

文献标识码: B 文章编号: 1002-2767(2000)01-36-02

电泳技术在鉴定玉米品种及纯度中的应用^{*}

苏 萍, 吴 爽, 李霞辉, 戴常军

(黑龙江省农科院谷物品质研究中心, 哈尔滨 150086)

0 前言

品种纯度是玉米种子的主要质量指标, 也是种子分级的依据。实践表明, 在种子生产经营中, 诸如生物混杂, 机械混杂, 遗传漂移, 标签错误等均在不同程度上改变品种的遗传真实性和完整性。我国及国际种子检验规程中都规定了玉米田间纯度检验方法, 主要是检验种子的苗期、开花期、成熟期的植株形态。这些形态检验由于鉴定周期长、准确性差而不能满足玉米种子生产、运输和加工等过程中对纯度检验的要求。随着种子生产、加工、流通步入现代化和商品化, 玉米品种纯度鉴定的重要性更为明显。目前, 全世界都致力于种子蛋白质和同工酶电泳技术的研究和标准化。国际种子检验协会(ISTA) 1986 年将小麦和大麦种子醇溶蛋白质聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)方法列入 1985 年国际种子检验规程; 1993 年将鉴定豌豆属和黑麦草属 PAGE 电泳方法补充入 1993 年国际规程, 供世界各国参照使用。而电泳技术用于玉米品种纯度鉴定还有待于进一步规范和完善。

1 电泳技术在鉴定玉米品种及纯度中的应用

用电泳技术将玉米种子蛋白质(或同工酶)分离, 根据蛋白质组成差异即蛋白谱图谱带的不同来鉴别种子的基因型, 即由生化表现型反应基因型。不同的玉米品种其种子蛋白质组成不同, 因而可采用适合于玉米种子蛋白质(或同工酶)的电泳方法进行品种及纯度鉴定。目前, 用于玉米品种纯度鉴定的电泳技术可分为聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)、SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)、电聚焦聚丙烯酰胺凝胶电泳(IEF)等。

1.1 PAGE 技术 目前, 在玉米品种及纯度鉴定中采用的 PAGE 电泳技术主要有玉米球蛋白和清蛋白 PAGE 技术及玉米同工酶 PAGE 技术。根据蛋白质及同工酶组分不同选择相应的凝胶浓度、交联

度、缓冲体系等电泳参数及染色方法进行玉米品种纯度鉴定。杨太兴等^[1] (1979) 利用酯酶同工酶和过氧化物同工酶 PAGE 电泳技术进行玉米品种纯度鉴定, 并在研究中发现玉米自交系中存在 14.7% 的“酶谱纯度”不纯的现象, 证明同工酶的表达易受发育条件、组织器官分化等因素的影响, 从而使利用同工酶 PAGE 技术鉴定玉米品种及纯度具有一定的局限性。WANG CHUN 等^[8] (1994) 利用玉米蛋白质 PAGE 技术进行玉米品种纯度鉴定, 由于该方法具有分辨率高、特异性强、简单、快速等特点很快被全国各种种子检验部门推广应用。但由于该方法仅能在 β 区形成丰富的谱带, 所以应用该方法进行玉米品种登记及“生化指纹”鉴定还存在一定的局限性。而宋同明等^[2] (1996) 采用乳酸-PAGE 系统具有图谱清晰、分辨率高、稳定性强等特点, 因而在品种登记及品种法权保护方面具有广泛的应用前景。

1.2 SDS-PAGE 技术 利用玉米蛋白质亚基组成的差别来鉴定玉米品种及纯度也曾报道^[6], 但由于蛋白质谱带在品种间差异性小, 品种间特异性不强, 而使该方法在使用上受到局限。

1.3 IEF 技术 目前, 醇溶蛋白 IEF 电泳及同工酶 IEF 电泳技术在玉米品种及纯度鉴定中都具有一定的应用。在国内, 赵久然等^[3] (1996) 采用 IEF 电泳技术对 150 个自交系及 30 个玉米杂交种的酯酶同工酶酶谱进行鉴定, 并建立了谱带数据库。在国外, 许多学者采用玉米醇溶蛋白 IEF 电泳来鉴定玉米品种纯度^[4, 5, 7, 9]。玉米醇溶蛋白的分子量较为一致(23 000 或 21 000 道尔顿), 而且氨基酸组成也极为相似, 但不同蛋白质的等电点差别较大。玉米醇溶蛋白等电聚焦电泳图谱在不同品种间有较大差异, 因而采用 IEF 法鉴定玉米品种及纯度有较大的潜力。但由于电泳所需要的两性电解质较为昂贵, 而使该方法在推广应用方面具有一定的局限性。

* 收稿日期: 1999-09-10

作者简介: 苏萍(1966-), 女, 硕士研究生, 助理研究员, 从事谷物品质分析研究。

2 电泳技术在鉴定玉米品种及纯度中需要解决的问题

PAGE、SDS—PAGE、IEF 等电泳技术由于分辨率高、易找出基因型的特异性,操作简单,时间短,成本相对较低等,非常适合用于纯度检验。但在实际应用中,作为大规模品种鉴定和纯度鉴定手段,还需解决以下几方面问题:

2.1 尽快形成鉴定玉米纯度电泳方法标准,促进电泳技术的标准化 室内鉴定玉米品种纯度的电泳方法不尽相同,至今,我国还没有形成统一的室内品种纯度鉴定标准,有待于有关部门组织研究力量,针对目前的玉米杂交种和自交系纯度的室内快速鉴定技术进行攻关,形成简单、快捷、准确的标准方法,为玉米品种真实性和纯度检验工作提供统一的标准。

2.2 电泳数据处理的标准化和自动化 在对电泳操作程序规范化的同时,还必须解决电泳数据的标准化问题,因为尽管规范了电泳方法,其谱带组合,条带数,位置是相对稳定的,但仍有种种因素影响电泳谱带的迁移率,不可能完全一致,会发生一定变异,而且纯度检验至少在 100200 粒以上,往往不可能在同一块胶板上电泳。为使实验数据有可比性,必须进行系统的校正工作,即进行数据的标准化。蛋白谱带定位和标准化是实现数据处理自动化的重要前提。

2.3 谱带的命名 由于不同国家,不同实验室采用不同的命名系统,妨碍了信息的交换和品种比较。W rigley (1982)建立相对迁移率法,Shew ry (1979)建

立了图谱命名法。我国张建华等人建立了三位码酶谱编码法等。应使谱带命名规范化。

参 考 文 献

[1] 杨太兴等. 同工酶与玉米 杂种优势 研究. 杂种同工酶酶谱类型分析. 中国科学院遗传所研究工作年报, 1980, 115117

[2] 宋同明等. 利用玉米种子白蛋白和球蛋白乳酸聚丙烯酰胺电泳鉴定品种. 植物学报, 1996, 38(8): 599604

[3] 赵久然. 应用同工酶鉴定玉米自交系、杂交种纯度技术的研究. 北京农业科学, 1996, 14(6): 1921

[4] Brink, D. E. et al. Monoclonal antibodies against zeins. *Seed Science and Technology*, 1989, 17: 16

[5] Brink, D. E. et al. Genetic purity assessment of commercial single cross maize hybrids: isoelectric focusing of zein. *Seed science and technology*, 1989, 17: 9198

[6] Cross, J. W. and Adams W. R. Differences in the embryo—specific globulins among maize inbred lines and their hybrids. *Crop Science*, 1983, 23: 11601162

[7] Motto M. et al. Evaluation of genetic purity in hybrid corn (*Zea mays* L.) seed production through zein isoelectrophoretic patterns. *Mavdica*, 1979, 24: 223233

[8] Wang Chun et al. Polyacrylamide gel electrophoresis of salt-soluble protein for maize variety identification and genetic purity assessment. *Seed Science and Technology*, 1994, 22: 51-57

[9] Wall, J. S. et al. Improved two—dimensional electrophoretic separation of zein protein: application to study of zein inheritance in corn genotypes. *Cereal Chemistry*, 1984, 61: 141146

启 事

为适应我国信息化建设和知识经济发展的需要,拓宽作者和读者的学术交流渠道,本刊于 1996 年入编《中国学术期刊(光盘版)》,作者著作权使用费和稿酬一次付清。如作者不同意文章入编该数据库,请在来稿时声明,本刊将做适当处理。

另外,本编辑部尚有少量 1996、1997、1998 和 1999 年过刊,有需要者请来函订购。

《黑龙江农业科学》编辑部