

胡志辉,陈禅友. 辣椒种子贮藏蛋白质亚基构成及亲缘关系分析[J]. 江苏农业科学,2018,46(15):84-87.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.15.022

辣椒种子贮藏蛋白质亚基构成及亲缘关系分析

胡志辉, 陈禅友

[江汉大学生命科学学院/湖北省豆类(蔬菜)植物工程技术研究中心,湖北武汉 430056]

摘要:采用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分析辣椒3个主栽变种12个品种的种子贮藏蛋白质亚基组成,并采用系统聚类最短距离法对12个辣椒品种进行聚类分析。结果表明,水溶蛋白、盐溶蛋白、碱溶蛋白共检测出25条蛋白质亚基带,多态性率为92%,亚基分布范围是10 093~96 232 bp,亚基出现频率变化幅度为0.08~1.00;长椒类品种共检测出20条蛋白质亚基带,多态性率为85%;灯笼椒类品种共检测出23条蛋白质亚基带,多态性率为65%;簇生椒类品种共检测出15条蛋白质亚基带;12个辣椒品种被分为2大类,类内的平均遗传距离分别为0.236 7、0.250 6,类间的平均遗传距离为0.313 1;簇生椒类与灯笼椒类2个变种间具有很近的遗传距离,为0.223 8,遗传变异程度相对较小,具有较紧密的亲缘关系;簇生椒类与长椒类2个变种间具有相对较远的遗传距离,为0.310 3,遗传变异程度较大,亲缘关系较远;灯笼椒类与长椒类2个变种间的遗传距离相对最远,为0.313 1,遗传变异程度相对最大,亲缘关系最远。

关键词:辣椒;种子;蛋白质亚基;遗传距离;亲缘关系;簇生椒类;灯笼椒类;长椒类

中图分类号: S641.303 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)15-0084-03

辣椒(*Capsicum annuum* L.)现已成为中国的重要蔬菜和调味品,生产上迫切需要一些优质、抗病、高产的优良品种,加强辣椒种质资源的亲缘关系研究,掌握种质资源的分类地位和亲缘关系是辣椒品种选育上一个新台阶的重要途径^[1]。种子贮藏蛋白质十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳技术(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gelelectrophoresis,简称 SDS-PAGE)成为研究小麦、芸薹属、扁蓊豆、菜豆等植物亲缘关系的有效手段^[2-5],而辣椒种质资源遗传多样性研究报道较少^[6-12]。本试验运用 SDS-PAGE 技术分析辣椒种子

贮藏蛋白亚基构成,研究辣椒种质资源的遗传多态性,确定辣椒3个主栽变种12个品种之间的亲缘关系,为辣椒新品种选育工作的开展提供技术依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料均为成熟的辣椒种子(表1),由湖北省豆类(蔬菜)植物工程技术研究中心提供。

表1 供试辣椒品种名称、来源及主要特征特性

编号	品种名称	来源	所属变种	主要特征特性
1	华椒 17	湖北省	<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	北京市	<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	陕西省	<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	陕西省	<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>fasciculaum</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	北京市	<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	湖北省	<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	北京市	<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	北京市	<i>C. annuum</i> var. <i>grossum</i>	果实方灯笼形,熟时橙色
11	白星 2 号	北京市	<i>C. annuum</i> var. <i>grossum</i>	果实长方灯笼形,商品果白色
12	玉妃	北京市	<i>C. annuum</i> var. <i>lengum</i>	果实粗长羊角形,商品果为乳白色

1.2 种子贮藏蛋白的提取及电泳

参照胡志辉等的方法^[13-14]提取辣椒种子贮藏蛋白并采用 SDS-PAGE 技术进行电泳。辣椒种子贮藏蛋白提取缓冲液为丙三醇(甘油)5 mL+SDS 1 g+溴酚蓝 0.1 g+巯基乙醇 2.5 mL,分别用 0.2 mL 蒸馏水、5% 氯化钠溶液、70% 乙醇、0.2% NaOH 提取上清液,即为水溶蛋白提取液(代号 W)、盐溶蛋白提取液(代号 S)、醇溶蛋白提取液(代号 P)、碱溶蛋白提取液(代号 A)。SDS-PAGE 分离胶 $T=12.5\%$, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 左右

收稿日期:2016-09-18

基金项目:国家农业部“948”项目(编号:2011-G1-17);湖北省科技平台项目(编号:鄂科技通[2011]第101号);湖北省武汉市科技计划(编号:201250499145-12);湖北省武汉市2014年黄鹤英才(农业)计划。

作者简介:胡志辉(1973—),男,湖北武汉人,副研究员,从事植物生理生化研究。E-mail:huzhihui@jhun.edu.cn。

条件下 15 mA 恒流电泳,点样量 18 μ L,时间约 8 h。每个样品重复 3 次。

1.3 数据处理与统计分析

采用“0,1”系统记录蛋白谱带,构建蛋白谱带数据库。品种间蛋白质图谱相似系数 $S^{[15]}$ 及品种间遗传距离 $GD^{[16]}$ 计算公式分别为

$$S = (\text{品种间共有的条带数}) / (2 \text{ 个品种中最多的条带数});$$

$$GD = 1 - (2n_{xy}) / (n_x + n_y)。$$

式中: n_{xy} 是 2 个品种间共有的条带数; n_x 、 n_y 分别是品种 x 、 y 的总条带数。采用系统聚类最短距离法对 12 个辣椒品种进行聚类分析^[17],绘制聚类图。

2 结果与分析

2.1 蛋白质电泳检测

由图 1、表 2 可知,12 个辣椒品种种子贮藏蛋白质经 SDS-PAGE 分析未检测到醇溶蛋白,水溶蛋白、盐溶蛋白、碱溶蛋白共检测出 25 条蛋白质亚基带,有 23 条多态性带,多态性率为 92%,蛋白质亚基分子量分布范围是 10 093 ~ 96 232 bp,蛋白质亚基出现频率变化幅度为 0.08 ~ 1.00;点

位带编码按分子量顺序排列,碱溶蛋白、盐溶蛋白、水溶蛋白分别检出 14、18、19 条点位带,其中有 9 条点位带为 3 种贮藏蛋白所共有,第 1、4、6 点位带为碱溶蛋白所特有,第 22 点位带为盐溶蛋白所特有,第 20、21、23 点位带为水溶蛋白所特有;蛋白质亚基分子量分别为 43 668 bp 的第 9 位点、26 605 bp 的第 16 位点的点位带在所有品种中都出现,是辣椒品种共同的种子贮藏蛋白质,其他出现频度较高的点位带有簇生椒类品种美国加州干椒王(编号 5)缺少的第 12 点位带、长椒类品种楚风辣椒(编号 8)缺少的第 10 点位带、华椒 17 号(编号 1)缺少的第 15 点位带、丰力新选 8819 线椒(编号 3)缺少的第 24 点位带;第 2 点位带只在丰力新选 8819 线椒中出现,第 5 点位带只在紫星 2 号(编号 7)中出现,第 21 点位带只在红星 2 号(编号 2)中出现;长椒类品种共检测出 20 条蛋白质亚基带,有 17 条多态性带,多态性率为 85%,都具有第 9、12、16 点位带,而没有第 3、5、14、21、23 点位带;灯笼椒类品种共检测出 23 条蛋白质亚基带,有 15 条多态性带,多态性率为 65%,都具有第 9、10、12、15、16、17、24、25 点位带,而没有第 2、7 点位带;簇生椒类品种共检测出 15 条蛋白质亚基带,没有出现第 2、3、5、7、12、18、20、21、22、25 点位带。

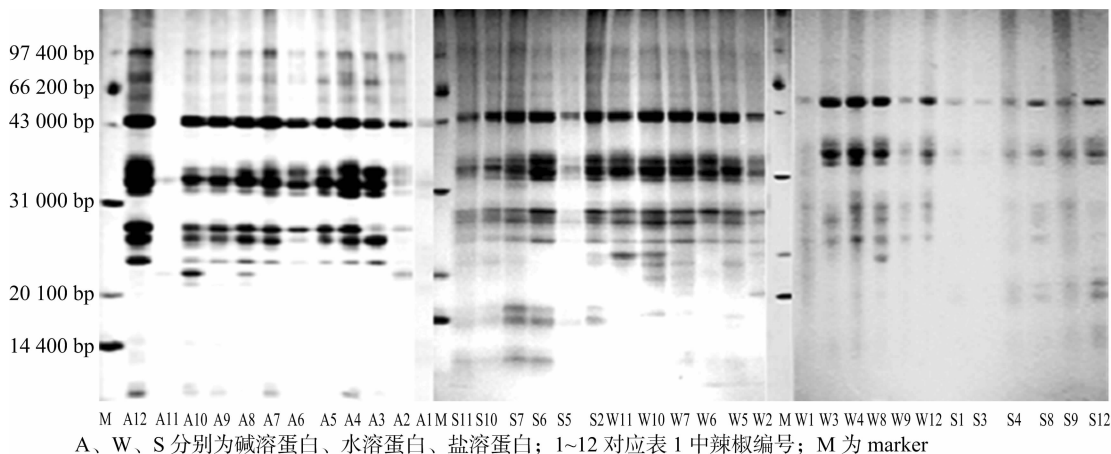


图1 12个辣椒品种种子水溶蛋白、盐溶蛋白、碱溶蛋白的 SDS-PAGE 电泳图谱

2.2 品种间的遗传距离及遗传相似系数

由表 3 可知,利用蛋白位点共计算得到品种间 66 个相似系数(S)和遗传距离(GD)值,遗传距离变异范围在 0.067 ~ 0.615 之间,平均值为 0.278 4;8819 线椒(编号 4)、丰力新选 8819(编号 3)的 GD 值相对最小,为 0.067,华椒 17(编号 1)、红星 2 号(编号 2)的 GD 值相对最大,为 0.615;白星 2 号(编号 11)和红星 2 号、红妃(编号 9)和紫星 2 号(编号 7)、玉妃(编号 12)和橙星 2 号(编号 10)的 GD 值为 0.273,处于居中水平,说明品种间有一定的遗传差异。

2.3 聚类分析结果及亲缘关系判断

根据品种间遗传距离的大小,采用系统聚类最短距离法逐级归类可得到聚类图。由图 2 可知,欧氏距离平方约为 5 时,可将 12 个辣椒品种分为 2 大类,2 大类之间的平均遗传距离为 0.313 1(平方欧氏距离为 9.818 7);第 I 类包括灯笼椒类品种紫星 2 号(编号 7)、美国甜椒(编号 6)、红星 2 号(编号 2)、橙星 2 号(编号 10)、白星 2 号(编号 11)和簇生椒类品种美国加州干椒王(编号 5),品种间的平均遗传距离为 0.236 7;第 II 类包括长椒类品种 8819 线椒(编号 3)、丰力新

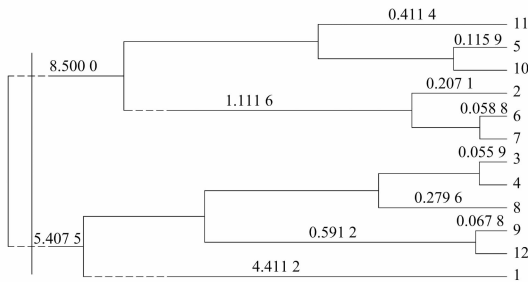
选 8819(编号 4)、楚风辣椒(编号 8)、红妃(编号 9)、玉妃(编号 12)、华椒 17(编号 1),品种间的平均遗传距离为 0.250 6;最先合并在一起的有美国甜椒和紫星 2 号(欧氏距离平方为 0.058 8)、8819 线椒和丰力新选 8819(欧氏距离平方为 0.059 9)、红妃和玉妃(欧氏距离平方为 0.067 8),说明这几对品种间具有最近的遗传距离,亲缘关系也较近;簇生椒类变种与灯笼椒类变种在欧氏距离平方为 0.115 9 时被合并在一起,在欧氏距离平方为 9.818 7 时又与长椒类变种合并在一起。聚类分析统计结果表明,簇生椒类与灯笼椒类 2 个变种间具有很近的遗传距离,平均遗传距离为 0.223 8,遗传变异程度较小,具有较紧密的亲缘关系;簇生椒类与长椒类 2 个变种间具有较远的遗传距离,平均遗传距离为 0.310 3,遗传变异程度较大,亲缘关系较远;灯笼椒类与长椒类 2 个变种间的遗传距离相对最远,平均遗传距离为 0.313 1,遗传变异程度相对最大,亲缘关系最远。

3 结论

采用 SDS-PAGE 分析辣椒 3 个主栽变种 12 个品种的种

表2 12个辣椒品种种子贮藏蛋白电泳出现点位带数和出现频度

位点	出现点位 带数	蛋白质亚基 出现频度	蛋白质亚基 分子量(bp)	蛋白质类型
1	10	0.83	96 232	A
2	1	0.08	87 493	W
3	2	0.17	79 527	S、W
4	9	0.75	74 690	A
5	1	0.08	65 255	S、W
6	7	0.58	60 354	A
7	6	0.50	51 612	S、W
8	6	0.50	48 244	S、W
9	12	1.00	43 668	A、S、W
10	11	0.92	35 369	A、S、W
11	9	0.75	34 623	S、W
12	11	0.92	34 014	A、S、W
13	9	0.75	32 711	A、S
14	6	0.50	28 310	S、W
15	11	0.92	27 812	A、S
16	12	1.00	26 605	A、S、W
17	11	0.92	24 867	A、S、W
18	6	0.50	23 205	A、S、W
19	9	0.75	22 416	A、S、W
20	2	0.17	20 532	W
21	1	0.08	18 080	W
22	4	0.33	16 005	S
23	4	0.33	15 243	W
24	11	0.92	14 658	A、S、W
25	9	0.75	10 093	A、S、W



1~12 对应表 1 中辣椒编号

图2 12个辣椒品种的遗传距离聚类分析

于贮藏蛋白质亚基组成,未检测到醇溶蛋白,水溶蛋白、盐溶蛋白、碱溶蛋白共检测出 25 条蛋白质亚基带,多态性率为 92%,亚基分布范围是 10 093 ~ 96 232 bp,蛋白质亚基出现频率变化幅度为 0.08 ~ 1.00。长椒类品种共检测出 20 条蛋白质亚基带,多态性率为 85%;灯笼椒类品种共检测出 23 条蛋白质亚基带,多态性率为 65%;簇生椒类品种共检测出 15 条蛋白质亚基带。采用系统聚类最短距离法对 12 个辣椒品种进行聚类分析,12 个品种被分为 2 大类,类内的平均遗传距离分别为 0.236 7、0.250 6,类间的平均遗传距离为 0.313 1。簇生椒类与灯笼椒类 2 个变种间具有很近的遗传距离,平均遗传距离为 0.223 8,变种间的遗传变异程度相对较小,具有较紧密的亲缘关系;簇生椒类与长椒类 2 个变种间具有较远的遗传距离,平均遗传距离为 0.310 3,变种间的遗传变异程度较大,亲缘关系较远;灯笼椒类与长椒类 2 个变种间的遗传距离相对最远,平均遗传距离为 0.313 1,变种间的遗传变异程度相对最大,亲缘关系也最远。

表3 12个辣椒品种间的遗传距离及遗传相似系数

编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1		0.615	0.455	0.364	0.546	0.500	0.520	0.478	0.364	0.500	0.429	0.478
2	0.263		0.294	0.235	0.235	0.188	0.189	0.257	0.235	0.222	0.273	0.143
3	0.400	0.632		0.067	0.267	0.286	0.314	0.226	0.200	0.312	0.379	0.161
4	0.467	0.684	0.933		0.200	0.214	0.212	0.161	0.133	0.250	0.330	0.097
5	0.333	0.684	0.733	0.800		0.214	0.152	0.226	0.333	0.188	0.330	0.290
6	0.385	0.684	0.667	0.733	0.733		0.161	0.330	0.286	0.200	0.333	0.241
7	0.333	0.789	0.667	0.722	0.778	0.722		0.294	0.273	0.200	0.312	0.235
8	0.375	0.684	0.750	0.812	0.750	0.625	0.667		0.290	0.212	0.400	0.188
9	0.467	0.684	0.800	0.867	0.667	0.667	0.667	0.688		0.250	0.241	0.097
10	0.353	0.737	0.647	0.706	0.765	0.706	0.778	0.765	0.706		0.161	0.273
11	0.429	0.632	0.600	0.667	0.667	0.643	0.611	0.643	0.733	0.765		0.333
12	0.375	0.789	0.812	0.875	0.688	0.688	0.722	0.812	0.875	0.706	0.625	

注:对角线右上方的数字为遗传距离,对角线左下方的数字为相似系数。

参考文献:

- [1] 徐小万,雷建军,罗少波,等. 辣椒种质资源的分子评价[J]. 广东农业科学,2009(9):44-47,70.
- [2] 杨丹,姚金保,杨学明,等. 北方麦区小麦品种高分子量谷蛋白亚基组成及其与品质性状的关系[J]. 江苏农业学报,2015,31(2):241-246.
- [3] 文建军,何应森,刘世贵,等. 芸薹属种子贮藏蛋白质亚基构成及亲缘关系分析[J]. 中国油料作物学报,1999,21(4):1-3.
- [4] 额尔敦嘎日迪,中田昇,李造哲. 内蒙古干旱、半干旱地区野生扁蓿种子贮藏蛋白质的变异[J]. 中国草地学报,2006,28(2):52-55.
- [5] 陈禅友,宋利平,胡志辉. 菜豆种质盐溶蛋白遗传多态性分析

- [J]. 江汉大学学报(自然科学版), 2011, 39(3): 86-92.
- [6] 刘君, 李东, 曾林, 等. 利用 ISSR 分子标记分析辣椒种质资源遗传多样性[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(7): 80-83.
- [7] 方荣, 陈学军, 繆南生. 遗传标记技术及其在辣椒系统发育中的应用研究[J]. 江西农业学报, 2006, 18(2): 8-14.
- [8] 柳李旺, 龚义勤, 雷春, 等. 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(5/6): 663-667.
- [9] 李永平, 林琿, 温庆放. 辣椒种质资源的遗传多样性分析[J]. 福建农业学报, 2011, 26(5): 747-752.
- [10] Lefebvre V, Palloix A, Rives M. Nuclear RFLP between pepper cultivars (*Capsicum annuum* L.) [J]. Euphytica, 1993, 71(3): 189-199.

任志雨, 郜永博. 椰糠珍珠岩基质的体积对黄瓜幼苗生长和质量的影响[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(15): 87–89.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.15.023

椰糠珍珠岩基质的体积对黄瓜幼苗生长和质量的影响

任志雨, 郜永博

(天津农学院园艺园林学院, 天津 300384)

摘要:以津优 307 黄瓜(*Cucumis sativus* L.) 品种为材料, 采用无土育苗的方法研究基质体积对黄瓜幼苗生长和质量的影响。结果表明, 采用 40% 椰糠 + 60% 珍珠岩(体积比)混合基质进行黄瓜育苗时, 不同的育苗体积对幼苗的株高、茎粗、叶片数、叶面积、地上部干鲜质量、地下部干鲜质量、叶片叶绿素含量、净光合速率、蒸腾速率和根系琥珀酸脱氢酶活性均有明显的影响。黄瓜幼苗的生长指标和光合产物积累量随着育苗体积的增加而增加, 而叶片光合指标和根系吸收活力在育苗体积处理为 290 mL 时最大, 育苗体积太大或太小时光合指标和根系吸收活力开始下降。壮苗指数随着育苗体积的增加而增加。在综合考虑壮苗指数和节约育苗成本的基础上, 认为 210 mL 为适宜的黄瓜育苗体积。结果为确定椰糠珍珠岩混合基质用于黄瓜育苗的适宜体积提供了一定的依据。

关键词:椰糠; 珍珠岩; 体积; 黄瓜; 幼苗; 生长; 质量

中图分类号: S642.204 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)15-0087-03

育苗是蔬菜生产过程中极为重要的一环, 与传统方式相比, 无土育苗苗壮、成苗率高、周期短、病虫害少、便于远距离运输和机械化操作^[1-2]。我国常用的草炭资源分布不均匀, 优质的草炭价格较为昂贵, 这无疑会增加育苗成本, 加上草炭为不可再生的自然资源, 长期使用会造成资源枯竭^[3-4]。因此, 寻找理化性质良好且价格低廉的农业有机废弃物如作物秸秆、锯末、园林枝叶、菌渣、椰糠等作为无土栽培基质潜力巨大^[5-6]。我国椰子产地包括海南、广东、广西、云南、台湾等地, 其中海南的产量占 90% 以上^[7]。椰糠是在椰子外壳纤维加工过程中脱落的粉末, 椰糠经过日晒和雨淋等处理后, 降低了含盐量和传导性, 其容重和孔隙度较合理, 具有良好的吸水性和保水性, 且含有一定的养分, 其 EC 值和 pH 值也较适宜^[8-9]。椰糠资源丰富, 价格低廉, 可压缩成砖状, 质轻且不易腐败, 易存储与运输。椰糠在许多热带和亚热带国家都有生产, 如印度、斯里兰卡、马来西亚、菲律宾等。椰糠在许多园艺植物如观赏凤梨^[10]、草莓^[11]、非洲菊^[12]、黄瓜^[13]等的无土栽培中应用效果良好。育苗体积决定了幼苗根系的环境状况, 会显著影响根际水、肥、气等环境条件和根系生长空间, 对幼苗的生长发育影响巨大。同时育苗体积也决定了育苗基质、育苗容器和水肥的成本, 在可能的情况下, 育苗体积越小

越好。王秀琴等用不同规格的穴盘进行番茄育苗, 结果表明, 50 穴的穴盘番茄苗生长和壮苗指数最好^[14]。张继卯的研究表明, 育苗体积对油杉苗生长影响显著, 其中容器规格为 7 cm × 15 cm 处理的幼苗株高、地径和单株生物量等指标最佳, 且节约育苗成本^[15]。

有关椰糠混合基质体积对蔬菜幼苗生长影响的研究未见报道, 本研究通过分析椰糠和珍珠岩混合基质体积对黄瓜幼苗生长和质量的影响, 以期确定为椰糠基质用于黄瓜无土育苗的适宜体积提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

以黄瓜(*Cucumis sativus* L.) 品种津优 307 为试验材料。椰糠和珍珠岩基质购置于天津市花园生态农业有限公司, 椰糠基质小于 2 mm 的纤维粉末和废渣约占 75% (体积比), 2 ~ 30 mm 的短纤维约占 25%, pH 值为 6.93, EC 值为 5.06 mS/cm, 容重为 0.271 g/cm³, 大小孔隙比为 0.121。珍珠岩的直径为 2 ~ 3 mm, pH 值为 6.95, EC 值为 0.060 2 mS/cm, 容重为 0.112 g/cm³, 大小孔隙比为 1.127。

1.2 方法

1.2.1 试验设计 试验于 2015 年在天津农学院日光温室进行, 由于 40% 椰糠 + 60% 珍珠岩(体积比)混合基质的主要理化性状(pH 值为 6.89, EC 值为 3.012 mS/cm, 容重为 0.155 g/cm³, 大小孔隙比为 0.653)较适合于黄瓜幼苗的生

收稿日期: 2017-03-07

基金项目: 天津市高校“学科领军人才培养计划”。

作者简介: 任志雨(1968—), 男, 内蒙古商都人, 博士, 教授, 主要从事设施蔬菜及无土栽培的研究。E-mail: 2550644180@qq.com。

[11] 王 玲, 郑金贵, 赖钟雄, 等. 辣椒遗传多样性的 RAPD 分析[J]. 福建农林大学学报: 自然科学版, 2003, 32(2): 213–216.

[12] 马德伟, 高锁柱, 孙 岚, 等. 辣椒亲缘关系电泳检测研究[J]. 河北农业大学学报, 1996, 19(3): 51–55.

[13] 胡志辉, 陈禅友. 辣椒种子贮藏蛋白质的组成研究[J]. 北方园艺, 2008(7): 1–4.

[14] 胡志辉. 种子蛋白质组分分析的综合性实验设计[J]. 江汉大

学学报(自然科学版), 2010, 38(2): 68–71.

[15] Forguison A. Biochemical systematic and evolution[M]. New York: John Wiley and Sons, Inc, 1980.

[16] Aquadro C F, Avise J C. Genetic divergence between rodent species assessed by using two-dimensional electrophoresis[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1981, 78(6): 3784–3788.

[17] 高之仁. 数量遗传学[M]. 成都: 四川大学出版社, 1986: 236–287.