

· 研究简报 ·

光敏核不育杂交稻种子纯度的研究

李卓杰 傅家瑞

(生物学系)

摘 要

本文利用等电点聚焦电泳测定酯酶同工酶以鉴定光敏核不育种子纯度;胚芽的酯酶同工酶谱能真实地显现该品种的特征,用作种子的鉴定材料为好;Ks-9/T370为互补型同工酶谱,而W6154/特青为杂种型酶谱;严重劣变的种子,在等电点聚焦电泳下,仍能保持该品种特征的酯酶同工酶谱。

关键词 光敏核不育,等电点聚焦电泳,酯酶同工酶,杂交水稻,种子鉴定

光敏核不育杂交稻使三系组合变为两系组合,为制种节省了大量的人力物力,是水稻生产上的一大突破。光敏核不育杂交稻种子纯度与生产关系密切,使用了纯度较低的种子,不但达不到增产的目的,甚至还会导致减产,造成经济损失。因此,鉴定光敏核不育杂交稻种子纯度是生产上亟待解决的问题。对三系杂交稻种子纯度的鉴定已有不少报导^[1~4],但对光敏核不育种子纯度的鉴定尚未见报导。

1 材料与方 法

1.1 供试材料 有Ks-9/T370、W6154/特青, W6154/3550、Ks-9、T370、W6154、特青及3550,由华南农业大学及广东省种子站提供。

1.2 材料处理 供试材料于27℃恒温下催芽72h,把萌发种子分为胚芽、胚根、胚乳和胚芽胚根混合等不同器官,分别测定其酯酶同工酶。

1.3 用等电点聚焦电泳法测酯酶同工酶 将两性载体电解质和丙烯酰胺制成7.5%的凝胶,阴极以0.4%的三乙醇胺,阳极以0.2%的硫酸作电极液,电泳4h。电泳结束后取出凝胶,经蒸馏水漂洗,于 α -醋酸萘酚染色液中,37℃下染色,脱色后于580nm波长扫描。

2 试验结果

2.1 种子不同器官的酯酶同工酶谱 种子萌发前期,当种子仅长出胚芽和胚根,但尚未长出须根时,分别测定胚芽、胚根、胚乳和胚芽胚根混合的酯酶同工酶。试验结果表明,种子各器官中酶谱有明显的差异,酶的含量和种类以胚芽最多,胚乳次之,胚根最少。Ks-9/T370同工酶谱中,胚芽有14条同工酶谱带,胚乳有12条,而胚根仅有9条。W6154/特青的同工酶谱胚芽有17条酶带,胚乳有13条,而胚根只有12条。Ks-9、T370、W6154、特青及W6145/3550等种子的各器官都有同样趋势(图1)。胚芽胚根混合材料

本文1991年1月19日收到

测定，与胚芽相比，其酯酶同工酶的含量有所增加，但同工酶的种类反而减少。Ks-9/T370组合中胚芽的同工酶有14条酶带，而胚芽胚根混合组中，其同工酶仅有9条酶带。W6154/特青、Ks-9、T370、W6154、特青等材料中也均如此。这是由于胚芽胚根混合后，酶的含量增加，附近一些含量较低的酶带被复盖，显示不出来，因而显现出的酶带比单用胚芽少（图2）。

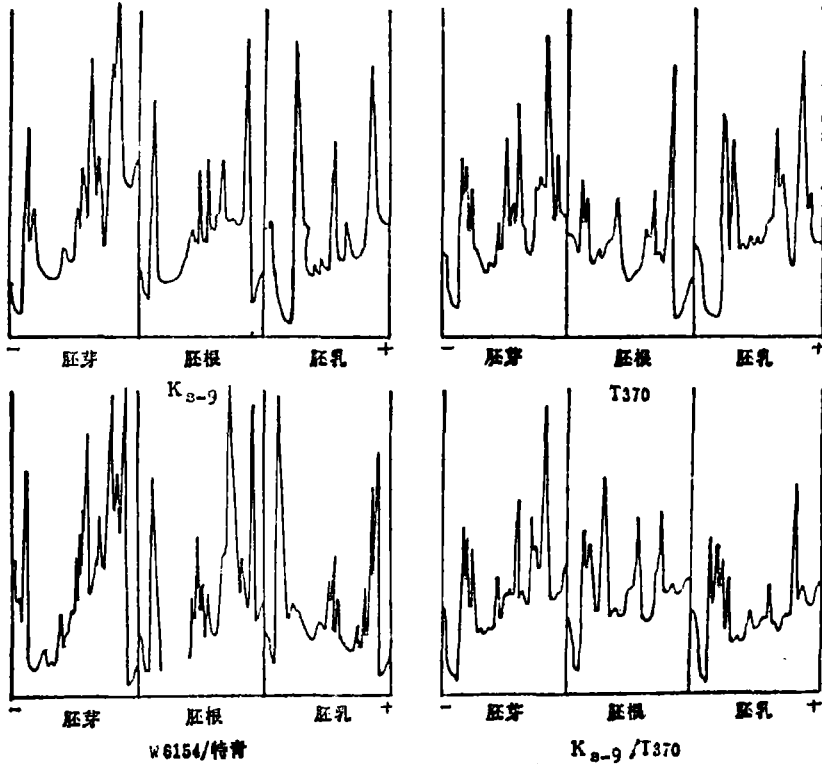


图1 萌发种子各器官酯酶同工酶谱

Fig.1 Patterns of esterase isozyme on different organs of germinating seeds

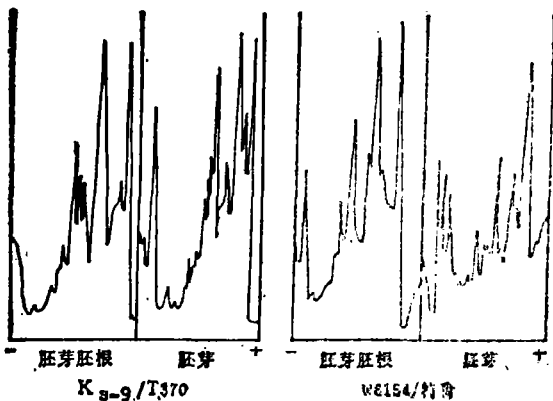


图2 F₁代胚芽胚根与胚芽酯酶同工酶的比较

Fig.2 Comparison of esterase isozyme patterns on the plumule and radicle combined with plumule of F₁

2.2 光敏核不育F₁代酶谱特征 我们研究了Ks-9/T370、Ks-9、T370和W6154/特青、W6154、特青的酯酶同工酶谱，发现Ks-9/T370和W6154/特青属两种不同类型的同工

酶谱。Ks-9/T370酶谱中, 2, 4, 5, 8, 11, 12, 14和15等酶带原自Ks-9的酶谱, 2, 4, 8, 10, 14和16等酶带原自T370的酶谱, 因此, 它是互补型酶谱; W6154/特青酶谱中有12条同工酶带, 而仅有1条酶带原自W6154酶谱及另一条酶带原自特青酶谱, 其余酶带均非原自亲本的酶谱, 因此可以认为, W6154/特青是属杂种型酶谱(图3)。

2.3 不同活力光敏核不育杂交稻种子的同工酶谱 将光敏核不育杂交稻种子贮藏于75%相对湿度、室温下4个月, 种子的发芽率和活力指数均急剧下降, 品质变劣(表1)。

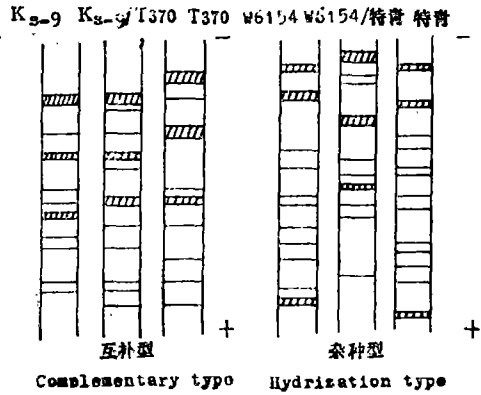


图3 光敏核不育F₁代酶谱类型
Fig.3. Types of esterase isozyme patterns on HPGMR F₁

表1 水稻种子贮藏后种子活力的变化

Tab 1 Change of vigour on rice seeds after storage (60粒种子平均值)

品种	Ks-9/T370	Ks-9	T370	W6154/特青	W6154	特青	W6154/3550
硅胶贮藏 发芽率(%)	93.3	81.6	91.6	85	96.6	95	83.3
4个月** 活力指数*	1.86	1.22	1.46	1.87	2.31	1.17	1.83
饱和NaCl 发芽率(%)	56.3	0	78.3	1.6	0	0	1.6
贮藏4个月 活力指数	0.62	0	1.01	0.04	0	0	0.01

● 活力指数 = 发芽率(%) × 胚根长 ● ● 硅胶为15%RH, 饱和NaCl为75%RH, 室温贮藏

随着种子活力的下降, 其酯酶同工酶也发生明显的变化, 酶的含量显著减少, 有些同工酶带消失, 也有些新的酶带出现, 不论是亲本或是F₁代, 均为如此变化(图4)。

劣变严重的种子的发芽率已降到1%, 活力指数也已降到最低点, 但其酶还能保持该品种同工酶谱的特征, 表明酯酶同工酶较稳定, 是种子纯度鉴定的一个好指标。

3 讨论

等电点聚焦电泳是现代用以分离蛋白质和同工酶中最有力的新技术之一, 它不仅具有凝胶电泳的电场效应和分子筛效应, 更重要的是两性载体电解质在电场作用下, 自动形成一个从阳极到阴极连续增加的pH梯度。各种同工酶自身都带有各自不同的电荷, 在电场作用下各自向它自己的等电点位置移动, 最后达到静电荷为零则停止移动, 然后浓缩聚焦。这样, 根据各种同工酶表面所带的电荷不同, 就可以把差异很小的同工酶进行分离, 所以它是现代电泳技术中分辨率最高的一种方法。

在本实验中, 我们选用pH3.5~10的电解质(Sigma公司出品), 因此等电点从3.5~10的各种同工酶都能显现于同一酶谱中。

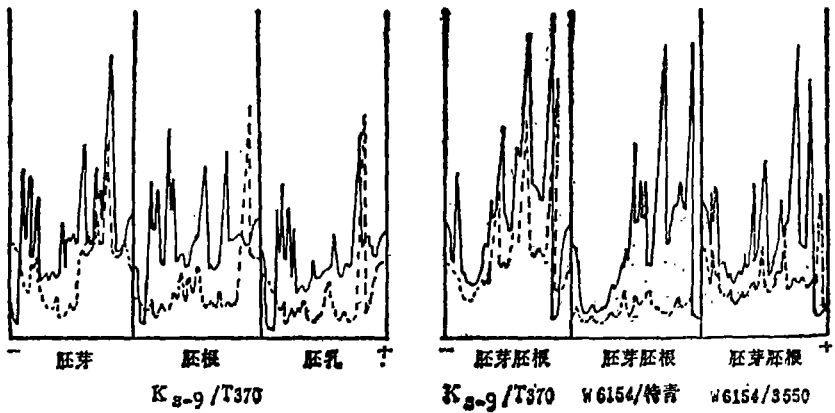


图 4 不同贮藏条件种子酯酶同工酶谱

Fig.4. Esterase isozyme patterns of seeds in different conditions of storage
——硅胶贮藏 4 个月 ---饱和NaCl贮藏 4 个月

酶是基因表达的产物。由于基因的表达有组织特异性, 同时又受发育所控制, 所以不同的组织或器官中所具有的同工酶可能是不同的^[5,6]。为此我们对光敏核不育杂交稻种子萌发前期的不同器官进行酯酶同工酶分析。实验结果表明, 光敏核不育种子中, 胚芽、胚根和胚乳酯酶同工酶谱有明显的差异, 胚芽中酯酶同工酶的含量最高, 且种类最多, 显示了该品种的特征。在胚芽胚根混合组中, 由于同工酶的含量过多而掩盖了附近一些小的同工酶带, 所以酶谱中同工酶的种类比胚芽少。由此, 我们认为, 在种子纯度鉴定中以胚芽作鉴定材料为好, 因为它能更真实地显现该品种的特征。

品种之间基因型存在差异是其同工酶谱出现差异的基础, 只有品种间的同工酶谱有差异, 其杂种后代才有可能出现与双亲同工酶谱有差异的酶谱^[7]。两个水稻品种进行杂交, 其杂交F₁代的同工酶谱可能出现多种类型: 与双亲同型、单一亲本型、互补型和杂种型, F₁代中出现哪种类型, 这要取决于两个亲本的同工酶基因型差异的大小。若亲本间的同工酶差异是受共同显性基因的控制, 则杂种后代可能出现互补型或杂种型同工酶谱。在Ks-9/T370的酯酶同工酶谱中显现12条同工酶带, 其中有8条原自其亲本, 因此是互补型酶谱。在W6154/特青的同工酶谱中显现11条同工酶带, 但仅有2条原自双亲本酶谱, 且不是特征酶带, 因此它属杂种型酶谱。这也说明W6154和特青两品种的基因型有较大的差异。

种子在贮藏期间由于贮藏条件不适而发生劣变, 种子的DNA、RNA、蛋白质和同工酶均显著下降^[8]。光敏核不育杂交稻在75%相对湿度、室温下贮藏4个月后, 不仅发芽率、活力指数下降, 其酯酶同工酶也发生显著变化, 酶的含量显著下降, 有些酶带消失, 也有些新的酶带出现, 但其酶谱中还能保持本品种的特征酶带, 表明种子中酯酶同工酶较稳定, 是种子纯度鉴定的一个好指标。

参 考 文 献

- 1 邓鸿德, 王桂元. 杂交水稻, 1985, (1), 42~46
- 2 陆士伟, 黄炳权. 中国农业科学, 1982, (5), 10~16
- 3 颜启傅. 浙江农业科学, 1984, (4), 196~198
- 4 Nakagahra M T Akihama, K I Hayashi. Jpn J Genet, 1975, 50 (5), 373~382
- 5 Dennis E S et al, Nucleic Acids Resear, 1984, 12 (9), 3983~4000
- 6 Nakagahra M T, Jpn J Breed, 1977, 27 (2), 141~148
- 7 李继耕. 作物学报, 1980, 6 (4), 245~252
- 8 李卓杰, 丘志勇, 傅家瑞. 种子, 1990, (2), 12~15

Identification of HPGMR Cultivars by Electrophoretic Patterns of Esterase Isozymes

Li Zhuojie Fu Jiarui*

Abstract

The esterase isozymes of seeds were determined in the early germination. The number of isozymes and the content of esterase in plumule were the largest and represented the characteristics of cultivars. If the isozymes of radicle were mixed with that of plumule, the large bands of isozymes covered the small bands of isozymes and failed to show the whole pattern. It was suggested that use of plumule as material for the electrophoresis to identify the cultivar will be more accurate. The isozyme pattern of Ks-9/T370 (HPGMR) was complementary type correspondingly to its parents Ks-9 and T370 cultivars. Whereas, the isozyme pattern of W6154/Te-qing(HPGMR) had only two isozymes came from the parents and the others did not originated from the parents, so that the isozyme pattern was hybridization type. Therefore, genes of the parents of W6154/Te-qing had greater difference, whereas those of Ks-9/T370 had less difference. When seeds of HPGMR were stored in 75%RH for four months, viability and vigour decreased to a very low level. Though seeds deteriorated seriously, the isozyme patterns of esterase can be maintained. Owing to the stability of the isozymes of esterase during ageing, the isozymes pattern can be used as a good index in identification of cultivars or strains.

Keywords: HPGMR, electrophoresis of isoelectric focusing, esterase isozyme, hybridization rice, identification of seeds

* Department of Biology