资料汇编

种子质量检测的10种特殊方法

薛万新[1] 杨竹莹[1] 樊玲霞[2]
([1]西北农业大学园艺系 陕西杨陵 712100;[2]西北农业大学农场)

种子质量检测一般包括净度、纯度、生活力、活力、抗逆性、损伤等方面,除了采用常规的发芽率、发芽势、活力指数、生体染色等方法以外,在细胞学、形态学、物理学、化学、分子生物学等领域还有一些特殊检验方法,对于特定作物类型,有时会得到比较理想的检验效果。

1 空心测定[1]

该法主要用于豌豆、豇豆、菜豆等一些豆类种子活力的检测,欧洲一些国家用得较多。这类种子常由于缺锰或中央细胞坏死,萌发时子叶内出现空心现象,严重时子叶断裂。豆类种子空心率与其活力呈显著负相关,而且其结果与田间出苗率很一致。检测时可将种子预先浸种24 h(小时),然后置于20～25 ℃条件下催芽,4 d(天)后逐粒割开种子子叶,观察统计空心率。

2 穿纸法

该法几乎适用于所有类型的种子。强活力种子既有较高的发芽率,同时又具有较强的穿透力。据此可用穿纸法检测种子活力。检测时可将待测种子播于泥沙或营养钵中,上铺1层韧性好的纸片。再于纸片上覆盖1层1～3 cm厚的土壤或泥砂,随后在20～25 ℃下发芽,最后可依据穿过纸层出苗的比率判定种子活力的高低。

3 纸上荧光团法[1]

此法主要用于十字花科蔬菜种子。该类种子普遍含有各种具有荧光特性的物质,并在紫外线的激发光下产生各种颜色的荧光现象。十字花科种子老化后,膜系统受损,会导致荧光物质外渗,存留在吸水纸上的外渗物质待烘干浓缩后,在紫外线的激发光下种子周围产生明亮的荧光团,根据荧光团的面积和色泽深度即可判断种子生活力及活力水平。检测时将定量种子按一定距离整齐地排列在培养皿中浸湿的滤纸上,滤纸给水量以不足使种子浮动为度,加盖后保持在恒温条件下,经数小时后,将盖打开置鼓风干燥箱中烘干,取出放在紫外灯下照射、观察、记录,并进行照相比较。另外种子在容器内浸种数小时后的浸泡液,采用荧光分光光度法,还可对其外渗荧光物质进行定量测定。

4 高渗发芽法

该法适用于多数种子类型。种子在高渗透势溶液中吸水困难,相当于在干旱协迫环境下发芽。种子在高渗溶液中的发芽能力与其活力呈显著正相关,据此用高渗发芽法可检测种子活力。检测时用蔗糖、甘油、甘露醇、聚乙二醇(PEG)等配成的不同浓度的高渗溶液作为培养基,模拟田间土壤条件进行发芽试验,根据种子发芽率以及幼苗高度判断种子活力和忍耐干旱能力。也可通过种子在临界水势下达到预定发芽率所需的时间来判断活力水平。不同种类种子的临界水势不同,如玉米为 -12.5×10^5 Pa,甜菜为 -3.5×10^5 Pa,水稻为 -7.9×10^5 Pa,大豆为 -6.6×10^5 Pa,苜蓿为 -1.4×10^5 Pa。PEG作为理想的渗透压剂,能保持稳定的渗透压,便于在临界水势下进行标准发芽试验。豆类种子一般不宜使用此法测定种子活力。

5 $FeCl_3$ 探伤法[1]

$FeCl_3$ 与酚类物质作用,可生成一种黑色物质。种子在收获、清选、加工等过程中,常有损伤种皮的情况,从而使酚类物质暴露,当用 $FeCl_3$ 短时间浸泡种子时,可通过显色反应对种子伤痕及裂纹情况迅速鉴定。一般种皮受伤后,种子活力即迅速下降。检测时可依具体作物种类,采用0.3 %～1 %的 $FeCl_3$ 溶液浸种10 s(秒)到15 min(分),受伤种子在裂纹、伤口处呈现黑色。该法简单直观,尤其适于豆类种子探伤。

6 化学法

不同种类或品种的种子,由于其组织内部化学组成的差异,用特定的化学药物处理后呈现出不同的颜色。据此,可将不同种类、品种区分开来。水稻、高粱、大麦、小麦、大豆、十字花科蔬菜都可采用该法鉴定品种的真实性。大麦、小麦种子用1 %石

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

碳酸溶液浸渍 12 h(小时)左右再行干燥,根据色泽深浅程度可鉴定出不同品种;取甘蓝、萝卜以及其它十字花科作物种子各 100～200 粒,用 40 % NaOH 2～4 mL 浸渍 2～4 h(小时)后(温度保持 25～30 ℃),甘蓝、萝卜分别呈红褐色和橙红色,其它如大白菜、花椰菜、芥菜则呈黄色,据此可区分不同种类;不同高粱品种的种皮里含有不同量的单宁酸,当用漂白水(6 % $NaClO_3$ + KOH 1 g)浸渍种子后,有的品种变为黑色,有的不变色,借此可区分不同品种[2]。此外,小麦品种用苯酚、儿茶酚和 P - 甲苯酚等酚类物质染色,不同高粱品种种子磨碎后加入缓冲液及 $FeCl_3$ 溶液也有不同的颜色反应。

不同大豆品种幼苗用含除草剂—赛克津的 Hoagland 培养液培养 10 d(天),待幼苗叶片展开后,根据植株受伤程度可进行鉴别。水稻采用氯酸钾反应法,根据反应指数也可将不同品种区分开来[2]。

7 种皮结构显微法

十字花科作物种皮构造与模式基本相同,但色素环的大小、形状、细胞数量、细胞结构等存在较大差异,据此可区分不同种类。如:萝卜种皮色素环显著,暗褐色,多为长形,并有无色网纹,每环细胞在 80 个以上,细胞椭圆形且细胞腔小;花椰菜种皮上的色素环呈多角形、桔红色,细胞椭圆形,细胞腔中等大小且腔内有色素沉淀点;甘蓝种皮上的色素环不甚显著,一般呈多角形,每环 10～15 个细胞,细胞呈多角形且腔大;根芥菜种皮上的色素环不甚显著,一般较小,黄色,多角形,并有无色网纹,每环细胞 20～30 个,细胞多角形且腔小;芜菁色素环窄而显著,黑灰色,多角形,每环有 20 个左右细胞,细胞多角形且腔大;大白菜色素环宽且不显著,多角形,每环 10～20 个细胞,细胞多角形且腔较大。

8 软 X 射线造影法

当用某些重金属元素的盐溶液如 $BaCl_2$、$BaSO_4$ 溶液浸渍种子时,凡具生活力的种子,其细胞不吸收这些重金属离子;而失去生活力的种子,由于细胞膜丧失选择吸收功能,重金属离子就会渗入种子内部。当用软 X 射线照射时,凡渗入了重金属离子的种子细胞对射线有较强的吸收力,从而在透视摄影片上出现明显的阴影,与正常种子形成强烈的对比度。借此检验种子活力的方法称之软 X 射线造影法。操作步骤一般包括:种子软化膨润——造影剂处理——干燥种子——摄影——影检等。迄今,已用该法对小麦、玉米、黄瓜等十余种作物成功地进行了种子活力检测,该法快速、准确、不受种子休眠限制,又不伤害种子,但需一定设备。应用此法的关键在于造影剂种类、浓度、处理时间的选择。

9 电泳分析技术[2]

蛋白质包括同工酶都是基因表达的产物,可以直接反映生物间的遗传差异和系统发育过程中的遗传变异。由于蛋白质或同工酶都是带电荷的大分子,在琼脂介质里建立一个电磁场,这种带电粒子便可在电场中泳动,由于蛋白质或同工酶分子的形状、大小不同,电荷数量以及性质也有较大差异,因此在一定种类和一定浓度的凝胶中其泳动速度也不相同,电泳结束后,它们就分别泳动到不同位置,通过染色可把这种迁移率不同的现象显示出来。任一品种的蛋白质或同工酶条带数目、位置和颜色深浅等构成该品种的"指纹"特征。因此可利用蛋白质或同工酶电泳分析技术进行种子的亲子鉴定以及真伪鉴定。该法速度快、准确度高。从 70 年代后期到现在,国内外已在玉米、大麦、小麦、水稻、大豆、蚕豆、棉花、向日葵等农作物以及 10 多种蔬菜作物上成功地进行了品种纯度鉴定。约有 30 多种同工酶得到了应用,主要包括酯酶(EST)、磷酸葡萄糖异构酶、磷酸葡萄糖变位酶 ×苹果酸脱氢酶(MDH)、乙醇脱氢酶(ADH)、过氧化物酶(POD)、酸性磷酸酶、淀粉酶、异柠檬酸脱氢酶等。电泳方法使用初期主要是利用淀粉凝胶电泳(SGE),随后是聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)和十二烷基磺酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),然后是等电聚焦电泳技术的迅速发展,可以说几乎所有的电泳方法都在种子纯度检测中有过应用。应用较多的蔬菜作物有辣椒、番茄、大白菜、芥菜、甘蓝、花椰菜、西瓜、黄瓜、洋葱、韭菜、大葱、双孢蘑菇、侧耳、草菇、香菇、平菇等。

10 RFLP 及 RAPD 等分子指纹检测技术

RFLP 即 DNA 限制性片段长度多态性。限制性内切酶能把大分子 DNA 降解成许多长度不等的小片段,所产生的 DNA 片段的数目和各个片段长度反映了限制性内切酶酶切位点在 DNA 分子上的分布。品种不同时,等位基因之间碱基种类及排列顺序有差异。DNA 经各种限制性内切酶消化后所产生的长度不等的片段经电泳后按分子量大小分离开,并原位转移到硝酸纤维素膜上,再用放射性同位素标记的一些 DNA 片段作为探针进行 Southern 杂交,经放射自显影即可观察分析待测片段的同源性。据此可检测作物品种纯度或变异。该法程序繁琐,价格昂

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

贵,又需同位素,因此仅在云杉等少数作物上应用过[2]。

RAPD 即随机扩增的多态性 DNA,它建立在 PCR 基础之上,通过设计或选择单个或多个随机引物,以待测作物品种种子 DNA 为模板进行 PCR 扩增,引物与模板 DNA 有特定的结合位点,这些结合位点在某些区域的分布符合 PCR 扩增条件,就能扩增出 DNA 片段,品种不同时,这些特定区域中的碱基种类及序列有差异,特异结合位点的数量和位置发生相应的变化,PCR 扩增产物会增加、减少或发生分子量的改变。据此可检测作物品种纯度。该法比 RFLP 速度快,程序简单,加之引物通用、准确度高,又不需同位素,因此在种子纯度鉴测中显示了广阔的应用前景。迄今,在花椰菜、小白菜[3]、西瓜、马铃薯、大豆、荞麦、小麦、茄子等多种作物上,利用 RAPD 技术检测种子纯度都已取得成功。

参考文献

1 郑光华,史忠礼,赵同芳,等. 实用种子生理学. 北京:农业出版社,1990,111～128

2 陈启林. POD 和 EST 同工酶 PAGE 在番茄品种纯度鉴定中的应用. 西北农业大学硕士研究生论文,1997,5～13

3 雷建军,袁娅苏. RAPD 技术及其在蔬菜育种上的应用. 中国蔬菜,1995(5):54～55

研究动态

五色椒新品系的选育

五色彩椒(紫、黄、橙、白、红)果色稀特,营养丰富,现已成为都市节日礼品菜和超市蔬菜佳品,更适合于国内大饭店西餐配菜和沙拉生食。但目前五色椒的供应主要靠荷兰、以色列等国家进口,而国外五色椒鲜果和种子进口价格极其昂贵。为此,北京蔬菜研究中心承担的北京市"九五"科技攻关项目"甜(辣)椒抗病优质新品种选育"把适合都市农业和旅游业发展的五色椒育种列入研究内容。多年来,已从欧美的一些国家引进五色椒资源材料 58 份,通过引种观察、加代选育和田间系统选育,育出了果色稳定的自交系,然后通过人工杂交进行了不同果色之间遗传关系的研究,并结合苗期人工接种抗病性鉴定,筛选出了抗 TMV 的育种材料,目前已配制了五色椒系列杂交组合,开始进入示范推广阶段。

黄果组合 9804 为中早熟甜椒一代杂种,果色光滑,嫩果为深绿色,成熟果呈金黄色,单果质量 150 g 左右,肉厚 5 mm,含糖量高,品质优,转色快,坐果率高,每 667 m^2 产量 3 500～4 000 kg。白果组合 9805 为中早熟 F_1 杂交种,嫩果蜡色,单果质量 150 g 左右,味甜质脆,转色快,坐果率高。紫果组合 9806 为早熟甜椒 F_1 杂交种,嫩果为紫色,果实灯笼形,单果质量 120～150 g,品质优,转色快,坐果率高。橙果组合 9807 为甜椒 F_1 杂交种,中早熟,果方灯笼形,单果质量 150 g 左右,成熟果为橙色,含糖量高,品质佳,转色快,坐果率高,耐低温性好,抗病毒病能力强。上述五色椒系列新组合 1999 年已在北京市科技示范园推广应用。

值得注意的是,由于橙、黄为成熟果色,紫、白为嫩果果色,种植时需错开播期,橙、黄组合需提前 25～30 d(天)播种,紫、白组合可同时播种,这样才能在同一时期采收到不同颜色的商品果。

耿三省　供稿

(北京市农林科学院蔬菜研究中心　100089)

耐热抗病的夏甘蓝新品系黑丰

黑丰甘蓝是江苏省农业科学院蔬菜研究所利用 8110 和 8405 两个优良自交不亲和系配制而成的夏甘蓝一代杂种。据江苏省的两年区域试验及一年生产试验,结果表明,该品系有较强的耐热性、抗病性,黑腐病发病率比对照夏光低 2.4 倍,熟性较对照略早,产量较对照增加 7.2 %,产值增加 14.4 %。

黑丰甘蓝植株中等,长势健旺,株高 22 cm 左右,开展度 60 cm 左右,外叶 11 片,叶色深,叶面平展,叶球厚、扁圆形,单球质量 1.0～2.0 kg,耐高温能力强,对 TuMV、CMV、黑腐病等均有较强的抗性,VC、蛋白质含量高,粗纤维含量低,品质较好。从定植到采收,夏季 65 d(天),秋季 75 d(天)。每 667 m^2 产量夏季 2 500～3 000 kg,秋季 3 000～4 000 kg。在江苏地区 5 月底～7 月底均可播种,株行距 35～40 cm,每 667 m^2 栽 4 000 株左右。

丁万霞　李建斌　供稿

(江苏省农业科学院蔬菜研究所　南京 210014)

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net