

电泳检测小麦、玉米种子纯度存在的问题探析

王 婷¹, 张进生², 戴 钢², 徐立新², 滕开琼²,

(1. 河南农业大学林学院园艺学院, 河南 郑州 450002; 2. 河南省种子管理站, 河南 郑州 450002)

中图分类号: R446 文献标识码: B 文章编号: 1004—3268(2005)12—0041—02

品种纯度是农作物种子质量指标中最关键的一项, 是对种子质量进行分级的唯一指标。它包括了品种真实性和品种纯度 2 个概念。目前, 品种纯度检测方法有很多, 主要分为田间小区种植鉴定和室内检测 2 类^[1]。在诸多室内检测方法中, 聚丙烯酰胺电泳法测定小麦、玉米种子纯度(简称电泳法)是较为常用的方法^[2,3]。该方法具有检测快速、显示灵敏度高的特点。在种子检验实践中, 检验机构可否根据电泳检测数据直接与国家相关种子质量标准进行比较, 一直是一个存在争议的问题。就此, 我们进行了探析。

1 现行有关标准

1.1 质量标准

国家种子质量标准 GB4404.1—1996《粮食作物种子 禾谷类》对小麦、玉米种子的纯度进行了规定^[4]。该标准作为强制性标准, 即所有用于销售小麦、玉米种子都必须达到标准规定的质量指标。标准中规定, 小麦原种纯度不低于 99.9%, 良种纯度不低于 99.0%; 玉米单交种一级纯度不低于 98.0%, 二级不低于 96.0%; 玉米自交系原种纯度不低于 99.9%, 良种纯度不低于 99.0%。标准引用 GB/T3543.5—1995《农作物种子检验规程 真实性和品种纯度鉴定》作为该标准的条文, 即当种子纯度采用 GB4404.1—1996 进行纯度质量判定时, 必须按 GB/T3543.5—1995 规定的方法进行检测。

1.2 方法标准

我国现有的种子纯度检测标准 GB/T3543.5—1995《农作物种子检验规程 真实性和品种纯度鉴定》中规定了“种子鉴定”、“幼苗鉴别”和“田间小区种植鉴定”3 类方法可进行品种纯度检测, 其中专门

提到:“田间小区种植鉴定是品种真实性和测定品种纯度的最为可靠、准确的方法”。同时, 该标准还以参考件形式将小麦电泳法列入附录 A 中。农业部于 2001 年制订了玉米盐溶蛋白电泳鉴定方法的行业标准(该标准代码为 NY/T449—2001), 并于 2001 年 11 月 1 日开始实施。该标准规定玉米电泳检测值代入回归方程($Y = 52.9 + 0.461X$, 其中 Y 为检测的最终结果, X 为电泳检测值)计算后作为电泳检测的最终结果, 并与 GB4404.1—1996 中的纯度值进行比较, 判定被检样品是否合格。

2 应用中存在的问题探析

2.1 小麦种子电泳法的问题探析

虽然小麦电泳方法列入了 GB/T3543.5—1995 标准方法附录 A 中, 作为小麦纯度鉴定标准方法之一, 但是大多数实验室鉴定时所做的小麦籽粒数量远远达不到要求。据笔者多年来的实践经验与调查发现, 大多数检测机构为了降低检测成本, 不愿做更多的籽粒数, 从试验样品中仅仅取 100 粒小麦种子作为检测样品, 检测 100 粒小麦种子的纯度如何, 作为试验最终的判定结果。这样的判定结果有失公允。因为, 从国家种子质量标准规定可以知道, 小麦原种、良种必须分别达到 99.9%, 99.0% 才合格, 这样检测样品数量必须达到 1 000 粒才符合要求。所以, 特别是作为通过“双认证”出具公正数据的种子检测机构, 仅仅做 100 粒种子来判定样品的纯度是不合适的。如果试验所作的籽粒数达到要求, 方可考虑用 GB4404.1—1996 标准来进行判定。

2.2 玉米种子盐溶蛋白电泳鉴定法(NY/T449—2001)的问题探析

该标准方法是全国农技服务中心组织全国 11

收稿日期: 2005—07—21

作者简介: 王 婷(1971—), 女, 河南新县人, 讲师, 博士, 主要从事生物多样性的教学及科研工作。

个省的质检机构连续 3 年的联合攻关研究和完善,制订了玉米种子纯度盐溶蛋白电泳鉴定法(NY/T449—2001)^[3,5],该标准的制订与实施,填补了我国自行研制种子生化测纯标准方法的空白,为我国玉米种子室内纯度鉴定提供了重要手段,可快速有效地预控生产中假劣种子坑农害农。然而,盐溶蛋白电泳鉴定法是通过不同玉米品种在蛋白谱带的差异来鉴别,而蛋白的表达则是基因控制的,由于我国玉米品种遗传基础狭窄,部分亲本基因型相近或相同,反映到蛋白表达上差异不明显,有些品种(如农大 3138 等)很难通过蛋白电泳方法进行鉴别。其次,有些亲本主要是在已有杂交种基础上选育出来的多环系,遗传基础复杂,在自交后代中不断分离,致使蛋白表达不稳定,无规律,反映到蛋白电泳图谱上,谱带多、乱、杂,难以鉴定。另外,也存在大多数检测机构仅仅做几十粒或 100 粒种子作为检测样品数,并以此判定结果,显然是不合适的。根据 GB4404.1—1996 标准要求,玉米自交系原种、良种的纯度分别要达到 99.9%,99.0%,所以依据质量标准,必须做 1 000 粒才符合要求。此外,如果客户提供的是某一玉米自交系原种(纯度必须达到 99.9%),用该方法进行检验,即使电泳检测值是 100%,将该检测值代入回归方程 $Y = 52.9 + 0.461X$ 计算的最终结果为 99%,也不符合自交系原种质量要求。从回归方程本身也可以看出,电泳的检测结果永远达不到 100%。假如我们检测某一玉米品种的电泳检测值为 10%,代入回归方程得检测结果为 57.5%,从而可以看出,电泳检测值与检测结果有很大的差距。电泳检测值越小,检测结果与电泳检测值之间相差越大,当电泳检测值达到 90%以上时,电泳检测结果与检测值之间的差距很小。所以,在使用 NY/T449—2001 标准进行玉米种子纯度鉴定时要根据实际情况选用。

2.3 方法标准与质量标准之间关系的问题探析

国家质量标准 GB4404.1—1996 规定,本标准所包含的条文,通过在本标准中引用而构成为本标准的条文。该标准包含和引用的条文包括 GB/

T3543.1~6—1995,并没有包括方法标准 NY/T449—2001。所以,用 NY/T449—2001 方法标准(该方法标准规定可以用 GB4404.1—1996 标准来进行判定)所做的检测结果用 GB4404.1—1996 质量标准来进行种子质量的判定,值得商榷。笔者认为,只有在修订 GB4404.1—1996 标准时,把 NY/T449—2001 标准引用进去,再进行质量判定才合适,这样标准之间的衔接也不存在争议。

3 小结

小麦、玉米种子纯度检验技术已由传统的形态学方法发展到分子水平,其方法是由简单到复杂,结果也更加精确。每一种方法都有其自身的优缺点,至今还没有哪一种方法能够完全准确、快速、经济地进行种子纯度检验。与其他方法相比,电泳方法比较简便、快速稳定、重演性较好,对试验条件要求不高,特别是作为种子营销过程的验证手段,具有一定的使用价值。如果是种子仲裁检验、质量监督抽查,在使用电泳方法判定时要慎重考虑。因此,在进行具体的种子纯度检测时,应视具体情况灵活掌握,将传统的形态鉴定方法、现代生化方法和分子标记技术相结合,充分发挥综合技术优势,方能达到准确、经济、快速检测的目的。

参考文献:

- [1] 支巨振. 农作物种子检验规程实施指南[M]. 北京: 中国标准出版社, 2000. 52—100.
- [2] 支巨振, 毕辛华, 杜克敏, 等. 农作物种子检验规程真实性和品种纯度鉴定[M]. 北京: 中国标准出版社, 1995. 10—13.
- [3] 辛景树, 赵建宗, 丁万志, 等. 玉米种子纯度盐溶蛋白电泳鉴定方法[M]. 北京: 中国标准出版社, 2001. 1—3.
- [4] 李仁凤, 任淑萍, 邓荫金, 等. 粮食类作物种子 禾谷类[M]. 北京: 中国标准出版社, 1996. 2—5.
- [5] 滕开琼, 戴钢, 徐立新, 等. 电泳技术在种子纯度鉴定中的几个关键问题[J]. 河南农业科学, 2004(10): 24—26.