

# SDS-PAGE 凝胶电泳法与田间种植法鉴定辣椒种子纯度的相关性研究

邢宝田<sup>1</sup>, 吴 萍<sup>1</sup>, 宋顺华<sup>1</sup>, 李东京<sup>2</sup>

(1. 北京市农林科学院 蔬菜研究中心, 北京 100097; 2. 北京奥新高科种子有限公司, 北京 100081)

**摘 要:**以“奥新早帅”辣椒种子为试材,采用 SDS-PAGE 凝胶电泳与田间种植鉴定 2 种方法鉴定 24 份样品纯度。结果表明:SDS-PAGE 凝胶电泳与田间种植鉴定的回归方程为: $y=7.2818+0.946x$ ,相关系数  $r=0.851$ ,二者结果显著相关。说明 SDS-PAGE 凝胶电泳法鉴定“奥新早帅”辣椒种子纯度是可行的,而且是可靠的。

**关键词:**甜椒种子;种子纯度;SDS-PAGE 凝胶电泳;田间鉴定

**中图分类号:**S 641.304+.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)13-0029-03

种子纯度是种子质量的重要组成部分。中华人民共和国国家标准《农作物种子检验规程》(GB/T3543-1995)中规定纯度为必检项目<sup>[1]</sup>。目前我国主要采用田间种植检验的方法来鉴定甜、辣椒种子纯度,也是现行国际上采纳的方法。但此方法鉴定周期长,需消耗大量的人力、物力、财力,而且不能在同一个生长季节同时进行种子的检验和销售应用。利用 SDS-PAGE 凝胶电泳法分析生化指标来检测甜椒种子纯度,具有使用仪器简单、操作方便、重现性好,时间短、成本低、易于普及等特点,且比较客观,不易受外界环境及鉴定者的主观因素的影响。该试验采用这 2 种鉴定方法,测定了甜椒同一品种的 24 份样品的纯度,并对测定结果进行了比较分析。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验用“奥新早帅”微辣型大椒杂交组合种子,由北京奥新高科种子科技有限公司提供,共检测 24 份样品。

### 1.2 试验方法

1.2.1 样品的制备 随机在种子袋里取种子 1 粒,用解剖刀切碎放入 1 mL 离心管,加 100  $\mu$ L SDS 蛋白提取液(含 20% SDS, 8% 1 mol TRIS-HCL, 8% 甘油, 1.5% DTT),室温下研磨成匀浆,100℃加热 5 min 后,20℃下 10 000 r/min 离心 10 min,取上清液备用。每

份样品取亲本种子各 2 粒、待测样品 50 粒进行分析。

1.2.2 电泳 根据电泳槽的大小,按表 1 的比例调整各试剂所需要的量。电极缓冲液为:0.3% TRIS, 0.1% SDS, 1.41% GLY;浓缩胶电泳 20 mA,分离胶电泳 40 mA,整个电泳过程采用恒流电泳。

表 1 分离胶和浓缩胶所用试剂浓度及比例

	30%ACRY 0.8%BIS /mL	1mol TEIS-HCL /mL	10%SDS /μL	TEMED /μL	H <sub>2</sub> O /mL	10%AP /μL
分离胶	15	16.8(pH=8.8)	450	12.4	8.4	300
浓缩胶	3.2	3 (pH=6.8)	240	10	15	360

1.2.3 固定与染色 电泳结束后,将分离胶取下放入 20%的三氯乙酸溶液中固定过夜。第 2 天再将胶放入含有 0.2%考马斯亮兰 R-250、30%甲醇、10%冰乙酸的染色液中 35℃恒温下染色 4~5 h,然后用清水冲洗几次,再进行脱色。脱色液为 30%甲醇、10%冰乙酸,35℃恒温脱色 1~3 h 即可<sup>[2]</sup>。

1.2.4 田间鉴定法 依据《农作物种子检验规程》进行小区种植,根据品种的特征特性进行鉴定,进而计算田间纯度。

## 2 结果与分析

由表 2 可看出,24 份样品中有 17 份样品的田间纯度结果大于电泳纯度结果,占 70.8%。根据《农作物种子检验规程实施指南》查得 2 个估测值之间一尾测定( $P=95\%$ )的容许误差<sup>[3]</sup>比对发现,2 种方法鉴定结果的误差均在容许误差范围内。

对结果进行统计分析,得到回归方程为: $y=7.2818+0.946x$ ,相关系数  $r=0.851$ ,其中: $y$  代表田间种植鉴定纯度结果, $x$  代表电泳鉴定纯度结果,对回归方程进行显著性验证,计算  $F$  值:

$$F=\frac{r^2}{(1-r^2)/(n-2)}=57.77,$$

第一作者简介:邢宝田(1968-),女,大专,助理农艺师,现主要从事蔬菜种子室内纯度检测及品种鉴定工作。E-mail: xingxl35@yahoo.com.cn。

责任作者:吴萍(1962-),女,硕士,副研究员,现主要从事种子生理研究及种子检测工作。E-mail: wuping@nercv.org。

收稿日期:2011-04-13

表 2 电泳检测纯度与田间种植鉴定纯度对照

序号	电泳测定值/%	田间测定值/%	二者之间差%	2 个测定值间比较
				时容许差距(P=95%)
1	97.6	93.9	3.7	8
2	93.2	97.8	4.6	8
3	88.6	97.8	9.2	10
4	81.8	88.6	6.8	13.1
5	86.4	96	9.6	11
6	93.2	97.9	4.7	8
7	90.9	98	7.1	8.7
8	93.2	98.6	5.4	8
9	93.2	96.6	3.4	8
10	78.1	80	1.9	14.7
11	81.3	84.6	3.3	14.7
12	78.1	74.6	3.5	15.9
13	65.6	58.5	7.1	18
14	88.6	95	6.4	10
15	90.2	96	5.8	10
16	95.5	98.8	3.3	6.3
17	92.9	93	0.1	10
18	75.0	77.5	2.5	15.9
19	53.1	67.5	14.4	18
20	79.5	73	6.5	15.9
21	82.9	80.9	2.0	14.7
22	88.6	80	8.6	13.1
23	79.5	76	3.5	15.9
24	75.0	87.0	12.0	14.7

当  $F=22$  时,查  $F$  表,  $F_{0.01(1,22)}=7.94, F=57.77>7.94$ ,说明差异极显著。该试验中二者关系存在着极显著的线性相关关系(图 1)。利用所得到的回归方程,可从电泳鉴定纯度结果中推算田间纯度鉴定结果的误差范围。计算公式如下:

$$Sy,x=\pm \sqrt{\sum (y-Y)^2/(n-2)}=\pm 6.17,$$

$$\text{估测误差}(\%)=[S_{y,x}/y]\times 100=\pm 6.86.$$

$y$  代表田间纯度鉴定结果的平均值, $Y$  代表由电泳纯度结果得到的理论值的平均值。即由电泳纯度结果估测田间纯度结果时有  $\pm 6.86$  的估测标准误差。

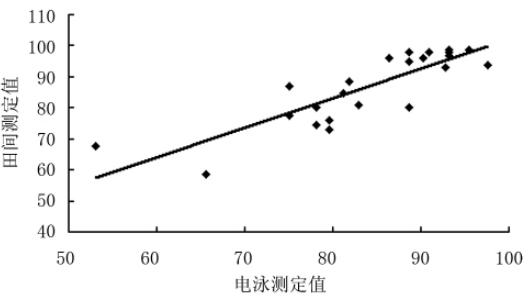


图 1 甜椒种子电泳纯度与田间鉴定纯度结果相关性示意图

3 结论与讨论

利用电泳进行种子纯度检验,方便、快捷、经济、准确性高<sup>[4]</sup>。而田间种植鉴定要根据植株的综合性状进

行判定,这些形态特征受外部环境因素影响较大;不同的专家鉴定的结果也有差异。国际种子检验协会已将鉴定小麦和大麦品种醇溶蛋白电泳标准程序、鉴定豌豆属和黑麦属的 SDS 聚烯酰胺凝胶电泳标准方法、等电聚焦电泳测定杂交玉米种子纯度的标准方法列入国际种子检验规程。我国也于 2001 年颁布了玉米种子纯度盐溶蛋白电泳鉴定方法<sup>[5]</sup>,蔬菜方面利用电泳鉴定品种及测定种子纯度的报道也很多<sup>[6-9]</sup>。

该试验分析了辣椒“奥新早帅”大椒品种的 24 份样品的电泳纯度结果与田间小区种植鉴定纯度结果,二者的误差均符合《农作物种子检验规程实施指南》中 2 个估测值比较的误差范围。对结果进行统计分析,得到的回归方程和相关系数也达到极显著水平。说明 SDS-PAGE 凝胶电泳方法鉴定辣椒“奥新早帅”种子纯度是可行的,结果是可靠的。

试验中也发现,2 种方法的测定结果之间也存在一定的差异,其中有 70%左右的样品是电泳测定结果高于田间测定结果。而且这一趋势在其它作物种子纯度不同方法测定结果的比较中也是普遍存在的现象。我们认为,这不是由于方法的灵敏度和准确度造成的,而是由于样品表现方式不同造成的。电泳制样时,采用随机取干燥种子,加提取液研磨,这样取到的种子有可能活力低,生长势差,到田间不能生长成正常植物的亲本种子,故电泳检测结果普遍低于田间鉴定纯度结果。可以说,电泳结果接近取样种子的真实结果,而田间鉴定结果是田间出苗的结果,二者一定会存在某种程度的差异,只要严格按照相关测定方法,规定取样量,减少不必要的误差,就可以用电泳结果估算田间出苗结果,从而指导种子的销售、生产工作。

参考文献

[1] 中华人民共和国国家标准《农作物种子检验规程》GB/T3543. 5-1995[M]. 北京:中国标准出版社,1995.  
[2] 李丽,郑晓鹰,邢宝田. SDS-PAGE 蛋白电泳技术在  $F_1$  代杂交种纯度鉴定中的应用[J]. 种子,2000(6):51-53.  
[3] 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,2000:153-156.  
[4] 黄为平,郑晓鹰. 等电聚焦种子蛋白电泳方法检测蔬菜杂种纯度[J]. 华北农学报,1995,10(4):76-81.  
[5] 中华人民共和国农业行业标准. 玉米种子纯度盐溶蛋白电泳鉴定方法, NY/T449-2001[M]. 北京:中国标准出版社,2001.  
[6] 孙海燕,王利沙. 8 种大白菜过氧化物同工酶分析[J]. 现代农业科技,2009(5):8-9.  
[7] 刘海学,王昱,季静,等. 16 个向日葵品种过氧化物酶同工酶分析[J]. 中国油料作物学报,2007,29(2):170-173.  
[8] 张承毅,吴承来,张春庆,等. 蛋白质电泳法鉴定大白菜种子纯度[J]. 山东农业科学,2007(3):108-110.  
[9] 宋明,刘宝敬,李成琼,等. 等电聚焦电泳法测定甘蓝自交不亲和性[J]. 园艺学报,1998,25(2):194-196.

# 草炭土生物复合肥料对菜心生长的影响

周丹丹<sup>1</sup>, 李延云<sup>1</sup>, 焦振华<sup>2</sup>

(1. 农业部规划设计研究院, 北京 100125; 2. 陕西瑞泰生物技术有限公司, 陕西 西安 710003)

**摘要:**以菜心为试材, 研究草炭土固定芽孢杆菌制成的生物复合肥对菜心生长的影响。结果表明: 草炭土生物复合肥栽培中的菜心幼苗生长健壮, 地上部分和地下部分的生长状况均优于其它处理, 说明可将草炭土与生物有益菌进行固定化, 形成优质的草炭土肥料应用于蔬菜育苗和生产中。

**关键词:**草炭; 盆栽; 芽孢杆菌; 菜心

**中图分类号:**S 634.506<sup>+</sup>.2 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2011)13-0031-03

草炭土不仅有机质含量较高, 而且具有质轻、持水、透气的特点<sup>[1]</sup>, 具有其它有机材料不可替代的作用和适中的价格, 近年来在我国生产绿色有机复合肥中广泛应用。国内也有多家企业进行加工生产, 但是多为添加一些无机肥料, 与微生物相结合的研究较少。现以草炭土和固定有益菌相结合的方法, 通过种植试验研究其效果, 现将试验结果汇报如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

培养基(1 L): 葡萄糖 20 g, 牛肉膏 5 g, 蛋白胨 10 g, NaCl 5 g, pH 值中性; 海藻酸钠、冰醋酸(均为分析纯), 草炭土、干土壤。试验仪器: 电子天平、花盆、尺、电子天平。

**第一作者简介:**周丹丹(1982-), 女, 硕士, 助理工程师, 现主要从事生物制品技术研发及可研规划工作。E-mail: shuai\_yeluowusheng@163.com。

**责任作者:**李延云(1955-), 男, 研究员, 现主要从事生物制品技术工艺及可研规划类研究工作。

**收稿日期:**2011-04-19

### 1.2 试验方法

**1.2.1 菌种培养** 配置培养基 1 L, 在温度为 115℃ 的条件下灭菌 15~20 min, 在 250 mL 的三角瓶中装液量 100 mL, 接种量 5%, 摇床转速为 150 r/min, 28℃ 培养 28 h。4℃ 冰箱保存<sup>[2]</sup>。

**1.2.2 芽孢杆菌的固定化** 使用芽孢杆菌菌液上清液, 稀释冰醋酸, 配制 4% 的海藻酸钠, 将芽孢杆菌混合到海藻酸钠溶液中, 按质量比为 4:1:1 的比例加入粉碎过后的草炭土、土壤以及混合后的海藻酸钠芽孢杆菌的混合液, 圆盘湿法造粒, 烘干硬化得成品。

**1.2.3 种植试验** 种植相同数量菜心籽, 并按照比例施用制备好的草炭土颗粒, 同时与空白对照组进行对比, 定期浇水, 观察菜心生长情况。

### 1.3 测试项目与方法

当菜心发芽生长 28 d 后, 在每种栽培基质中随机取样 20 株, 称量植株幼苗的鲜重。并在 20 株中随机抽取 6 株对幼苗总长度、地上部分以及地下部分进行测量, 对叶片数进行比较。通过感官观察比较植株的生长态势。然后再将 20 株幼苗放入烘箱 105℃ 条件下烘烤 15 min, 在 80℃ 条件下 12 h 烘干处理, 直至达到恒重, 再用精确度为 0.0001 g 的天平称量干重<sup>[3]</sup>。

## Studies on the Correlationship of Sweet Pepper Seed Purity Identification Results by Electrophorsis and Field-planting

XING Bao-tian<sup>1</sup>, WU Ping<sup>1</sup>, SONG Shun-hua<sup>1</sup>, LI Dong-jing<sup>2</sup>

(1. Beijing Vegetable Research Center, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Science, Beijing 100097; 2. Beijing Aoxinggaoke Seed Company Limited, Beijing 100081)

**Abstract:** The seed purities of 24 sweet pepper samples were identified by means of SDS-PAGE electrophoresis and field-planting. The results showed that two methods were distinct correlative, the correlation index  $r=0.851$ , the regress formulas was  $y=7.2818+0.946x$ . The results also showed that available to identify sweet pepper seed pruity by these two methods.

**Key words:** sweet pepper seed ; seed purity ; SDS-PAGE electrophoresis; field-planting