

西瓜杂交种纯度快速检测初探

黄永红 韩 明 王延波 王付德 董林阁

(大庆高等专科学校生物系)

摘要 用聚丙烯酰胺凝胶垂直板电泳法测定西瓜6个杂交种及其亲本过氧化物酶同工酶,根据F₁与亲本的酶谱差异,可以检测西瓜杂交种真实性与纯度。检测一个种样约需12~15天。

关键词 西瓜 杂交种纯度 同工酶

中图分类号 S651.03

利用杂种优势提高作物产量、品质和抗性,已在许多农作物上得到证实。西瓜[Citrullus lanatus (Thunb.) Mansfeld]杂种优势极为明显,近几年来,西瓜生产上绝大多数使用的都是杂种一代,而杂种一代在生产上利用必须通过纯度与真实性的检测。当前,种子生产者和种子经营部门主要采用的是田间种植法来检测。这种方法虽比较直观可靠,但费时费力,占用土地,受季节条件限制,成本也较高。因此,在实验室探索西瓜杂交种纯度鉴定技术,是目前国内和省内外瓜类生产中亟待解决的问题。

关于作物品种鉴定技术,国外在大田作物方面已有研究,主要有紫外线法、化学检验法、电泳试验法和色谱检验法,其中最希望的是电泳试验法。国际种子检验协会已把聚丙烯酰胺凝胶电泳技术作为小麦、大麦品种鉴定的标准方法,并且规定了检验操作程序^[2]。此外,国外还把电泳同工酶技术应用于杂种后代优势预测^[7]、雄性不育性研究^[6]等。国内近年来电泳同工酶技术发展很快,并且在甘蓝亲本及杂种F₁品种鉴定^[5]、大白菜^[1]、玉米、水稻、高粱、番茄^[4]等作物的杂种优势预测以及品种资源分类等方面都有研究报道。但在西瓜杂交种快速检测研究方面尚未见报道。

1 材料和方法

1.1 材料

试验材料及其来源见表1。

表1 试验材料及其来源

杂 交 种	自交系(♀×♂)	来 源	杂 交 种	自交系(♀×♂)	来 源
郑杂五号	早花×长灰	合肥种子分公司	特大庆红宝	11♀×11♂	大庆市农科所
齐 红	新青×中育10号	合肥种子分公司	早熟庆红宝	13♀×13♂	大庆市农科所
新 澄	新青×澄夫	合肥种子分公司	庆 红 宝	3-12×小马72-2	大庆市农科所

1.2 方法

1.2.1 材料处理 把选好的种子在25℃温水中浸种过夜,次日种植在花盆中,数日后取样。第一次取样子叶刚出土,取好的样品按1:2(W/V)加pH7.2磷酸蔗糖缓冲液于研钵中,冰浴下磨碎,再用7G1-68高速离心机以3500rpm离心6-10分钟,取上清液放入冰箱中冷冻。

备用。第二次取样在子叶微展时;第三次取样在子叶展开,刚出一真叶时;第四次取样在真叶稍大时,取样方法同第一次取样。

1.2.2 电泳条件与染色 与甜瓜同工酶研究方法相同^[4]。

2 结果与分析

2.1 基本酶谱

对西瓜 6 个杂交种(F_1)及各亲本在苗期分四次取样,进行过氧化物酶同工酶谱分析,得到了西瓜苗期基本酶谱(图 1),西瓜 6 个 F_1 及各亲本苗期酶谱叠加,共有 13 条酶谱带,按酶谱集中程度与特征,由正极到负极分为 Est I 和 Est II 两个区。Est I 区迁移率为 0.73~0.45,共有 7 条酶谱带,Est II 区迁移率为 0.40~0.12,共有 6 条酶谱带。

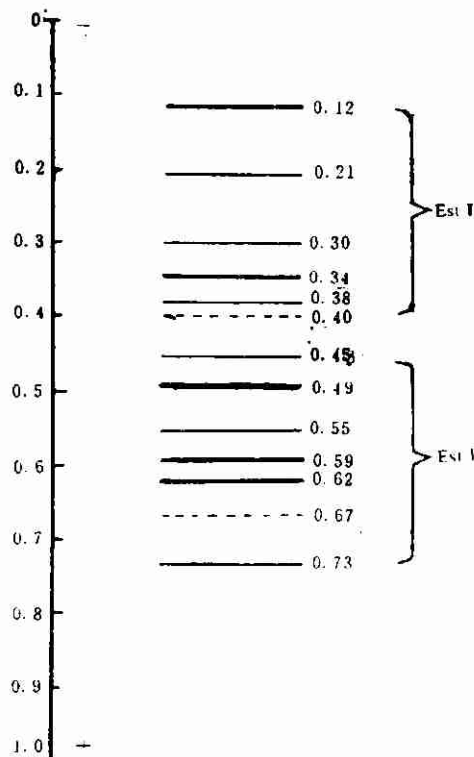


图 1 西瓜过氧化物酶同工酶基本谱型

2.2 取样最佳时期

比较分析西瓜 6 个 F_1 及各亲本苗期四次取样材料的过氧化物酶同工酶谱,选取鉴定西瓜杂交种真实性与纯度的最佳取样时期,其结果以特大庆红宝组合为例说明如下(图 2):

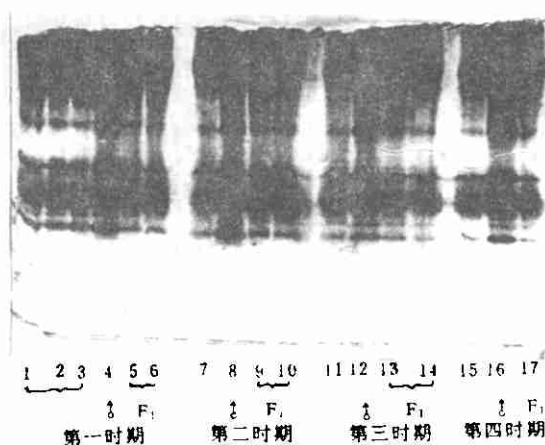


图 2 特大庆红宝苗期各时期酶谱

从图 2 我们可以看出,特征酶谱带 Est II 0.30 在第二时期显示最清晰,与母本差异最大,因此我们选择第二时期为最佳取材时期。用同样方法分析其它 5 个组合,结果与特大庆红宝组合基本相同。

2.3 标准酶谱

利用取样最佳时期的各组合纯合母本、父本及 F_1 为材料进行标准酶谱试验,各组合均得到标准酶谱(图版略),对各组合标准酶谱进行分析(见图 3)可以看出,供试的 6 个 F_1 及各亲本过氧化物酶同工酶谱表现各不相同,各组合杂交种与其双亲酶谱也是有差异的。

对于鉴别杂交种纯度与真实性来讲,杂交种与亲本酶谱类型最有说服力的是“互补酶带”类型,因为杂交种同时具有双亲的基因产物。关于互补酶带类型,一般分为质互补和量互补两类,质互补包括完全互补、偏父互补和偏母互补三种形式,量互补包括增强型、中间型、缺失型和减弱型四种形式。

在一个杂交组合中,只要杂交种具有一种互补酶带类型,即可判定为该杂种与其双亲有直接亲缘关系,为真杂交种。有些杂交种同时出现多种互补类型,此外还有杂种酶带类型。本研究所用西瓜各组合酶谱类型均属多种互补酶类型和杂种酶类型。

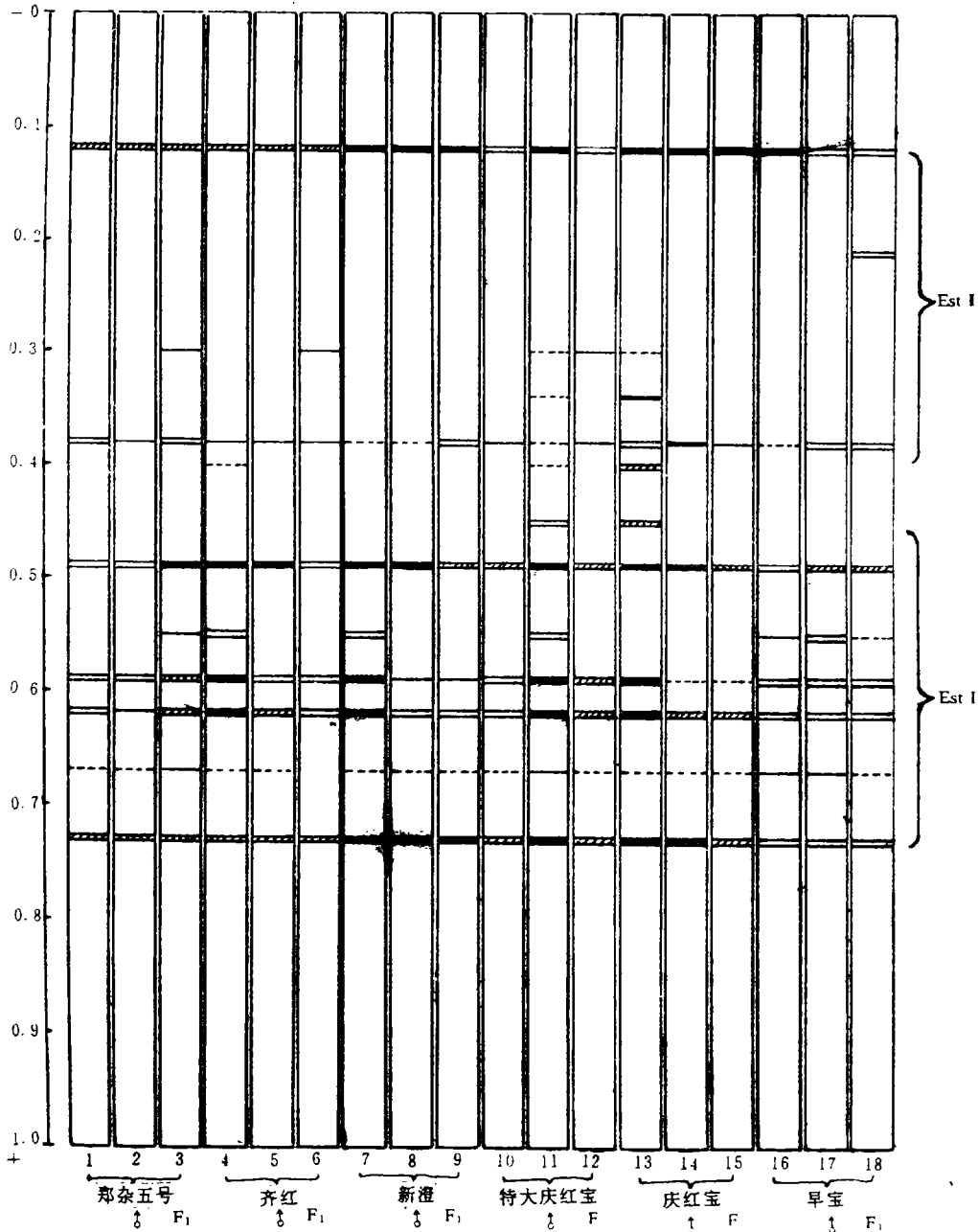


图3 西瓜六个杂交组合标准酶谱

在郑杂五号组合中,Est I 0.67,0.62,0.59,0.49 均属增强互补酶带型,Est I 0.55,Est II 0.30 为杂种酶带型;在齐红组合中,Est I 0.67 为缺失互补酶带型,Est I 0.55 为偏父互补酶带型,Est I 0.62,0.49 为中间互补酶带型,Est II 0.30 为杂种酶带型;在新澄组合中,Est I

0.62,0.59 为偏父互补带型,Est I 0.49 为中间互补带型,Est II 0.38 为增强互补带型;在特大庆红宝组合中,Est I 0.73,0.67,0.49,Est II 0.38,0.12 为偏母互补带型,Est I 0.62,0.59 为中间互补带型,Est II 0.30 为偏父互补带型,在庆红宝中,Est I 0.73,0.49 为中间互补带型,Est I 0.67,0.62,0.59 为偏父互补带型,Est II 0.38 为减弱互补带型;在早熟庆红宝中,Est I 0.67 为减弱互补带型,Est I 0.55 为中间互补带型,Est II 0.21 为杂种带型。

西瓜实际检测中我们发现,具有偏父互补酶带、完全互补酶带、缺失互补酶带和杂种酶带的杂交种易于与母本区分开,而且检测准确率高。

酶的本质是蛋白质,而蛋白质的合成是直接受基因控制的,所以酶谱的变化可直接反映基因的变化,即遗传物质的改变。对上述标准酶谱分析不同父母本杂交组合的F₁,它们的过氧化物酶同工酶谱是不同的,与亲本也是有差异的,所以可以将被检测杂交种的酶谱与该标准酶谱对比而确定被检测杂交种是否与该标准酶谱为同一父本、母本的杂交种,即来确定该杂交种的真实性。同时也可根据该F₁与标准酶谱母本的差异来检测该杂交种的纯度。

2.4 应用酶谱技术检测与田间检测对比结果

将六个组合的杂交种随机取两份种样,一份用于过氧化物酶同工酶谱技术检测,一份用于田间对照,每份取样量均为100粒以上,对现已推广应用的特大庆红宝组合,取了4个种袋的种样(编号为1,2,3,综合样),每个种样取100粒以上,无论是从整体上对比,还是按每个种袋分小样对比,二者的检测结果都是相符的(见表2),其符合率为99.02%。

表 2 酶谱技术检测与田间检测比较										(%)	
类 别	组 合 纯 度	特 大 庆 红 宝				庆红宝	早 熟 庆红宝	郑杂 5 号	齐 红	新 澄	平 均
		1	2	3	综合样						
酶谱检测		95.8	96	96.2	94.9	98.4	99.1	79.7	75.6	70	
田间检测		96	94	97	95	98	98	81.1	74.5	68.3	
符合率		99.8	98	99.2	99.9	99.6	98.9	98.6	98.9	98.3	99.02

3 结 论

- 3.1 利用苗期过氧化物酶同工酶可以进行西瓜杂交种真实性与纯度检测。
- 3.2 利用电泳同工酶技术可以在西瓜杂交种采收15天内完成真实性与纯度检测。

参 考 文 献

1 李玉湘. 白菜不同杂交组合过氧化物酶同工酶的比较研究. 园艺学报,1980,17(4):43~46

2 郑成超译. 用聚丙烯酰胺凝胶电泳进行小麦、大麦品种鉴定的标准方法. 种子,1990(1):58

3 黄永红等. 过氧化物酶同工酶应用于甜瓜杂交种真实性与纯度检测研究. 生物技术,1993,3(6):21~27

4 黄永芬等. 番茄芽期过氧化物酶同工酶酶谱型与杂种优势的关系. 园艺学报,1983,10(4):253~257

5 童南奎等. 早期鉴别甘蓝亲本及杂种(F₁)品种的同工酶法研究. 种子,1989(3):11~13

6 Alam, S., P. C., Sand al: Electrophoretic analysis of onther proteins from male—fertile and male—steride Sudamg rass sorghum vulgare var. Sudanese(piper) Crp Science, 1969(2):157~159

7 Woods, S. et al., The ase of seed acid phosphatases in the determination of the purity of F₁ hybrid Brassels sprout seed euphytica. 1976(25):707~712

Primary Study on Fast Test of *Citrullus lanatus* (Thunb.) Mansfeld Hybrids Purity

Huang Yonghong et al.

(Daqing higher training school)

Abstract This study has determined peroxidase isozyme of 6 hybrids and their parents with polyacrylamide gel vertical plate electrophoresis. According to the zymogram discrepancy of F_1 and their parents, authenticity and purity of *Citrullus lanatus* (Thunb.) Mansfeld hybrids can be tested. It takes about 12~15 days to test one sample.

Key words *Citrullus lanatus* (Thunb.) Mansfeld, Hybrids, Purity, Isozyme

国外科技动态

参与植物病毒移动的蛋白质

植物病毒通过伤口或昆虫为媒介转移而侵染细胞后,即使增殖如果不向周围的细胞中移动,周围细胞就不会感染病毒,也就不会发病。而病毒的移动有两种,其一是在细胞间移动;其二是通过维管束组织的组织间移动。

从一个细胞向另一个细胞的移动要通过一个叫做胞间连丝的管,它是一个圆筒形小管,它里面还有一个叫做桥小管同来自滑面小胞体细管状结构相通。通常是通过这个结构进行水分、营养物质交换的。

病毒粒子通常为 10~110nm,而这个桥小管直径仅在 3nm 以下。要通过这个桥小管对病毒粒子来说是太细太狭了。因此病毒粒子要通过这个孔就必需借助某种作用。实际上移动蛋白质参与了其移动过程。TMV 30k 蛋白质便是其中一例。这个蛋白质在胞间连丝上局部存在。认为它具有使孔直径扩大 3~4 倍的作用。但即使孔已扩大了 3~4 倍,对于通过 TMV 粒子(18×300nm)来说也还是太狭。

另一方面,现已观察到 30k 蛋白质具有和单链核酸相结合的能力,形成直径 1.5~2.8nm 的长形结构体。TMV 情况下,病毒 RNA 和 30k 蛋白质相结合,形成鞘状结构移动,从胞间连丝的排阻界限来考虑是很有力的说法。

此外,某种球形病毒(25nm),通过 58k 和 48k 两种蛋白质的参与,以病毒粒子的形状移动的图像已通过电子显微镜显示出来了。

上述关于胞间连丝和病毒移动蛋白质间的相互作用的研究,不仅仅是探明胞间连丝的结构和功能及其与植物生理状态间相关的开端,而且为进一步明确病毒的寄生特异性和抗性机理提供了重要的线索。

(程大友译自《北农》第 1 卷第 1 号)