

表达序列标签(EST)分析及藻类EST文库的研究进展

陈卓, 刘杰, 钱万强, 孙杰, 沈继红, 林学政, 王能飞* (1. 青岛科技大学生物工程与技术系, 山东青岛266042; 2. 科技部基础研究管理中心, 北京100862; 3. 青岛农业大学理学与信息学院, 山东青岛266109; 4. 国家海洋局第一海洋研究所生态中心, 国家海洋局海洋生物活性物质重点实验室, 山东青岛266061)

摘要 随着生物信息学的发展, 表达序列标签(EST)在基因组作图、克隆基因、新基因的识别、蛋白质组研究等方面具有重要作用。笔者简要介绍了EST技术的原理及其在构建遗传图谱、分离与鉴定新基因等方面的应用。综述了藻类EST文库的研究现状, 并对EST的应用前景进行了展望。

关键词 表达序列标签; 藻类; EST文库

中图分类号 S188 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2009)05-01934-03

Analysis on Expressed Sequence Tags(EST) and Research Progress of Algae EST Library

CHEN Zhuo et al (Department of Biology Engineering and Technology, Qingdao Science and Technology University, Qingdao, Shandong 266042)

Abstract With the development of bioinformatics, expressed sequence tags (EST) had an important role on genome mapping, cloned gene, identification of new gene and proteome research and so on. The principle of EST library and its application in genetic map, isolation and identification new gene were simply introduced. The research status of algae EST library was summarized and the application of EST was prospected.

Key words Expressed sequence tags; Algae; EST library

在生命科学的诸多分支中, 分子生物学的发展非常迅速, 随着人类基因组计划的初步完成及后基因组时代的到来, 分子生物学研究对分子技术创新与改进的要求越来越迫切。表达序列标签(EST)的出现推动了生物信息学的发展, 近年来由此形成的技术体系已被广泛应用于基因识别、绘制基因表达图谱、寻找新基因等研究领域, 推动了人类基因组计划提前完成, 并且取得了显著成效。

1 EST技术的功能

在来源于不同组织的cDNA文库中随机挑选克隆并测序, 得到的部分cDNA序列被称为EST。一个EST对应于某一种mRNA逆转录所得的一段cDNA序列, 长度一般为150~500 bp或更长, 只含有基因编码区。由于EST可代表生物体某种组织某一时间表达的基因, 因此被称为“表达序列标签”^[1]。这一概念最先由Adams等于1991年提出, 近年来由EST形成的技术体系被广泛应用于基因识别、绘制基因表达图谱、寻找新基因等研究领域, 并且取得了显著成效^[2]。随着人类基因组计划的开展, EST技术逐渐被广泛应用于绘制人类基因组图谱、寻找人类新基因、识别基因组序列编码区等研究领域^[3]。

1.1 遗传图谱的构建 遗传图谱、物理图谱和转录图谱是基因组计划要获得的3张遗传学图谱。遗传图谱又称连锁图谱或遗传连锁图谱, 是指通过遗传重组所得到的基因在具体染色体上的线性排列图, 其标记有RFLP、Microsatellites和SNP等, 而遗传图谱的构建依赖于各种遗传标记。EST具有较高的多态性, 可作为构建遗传图谱的标记。如有人用日本水稻品种Nipponbare和印度水稻品种Kasalath杂交F₂代的186个植株作遗传图谱, 选用了2300个DNA标记, 12个连锁群, 总

的遗传距离为1550 cM, 其中70%的标记来源于EST^[4]。

在构建物理遗传图谱的过程中需要大量的单拷贝短序列(STS)作为界标, 因为大多数基因是单拷贝的, 因此EST可以作为STS用于构建基因图谱。

基因图谱又称转录图谱, 为染色体DNA的某一段内所有可转录序列的分布图, EST为转录基因的产物, 可直接用于图谱的构建^[5]。1994年Kurata N等利用来自于水稻根组织和愈伤组织的883条EST序列, 构建了第1张植物基因表达图谱, 也是第1张以相关克隆序列为背景的高密度遗传图谱^[6]。Miftahudin K.等^[7]从小麦cDNA文库中筛选出938个ESTs, 并进行杂交检测, 绘制了小麦第4组染色体上的1918个位点。

1.2 新基因的分离、鉴定 利用EST技术分析得到的基因主要有3种: 第1种是已知基因, 是人们已鉴定和了解的基因; 第2种是以前发现而功能未经鉴定, 但根据组织发育特点可推测其功能的基因; 第3种是未知基因, 即在数据库中无同种或异种基因匹配的基因。因此, 利用EST技术不但可迅速地确定部分基因的功能, 而且为推测未知基因功能和发现新基因提供了重要基础^[8]。

自从Adams于1991年首次应用表达序列标签寻找到人脑组织的新基因后, EST技术逐渐成为科研工作者研究生物基因组、寻找新基因的主要方法。基于EST发现新基因的一个成功的例子是分离参与合成不饱和脂肪酸生物合成的酶类基因pFL2。1995年Van de Loo等应用EST成功分离到蓖麻油酸12-羟基油酸生物合成的关键酶基因pFL2, 这是大规模测序从特异代谢的植物组织分离新基因的典型例子^[9]。类似的EST方法, 如Carbon等从苦瓜(*Momordica Charantia*)和凤仙花(*Impatiens balsamina*)产油组织的EST数据库中鉴定出脂质合成途径的关键酶——脂肪酸共轭酶基因^[9]。又如钱骏、董利等对表达序列标签(EST)、UniGene等数据库进行综合搜索分析, 结合cDNA克隆测序方法, 成功地获得了UBAP1基因在小鼠中的同源基因^[8]。

1.3 DNA微阵列和基因芯片的研究 随着ESTs数据的扩大, 用ESTs文库制备的DNA芯片将使测序过程简化并有力

基金项目 国家自然科学基金项目(40606001); 中国极地科学战略研究基金——南极海冰区藻类对气温升高的适应性研究; 破冰船防腐涂料中有机锡对极地冰藻生理生化的影响研究; 基本科研业务费专项资金- 极地海冰微生物抗逆功能基因的研究与开发。

作者简介 陈卓(1983-), 女, 山东淄博人, 硕士研究生, 研究方向: 分子生物学。* 通讯作者。

收稿日期 2008-11-25

促进功能基因组学研究^[10]。杨莉等^[11]从红色毛癣菌cDNA文库中选取了3 364条有明确功能注释的表达序列标签(EST)制备了cDNA芯片,对红色毛癣菌孢子期及萌芽期的基因表达变化进行了研究。该研究为了解红色毛癣菌孢子萌发过程中基因表达的变化及信号转导和代谢特点提供了重要线索,对其他浅部真菌的研究也具有重要意义。瑞典的杨树基因组计划中制备了一个包含13 000个杨树ESTs的芯片,这些ESTs来自35 000个cDNA克隆测序后的单基因集,用于研究杨树生长发育过程中的基因表达、鉴定和功能分析^[12]。

1.4 利用EST分析基因表达水平 一般认为,组织和细胞分化依赖于基因特异性的时空表达,而生物体在某一时期的基因表达数量通常只占全部基因的15%^[13]。EST技术的优势就在于其稳定性高、分析规模大。通过对cDNA文库中随机挑选的克隆进行大规模测序,所产生的EST数据可以解决特定组织细胞在某一时期的基因表达和丰度等问题,从而可在基因整体水平上研究其相关的功能及代谢。目前基因差异表达研究是植物EST研究的主流,基因表达图谱的研究更是其中的热点,如刘军等以水稻茎尖分生组织(SAM)为对照群体,幼穗分生组织(Pb/Sb)为目标群体,进行抑制差减杂交,用经过SAMcDNA差减的Pb/SbcDNA群体构建了一个差减文库。通过差示筛选鉴定了40个在Pb/Sb中特异表达或表达增强的候选克隆^[14]。又如杨传平等以NaHCO₃胁迫紫杆柎柳cDNA为试验方,正常生长紫杆柎柳cDNA为驱动方,应用SSH技术研究胁迫下柎柳基因的表达。经Northern杂交检测,共获得36个盐胁迫应答基因^[15]。

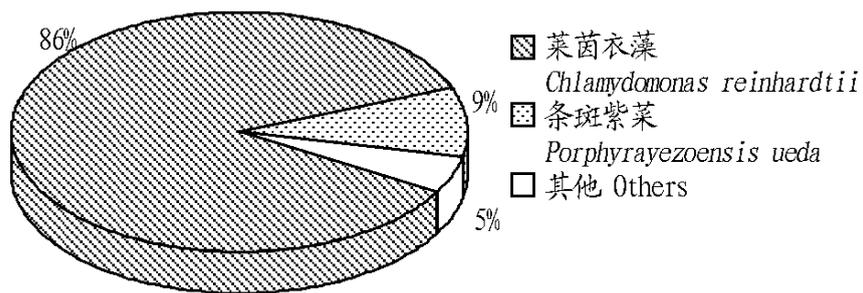


图1 藻类EST数据统计结果

Fig.1 The statistical results of algae ESTs data

1.5 基于bdEST的电子克隆技术 电子克隆技术的原理是利用生物信息学技术,借助电子计算机的巨大运算能力,通过EST或基因组的序列组装和拼接,利用RT-PCR技术快速获得新基因^[16-17]。该技术以目的EST为种子序列,对选定的dbEST进行同源性搜索,将所选高度同源的ESTs归类,作为种子序列库,进行序列拼装,构建序列重叠群,再以重叠群为种子序列重复进行同源性搜索、聚类、拼接直至无法进行,已达到最有效的延伸^[18]。中山大学的林慧贤等用已知遗传图位的BAC克隆片段筛选水稻小穗cDNA文库,获得1个小GIP结合蛋白的相关序列,以该cDNA序列为基础将4个EST拼接,进行电子克隆,得到了1个新的水稻小GIP蛋白基因Osrab5B的cDNA克隆^[19-20]。陈大福等^[21]以果蝇腺苷酸转移酶基因cDNA序列为模板,对家蚕EST数据库进行同源性检索筛选,克隆出家蚕腺苷酸转移酶基因的cDNA序列。EST数据库的迅速扩张,将导致识别与克隆新基因策略发生革命性变化。

2 藻类EST文库

自EST技术建立以来,EST数据库从1993年的22 537条增加到了55 561 006(2008-8-19)条。搜索结果表明藻类的EST数据有236 375条,少于高等动、植物。其中,模式生物莱茵衣藻的EST数量最多,为202 260条,其次为条斑紫菜,为22 070条^[1](图1)。

目前,公共数据库中只有4种微藻的全基因序列:原始红藻(*Cyanidioschyzon merdax*)、莱茵衣藻^[22](*Chlamydomonas reinhardtii*)、伪矮海链藻(*Thalassiosira pseudonana*)^[23]、原始绿藻(*Ostreococcus tauri*)^[24-25]。其他的如红藻(*Calderia sulphuraria*)^[26]、三角褐指藻(*Phaeodactylum tricinctum*)^[27]、一种多细胞藻类(*Volvox carterii*)^[28]、球石藻(*Emiliania huxleyi*)已在国际上开展了相关研究并取得了很大进展。但是,基因组测序非常昂贵,且对海量数据的分析需要较长时间。快捷而有效的方法就是对cDNA序列进行EST分析^[29]。目前,公共数据库中公布的EST有5 000多万条,除了上述进行全基因组测序的藻类外,关于条斑紫菜(*Porphyra yezoensis ueda*)^[28-30]、红藻(*Calderia sulphuraria*)^[31]、塔玛亚历山大藻(*Alexandrium marense*)^[32]、强壮前沟藻(*Amphidinium caterae* Hilbert)^[33]ESTs的研究也有相关报道。

2.1 微藻的EST研究 微藻的EST研究主要集中在紫菜(*Porphyra*)上,共28 109(2008-8-19)条。其中,以条斑紫菜(*P. yezoensis*)为主,有EST记录22 069(2008-8-19)条,其次为江蓠属(*Gracilaria*),8 535(2008-8-19)条。紫菜的EST多来自其叶状配子体,而来自其丝状孢子体的较少。坛紫菜是中国南方海域特有的栽培品种,然而国际上对其研究较少,目前NCBI中尚未收录与其相关的EST。2003年中国科学院海洋研究所和浙江大学沃森基因组科学研究院联合对坛紫菜丝状孢子体进行了大规模测序,得到7 064个EST原始数据,经处理最终获得2 535条特异序列^[4]。

表达序列标签(EST)在微藻研究中的应用主要集中在基因序列研究上。王孟强、胡景杰等利用公共数据库中条斑紫菜的EST,对简单重复序列(SSR)即微卫星标记进行分析。该研究利用了EST序列能够代表特定基因的特性及SSR标记的多态性,当具有多态性的SSR与功能确定的基因相关联时,这种SSR就可作为遗传标记看待。王孟强等对21 954条EST序列分析发现,其中1 162条含有微卫星序列,对这1 162条EST序列进行聚类,其中984条可聚为112个重叠群,其余178条不与其他序列聚类,共得到非冗余基因290个^[24]。又如Nkaido等^[34]从条斑紫菜(*P. yezoensis*)的cDNA文库中建立了10 154条(3 267个非重复组)EST序列,比较后发现其中33.1%的序列与已知序列相似,66.9%的EST是首次报道的新序列。Lee等^[35]测定并分析了来自条斑紫菜的200条EST序列,其中81条(40.5%)与GenBank中已知基因相似,8条与已知的藻类相关基因相似。

南极冰藻(*Chlamydomonas sp. ICE L*)是一种单细胞真核藻类,属于衣藻科(*Chlamydomonadaceae*)衣藻属(*Chlamydomonas sp.*),是研究极端环境生物学的良好模式生物。王能飞等通过对南极冰藻L4(*Chlamydomonas L4*)cDNA文库的筛选,克隆出一个具有5'和3'非编码区的40S核糖体蛋白S5(RPS5)全长基因

序列。与 GenBank 中日本凋毛藻、拟南芥、果蝇、斑马鱼、非洲爪蟾、人等物种的同源基因或 EST 序列比对,得到了根据 RPS5 基因序列相似性绘制的系统分类树,其符合传统的物种分类系统。这说明通过持家基因的一种——RPS5 基因的序列相似性进行分子分类学研究具有可行性。

2.2 大型藻的 EST 研究 大型藻类的 EST 研究主要集中在褐藻上。有关于褐藻的 EST 数据已达到 13 208 (2008-8-19) 条。使用 ESTs 分析等基因组学研究之前,只有很少的褐藻基因被克隆,如钙调蛋白基因、海藻糖叶绿素 a/c 结合蛋白等^[36]。现已从掌状海带 (*L. digitata*) 的配子体和孢子体中获得了约 500 条 EST。其中,39% 的配子体 EST 和 48% 的孢子体 EST 可以根据数据库数据确定其可能的功能,尽管 EST 数量不多,但已在 EST 分析基础上分离得到了溴过氧化酶、碘过氧化酶、甘露糖醛酸 C5 表异构酶^[37] 和 6 个碳代谢相关基因^[38] 等重要功能基因。可见,EST 技术在藻类相关研究中已得到了广泛应用,而其应用主要集中在相关基因的筛选和功能鉴定等方面。

3 展望

虽然 EST 技术功能强大,被广泛应用于基因组学研究的各个领域,但目前的技术仍存在一定局限性。第一,EST 文库中基因丰度的问题。生物基因组极其庞大,生物体某一特定组织在特定时期的基因表达频率各不相同。但人们寻找到的具有特异性的新基因往往就是低频率表达的基因,因此随机选取 cDNA 克隆测序时不可避免地会得到大量重复的 ESTs,不能有效获取有用的、新的 ESTs,造成人力物力浪费,效率较低;第二,EST 的测序方法存在误差,许多应用程序也存在一定的局限性,使独立基因在聚类拼接过程中可能与源性较高的不同基因混杂在一起^[39];第三,EST 仅仅作为一个基因的部分序列,它所揭示的基因组信息不全,一些调控序列、内元序列等在基因表达调控中起重要作用的信息不能体现出来^[40];第四,就世界范围来讲,如何避免不同研究机构对同一物种进行重复测序,协调好科学家之间的分工,加快国际 EST 计划的进程,也是一个需要解决的问题^[41]。

随着“后基因组”时代的到来,生物信息学在基因功能研究中发挥着越来越重要的作用。而 EST 分析是生物信息学分析的核心,它为新基因的克隆和功能分析提供了新的出发点。同时,激光显微切割 cDNA 文库标准化、RACE (rapid amplification of cDNA ends) 等技术的应用,以及测序和 DNA 芯片技术的发展,也使得快速大规模进行 cDNA 序列测定和分析成为可能。因此,EST 技术将成为一种强有力的工具,帮助人们揭示基因组所包含的信息,使基因组研究进入一个新的阶段。

参考文献

- [1] 骆蒙,贾继增.植物基因组表达序列标签(EST)计划研究进展[J].生物化学与生物物理进展,2001,28(4):494-497.
- [2] RUDD S.Expressed sequence tags: alternative of complement to whole genome sequences[J].TRENDS in Plant Science,2003,8:321-329.
- [3] 骆蒙,贾继增.国际麦类基因组 EST 计划研究进展[J].中国农业科学,2000,33(6):110-112.
- [4] 万海伟,杜立新.表达序列标签(EST)在基因组学研究中的应用[J].生物技术通报,2004(1):34-38.
- [5] ARUSHIMA Y, YANO M, SHOMURA A, et al. A high density rice genetic linkage map with 2275 markers using a single F₂ population[J].Genetic,1998,148(1):1-16.
- [6] HALL AJ, LEMCOFF J H, TRAPAN N. Water stress before and during flowering in maize and its effects on yield, its components, and their determinants [J].Maydica,1981,26:19-38.
- [7] 于凤池. EST 技术及其应用综述[J].中国农学通报,2005,21(2):54-58.
- [8] 钱骏,董利.表达序列标签数据库搜索鉴定小鼠 UBAP1 基因及其数字化表达分析[J].生物化学与生物物理进展,2002,29(2):323-327.
- [9] 杨莉,王玲玲,彭俊平,等.红色毛癣菌孢子期与萌芽期基因表达比较分析[J].中国科学,2007,37(2):227-233.
- [10] 李红,卢孟柱,蒋湘宁.表达序列标签(EST)分析及其在林木研究中的应用[J].林业科学研究,2004,17(6):804-809.
- [11] 刘军,袁自强,刘建东,等.应用抑制差减杂交法分离水稻幼穗发育早期特异表达的基因[J].科学通报,2006,26(6):1392-1397.
- [12] HINDERHOFER K, ZENIGRAF U. Identification of a transcription factor specifically expressed at the onset of leaf senescence [J].Harta,2001,213:469-473.
- [13] HAPPE T, KAMNICKS A. Differential regulation of the Fe-hydrogenase during anaerobic adaptation in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* [J].European Journal of Biochemistry,2002,269:1022-1032.
- [14] ZHANG X N, WANG H, QUZ C, et al. Cloning and prokaryotic expression of a salt-induced cDNA encoding a chloroplastic fructose 1,6-diphosphate aldolase in *Dunaliella salina* (Chlorophyta) [J].DNA Sequence,2002,13:195-202.
- [15] 于浩,刘娣,杨秀芹.基于表达序列标签数据库(dbEST)的电子克隆技术[J].黑龙江畜牧兽医杂志,2003(4):19.
- [16] 林慧贤,刘筱斌,梁承邨,等.水稻rab5B基因在大肠杆菌中的表达、纯化和GTP结合分析[J].生物化学与生物物理进展,2002(3):97-101.
- [17] 林慧贤,刘筱斌,李发强,等.水稻小GTP蛋白基因Orab5B基因的克隆和鉴定[J].高技术通讯,2001(3):9-14.
- [18] SCHULER G D, BOGUSKI M S, STEWART E A, et al. A gene map of the human genome [J].Science,1996,274:540-546.
- [19] NKALDOL, ASAMIZ E, NAJAKI M A M, et al. Generation of 10,154 expressed sequence tags from a leafy gametophyte of a marine red alga, *Porphyra yezoensis* [J].DNA Res,2000,7:223-227.
- [20] LEE E K, SEO S B, KIM T H, et al. Analysis of expressed sequence tags of *Porphyra yezoensis* [J].Mol Cells,2000,10(3):338-342.
- [21] 杨官品,沈怀舜,许璞,等.条斑紫菜丝状孢子体表达序列标签分析[J].高技术通讯,2002,12(2):93-97.
- [22] ARMBRUST E V, BERGES J A, BOWLER C, et al. The genome of the diatom *Thalassiosira pseudonana*: ecology, evolution, and metabolism [J].Science,2004,306:79-86.
- [23] DERELLE E, FERRAZ C, LAGODA P, et al. DNAlibraries for sequencing the genome of *Ostreococcus taeni* (Chlorophyta, Prasinophyceae): the smallest free-living Eukaryotic cell [J].Phycol,2002,38:1150-1156.
- [24] 王孟强,胡景杰,庄昀筠,等.条斑紫菜(*Porphyra yezoensis*) EST 序列中微卫星位点的计算机筛查及相关分析[J].中国海洋大学学报,2007,37(2):234.
- [25] BARBEY G, OESTERLEST C, LARSON M D, et al. Comparative genomics of two closely related unicellular thermo-acidophilic red algae, *Galdieria sulphuraria* and *Cyanidioschyzon merolae*, reveals the molecular basis of the metabolic flexibility of *Galdieria sulphuraria* and significant differences in carbohydrate metabolism of both algae [J].Plant Physiol,2005,137:460-474.
- [26] MONISANT A, JABBARI K, MAHESWAR U, BOWLER C. Comparative genomics of the pinnae diatom *Phaeodactylum tricorutum* [J].Plant Physiol,2004,137:500-501.
- [27] WALKER T L, COLLERT C, PURTON S. Algal transgenics in the genomic era [J].Journal of Phycology,2005,41:1077-1093.
- [28] GROSSMAN A R. Paths toward algal genomics [J].Plant Physiology,2005,137:410-427.
- [29] ADAMS M D, KELLEY J M, MCCAYNE J D, et al. Complementary DNA sequencing: Expressed sequence tags and human genome project [J].Science,1991,225:1651-1656.
- [30] ASAMIZU E, NAKAI M A M, KITADE Y, et al. Comparison of RNA expression profiles between the two generations of *Porphyra yezoensis* (Rhodophyta), based on expressed sequence tag frequency analysis [J].Phycol,2003,39:923-930.
- [31] WEBER A, OESTERHELT C, GOSS W, et al. EST analysis of the thermo-acidophilic red microalga *Galdieria sulphuraria* reveals potential for lipid A biosynthesis and unveils the pathway of carbon export from rhodoplasts [J].Plant Mol Biol,2004,55:17-32.
- [32] BACHVAROFF T R, CONCEPCION G T, ROGERS C R, et al. Dmflagellate expressed indicate massive transfer to the nuclear genome sequence tag data of chloroplast genes [J].Frost,2004,155:65-67.
- [33] NYVALL P, CORRE E, HOSET C, et al. Characterization of mannuronan G5 epimerase genes from the brown alga *Laminaria digitata* [J].Plant Physiology,2003,133(2):726-735.

高、茎粗、地上部鲜重、地上部干重显著高于营养土; 地下部鲜重、地下部干重极显著高于进口泥炭和营养土; 全株鲜重极显著高于进口泥炭, 显著高于营养土; 全株干重显著高于

进口泥炭和营养土; 壮苗指数有机复合基质和进口泥炭极显著高于营养土, 有机复合基质和进口泥炭间无显著差异。2007 年与2008 年试验结果基本一致。

表1 有机复合育苗基质对西瓜出苗、成苗的影响

Table 1 Effects of compound organic seeding substrates on the emergence and formation of watermelon seedlings

年份 Year	处理 Treatment	播种期 (月/日) Sowing date	播种株数 Sowing plants	株 出苗时间(月/日) Seeding occurrence time	齐苗时间(月/日) Time for full seedlings	出苗株数 Emerged plants	株 成苗株数 Survival plants	株 出苗率 % Seeding emerged rate	成苗率 % Seeding formation rate
2007	有机复合基质	1/20	200	1/24	1/26	172.67	171.67	86.33	85.83
	进口泥炭	1/20	200	1/24	1/25	175.67	174.33	87.83	87.17
	营养土(CK)	1/20	200	1/24	1/27	174.67	173.33	87.33	86.67
2008	有机复合基质	2/25	200	2/29	3/2	173.33	173.00	86.67	86.50
	进口泥炭	2/25	200	2/29	3/1	175.33	174.67	87.67	87.33
	营养土(CK)	2/25	200	2/29	3/3	171.67	170.67	85.83	85.33

表2 有机复合育苗基质对西瓜苗生长的影响

Table 2 Effects of compound organic seeding substrates on the growth of watermelon seedlings

年份 Year	处理 Treatment	株高 cm Plant height	茎粗 cm Stem diameter	鲜重 Fresh weight g		全株鲜重 g Fresh weight of whole plant	干重 Dry weight g		全株干重 g Dry weight of whole plant	壮苗指数 Seeding raising index
				地上部 Aboveground part	地下部 Underground part		地上部 Aboveground part	地下部 Underground part		
2007	有机复合基质	6.20 Aa	0.30 Aa	4.39 Aa	0.81 Aa	5.20 Aa	0.310 Aa	0.056 Aa	0.366 Aa	0.017 5 Aa
	进口泥炭	6.00 Aab	0.27 Aab	4.24 Ab	0.75 Bb	4.99 ABb	0.280 Ab	0.045 Bb	0.325 Bb	0.014 5 Bb
	营养土(CK)	5.77 Ab	0.24 Ab	4.20 Ab	0.73 Bb	4.93 Bb	0.282 Ab	0.045 Bb	0.327 ABb	0.013 6 Bb
2008	有机复合基质	6.00 Aa	0.28 Aa	3.85 Aa	0.79 Aa	4.64 Aa	0.305 Aa	0.057 Aa	0.362 Aa	0.016 9 Aa
	进口泥炭	5.77 Aab	0.26 Aab	3.81 Aab	0.74 Bb	4.55 Bb	0.287 Aab	0.051 Bb	0.338 Ab	0.015 1 Aa
	营养土(CK)	5.57 Ab	0.24 Ab	3.76 Ab	0.73 Bb	4.49 ABb	0.284 Ab	0.048 Bb	0.332 Ab	0.014 5 Bb

注: 纵列大、小写字母不同分别表示差异达0.01 极显著水平和0.05 显著水平。

Note: Different capital letters in the same column mean extremely significant difference at 0.01 level and different small letters mean significant difference at 0.05 level.

3 讨论与结论

(1) 有机复合基质是以食用菌下脚料、花生壳为主要原料, 配以稻壳灰、凹凸棒土、缓释肥料等而成的育苗基质, 其有机物含量高, 颗粒较小, 持水能力好, 但透气性不及进口泥炭, 因此齐苗比进口泥炭晚1~2 d。营养土主要由园土与腐熟的有机肥配制而成, 透气性最差, 造成齐苗时间最晚, 要比有机复合基质晚1~2 d, 且出苗不整齐。

(2) 从3 种不同育苗基质的西瓜幼苗的生长来看, 由于有机复合基质和营养土均含有一定的养分, 可以满足西瓜幼苗30~35 d 的生长需要, 因此在西瓜育苗期间不需追肥。进口泥炭由于仅添加了少量的养分, 在齐苗后7 d 左右幼苗出现黄化、生长缓慢现象, 因此在西瓜育苗期间需要追施2~3 次肥料。从对西瓜苗期生长的影响来看, 有机复合基质培育的

西瓜幼苗表现为长势旺、叶色绿、植株健壮, 易于培育西瓜壮苗; 在苗期补充肥料的条件下, 进口泥炭培育的西瓜幼苗长势稍优于营养土, 二者差异不显著。

(3) 从2 年的试验结果来看, 各个处理表现基本一致。综合分析, 3 个处理中有机复合基质最适于西瓜育苗, 易于培育壮苗, 可以用于西瓜等瓜类蔬菜育苗, 为西瓜获得高产奠定了坚实的基础。

参考文献

- [1] 魏敏芝, 张凯, 高丽红, 等. 不同育苗基质对黄瓜穴盘苗质量的影响[J]. 华中农业大学学报, 2004(12): 245-249.
- [2] 王波, 董彩英, 荣宝, 等. 育苗基质和穴盘规格对黄瓜幼苗生长的影响[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(13): 5378-5379, 5429.
- [3] 赵明, 蔡葵, 赵征宇. 无土育苗基质不同施肥量对西瓜幼苗生长及养分吸收的影响[J]. 山东农业科学, 2004(2): 48.
- [37] EDWARD NJ. Novel peptide identification from tandem mass spectra using ESTs and sequence database compression[J]. Mol Syst Biol, 2007, 3: 102.
- [38] CHEN DF, NIUBL, WENG HB, et al. Cloning of adenine nucleotide translocase gene from Bombyx mori based on EST database[J]. Sci Sericulture, 2004, 30(2): 151-155.
- [39] WULSCHLEGER SD, JANSSON S, TAYLOR G. Genomics and forest biology: Populus nigra as the perennial favorite[J]. Plant Cell, 2002, 14: 2651-2655.
- [40] HATEY F, TOSSER K G, GLOUSCARD, et al. Expressed sequence tags for genes: a review[J]. Genet Sel Evol, 1998, 30(5): 521-541.

(上接第1936 页)

- [34] NIKADOI, ASAMIZU R, NAKAI MA M, et al. Generation of 10154 expressed sequence tags from a leafy gametophyte of a marine red alga, Porphyra yezoensis[J]. DNA Research, 2000, 7(3): 223-227.
- [35] LEE H, LEE H K, AN G, et al. Analysis of expressed sequence tags from the red alga Griffithsia okiensis[J]. Journal of microbiology, 2007, 45(6): 541-546.
- [36] VAN D L F, BROUN P, TURNER S, et al. An oleate 12-hydroxylase from Ricinus communis L. is a fatty acyl desaturase homolog[J]. Proc Natl Acad Sci, 2005, 92: 6743-6747.