

# 不同基因型大豆 GS 活性动态规律研究

刘业丽<sup>1</sup>, 刘丽君<sup>2</sup>, 栾怀海<sup>1</sup>, 何琳<sup>1</sup>, 胡国华<sup>1,2</sup>

(1. 黑龙江省农垦科研育种中心, 黑龙江 哈尔滨 150090; 2. 东北农业大学 农学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

**摘要:**通过对不同基因型大豆 GS 活性变化规律的研究, 结果表明: 不同基因型大豆叶片 GS 活性变化趋势基本一致, 呈双峰曲线。野生大豆茎秆和根系 GS 活性变化呈单峰曲线, 其它品种呈双峰曲线。野生大豆荚皮 GS 活性呈持续下降的趋势, 其它品种先上升后下降。除根瘤外其它器官 GS 活性野生大豆明显低于栽培大豆。不同器官 GS 活性比较顺序为: 叶片 > 根瘤 > 茎秆 > 根 > 荚皮。R<sub>5</sub> 期叶片、根系和荚皮中的 GS 活性与籽粒蛋白质含量呈正相关。

**关键词:** 大豆; GS; 动态规律

**中图分类号:** S565.1

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1002-2767(2011)12-0010-04

谷氨酰胺合成酶(GS)在高等植物氮代谢中起着重要的作用, 是氮代谢的关键酶<sup>[1]</sup>。它催化氨和谷氨酸形成谷氨酰胺, 完成氨同化代谢的第一步, 该酶广泛存在于高等植物中。高等植物中 GS 的全酶均为八聚体, 分子量为 360 kD 左右<sup>[2-3]</sup>。不同植物组织和器官中的 GS 同工酶的组成已有比较广泛的研究, 亚基多肽, 组成不同 GS 同工酶<sup>[4-7]</sup>。植物体内 95% 以上的 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 通过 GS/GOGAT (谷氨酰胺合成酶/谷氨酸合成酶) 循环同化<sup>[8-9]</sup>。GS、GOGAT 在植物叶片、根瘤以及根中均有分布。GS 和 GOGAT 活性高低说明氮代谢及蛋白质合成能力的强弱。该研究以不同基因型大豆为材料研究 GS 酶活性变化规律和差异, 及其与氮素积累的关系。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

选用高油栽培大豆品种垦丰 9 号和东农 46; 高蛋白栽培大豆品种东农 42 和黑农 35; 秣食豆(半野生大豆); 野生大豆共 6 个品种。

### 1.2 方法

盆栽 120 盆。盆播种 5 株, 保留 3 株, 随机区组排列, 20 次重复。自第一片三出复叶完全展开时取样, 开花期以前每次间隔 15 d, 开花后按生育期取样。于晴天 8:30 取样存于液氮中用于生理指标的测定。

### 1.3 取样及测定方法

将 1 g 左右的大豆叶片、茎秆、根尖、根瘤、荚皮样品放于预冷的研钵中, 每一样品共用 8 mL 咪唑-盐酸(0.05 mol·L<sup>-1</sup>) 研磨均匀, 取 4 mL 于 4℃ 下 12 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 取上清液用于 GS 酶活力测定与酶含量分析。GS 活性用紫外-可见分光光度计(UV2550, 日本岛津)测定。酶含量用 5%~12% 梯度聚丙烯酰胺凝胶电泳测定。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同基因型大豆 GS 活性动态

2.1.1 不同基因型大豆叶片 GS 活性变化 由图 1 可知, 不同基因型大豆功能叶片 GS 活性变化趋势基本一致, 苗期至 R<sub>1</sub> 期各品种叶片 GS 活性变化不大, R<sub>1</sub> 期后叶片 GS 活性迅速上升, 上升至 R<sub>2</sub> 期而后开始下降, 下降至 R<sub>4</sub> 期而后又开始上升, R<sub>5</sub> 期活性达到最高而后下降直至成熟。呈双峰曲线。峰值出现在 R<sub>2</sub> 期和 R<sub>5</sub> 期。R<sub>5</sub> 期是籽粒形成期, 胚的形成、籽粒的灌浆以及相关酶的合成需要大量的氨基酸, 因而氮代谢旺盛, GS 活性较高。籽粒形成后, 进入灌浆盛期, 碳水化合物快速积累, 籽粒氮素代谢相对减弱, 酶活性降低。

不同基因型大豆品种叶片 GS 活性变化趋势相同, 但不同生育时期基因型间有明显差异, 苗期至 R<sub>1</sub> 期黑农 35 叶片 GS 活性明显低于其它品种。R<sub>2</sub> 期和 R<sub>5</sub> 期各栽培大豆品种 GS 活性明显高于野生大豆和半野生大豆, 而且半野生大豆和野生大豆在整个生育期间始终保持较为平缓的变化趋势和较低的活力水平。黑农 35 和东农 42R<sub>5</sub> 期后

收稿日期: 2011-08-15

第一作者简介: 刘业丽(1981-), 女, 山东省淄博市人, 硕士, 助理研究员, 从事大豆育种研究。E-mail: liuyeli811226@yahoo.com.cn。

GS 活性下降速度较快,可能是与高蛋白品种籽粒蛋白质积累强度有关。叶片 GS 活性整个生育期变化较大。

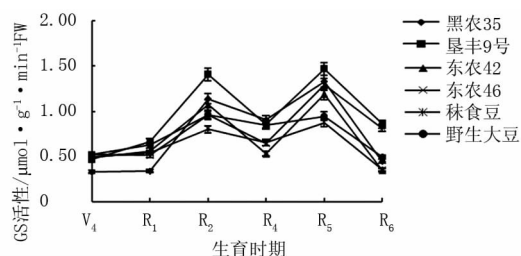


图1 大豆功能叶片 GS 活性变化

2.1.2 不同基因型大豆茎秆 GS 活性变化 由图 2 可知,除东农 46 和野生大豆外,其它品种茎秆 GS 活性动态变化趋势呈双峰曲线,峰值在  $R_2$  期和  $R_5$  期。具体表现为:苗期至  $R_2$  期缓慢上升, $R_2$  期后开始下降,至  $R_4$  期开始迅速上升  $R_5$  期达到最大,而后开始迅速下降。茎秆 GS 活性第一个峰值明显低于第二个峰值是由于生育前期茎秆是大豆植株的主要输导组织,为其它器官的建成输送养分,GS 活性较低。 $R_4$  期后垦丰 9 号茎秆 GS 活性较其它品种上升较快, $R_5$  期达到较高水平。黑农 35 茎秆 GS 活性明显高于其它品种。东农 46 和野生大豆呈单峰曲线的变化趋势,峰值分别在  $R_1$  期和  $R_2$  期。野生大豆茎秆 GS 活性  $R_4$  期后较低,是由于  $R_4$  期后野生大豆茎秆木质化程度较大。

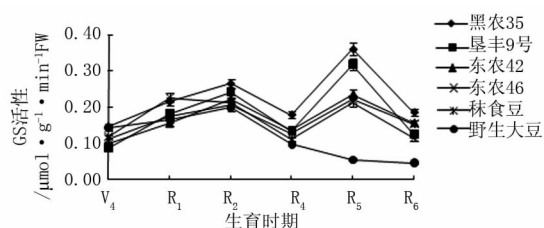


图2 大豆茎秆 GS 活性变化

2.1.3 不同基因型大豆根系 GS 活性变化 由图 3 可知,不同基因型大豆品种根系 GS 活性动态变化趋势除野生大豆外基本相同,呈双峰曲线。东农 42、黑农 35 和半野生大豆的根系 GS 活峰值在  $R_2$  期和  $R_5$  期;东农 46 和垦丰 9 号根系 GS 活峰值在  $R_1$  期和  $R_5$  期;野生大豆根系 GS 活性变化呈单峰曲线,峰值在  $R_2$  期。  $R_4$  期后黑农 35 根系 GS 活性较其它品种上升快, $R_5$  期达到最高,除野生大豆外的其它品种  $R_5$  期 GS 活性非常相近。高蛋白大豆黑农 35 和东农 42 第一个峰值出现得比高油品种晚,是由于高蛋白品种生育前期生长

比较旺盛, $R_1$  期前大豆光合产物主要是蔗糖由地上部向根中转移,根系主要吸收无机营养和分解地上部转移来的蔗糖,为根瘤形成提供能量和碳架,GS 活性较低,进入生殖生长期根瘤固氮能力增强,刺激 GS 活性提高,高油品种进入生殖生长比高蛋白品种略早,所以峰值出现也较高蛋白品种略早。野生大豆  $R_4$  期后根系 GS 活性迅速下降,是由于野生大豆根系不发达, $R_4$  期后衰老较快。各品种根系 GS 活性整个生育期变化不是很大。

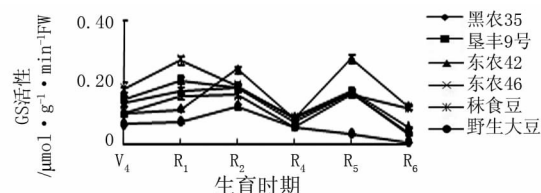


图3 大豆根系 GS 活性变化

2.1.4 不同基因型大豆根瘤 GS 活性变化 由图 4 可知,各品种根瘤 GS 活性变化基本一致,呈单峰曲线。东农 46 峰值在  $R_2$  期,东农 42 峰值在  $R_5$  期,其它品种在  $R_4$  期。 $R_1$  期各品种的 GS 活性差异不大, $R_1$  期至  $R_2$  期各品种的 GS 活性迅速增加, $R_2$  期至  $R_5$  期 GS 活性变化不大, $R_5$  期后下降。是由于  $R_2$  期后根瘤固氮能力增强,刺激根瘤 GS 活性的提高, $R_5$  期后根瘤固氮能力减弱,GS 活性降低。东农 42 根瘤 GS 活性  $R_2$  期后明显高于其它品种,说明根瘤所固定的氮素是蛋白质形成的铵态氮源。

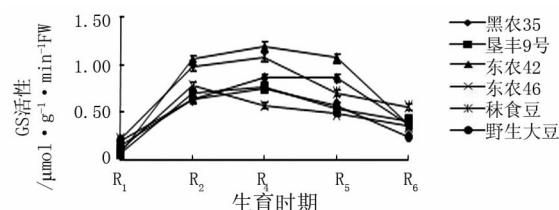


图4 大豆根瘤 GS 活性变化

2.1.5 不同基因型大豆荚皮 GS 活性变化 由图 5 可知,野生大豆荚皮 GS 活性变化呈持续下降的趋势,其它品种呈先上升后下降的趋势。东

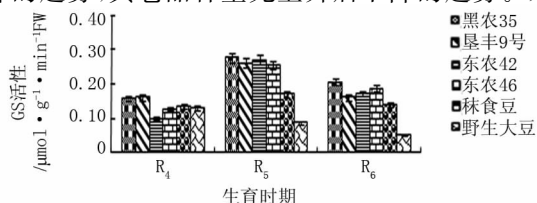


图5 大豆荚皮 GS 活性变化

农 42 和黑农 35GS 活性高于其它品种,其中东农 42 荚皮 GS 活性变化较大。半野生大豆和野生大豆荚皮 GS 活性较小。荚皮中 GS 的活性是各器官中活性最小的部位。

高蛋白品种总是有一个器官的 GS 活性明显高于高油品种。不同器官 GS 活性总趋势是:叶片>根瘤>茎秆>根>荚皮。

## 2.2 不同基因型大豆叶片 GS 含量差异

由图 6 可知,除半野生大豆外其它品种叶片 GS 含量呈降一升一降一升一降变化趋势, $V_4$ 期、 $R_2$ 期和  $R_5$ 期 GS 含量较高;半野生大豆叶片 GS 含量呈降一升一降的变化趋势即:苗期至  $R_1$ 期缓慢下降, $R_1$ 期后 GS 含量迅速降低, $R_2$ 期含量最低而后上升, $R_5$ 期至  $R_6$ 期 GS 含量变化不大。 $R_5$ 期前各品种 GS 含量变化顺序为:东农 42>东农 46>垦丰 9 号>黑农 35>半野生大豆。除半野生大豆外其它品种 GS 含量的高峰与其活性的峰值相一致。所以推断大豆叶片 GS 活性与含量有一定的相关性。

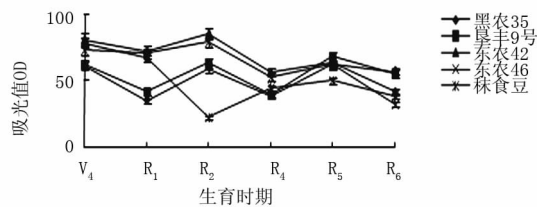


图 6 不同基因型大豆叶片 GS 含量变化动态

## 2.3 大豆叶片 GS 全酶分子量

通过梯度聚丙烯酰胺凝胶电泳,对 GS 进行全酶分子量的测定,结果表明(见图 7),大豆叶片 GS 全酶分子量为 338.41 kDa 左右,符合高等植物 GS 全酶分子量。

## 2.4 GS 活性与籽粒蛋白含量相关分析

各生育期不同器官 GS 活性与籽粒蛋白质相

关分析见表 1。结果表明: $R_5$ 期叶片 GS 活性与籽粒蛋白质含量呈正相关关系,其它时期叶片中 GS 活性与籽粒的蛋白质含量均未达到显著水平,说明可以通过提高后期叶片 GS 活性来提高籽粒蛋白质含量。茎秆中的 GS 活性  $R_2$ 期与籽粒蛋白质含量呈正相关关系,其它时期未达到显著水平。 $R_2$ 期和  $R_4$ 期根系中的 GS 活性与籽粒蛋白质含量极显著正相关;根瘤中的 GS 活性只有  $R_6$ 期与籽粒蛋白质含量呈极显著负相关,其它时期未达到显著水平。是由于  $R_6$ 期根瘤固氮能力减弱,GS 活性下降,而大豆植株各器官氮素迅速向籽粒转移,籽粒蛋白质含量不断增加。 $R_5$ 期和  $R_6$ 期荚皮中 GS 活性与籽粒蛋白质含量呈极显著正相关关系, $R_4$ 期荚皮 GS 活性与籽粒蛋白质含量未达到显著水平,说明  $R_5$ 期后荚皮中 GS 活性与籽粒蛋白质关系密切,可以适当延长  $R_5$ 期到成熟期的时间来提高籽粒蛋白质的含量。

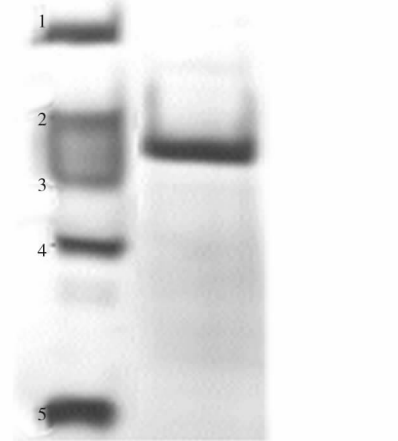


图 7 GS 聚丙烯酰胺凝胶电泳

采用 Amersham pharmacia biotech 的高分子量 Mark。分子量标准分别为:1.669 000 Da;2.440 000 Da;3.232 000 Da;4.140 000 Da;5.67 000 Da

表 1 GS 活性与籽粒蛋白质相关系数

生育时期	$V_4$	$R_1$	$R_2$	$R_4$	$R_5$	$R_6$
叶片中谷氨酰胺合成酶	-0.5387	-0.4721	0.3814	0.1103	0.5737 *	-0.0749
茎秆中谷氨酰胺合成酶	0.3491	0.1816	0.6185 *	0.5466	0.2236	0.3639
根系中谷氨酰胺合成酶	0.0636	-0.1699	0.7735 **	0.9430 **	0.5488	-0.1384
根瘤中谷氨酰胺合成酶	—	-0.5533	-0.2790	-0.0306	0.5266	-0.8656 **
荚皮中谷氨酰胺合成酶	—	—	—	-0.1689	0.9067 **	0.8435 **

## 3 结论与讨论

该试验在不同基因型大豆的叶片、茎秆、根、根瘤和荚皮中均检测到谷氨酰胺合成酶活性,在叶片中只检测到一条 GS 活性带,此活性带为  $GS_2$ ,大豆叶片中 GS 全酶分子量为 338.41 kD 左

右与高等植物 GS 全酶分子量相吻合。由各器官间 GS 活性比较及 GS 活性峰值期可以推断, $R_2$ 及  $R_5$ 期叶片功能是影响大豆蛋白质合成的关键因素,因此如何在栽培技术上使  $R_2$ 和  $R_5$ 期功能叶片数量及正常发挥其功能是提高大豆蛋白质的

关键。野生大豆茎秆 GS 活性变化,呈单峰曲线,可能与野生大豆生育后期茎秆木质化程度较高有关,野生和半野生大豆各器官 GS 活性与各栽培品种相比,在生育期内始终保持较平稳的变化趋势和较低的活性水平,可能与定向选择或进化方向有关,由于前人研究所采用材料均为栽培大豆,未见有关野生大豆蛋白质合成酶的生理特征方面的研究报道,因此这一点有待于试验的进一步验证。

#### 参考文献:

- [1] 黄冰艳,高伟,苗利娟,等.谷氨酰胺合成酶基因研究进展及其在植物氮代谢调控中的应用[J].中国农学通报,2010,26(23):53-57.
- [2] 王小纯,熊淑萍,马新明,等.不同形态氮素对专用型小麦花后氮代谢关键酶活性及籽粒蛋白质含量的影响[J].生态学报,2005(4):802-807.
- [3] 韩娜,葛荣朝,赵宝存.植物谷氨酰胺合成酶研究进展[J].河北师范大学学报:自然科学版,2004,28(4):407-410.
- [4] 黄勤妮,印莉萍,柴小清,等.不同氮源对小麦幼苗谷氨酰胺合成酶的影响[J].植物学报,1995,37(11):856-862.
- [5] 李常健,林清华.高等植物谷氨酰胺合成酶研究进展[J].生物学杂志,2001,18(4):1-3.
- [6] 印莉萍,刘祥林.不同浓度不同氮源对小麦离体叶谷氨酰胺合成酶及其相关酶的影响[J].首都师范大学学报:自然科学版,1997(2):95-99.
- [7] 李常健.高等植物中氨同化酶及其同工酶研究[J].零陵师范高等专科学校学报,2000,21(3):20-22.
- [8] Lea P J, Blackwell R D, Joy K W. Ammonia assimilation in higher plants[M]. New York: Current Contents, 1992.
- [9] Lea P J, Robinson S A, Stewart G R. The enzyme mology and metabolism of glutamine, glutamate, and asparagine [M]// The Biochemistry of Plants. New York: Academic, 1990.
- [10] 莫良玉,林清华,张楚富,等.高等植物 GS/GOGAT 循环研究进展[J].植物营养与肥料学报,2001,7(2):223-231.
- [11] 郑朝峰.植物的谷氨酰胺合成酶[J].植物生理学通讯,1986,22(3):5-12.
- [12] 张宏纪,马凤鸣,李文华,等.不同形态氮素对甜菜谷氨酰胺合成酶的影响[J].黑龙江农业科学,2001(6):7-10.
- [13] 段远霖,李合生.不同光质和钙对小麦 NR 活性、GS 活性的影响[J].植物生理通讯,1999,35(2):122-125.
- [14] 陈胜勇,李观康,汪云,等.谷氨酰胺合成酶的研究进展[J].中国农学通报,2010,26(22):45-49.

## Study on the GS Activities in Soybean Plants among Different Genotypes

LIU Ye-li<sup>1</sup>, LIU Li-jun<sup>2</sup>, LUAN Huai-hai<sup>1</sup>, HE Lin<sup>1</sup>, HU Guo-hua<sup>1,2</sup>

(1. Crop Research and Breeding Center of Land-Reclamation, Harbin, Heilongjiang 150090;  
2. Agronomy College of Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030)

**Abstract:** The study on GS Activities in Soybean Plants among Different Genotypes was conducted. The result showed that: Dynamics of GS activities in the leaves came to be a double-peak curve. Dynamics of GS activities had a single-peak curve in the roots and stems of wild soybean, others came to be a double-peak curve. Dynamics of GS activities in the pod sheds of *G. soja* declined gradually and the tendency was low-high-low in other varieties. The GS activities in the organs except nodules of *G. soja* were obviously lower than other varieties. The gradation of GS activities in different organs was leaf > nodule > stem > root > pod shed. The GS activities in leaves, roots and pod sheds at R<sub>5</sub> were positively related to seed protein.

**Key words:** soybean; GS; dynamical rules

### 农业科学方法概论

农业科学方法丛书 刘旭等 著 978-7-03-032385-9

定价:78.00 元 装帧:平脊精装 开本:16 分类:生物科学

**内容简介:**该书是在重点研究课题“农业科学方法研究”成果的基础上加工凝练而成的。全书分三篇、14 章,内容丰富、资料翔实。第一篇是导论篇,提出了农业科学思维概念、特征与范畴,论述了农业科学思维的原理、方法与途径,以及农业科研工具、农业科技革命和文化与农业科学思维的关系;第二篇是古代农业科学方法篇,阐述了中国古代农业科学技术发展历程,总结了中国古代农业科学思维、科学方法与科学工具,剖析了中国古代农业科学思维、方法和工具的创新案例,论述了农业科学思维、方法和工具对中国古代农业科学技术发展的影响;第三篇是现代农业科学方法篇,论述了中国现代农业科学技术发展演进,总结了现代农业科学方法的一般方法、特征方法和工具,剖析了中国现代农业科学方法的创新案例。

该书可供从事农业科学研究和管理的相关人员,以及大专院校相关专业的师生阅读和参考。

获取更多图书信息请您关注 <http://books.lifescience.com.cn/> 欢迎各界人士邮购科学出版社各类图书

联系人:科学出版社科学销售中心 周文宇

电话:010-64017301 E-mail:zhouwenyu@mail.sciencep.com

网上订购: <http://shop.sciencepress.cn/> 或卓越网、当当网

联系我们:010-64012501 E-mail:lifescience@mail.sciencep.com

更多精彩图书请登陆网站,欢迎致电索要书目