内快速鉴定困难的原因之一。本文通过筛选不同的提取液，发现40%的2-氯乙醇与15%的巯基乙醇混合液能有效提取特优系列品种的亲本互补带。这表明特征蛋白在F₁代是存在的，只要找到合适的提取液，特征蛋白就能在电泳图谱上显示出来。

参考文献

- 1 胡群宝, 夏清华, 陈森. 用等电聚焦技术鉴定杂交稻华优桂99的种子纯度. 植物生理学通讯, 2004, 40(5): 597~598
- 2 Westermeier R. Electrophoresis in Practice. 3rd ed. D-69469 Weinheim (Federal Republic of Germany); WILEY-VCH Verlag GmbH, 2001. 171~182
- 3 胡群宝, 夏清华, 陈森等. 几个水稻品种的种子蛋白超薄等电聚焦谱带的差异. 种子, 2003, (5): 49~50
- 4 胡群宝, 夏清华, 陈森等. 利用等电聚焦技术对杂交稻丰优428种子纯度的快速鉴定. 杂交水稻, 2004, 19(3): 55~56
- 5 胡群宝, 夏清华, 陈森等. 杂交稻博优3550种子真实性与纯度的快速鉴定. 种子, 2004, 23(7): 90~91
- 6 胡群宝, 夏清华, 陈森等. 杂交稻博优998种子真实性与纯度的IEF鉴定. 中国农学通报, 2004, 20(4): 158~159
- 7 严敏, 王晓峰. 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. 华南农业大学学报(自然科学版), 2003, 24(2): 6~8
- 8 王晓峰, 黄惠玲, Knoblauch R等. 超薄等电聚焦电泳技术在水稻品种鉴定上的运用. 种子, 2000, (4): 6~9
- 9 王晓峰, 赵婷. 超薄等电聚焦电泳技术及其在种子纯度鉴定中的运用. 种子, 2000, (6): 55~57
- 10 蒋昌华, 王和勇, 陈润政等. 利用等电聚焦技术鉴定杂交水稻种子纯度. 种子世界, 2001, 224(8): 23~24