

辣椒种子贮藏蛋白质的组成研究

胡志辉, 陈禅友

(江汉大学 生命科学院, 湖北 武汉 430056)

摘要:以 12 个辣椒品种为材料, 采用顺序提取法(重蒸水、5% NaCl 和 0.2% NaOH)提取种子贮藏蛋白(水溶蛋白、盐溶蛋白和碱溶蛋白), 利用 SDS-PAGE 电泳技术, 对辣椒种子贮藏蛋白质的组成进行了分析。结果表明: 辣椒种子水溶蛋白(19 条带)、盐溶蛋白(24 条带)及碱溶蛋白(24 条带)的种类数量差异较小, 但分布区域和相对含量有很大差异, 盐溶蛋白的相对含量最多, 占贮藏蛋白的 44.4%; 其次是水溶蛋白, 占 37.5%; 碱溶蛋白最少, 只占 18.1%。从 38.8 KD 到 55.6 KD 是水溶蛋白的主区, 从 17.5 KD 到 35.6 KD 是盐溶蛋白的主区, 从 8.3 KD 到 39.9 KD 是碱溶蛋白的主区。

关键词:辣椒; 种子; 贮藏蛋白质; SDS-PAGE

中图分类号: S 641.3; S 330.3⁺5 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2008)07-0001-04

辣椒(*Capsicum annuum* L.)亦称番椒、海椒或椒茄, 目前栽培的品种主要是灯笼椒类(*C. a. var. grossum*)、长椒类(*C. a. var. longum*)和簇生椒类(*C. a. var. fasciculaum*)3 类, 其繁殖方式通常靠种子, 种子真实性问题尤为重要。种子蛋白作为遗传标记已被广泛应用于种、属间关系、种内遗传多样性分析、品种鉴定及植物繁育系统的鉴别^[1-7], 种子蛋白 SDS-PAGE 电泳技术以其快速、经济、可靠等优点成功运用于作物品种纯度的鉴定^[8]和蛋白质组成的研究^[9-10]。近年来, 有些研究表明, 将辣椒 11 个品种种子混在一起, 通过单粒取样进行普通 PAGE 蛋白质电泳, 可以将它们区分开^[11]; 以单粒辣椒种子通过普通 PAGE 即可快速鉴定具有“互补带”或“杂交酶带”的 F₁ 杂种纯度^[12]; 采用 0.125 mol/L Tris-HCl 样品缓冲液提取辣椒单粒种子蛋白通过 SDS-PAGE 方法对 F₁ 杂种能进行纯度检测^[13]。但对辣椒蛋白质的组成研究较少, 为了加强这方面的基础研究, 现以主要栽培的 3 类辣椒变种中的 12 个品种为材料, 分别用重蒸水、5% NaCl 和 0.2% NaOH 提取其种子贮藏蛋白, 利用 SDS-PAGE 电泳技术, 对辣椒的蛋白质组成进行了分析, 为辣椒品种的鉴定提供依据。

1 材料与方法

第一作者简介:胡志辉(1973-), 男, 湖北武汉人, 本科, 高级实验师, 主要从事植物生理生化实验教学和研究工作。E-mail: huzhi-huilaoshi@sina.com.

通讯作者:陈禅友。E-mail: chen200468@yahoo.com.cn.

基金项目:国家级星火计划资助项目(2004EA760041)。

收稿日期:2008-02-20

1.1 供试材料

供试材料均为 2003 年产的成熟的辣椒种子(见表 1)。

1.2 种子贮藏蛋白的提取及电泳样品的制备

分别取辣椒各品种干种子单粒, 加入石英砂用研钵碾碎成粉末, 分别放于 1.5 mL 离心管中, 共 3 份, 加入 0.2 mL 蒸馏水, 振荡混匀, 于 0~4℃冰柜中保存 24 h, 在 12 000 r/min, 4℃环境中离心 10 min, 提取上清液; 按 1:3 的体积比例加入-20℃的 80%丙酮 0.6 mL, 在-20℃下过夜, 在 12 000 r/min, 4℃环境中离心 10 min, 放入冷冻真空干燥器中干燥, 使丙酮充分挥发, 加入 75 μL 样品缓冲液(5 mL 甘油+1 g SDS+溴酚蓝 0.1 g+巯基乙醇 2.5 mL, 定容至 100 mL), 振荡混匀, 在 12 000 r/min, 4℃环境中离心 10 min, 取上清液即为水溶蛋白提取液, 放置在冰箱中备用。在提取水溶蛋白上清液后得到的沉淀中加入 5%的氯化钠溶液, 提取盐溶蛋白, 用上面的方法处理。同样用 70%乙醇提取醇溶蛋白, 并用上述方法进行处理。同样用 0.2%的 NaOH 提取碱溶蛋白, 并用上述方法进行处理, 得到样品。将配制好的样品置于冰箱冷藏室中保存, 作电泳上样液和蛋白质含量测定液。

1.3 电泳

采用 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法^[14], 分离胶 T=12.5%, 将蛋白质电泳样品煮沸 3 min 后点样 18 μL, 在 4℃环境下, 15 mA 恒流电泳约 8 h, 考马斯亮蓝 R-250 染色, 每个样品重复多次。

1.4 蛋白质电泳图谱分析

采用江苏省捷达科技有限公司生产的 JD-801 专业

数码凝胶成像与分析系统进行图像扫描、条带检测和匹配分析。

2 结果与分析

2.1 水溶蛋白质图谱结果分析

从种子水溶蛋白电泳图谱(见图1)中可知,水溶蛋白主要有从10.7 KD到85.3 KD区间的19个不同分子

表 1		辣椒品种名称、来源及特性		
编号	品种名称	来源	所属变种	基本特征特性
1	华椒 17	湖北	<i>C. annuum</i> var. <i>lengum</i>	中熟, 果实长牛角形, 嫩果深绿色
2	红星 2 号	北京	<i>C. annuum</i> var. <i>grossum</i>	果实长方灯笼形, 成熟时由绿转为暗红色
3	丰力新选 8819	陕西	<i>C. annuum</i> var. <i>lengum</i>	果实长形, 果顶尖, 微弯, 色泽红亮
4	8819 线椒	陕西	<i>C. annuum</i> var. <i>lengum</i>	果实长形, 果顶尖, 微弯, 色泽红亮
5	美国加州干椒王	美国	<i>C. annuum</i> var. <i>fasciculatum</i>	果实簇生细羊角形, 果红色
6	美国甜椒	美国	<i>C. annuum</i> var. <i>grossum</i>	果实方灯笼形, 果皮深绿色
7	紫星 2 号	北京	<i>C. annuum</i> var. <i>grossum</i>	果实长方灯笼形, 商品果为紫色
8	楚风辣椒	湖北	<i>C. annuum</i> var. <i>lengum</i>	极早熟, 果实粗牛角形, 嫩果深绿色
9	红妃	北京	<i>C. annuum</i> var. <i>lengum</i>	果实牛角形, 成熟时由淡绿色转为鲜红色
10	橙星 2 号	北京	<i>C. annuum</i> var. <i>grossum</i>	果实方灯笼形, 熟时橙色
11	白星 2 号	北京	<i>C. annuum</i> var. <i>grossum</i>	果实长方灯笼形, 商品果白色
12	玉妃	北京	<i>C. annuum</i> var. <i>lengum</i>	果实粗长羊角形, 商品果为乳白色

2.2 盐溶蛋白质图谱结果分析

从盐溶蛋白电泳图谱(见图2)中可知,盐溶蛋白共有从1.6 KD到78.5 KD区间的24个不同分子量的蛋白质,其特征带是17.5 KD,为12个品种所共有,其相对含量(见表2)占到整个水溶蛋白质总量的30%,从17.5 KD到35.6 KD是盐溶蛋白的主区,占总量的54%,分子量从3 KD到17 KD的10个蛋白质亚基只占总量的23%,其他分子量的蛋白质亚基含量基本相差不大。

量的蛋白质,其特征带是38.8 KD,为12个品种所共有,其相对含量(见表1)占到整个水溶蛋白质总量30%,从38.8 KD到55.6 KD是水溶蛋白的主区,占总量的63%,分子量小于20 KD的7个蛋白质亚基只占总量的7%,其他分子量的蛋白质亚基含量基本相差不大。

2.4 不同品种辣椒水溶、盐溶及碱溶蛋白质间的关系

从图4中可知,辣椒种子盐溶蛋白的相对含量最多,占贮藏蛋白的44.4%;其次是水溶蛋白,占37.5%;碱溶蛋白最少,只占18.1%。水溶、盐溶及碱溶蛋白质在30~40 KD分子量区域相对含量都很高,辣椒的水溶蛋白质主要分布在20~40 KD和50~60 KD区域,盐溶和碱溶蛋白质主要分布在20 KD以下区域。

表 2 辣椒种子蛋白质亚基的相对百分含量						
亚基 序号	水溶蛋白质		盐溶蛋白质		碱溶蛋白质	
	分子量	相对含量	分子量	相对含量	分子量	相对含量
	/KD	/%	/KD	/%	/KD	/%
1	85.3	6.1	78.5	3.9	99.3	3.9
2	72.5	2.4	76.8	3.1	94.2	1.5
3	64.0	1.0	66.2	0.3	82.2	0.1
4	55.6	5.0	56.3	2.6	72.5	4.7
5	54.0	22.2	43.5	1.6	55.8	2.6
6	40.6	6.1	35.6	7.8	46.7	0.2
7	38.8	29.7	34.6	7.9	41.2	2.9
8	34.2	0.9	32.8	13.5	39.9	14.0
9	28.9	5.6	23.2	0.1	39.1	9.1
10	26.8	4.5	19.0	6.8	36.3	0.1
11	23.9	5.9	17.5	18.4	20.4	11.2
12	21.7	3.6	16.6	1.5	18.4	21.0
13	20.3	1.3	15.2	2.9	15.7	4.0
14	18.6	3.8	12.5	0.1	9.7	9.2
15	16.9	0.7	10.0	4.4	8.3	8.8
16	14.5	0.6	9.3	2.6	7.8	0.6
17	13.4	0.1	8.8	3.0	6.3	3.0
18	13.0	0.1	7.0	2.7	5.2	1.2
19	10.7	0.4	5.8	3.7	4.6	0.2
20			3.6	0.4	3.0	0.1
21			3.0	1.2	2.1	0.2
22			2.6	4.8	2.2	0.2
23			2.5	4.1	1.2	0.1
24			1.6	2.5	1.1	1.1

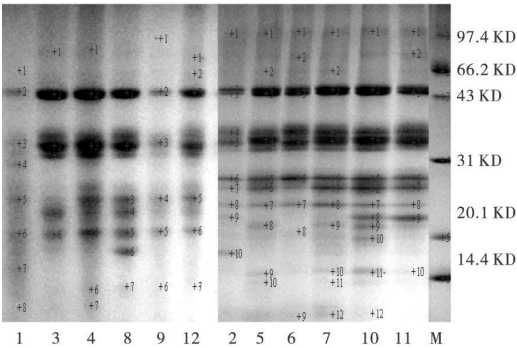


图 1 辣椒种子水溶蛋白SDS-PAGE 电泳图谱

2.3 碱溶蛋白质图谱结果分析

从碱溶蛋白电泳图谱(见图3)中可知,碱溶蛋白共有从1.1 KD到99.3 KD区间的24个不同分子量的蛋白质,其特征带是18.4 KD,其相对含量(见表2)占到整个碱溶蛋白质总量的25%,从8.3 KD到39.9 KD是碱溶蛋白的主区,占总量的77%,分子量小于8 KD的9个蛋白质只占总量的6.4%,其他分子量的蛋白质含量基本相差不大。

主^[19]。豆类种子蛋白质含量较高为 20%~40%，其中以球蛋白为主要贮藏蛋白^[17]。瓜类种子蛋白质含量达 30%以上，主要是 12 S 球蛋白^[18-19]。试验结果显示，辣椒种子水溶蛋白(19 条带)、盐溶蛋白(24 条带)及碱溶蛋白(24 条带)的种类数量差不多，但分布区域和相对含量有很大差异，盐溶蛋白的相对含量最多，占贮藏蛋白的 44.4%；其次是水溶蛋白，占 37.5%；碱溶蛋白最少，只占 18.1%。从 38.804 KD 到 55.657 KD 是水溶蛋白的主区，从 17.517 KD 到 35.606 KD 是盐溶蛋白的主区，从 8.276 KD 到 39.891 KD 是碱溶蛋白的主区。

参考文献

[1] 胡志昂, 王洪新. 蛋白质多样性和品种鉴定[J]. 植物学报, 1991, 33 (7): 556-564.

[2] 胡志昂, 刘长江, 王洪新. 裸子植物的生化系统学(二)——松科植物的种子蛋白多态[J]. 植物分类学报, 1984 22(5): 360-366.

[3] 马瑞君, 李常宝, 刘艳玲, 等. 四种沙棘种子可溶性蛋白谱带分析研究[J]. 沙棘, 1997, 10(3): 3-9.

[4] Ladizinsky G, Hymowitz T. Seed Protein Electrophoresis in Conifer Seeds[J]. Can J Bot, 1979, 48: 1911-1912.

[5] Ladizinsky G, Hymowitz T. Seed Protein Electrophoresis in Taxonomic and Evolutionary Studies[J]. Theor Appl Gene, 1979, 54: 145-151.

[6] 黄秀丽, 庄东红, 胡忠, 等. 南瓜属 4 个栽培种种子蛋白质电泳分析[J]. 武汉植物学研究, 2005, 23(2): 183-187.

[7] 孙雁, 朱有勇, 朱永平, 等. 蛋白质电泳在豌豆品种鉴定中的应用[J]. 种子, 2004 23(2): 24-26.

[8] 胡志昂, 王洪新. 菜豆种子蛋白的变异和品种鉴定[J]. 华北农学报, 1986, 1 (2): 1-7.

[9] 薛洁. 大麦蛋白质的组成研究[J]. 酿酒科技, 2003(4): 67-69.

[10] 熊志勇, 夏伏建, 陆师国. 优质油菜籽粕蛋白质分类研究[J]. 武汉植物学研究, 2001, 19(3): 259-261.

[11] 向春阳, 田秀平, 崔丽亚. 蛋白质电泳技术鉴定辣椒种子[J]. 北方园艺, 1996(5): 17-19.

[12] 马德伟, 高锁柱, 孙岚. 辣椒遗传性的种子醇溶蛋白电泳研究[J]. 园艺学报, 1995 22(3): 297-298.

[13] 柳李旺, 龚义勤, 黄朝勇. 辣椒 F₁ 杂种遗传纯度的种子蛋白、同工酶与 RAPD 鉴定[J]. 分子植物育种, 2003, 1(5): 663-667.

[14] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 178-185.

[15] 阮禹松, 赵文明. 种子盐溶球蛋白的特征结构[J]. 西北植物学报, 2002, 22(4): 999-1003.

[16] Muntz K. Deposition of Storage Protein[J]. Plant Mol Biol, 1998, 38 (1/2): 77-99.

[17] 王丹英. 豆类种子的营养价值及其抗营养因子的研究[J]. 世界农业, 2000, 259(11): 23-25.

[18] 赵文明. 种子蛋白质基因工程[M]. 西安: 陕西科技出版社, 1995: 5-10.

[19] 张玉秀, 赵文明. 籽用种子蛋白质组分和生化特性的研究[J]. 实验生物学报, 1991, 24(3): 281-285.

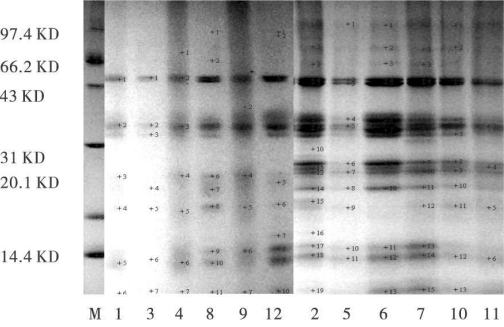


图 2 辣椒种子盐溶蛋白 SDS-PAGE 电泳图谱

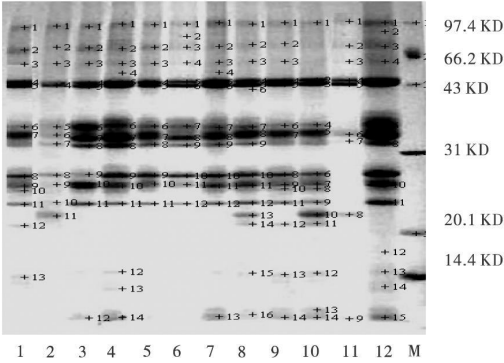


图 3 辣椒种子碱溶蛋白 SDS-PAGE 电泳图谱

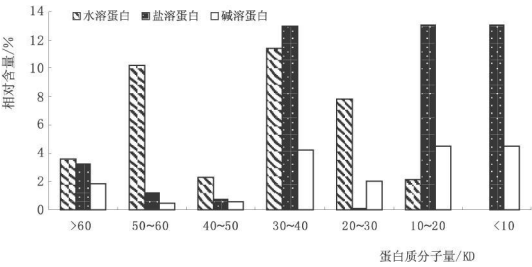


图 4 辣椒种子水溶、盐溶及碱溶蛋白质亚基的相对百分含量分布

3 讨论

贮藏蛋白质是种子蛋白质的主要成分, 通常根据蛋白质的溶解性, 将种子贮藏蛋白质分为 4 类^[15]: 溶于水的清蛋白(albumin)、溶于盐溶液的球蛋白(globulin)、溶于醇溶液的醇溶蛋白(prolamin)和溶于酸或碱的谷蛋白(glutelin)。不同作物种子蛋白质的含量及主要成分有所不同。禾本科作物胚乳蛋白含量大约占成熟种子重量的 5%~15%, 大多数禾本科作物以醇溶蛋白作为其主要贮藏蛋白, 而水稻和燕麦的贮藏蛋白以谷蛋白为

外源激素处理对甜椒生长发育及后期植株衰老的影响

曲亚英, 常 涛, 陶兴林, 王 萍, 朱建美

(甘肃省农业科学院 蔬菜研究所, 甘肃 兰州 730070)

摘 要:以甜椒为试材,用不同外源激素进行浸种和幼苗叶片喷洒,测定其长势和生理指标。结果表明: S_{3307} 和 IBA+NAA 浸种处理、6-BA 和 GA_3 叶面喷洒处理叶片数和叶面积不断增大。 S_{3307} 、 GA_3 和 6-BA 处理的单株产量显著增加,以 S_{3307} 、 GA_3 增产效果最好。 S_{3307} 处理的全株干物质重最高,较对照增加了 33.97%,其次为 GA_3 、6-BA 和 IBA+NAA 处理。 S_{3307} 、6-BA 和 IBA+NAA 处理也可减缓甜椒生长后期叶片叶绿素和可溶性蛋白含量的下降,以 S_{3307} 处理效果最明显。同时 4 种处理均可提高 SOD、POD 活性,降低 MDA 含量,并延缓 SOD、POD 活性下降和 MDA 含量的增加,延缓效果为 $S_{3307} > 6-BA > IBA+NAA > GA_3$ 。

关键词: 外源激素; 处理; 甜椒; 衰老

中图分类号: S 641.304⁺.1 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2008)07-0004-04

外源激素延缓植物衰老的研究,在水稻、小麦、油菜等作物上报道较多^[1-3],但在蔬菜作物上报道甚少,延缓衰老的机理则更少见报道。目前冬季日光温室蔬菜生产中、后期早衰现象比较普遍,能否用外源激素解决生长后期的早衰现象,是目前探讨的问题。因此,试验通过用不同外源激素配合不同处理方法对甜椒种子、幼苗进行处理,测定其长势和生理生化指标,探索外源激素防止甜椒早衰的可能性和机理。

1 材料与方法

1.1 试验材料

第一作者简介:曲亚英(1969),女,甘肃定西人,硕士,现主要从事蔬菜品种资源研究和育种工作。E-mail: gsqyy828@sina.com。

基金项目: 甘肃省自然科学基金资助项目(ZS021-A25-038-N)。

收稿日期: 2008-02-28

供试甜椒品种为‘中椒4号’,由甘肃省农业科学院蔬菜研究所资源课题组提供。外源激素为烯效唑(S_{3307})、吲哚丁酸(IBA)+萘乙酸(NAA)、6-苄基腺嘌呤(6-BA)、赤霉素(GA_3)。

1.2 试验方法

种子处理:将种子分别用 5 mg/L S_{3307} 、10 mg/L IBA+10 mg/L NAA 浸种,清水处理为对照,浸种时间 12 h, 28℃恒温催芽。种子露白后,选发芽一致的种子播于营养钵中,与植株处理同时移栽。

植株处理:清水浸种的部分幼苗于 6 叶 1 心时,分别用 50 mg/L 6-BA 和 50 mg/L GA_3 进行喷洒,以叶片上下表面湿透为准,于 10 d 后再喷洒 1 次。将处理的幼苗移栽到花盆中,置日光温室中,在开花坐果期分别用 50 mg/L 6-BA 和 50 mg/L GA_3 进行第 3 次喷洒,清水处理为对照。

The Research on the Composition of Storage Proteins of *Capsicum* Seeds

HU Zhi-hui, CHEN Chan-you

(School of Life Sciences, Jiangnan University, Wuhan, Hubei 430056, China)

Abstract: Seed storage proteins of 12 *capsicum* cultivars were respectively extracted using distilled H_2O , 5% NaCl and 0.2% NaOH. Systemic analysis of the composition of storage proteins of *capsicum* seeds was done by the application of SDS-PAGE electrophoresis techniques. The results showed that amount of protein strips were 19(water-soluble proteins), 24(salt-soluble proteins), and 24(alkali-soluble proteins). The most of percentage distributing were salt-soluble proteins(44.4%), water-soluble proteins(37.5%), and alkali-soluble proteins(18.1%). The main area of protein components were 38.8~55.6 KD(water-soluble proteins), 17.5~35.6 KD(salt-soluble proteins), and 8.3~39.9 KD(alkali-soluble proteins).

Key words: *Capsicum*; Seed; Storage protein; SDS-PAGE