

染料结合法测定荞麦种子蛋白质含量的研究

郭玉珍, 陈庆富*

(贵州师范大学 生物技术与工程学院植物遗传育种研究所, 贵阳 550001)

摘要: 以考马斯亮蓝 G250 为染料, 结合经典的凯氏定氮法测定结果, 对影响染料结合法测定蛋白质含量的振荡时间、温度、考马斯亮蓝溶液浓度等因素进行了研究, 并分析了由考马斯亮蓝染料和蛋白质结合后染料结合量(OD 值差)与凯氏法测得的蛋白质百分含量之间的相关性。结果表明: 测定的适宜条件是: 温度 15 °C, 处理时间 50 min, 考马斯亮蓝溶液的浓度是 0.06 mg/mL。此条件形成的络合物较稳定, 重复性较好, 并且所测的染料结合量与凯氏定氮法测得的蛋白质含量间呈极显著的一元线性回归和相关关系。栽培甜荞和栽培苦荞的回归方程分别为: $y=15.364x+3.865$ 和 $y=10.769x+6.287$, 这两个回归方程差异显著, 不能合并, 分别适合于快速估计甜荞和苦荞种子的蛋白质含量。

关键词: 甜荞; 苦荞; 考马斯亮蓝; 回归与相关; 种子蛋白质

中图分类号: Q946.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2007)06-0952-06

Determination of the seed protein content on buckwheat by means of the dye method

GUO Yu-Zhen, CHEN Qing-Fu*

(Institute of Plant Genetics and Breeding, School of Biological Technology and Engineering, Guizhou Normal University, Guiyang 550001, China)

Abstract: Coomassie brilliant blue(CBB)G250 was used to determine the seed protein content of 25 common buckwheat accessions and 20 tartary buckwheat accessions. The results showed that the best conditions to determine the seed protein content of buckwheat with the dye combination method in this study were: 15 °C 50 min and the dye concentration 0.06 mg/mL. Under these conditions, there are much significant linear regression and correlation between the dye combination amount and the protein content. The regression equations of the cultivated common buckwheat and tartary buckwheat are $y=15.364x+3.865$ and $y=10.769x+6.287$, respectively. There are much significant difference between the two equations, indicating that they fit to be used for calculation of the seed protein content on the cultivated common buckwheat and tartary buckwheat, respectively.

Key words: Common buckwheat; tartary buckwheat; Coomassie brilliant blue; regression and correlation; seed protein

荞麦(*Buckwheat*)属于蓼科(Polygonaceae)荞麦属(*Fagopyrum*) (林汝法, 1994)。本属约有 16 种, 其中栽培种两个: 栽培甜荞(*F. esculentum*)和栽培苦荞(*F. tataricum*), 两个荞麦种的遗传特性、起

源、生长环境都不同(陈庆富, 1999, 2001; 陈庆富等, 2004), 其蛋白质组分及其含量也不尽相同。

荞麦是具较高营养价值和医疗保健作用的小杂粮作物。唐宇等(1990)发现甜荞种子蛋白质含量平

收稿日期: 2006-06-06 修回日期: 2006-12-26

基金项目: 国家自然科学基金(30270852, 30471116); 教育部新世纪人才支持计划(NECT2004-0913); 贵州省留学归国人员项目(启动类)(2004#02); 贵州师范大学重点学生课题(2005)[Supported by the Natural Science Foundation of China (30270852, 30471116); Program for New Century Excellent Talents in University(NCET-2004-0913); Guizhou Oversea Talent Project(2004#02); Key Student Project of Guizhou Normal University(2005)]

作者简介: 郭玉珍(1982-), 女, 河南商丘人, 硕士研究生, 研究方向: 资源植物学。

* 通讯作者(Author for correspondence, E-mail: cqf1966@163.com)

均为 14.32%, 苦荞平均为 13.15%; 刘冬生等(1997)对荞麦蛋白质含量研究发现甜荞和苦荞种子蛋白含量变幅分别为 9.38%~12.83%和 9.27%~12.42%, 超过玉米、大米等谷类作物, 而且人体所需的氨基酸组成合理、配比适宜, 营养全面(Radovic 等, 1999; Rout 等, 1999)。此外, 荞麦还含丰富的黄酮、氨基酸和维生素(孙毅刚等, 2000; 贾冬英等, 1998; 张宏志, 1995), 被列为我国八大亟待开发的保健食品(尤新, 1999; 米宏伟, 2005)。

目前已报道关于荞麦蛋白质含量研究方法的有:经典的凯氏定氮法(回瑞华等, 2004; 刘冬生等, 1997)和双缩脲法(刘邻渭等, 2004)。但凯氏定氮法和双缩脲法存在灵敏度低、操作烦琐等缺点, 而染料

结合法作为一种测定蛋白质的方法, 有许多独特的优点:灵敏、简便、干扰物质少、不污染环境等, 使其越来越受到青睐。早在 70 年代, Parial 等(1970)采用染料结合法对小麦蛋白质和 Lys 的含量进行研究。姜延程等(1994)采用染料橙红 G 对小麦蛋白质含量进行初步研究。但染料结合法所选用染料不同, 所得结果可能有一定差异。因考马斯亮蓝染色法具灵敏度高, 测定快速、简便, 染色后颜色在 2 h 内稳定性好, 干扰物质少等优点, 本研究拟以荞麦为材料, 以考马斯亮蓝为染料, 结合凯氏定氮法, 研究两者在测定蛋白质含量上的相关性, 以便找出测定荞麦种子蛋白含量简便快速有效的检测方法, 为荞麦育种中测定荞麦种子蛋白质含量提供新的手段。

表 1 甜荞实验材料

Table 1 Common buckwheat accessions

材料 Accession	代号 Symbol	来源 Origin	染料结合法 Dye method		凯氏定氮法 Kjeldahl method		$y-y$ (d, %)
			染料结合量(x) Dye combination amount	期望蛋白质含量(y, %) Expected protein content	蛋白质含量(y, %) Protein content		
ES2004010102	E01	贵州遵义	0.438	10.59	9.51	1.08	
ES2004060102	E02	贵州遵义	0.462	10.96	10.54	0.42	
ES2004092802	E03	贵州遵义	0.480	11.24	11.64	-0.4	
ES2003040101	E04	贵州道真	0.521	11.87	12.35	-0.48	
ES2004010104	E05	贵州水城	0.542	12.19	12.22	-0.03	
ES2005061601	E06	陕西	0.550	12.32	12.46	-0.14	
ES2005012303	E07	贵州	0.565	12.55	12.88	-0.33	
ES2003110101	E08	贵州遵义	0.570	12.62	12.28	0.34	
ES2005061604	E09	陕西	0.588	12.90	12.56	0.34	
ES2004081105	E10	贵州	0.590	12.93	13.14	-0.21	
ES2004123001	E11	贵州威宁	0.609	13.22	13.00	0.22	
ES2004010108	E12	贵州毕节	0.609	13.22	13.11	0.11	
ES2004102902	E13	贵州黔西	0.636	13.64	13.42	0.22	
ES2005012310	E14	贵州	0.670	14.16	13.42	0.74	
ES2005012311	E15	贵州	0.676	14.25	13.89	0.36	
ES2005012302	E16	贵州	0.693	14.51	14.17	0.34	
ES2005032301	E17	贵州	0.695	14.54	15.64	-1.10	
ES2004093002	E18	贵州道真	0.717	14.88	15.33	-0.45	
ES2004093003	E19	贵州遵义	0.783	15.90	16.04	-0.14	
ES2004062005	E20	贵州	1.027	19.64	18.71	0.93	
ES2005012318	E21	贵州	0.602	13.11	15.02	-1.91	
ES2005012315	E22	贵州	0.618	13.36	12.75	0.61	
ES2005061605	E23	陕西	0.629	13.53	12.95	0.58	
ES2004062003	E24	贵州	0.770	15.70	17.04	-1.34	
ES2004102901	E25	湖南武岗	0.629	13.53	13.27	0.26	

1 材料和方法

1.1 实验材料及试剂

随机选取种子蛋白质含量高低不等的栽培甜荞 25 份、苦荞 20 份(表 1、2)。所有材料都由贵州师范

大学生物技术与工程学院植物遗传育种研究所提供。考马斯亮蓝 G250 溶液的配制:用天平准确称取考马斯亮蓝 0.06 g, 加 85%磷酸 100 mL、95%乙醇 50 mL, 混匀直至染料完全溶解, 再定容至 1 000 mL, 得浓度为 0.06 mg/mL 的考马斯亮蓝溶液。采用同样方法配制浓度分别为 0.02、0.1 mg/mL 的染

料溶液。

1.2 实验方法

1.2.1 实验最佳条件的探讨 随机选用六个蛋白质含量高低不同的甜荞品种和苦荞品种(表 3、5),每个品种取约 0.5 g 荞麦干瘦果,去壳、粉碎、混匀后,准确称量(0.02 g),于振荡培养箱中控制转速为 150 r/min,染料体积为 40 mL,在不同振荡时间(20、50、80、110 min)、温度(15、30、45 °C)、考马斯亮蓝浓度(0.02、0.06、0.1 mg/mL)处理后,静置 4 min,于 755B 型紫外可见分光光度计 595 nm 处测得考马斯亮蓝与蛋白质结合后染料结合量(OD 值差),以原液作对照,分析结果,并找出最佳的测定荞麦蛋白质

含量的条件。

1.2.2 荞麦样品的测定 取 25 份栽培甜荞和 20 份栽培苦荞分别称取约 1.0 g,制备样品后平均分为两份,一份(0.2 g)按凯氏定氮法测定蛋白质含量,测定方法参见杨建雄(2002);另一份(0.02 g)加入 50 mL 考马斯亮蓝溶液,按上述最佳条件处理,测得 OD 值差,即染料结合量(x)。

1.2.3 数据分析及建立回归方程 采用 SPSS11.2 统计分析软件分别对 25 份甜荞样品和 20 份苦荞样品的考马斯亮蓝染料结合法所得的 OD 值差(x)及同一批样品凯氏法测得的种子蛋白质含量(y)进行一元回归与相关分析,分析方法见杜荣寿(2003)。

表 2 苦荞实验材料

Table 2 Tartary buckwheat accessions

材料 Accession	代号 Symbol	来源 Origin	染料结合法 Dye method		凯氏定氮法 Kjeldahl method	y-y (d,%)
			染料结合量(x) Dye combination amount	期望蛋白质含量(y,%) Expected protein content	蛋白质含量(y,%) Protein content	
TA2004060102	T01	贵州威宁	0.358	10.14	9.73	0.41
TA2003100101	T02	贵州威宁	0.367	10.24	10.75	-0.51
TA2004041508	T03	江西九江	0.394	10.53	10.20	0.33
TA2003120101	T04	贵州毕节	0.408	10.68	11.10	-0.42
TA1997060102	T05	贵州	0.427	10.89	11.41	-0.52
TA2004102902	T06	湖南武岗	0.557	11.21	11.73	-0.52
TA2004041501	T07	贵州黔西	0.470	11.35	11.84	-0.49
TA2004091701	T08	贵州黔西	0.498	11.65	11.54	0.11
TA2004102901	T09	贵州黔西	0.526	11.95	12.19	-0.24
TA2004041502	T10	贵州黔西	0.520	11.89	11.63	0.26
TA2004081101	T11	江西九江	0.947	16.49	17.45	-0.96
TA2004081103	T12	贵州黔西	0.850	15.66	16.39	-0.73
TA1999111501	T13	贵州	0.735	14.20	14.39	-0.19
TA2005012302	T14	贵州	0.783	14.72	13.53	0.19
TA2004041503	T15	贵州黔西	0.440	11.03	11.38	-0.35
TA2005012304	T16	贵州	0.464	11.28	11.81	-0.53
TA2004030901	T17	山西	0.689	13.71	13.12	0.59
TA2005012301	T18	贵州	0.652	13.31	11.72	1.59
TA2003100102	T19	贵州水城	0.476	11.41	10.61	0.80
TA2004041507	T20	贵州威宁	0.518	11.87	12.01	-0.14

2 结果与分析

2.1 温度和时间对染料结合法的影响

随机选用 E04、E11、E14、E15、E16 和 E25 六个甜荞品种(表 3),在染料浓度为 0.06 mg/mL,不同温度(15、30、45 °C)和不同振荡时间(20、50、80、110 min)处理条件下,对由考马斯亮蓝染料结合法测得的染料结合量(x)与凯氏定氮法测得的蛋白质百分含量(y)之间的相关性进行研究,测得的数据以及与蛋白质含

量间的相关系数及显著性检验结果见表 3。

从表 3 看出,时间和温度对染料结合法均有影响。在一定的温度下,考马斯亮蓝与蛋白质结合后在两个小时内保持稳定,在前 20 min 内吸光度值一直处于明显的上升阶段,20 min 后就相对较稳定。温度既可以提高结合速度、缩短实验周期,又可以提高反应程度,在 45 °C 时 20 min 内就使反应达到平衡,20 min 以后形成的结合物在较高温度下有部分分解,所以测得的吸光度值不太稳定。

从相关系数 r 看,在不同时间及温度条件下,测

得的 OD 值差(x)与蛋白质含量(y)间都呈极显著的相关性,且各 r 值间无显著差异,说明各个实验条件都能用来测定蛋白质含量,但从最优角度考虑,本实验选择 r 值最大时的实验条件,即振荡时间 50 min,温度 15 °C。在此条件下所得结果重复性较好。

2.2 染料浓度对染料结合法的影响

为探讨甜荞和苦荞蛋白质含量测定中对染料浓

度是否有不同要求,本实验选择了蛋白质含量高低不等的六个甜荞品种(E04, E11, E14, E15, E16, E25)和六个苦荞品种(T08, T15, T10, T06, T12, T11),在不同的考马斯亮蓝溶液浓度(0.02, 0.06, 0.10 mg/mL)处理下,振荡时间 50 min 和温度 15 °C 时进行实验。其染料结合法测得的染料结合量(x)见表 4、5。

表 3 甜荞种子蛋白质的染料结合量(x)与蛋白质含量(y)间的回归关系

Table 3 Regression relation between the dye combination amount (x) by means of the dye method and protein content(y) by the Kjeldahl method

T (°C)	t (min)	材料 Accession	E04	E11	E25	E14	E15	E16	r_{xy} value
		y	12.35	13.00	13.27	13.42	13.89	14.17	
15	20	x1	0.466	0.485	0.524	0.534	0.576	0.652	0.943**
15	50	x2	0.465	0.516	0.550	0.572	0.611	0.705	0.964**
15	80	x3	0.495	0.541	0.577	0.585	0.633	0.735	0.949**
15	110	x4	0.524	0.573	0.610	0.627	0.654	0.767	0.944**
30	20	x5	0.427	0.486	0.512	0.539	0.538	0.629	0.950**
30	50	x6	0.478	0.488	0.510	0.547	0.575	0.587	0.950**
30	80	x7	0.506	0.525	0.526	0.566	0.611	0.626	0.941**
30	110	x8	0.527	0.534	0.545	0.570	0.614	0.629	0.935**
45	20	x9	0.439	0.457	0.565	0.572	0.584	0.656	0.934**
45	50	x10	0.463	0.480	0.556	0.565	0.586	0.637	0.954**
45	80	x11	0.485	0.493	0.557	0.574	0.596	0.654	0.947**
45	110	x12	0.489	0.494	0.554	0.560	0.590	0.651	0.953**

注: **表示在 0.01 水平上差异极显著,经 t 检验各 r_{xy} 间差异不显著。下同。

Notes: ** represents significance at 0.01 level. There are no significances among r_{xy} value by T test. The same below.

表 4 甜荞种子蛋白质染料结合量(x)与其种子蛋白质含量(y)间的回归关系

Table 4 Regression relation between the dye combination amount(x) by means of the dye method and protein content(y) of common buckwheat by the Kjeldahl method

浓度 Concentration (mg/mL)	甜荞材料 Accession	E04	E11	E25	E14	E15	E16	r_{xy} value
	y	12.35	13.00	13.27	13.42	13.89	14.17	
0.02	x1	0.262	0.365	0.371	0.376	0.410	0.485	0.965**
0.06	x2	0.521	0.609	0.629	0.670	0.676	0.693	0.957**
0.10	x3	0.655	0.699	0.701	0.782	0.794	0.831	0.946**

表 5 苦荞种子蛋白质染料结合量(x)与其种子蛋白质含量(y)间的回归关系

Table 5 Regression relation between the dye combination amount(x) by means of the dye method and protein content(y) of tartary buckwheat by the Kjeldahl method

浓度 Concentration (mg/mL)	苦荞材料 Accession	T08	T15	T10	T06	T12	T11	r_{xy} value
	y	10.53	11.38	11.63	11.73	16.39	17.45	
0.02	x1	0.177	0.180	0.194	0.199	0.299	0.350	0.991**
0.06	x2	0.394	0.440	0.520	0.557	0.850	0.947	0.994**
0.10	x3	0.456	0.516	0.565	0.576	0.864	1.081	0.984**

从表 4、5 可看出,考马斯亮蓝溶液的浓度可影响蛋白质与染料的结合,浓度越高,与蛋白质的结合量越多,OD 值差越大。在各浓度条件下,染料结合量(x)与蛋白质含量(y)间的相关系数 r_{xy} 都达到了

极显著水平,而且经 t 检验,各 r 值间差异不显著。

显然,实验所有染料浓度在本实验条件下都可以用于荞麦种子蛋白质含量的测定。为此选择了苦荞 r_{xy} 最大而甜荞 r_{xy} 较大的染料浓度 0.06 mg/mL

作为较好的处理浓度,此时所得结果有较好的重复性。因此本研究选择振荡时间 50 min、温度 15 °C、考马斯亮蓝溶液的浓度为 0.06 mg/mL 作为本研究的处理条件。

2.3 染料结合法测得的栽培荞麦种子蛋白染料结合量(x)与凯氏法测得的蛋白质含量(y)间的相关分析

在振荡时间 50 min,温度 15 °C,考马斯亮蓝溶液的浓度为 0.06 mg/mL 条件下,用考马斯亮蓝染

色法测得供试的 25 份栽培甜荞和 20 份栽培苦荞种子粉的染料结合量以及同批样品用凯氏定氮法测得的蛋白质百分含量,结果见表 1 和表 2。分别分析甜荞和苦荞的染料结合法测得的 OD 值差(x)和同一批样品的蛋白质含量(y)间的回归关系,得出回归方程(图 1)。并进行回归方差分析和回归系数的显著性检验(表 6、7)。

表 1、2 可看出,考马斯亮蓝溶液与蛋白质结合

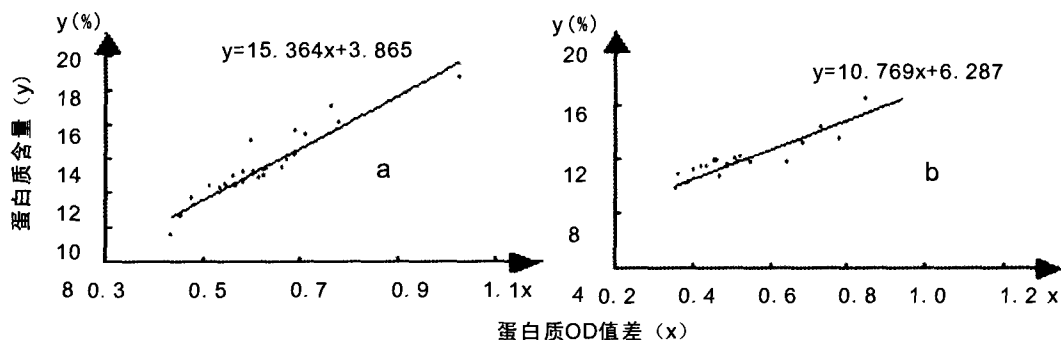


图 1 甜荞和苦荞种子蛋白质 OD 值差(x)和蛋白质含量(y)间的一元回归方程的直线图

Fig. 1 Simple linear regression equations and linear figures of common buckwheat and tartary buckwheat

a. 甜荞(common buckwheat); b. 苦荞(tartary buckwheat).

表 6 甜荞和苦荞一元回归方程的方差分析

Table 6 Variance analysis on the linear regression on common buckwheat and tartary buckwheat

类型 Species	变异来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 df	均方 Mean squares	F 值 F value
甜荞 Common buckwheat	回归	81.83	1	81.83	162.77**
	误差	11.56	23	0.50	
	总和	93.39	24		
苦荞 Tartary buckwheat	回归	63.01	1	63.01	137.35**
	误差	8.26	18	0.46	
	总和	71.27	19		

后溶液的 OD 值差和蛋白质含量成极显著的正相关,样品蛋白质含量越高,溶液的颜色越深,OD 值差越大。从分析结果可知,甜荞和苦荞的回归方程(图 1)分别为: $y = 15.364x + 3.865$ 和 $y = 10.769x + 6.287$, 相关系数分别是 $r = 0.936$ 和 $r = 0.940$, 对回归方程的方差分析和回归系数的显著性检验(表 5、6)都达到极显著水平,即是考马斯亮蓝染料结合法与凯氏定氮法所测得的结果呈极显著的正线性关系,且相关性很好。

对甜荞和苦荞的一元回归方程计算得出的荞麦种子蛋白质含量与凯氏定氮法测得的蛋白质含量间配对数据进行显著性检验, $t_E = \bar{d}_E / S_d = 0.0008 /$

$0.1388 = 0.006 < t_{0.05} = 2.064, |t_T| = |\bar{d}_T / S_d| = |-0.016 / 0.1493| = 0.107 < t_{0.05} = 2.093$, 说明用此回归方程所得的荞麦蛋白质含量与实际蛋白质含量之间差异不显著,可以用考马斯亮蓝染料结合法代替经典的凯氏定氮法测定蛋白质含量。

表 7 甜荞和苦荞一元回归方程的回归系数显著性检验

Table 7 Significant test of regression coefficient on common buckwheat and tartary buckwheat

种类 Species	自由度 df	T test	
		a	b
甜荞 Common buckwheat	23	5.03**	12.76**
苦荞 Tartary buckwheat	18	11.88**	11.72**

2.4 栽培甜荞和栽培苦荞的一元回归方程的比较

对栽培甜荞的一元回归方程 $y = 15.364x + 3.865$ 和栽培苦荞的一元回归方程 $y = 10.769x + 6.287$ 进行比较前,先测验二者误差方差之间的差异显著性。 $F = \frac{MS_{e1}}{MS_{e2}} = \frac{0.50}{0.46} = 1.09 < F_{23,18,0.025} = 3.22$, 所以两者有一共同的误差方差,则合并均方 $MS_e = \frac{(n_1 - 2)MS_{e1} + (n_2 - 2)MS_{e2}}{(n_1 - 2) + (n_2 - 2)}$, 对其回归系数 b 进行检验,自由度 $df = n_1 - 2 + n_2 - 2 = 25 - 2 + 20$

$-2 = 41, t_b = (b_1 - b_2) / \sqrt{MS_e \left(\frac{1}{SS_{x_1 x_1}} + \frac{1}{SS_{x_2 x_2}} \right)} = 3.05 > t_{41, 0.05} = 1.96$, 甜荞和苦荞的回归系数差异显著, 说明甜荞和苦荞的回归方程不能合并。

3 讨论

本文首次采用考马斯亮蓝 G250 为染料, 结合经典的凯氏定氮法对栽培荞麦蛋白质含量进行研究, 并对影响染料结合法的一些因素进行了初步分析。结果发现, 在本研究条件下染料结合量与蛋白质含量间都存在极显著的相关性, 可以用来测定种子蛋白质含量, 而且发现染料结合法在测定荞麦种子蛋白质含量时适应范围宽, 受环境条件影响小。姜延程等(1994)采用染料橙红 G 法对小麦蛋白含量研究时发现: 温度为 $25 \pm 5^\circ\text{C}$ 、处理时间为 1.5 h, 染料浓度 0.04% 为最适操作条件, 且蛋白质与染料结合后剩余染料的残留光密度值与凯氏定氮法测得的蛋白质含量间存在良好的负相关性, 本研究结果与此相似。

本研究发现栽培甜荞和苦荞染料结合法测得的 OD 值差与同一批样品测得的蛋白质含量间均存在良好的正相关性, 其回归方差分析和回归系数的检验都达到极显著水平, 且栽培甜荞和栽培苦荞符合不同的回归方程, 暗示其蛋白质组分和比例可能不同。此法灵敏、方便、快速, 分别适合甜荞和苦荞的蛋白质含量测定。这些结果对于快速测定荞麦蛋白质含量, 筛选高蛋白植株(或品系)和高蛋白荞麦遗传育种研究有重要意义。

但是从实验结果可以看出, 本研究染料结合法以 CBB G250 为染料时, 测得的蛋白质含量与凯氏定氮法之间尚存在一定的误差。从本实验结果和过程的分析看, 可能原因是: (1) 染料主要是与蛋白质中的碱性氨基酸(特别是精氨酸)和芳香族氨基酸残基相结合。由于各种蛋白质中的精氨酸和芳香族氨基酸的含量不同, 因此考马斯亮蓝染料结合法用于不同蛋白质测定时会有一定的偏差。(2) 通过测定 595 nm 处吸收度的增加量可知与其结合蛋白质的量, 本研究在操作过程中静置时有一定蛋白质同荞麦粉一起被沉淀下来, 溶液中与染料结合的蛋白质含量减少, 使测定结果偏低。据国外文献报导(Partial 等, 1970), 染料结合法在测定蛋白质含量高于 12% 时的样品时, 表现出的误差较大, 本研究用考马

斯亮蓝 G250 染料所测定样品的蛋白质含量较高时, 也有可能会有误差。对于此方法存在的上述问题, 有待于进一步的研究和改进。

致谢 本研究中贵州师范大学生物技术与工程学院张宇斌、宋庆发老师提供了部分器材, 贵州师范大学生物技术与工程学院植物遗传育种研究所潘守举、李建辉、王甜、张以忠、任翠娟、盛茂银、王爱国给予了不少帮助和支持。

参考文献:

- 杜荣寿. 2003. 生物统计学[M]. 北京: 高等教育出版社: 145-162
- 林汝法. 1994. 中国荞麦[M]. 北京: 中国农业出版社: 97-104
- 杨建雄. 2002. 生物化学与分子生物学实验技术教程[M]. 北京: 科学出版社: 25-26
- Chen QF(陈庆富). 1999. A study of resources of *Fagopyrum* (*Polygonaceae*) native to China(中国荞麦资源研究)[J]. *Bot J Linnean Society*, **130**: 53-64
- Chen QF(陈庆富). 2001. Karyotype analysis of five *Fagopyrum* species native to China(五个中国荞麦种的核型分析)[J]. *Guihaia*(广西植物), **21**(2): 107-110
- Chen QF(陈庆富), SLK Hsam, FJ Zeller. 2004. A study of cytology, isozyme and interspecific hybridization on the big-achene group of buckwheat species(*Fagopyrum*, *Polygonaceae*)(荞麦属大粒组荞麦种的细胞学、同工酶及种间杂交研究)[J]. *Crop Science*, **44**: 1 511-1 518
- Hui RH(回瑞华), Hou DY(侯冬岩), Li XC(李学成), et al. 2004. Determination of protein content in *Fagopyrum*(荞麦中蛋白质含量的分析)[J]. *Food Sci*(食品科学), **25**(10): 230-232
- Jia DY(贾冬英), Geng L(耿磊), Yao K(姚开). 1998. Extraction and quality analysis of extracted flavonoids(rutin) from the stems and shells of *Fagopyrum tataricum*(苦荞麦茎及籽壳中黄酮类化合物(芦丁)的提取及其鉴定)[J]. *Food Sci*(食品科学), **19**(9): 47-48
- Jiang YM(姜延程), Zhu ZM(祝正茂). 1994. Determination of the content of wheat protein with dye combination method(应用染料结合法测定小麦蛋白质含量的研究)[J]. *J Zhengzhou Grain Coll*(郑州粮食学院学报), **15**(2): 13-20
- Liu DS(刘冬生), Xu RY(徐若英), Wang QQ(汪青青). 1997. Analysis of protein content and amino acid composition in buckwheat(荞麦中蛋白质含量及其氨基酸组成的分析研究)[J]. *Crop Genet Res*(作物品种资源), (2): 26-28
- Liu LW(刘邻渭), Tao J(陶健), Bi L(毕磊). 2004. Quantitative analysis of buckwheat protein with Biuret method(双缩脲法测定荞麦蛋白质)[J]. *Food Sci*(食品科学), **25**(10): 258-261
- Mi HW(米宏伟), Yang XQ(杨晓泉). 2005. Advances in buckwheat protein(荞麦蛋白的研究进展)[J]. *Sci Tech Food Industry*(食品工业科技), **26**(8): 186-189
- Ohnishi O, Matsuoka Y. 1996. Search for the wild ancestor of buckwheat[J]. Taxonomy of *Fagopyrum* (*Polygonaceae*) species based on morphology, isozymes and cpDNA variability[J]. *Genes* (下转第 902 页 Continue on page 902)

以达到一种生理平衡。而在重金属胁迫下,这种活性氧的产生与清除之间的平衡会被破坏,植物细胞清除能力下降,活性氧增加。徐勤松等(2002)认为,铬胁迫严重破坏了体内抗氧化酶系统,尤其是SOD

的活性,使植物体内积累 O_2^- ,加剧膜脂过氧化作用。本实验也得到类似的结果,我们推测铬对烟草组培苗的毒害,是破坏了烟草组培苗体内的保护酶系统,使SOD活性下降,POD先上升后下降, O_2^- 和 H_2O_2



图5 铬对烟草组培苗生长的影响

Fig. 5 Effects of Cr^{6+} on the growth of tobacco by tissue culture

等活性氧在体内累积,引起膜脂过氧化,膜透性增大,产生大量MDA影响细胞代谢,最终影响烟草组培苗的生长。

参考文献:

- 张义贤. 1997. 三价铬和六价铬对大麦毒害效应的比较[J]. 中国环境科学, 17(6): 565-567
- 张志良, 瞿伟菁. 2003. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社: 67-70, 158-159, 256-258, 123-124, 274-276
- 顾公望, 张宏伟. 1993. 微量元素与恶性肿瘤[M]. 上海科学技术出版社: 199-205
- Chen P(陈平), Yu TY(余土元), Chen HY(陈惠阳), et al. 2002. Effects of Se on growth and some physiological characteristics of rice seedling under Cd stress(硒对镉胁迫下水稻幼苗生长及生理特性的影响)[J]. Guihaia(广西植物), 22(3): 277-282
- Giannopolitis C N, Ries S K. 1997. Superoxide dismutation I. Occurrence in higher plants[J]. Plant Physiol, 53: 315
- Kong XS(孔祥生), Guo XP(郭秀璞), Zhang MX(张妙霞). 1999. Effect of cadmium stress on seedling growth and physiology chemistry of maize(镉胁迫对玉米幼苗生长及生理生化的影响)[J]. J Huazhong Agric Univ(华中农业大学学报), 18(2): 111-113
- Shi GY(石贵玉), Chen MM(陈明媚). 2005. Effects of Cr^{6+} and Se on growth and some physiological of rice seedling(铬、硒对水稻幼苗生长和生理的影响)[J]. Guihaia(广西植物), 25(3): 281-284
- Van Assche F, Clijsters H. 1990. Effects of metal on enzyme activity in plants[J]. Plant Cell Environ, 13: 195-206
- Xu QS(徐勤松), Shi GX(施国新), Du KH(杜开和). 2002. Effects of Cr(VI) on physiological and ultrastructural changes in leaves of *Ottelia alismoides* (L.) pers(六价铬污染对水车前叶片生理生化及细胞超微结构的影响)[J]. Guihaia(广西植物), 22(1): 92-96
- Parial LC, Rooney LW. 1970. Use of dye-binding and biuret techniques for estimating protein in Brown and Milled Rice [J]. Cereal Chemistry, 47(1): 38
- Radovic RS, Maksimovic, Brkljacic MJ, et al. 1999. 2s albumin from buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) seeds[J]. J Agric Food Chemistry, 47(4): 1467-1470
- Rout MK, Chrungoo NK. 1999. Lysine and methionine rich basic subunit of buckwheat grain legumin; Some results of a structural study[J]. Biochemistry & Molecular Biology International, 47(6): 921-926
- Sun YG(孙毅刚), Chai WF(柴文福). 2000. Buckwheat and its integrated use(荞麦及其综合利用)[J]. Cereal and Food Industry(粮食与食品工业), (4): 8-11
- Tang Y(唐宇), Zhao G(赵钢). 1990. Pilot study of nutrient quality on buckwheat character resources native to Sichuan (四川省荞麦品质资源营养品质的初步研究)[J]. Buckwheat Newsletter(荞麦动态), (2): 20-24
- You Xin(尤新). 1999. Eight kinds of health foods which should be developed urgently(我国亟待开发的八大类保健食品)[J]. Commercial Science and Technology Development(商业科技开发), (2): 38
- Zhang HZ(张宏志). 1995. Trace element and health in buckwheat(荞麦中的微量元素与健康)[J]. Trace Element and Health Research(微量元素与健康研究), (4): 42-43

(上接第957页 Continue from page 957)

& Genetic Systems, 71: 383-390