

# 大豆 *GmGLP10* 基因的克隆及生物信息学分析

张宇航 李永光 王雪松 孙铭阳 勾 涵 陈 薇 李 悦 李文滨

(东北农业大学 农学院 大豆生物学教育部重点实验室/农业部东北大豆生物学与遗传育种重点实验室 黑龙江 哈尔滨 150030)

**摘 要:** 通过 PCR 的方法从大豆抗菌核病品种 Maple Arrow 中克隆得到 *GmGLP10* 基因,生物信息学分析结果显示 *GmGLP10* 蛋白由 213 个氨基酸组成,具有一个糖基化位点和多个磷酸化位点,为胞外分泌蛋白。通过对 *GmGLP10* 基因起始密码子上游 1 500 bp 序列进行顺式作用元件分析,预测 *GmGLP10* 启动子上具有多个与激素和防御胁迫应答相关的顺式作用元件。进化树分析结果表明,*GmGLP10* 与多个生长素结合蛋白进化距离较近,推断其可能具有相似的功能。*GmGLP10* 基因在菌核病菌胁迫下的转录本丰度的变化结果表明在菌核胁迫处理后 *GmGLP10* 基因表达量上调明显。*GmGLP10* 可能作为生长素结合蛋白参与调控大豆的生长发育与抗病防御应答反应。

**关键词:** 大豆; *GmGLP10* 基因; 克隆; 菌核病; 生长素结合蛋白

中图分类号: S565.1 文献标识码: A DOI: 10.11861/j.issn.1000-9841.2016.03.0388

## Cloning and Bioinformatics Analysis of *GmGLP10* in Soybean

ZHANG Yu-hang, LI Yong-guang, WANG Xue-song, SUN Ming-yang, GOU Han, CHEN Wei, LI Yue, LI Wen-bin

(Agronomy College of Northeast Agricultural University/Key Laboratory of Soybean Biology in Chinese Ministry of Education/Key Laboratory of Soybean Biology and Genetics Breeding, Chinese Agriculture Ministry, Harbin 150030, China)

**Abstract:** *GmGLP10* gene was isolated from soybean *Sclerotinia Sclerotiorum* resistant cultivar Maple Arrow by PCR method. Bioinformatics analysis showed that *GmGLP10* gene encoding a 213 amino acids protein, with a N-glycosylation site and several phosphorylation sites and was putatively to be an extracellular protein. The Upstream 1 500 bp sequence of *GmGLP10* gene were analyzed, multiple cis-elements related to hormone and defense stress responses existed in the *GmGLP10* promoter region. Phylogenetic analysis results indicated that *GmGLP10* and several Auxin binding proteins (ABPs) had closer genetic relationship, that may have similar functions. The *GmGLP10* transcript abundance was significantly increased after *Sclerotia* infection. These results suggested *GmGLP10* may function as an Auxin binding protein to regulate growth and development of soybean and disease resistance defense responses.

**Keywords:** Soybean; *GmGLP10* gene; Cloning; *Sclerotinia Sclerotiorum*; Auxin binding protein

类萌发素蛋白(germin-like protein, GLPs)属于 Cupin 超家族中的成员,它们是定位于细胞质基质中的可溶性糖蛋白。GLPs 在植物中广泛分布<sup>[1]</sup>,通过表达序列标签(EST)和基因组测序的方法已经分离鉴定了超过 100 个 GLPs, GLPs 在植物的不同组织器官和发育时期都有不同程度的表达,表明其在植物生长发育过程中行使重要功能<sup>[2]</sup>。除此之外, GLPs 在植物防御应答反应中也起到重要作用,部分 GLPs 具有 OXO 或 SOD 酶活性,它们催化底物产生的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 会促进病原菌侵染部位细胞壁的交联, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 作为一种重要的胞内信号还可以激活一系列植物防御相关的信号转导途径,阻止病原菌的入侵<sup>[3-5]</sup>。因此, GLPs 结构和功能的深入研究对了解

植物生长发育、对环境胁迫的反应机理等方面具有重要的意义<sup>[6]</sup>。

在农业生产中,逆境和真菌性病害等严重影响大豆的品质和产量,现代基因工程方法已成为提高大豆抗逆性和抗病性的重要途径<sup>[7]</sup>。近来的研究发现,在苔藓、小麦、大麦等多种植物中发现的 Germin 类蛋白,在控制植物病原菌方面具有重要作用<sup>[8]</sup>。本研究通过 PCR 的方法从大豆抗菌核病品种 Maple Arrow 中克隆得到大豆类萌发素家族基因 *GmGLP10*,通过对 *GmGLP10* 基因及其蛋白的功能进行预测,分析 *GmGLP10* 启动子区域存在的顺式作用元件以及该基因在菌核胁迫下的转录本水平的变化,以阐述 *GmGLP10* 基因功能及作用途径,旨在为

收稿日期: 2015-11-24

基金项目: 抗逆转基因大豆新品种培育(2015ZX08004002); 东北农业大学“青年才俊”项目(14QC26)。

第一作者简介: 张宇航(1991-),男,博士,主要从事大豆遗传育种研究。E-mail: yuhangzhangneau@163.com。

通讯作者: 李文滨(1958-),男,教授,博导,主要从事大豆遗传育种研究。E-mail: wenbinli@neau.edu.cn。

大豆抗病、抗逆分子育种提供重要分子理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

选用加拿大引进的抗菌核病品种 Maple Arrow 作为试验材料<sup>[9]</sup>。菌核病病原菌由本实验室从大豆发病植株上采集、分离、纯化并扩繁。质粒载体 pGM-T vector、Trizol、cDNA 第一链合成试剂盒、SYBR Green 荧光定量试剂盒、大肠杆菌感受态 Top10 购自天根公司, Super-Fidelity Polymerase 和 T4 DNA Ligase 购自 Invitrogen 公司, 胶回收和质粒小提试剂盒购自 OMEGA 公司, 化学试剂购自 SIGMA 公司。合成引物及测序均由哈尔滨博仕生物公司完成。

### 1.2 方法

**1.2.1 基因克隆** 从 Phytozome 网站 (<http://www.phytozome.net/>) 上获得 *GmGLP10* 基因编码序列 (GenBank 登录号: EU916258.1) 利用 Primer 5.0 设计 *GmGLP10* 克隆引物, *GmGLP10*KL-F: AT-GAAGAAGATGATTCTAACCCTCT; *GmGLP10*KL-R: TTAACCTGACCCTCCAAGAACACCC。

取菌核病菌胁迫处理 4 d 的大豆叶片, RNAiso 提取叶片总 RNA。利用 cDNA 为模板, PCR 扩增 *GmGLP10* 基因。PCR 反应条件为: Super-Fidelity Polymerase 0.3  $\mu$ L, High Fidelity PCR Buffer 2.5  $\mu$ L, 50 mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> MgSO<sub>4</sub> 1  $\mu$ L, 10 mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> dNTP Mixture 0.5  $\mu$ L, cDNA 1  $\mu$ L, 10  $\mu$ mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 引物 1  $\mu$ L, RNase-free H<sub>2</sub>O 18.7  $\mu$ L。PCR 反应按以下条件进行: 95℃ 预变性 3 min; 95℃ 变性 10 s, 60℃ 退火 20 s, 72℃ 延伸 30 s, 36 个循环; 72℃ 终延伸 10 min<sup>[10]</sup>。凝胶电泳后胶回收 *GmGLP10* 基因片段, 连接 pGM-T 载体后测序。

**1.2.2 活体叶片接种法侵染大豆** 选取营养生长时期的大豆植株, 取大小相近的大豆叶片, 首先将叶片依次用一定浓度的乙醇和次氯酸钠溶液表面消毒 5 s, 然后取 PDA 培养基上生长 5~7 d 的菌碟, 放在叶片的相同位置上, 3 次重复。密封保湿 (23  $\pm$  2)℃、12 h 光照/12 h 黑暗处理 6 d, 对照叶片仅接种与病菌培养天数相同的空白培养基。

**1.2.3 实时定量 PCR 分析在菌核胁迫下 *GmGLP10* 转录本丰度** 根据基因 *GmGLP10* 的编码序列设计定量 PCR 引物, *GmGLP10*DL-F: AGTCTCAGGCTTTGGCTTTTG; *GmGLP10*DL-R: CTGACCCTCCAAGAA-

CACCC。使用大豆 *GmUBQ3* 基因作为内参, *GmUBQ3*-F: CAGCAGCCAATAGAGAATTCGG; *GmUBQ3*-R: TCACTGGGTTGTGATTACCAAAC<sup>[11]</sup>。

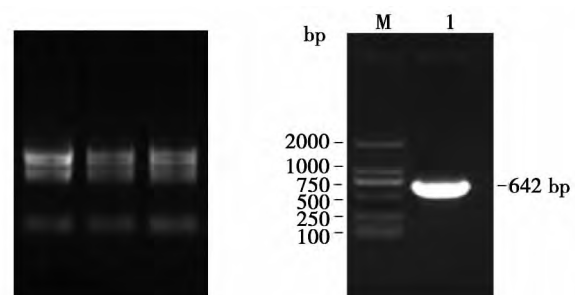
以 cDNA 第一链为模板进行荧光定量 PCR 分析。反应体系包括 1  $\mu$ L cDNA, 10  $\mu$ L 2  $\times$  SYBR Mix, 1  $\mu$ L *GmGLP10* 基因特异性引物, 8  $\mu$ L ddH<sub>2</sub>O。PCR 反应按以下条件进行: 95℃ 预变性 15 min; 95℃ 变性 20 s, 60℃ 退火 20 s, 72℃ 延伸 30 s, 40 个循环<sup>[12]</sup>。采用 Bio-Rad CFX Manager 软件分析数据, 统计 *GmGLP10* 基因在菌核胁迫处理不同时间的转录本丰度。

**1.2.4 生物信息学分析** 采用 Expasy 的 ProtParam 在线网站预测 *GmGLP10* 蛋白氨基酸的理化性质。采用 PredictProtein 数据库对 *GmGLP10* 蛋白的二级结构进行预测。NCBI 在线预测 *GmGLP10* 蛋白质的保守结构域, SWISS MODEL 在线预测 *GmGLP10* 蛋白质的三级结构。PlantCare 在线网站预测 *GmGLP10* 启动子区域顺式作用元件。*GmGLP10* 蛋白的亚细胞定位采用 WoLFPSORT 在线网站进行预测, SignalP 4.1 预测 *GmGLP10* 蛋白可能存在的信号肽。利用 NCBI 数据库和 Phytozome 数据库进行同源基因的检索, DNAMAN 软件比对氨基酸序列, MEGA 6.0 构建系统进化树<sup>[13]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 基因克隆

将菌核胁迫处理 4 d 的叶片用液氮研磨后, 利用 Trizol 提取叶片总 RNA (图 1a)。以反转录得到的 cDNA 为模板, PCR 克隆获得 *GmGLP10* 基因全长编码序列, 长度为 642 bp (图 1b)。



a: 大豆叶片总 RNA 电泳图; b: 克隆的 *GmGLP10* 基因的电泳图; M: DL2000 Marker; 1: *GmGLP10*。

a: Total RNA from soybean leaves; b: The PCR products of *GmGLP10*; M: DL2000 Marker; 1: *GmGLP10*。

图 1 *GmGLP10* 基因克隆

Fig. 1 Cloning of *GmGLP10* gene

应用 DNAMAN 软件对扩增得到的 *GmGLP10* 基因测序结果与 Phytozome 数据库中提供的 Williams 82 品种 *GmGLP10* 基因核苷酸序列进行比对,在核苷酸水平上,从 Maple Arrow 中扩增得到的 *GmGLP10* 核苷酸序列与数据库中 Williams 82 中的 *GmGLP10* 基因有 2 个单核苷酸差异,即第 538 和 600 位核苷酸位点存在差异,序列一致性为 99.69% (图 2)。在

氨基酸水平上,比对结果显示 2 个发生变化的核苷酸位点产生了 1 个氨基酸差异,仅第 538 位核苷酸差异引起了氨基酸变化,氨基酸由原来的丝氨酸变为丙氨酸。第 538 位发生变化的氨基酸位于该基因的保守结构域内,该氨基酸的变化可能会影响不同大豆品种间的抗病性。

Predicted Sequencing Consensus	ATGAAGAAGATGATTCTAACCCTCTTCTCAATATCATTTTATCTCTCCTCTCCCTCTCC	60
Predicted Sequencing Consensus	atgaagaagatgatttctaaccctcttcttcaatatacattttatctctcctctccctctcc	60
Predicted Sequencing Consensus	CACGCTCCGTGGTGGATTCTGCGTAGCAGACTACACAGGCCCAATGGCCCGCAGGG	120
Predicted Sequencing Consensus	cacgctccgtggtgatttctgcgtagcagactacacagggccaatggcccgaggg	120
Predicted Sequencing Consensus	TACTCATGCAAGAGCCAGCAAGGTCACGGTGGACGACTTCGCTACTCGGCGCTTGGC	180
Predicted Sequencing Consensus	tactcatgcaagagccagcaagggtcacggtagcagacttcgctactcggcgcttggc	180
Predicted Sequencing Consensus	ACCGCCGGCAACACCTCAAACATCATCAAGCCGCGGTGACGCGCGGTTCGACGCGCAA	240
Predicted Sequencing Consensus	accgccggcaaacacctcaaacatcatcaagccgcggtgacgcgcggttcgacgcgcaa	240
Predicted Sequencing Consensus	TTCCCGCGCGTCAACGGGCTTGAATCTCCATTGCACGCTAGACCTAGCAGCGGTGGA	300
Predicted Sequencing Consensus	ttcccgcgcggtcaacgggcttgaatctccattgcacgctagacctagcagcggtgga	300
Predicted Sequencing Consensus	GTCAATCCCTCTTCAACGCAACCTGGTGCTCAGAGCTGCTGGTGGTGTGACGGGAACA	360
Predicted Sequencing Consensus	gtcaatccctcttcaacgcacacctggtgctcagagctgctgggtggtgtgacgggaaca	360
Predicted Sequencing Consensus	ATCTGCACCGGCTTGGTGTCTCGGACAACACTGTGTACCTCAAAACCTAAAAAGGGT	420
Predicted Sequencing Consensus	atctgcacggcttgggtgtctcggacaacctgtgtacctcaaaacctaaaaaggggt	420
Predicted Sequencing Consensus	GATGTCATGGTGTACCTCAGGGCTTGTTCAGCTTCCAGATCAACGATGGAGAGTCTCAG	480
Predicted Sequencing Consensus	gatgtcatgggtgtacctcagggcttgttcagcttccagatcaacgatggagagtctcag	480
Predicted Sequencing Consensus	GCTTTGGCTTTTGTGAGCTTCAGCAGTGCTAACCCTGGGCTCCAGATTCTGGACTTTCT	540
Predicted Sequencing Consensus	gctttggcttttgtgagcttcagcagtgctaacctgggctccagattctggactttct	540
Predicted Sequencing Consensus	TTGTTCAAGAGTGAATTTCCCACTGAGCTTATCAGCAAAACCACTTTCAATTGATGCTGCA	600
Predicted Sequencing Consensus	ttgttcaagagtgaatttcccaactgagcttatcagcaaaaccactttcattgatgctgc	600
Predicted Sequencing Consensus	GTGTCAAGAAGCTCAAGGGTGTCTTGGAGGGTCAGGTTA	641
Predicted Sequencing Consensus	gtgtcaagaagctcaagggtgtcttggagggtcagggtta	641

Predicted: Williams 82 中 *GmGLP10* CDS 序列; Sequencing: Maple Arrow 中扩增得到的 *GmGLP10* CDS 序列。

Predicted: Coding sequence of *GmGLP10* from Williams 82; Sequencing: Coding sequence of *GmGLP10* from Maple Arrow.

图 2 *GmGLP10* 核苷酸序列比对

Fig. 2 Nucleic acid sequence alignment of *GmGLP10*

## 2.2 大豆 *GmGLP10* 蛋白理化性质及结构与功能预测

ProtParam 分析表明 *GmGLP10* 蛋白理论 pI 为 6.03,预测分子质量为 22.23 kDa。*GmGLP10* 蛋白的不稳定系数为 20.25,蛋白性质稳定。蛋白质二级结构预测结果显示在 *GmGLP10* 中共存在 6 种可

能的翻译后修饰位点,即 1 个 N-糖基化位点、2 个蛋白激酶 C 磷酸化位点、3 个酪蛋白激酶 II 磷酸化位点、2 个酪氨酸激酶磷酸化位点、4 个 N-豆蔻酰化位点和 1 个萌发素家族信号。通过在线网站 SWISS-MODEL 对 *GmGLP10* 蛋白的三级结构进行预测(图 4),其含有 2 条反向平行  $\beta$ -转角组成的

Cupitin 结构域 ,与结构域功能预测结果一致( 图 3) ,可见 *GmGLP10* 是类萌发素家族成员。信号肽分析结果表明 *GmGLP10* 具有一个 N 端信号肽 ,在第 22 和 23 个氨基酸残基之间存在可能的剪切位点 ,WoLFPSORT 的亚细胞定位预测结果也显示 *GmGLP10* 定位在质外体 ,且该蛋白不含有核定位信号。因此推测 *GmGLP10* 蛋白质是一种胞外分泌蛋白。

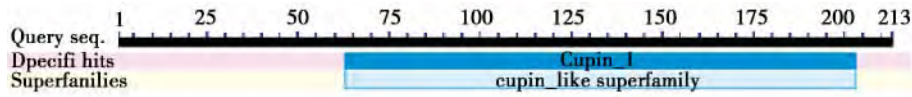


图 3 *GmGLP10* 蛋白的 Cupin 结构域

Fig. 3 Cupin domain of *GmGLP10* in soybean



图 4 *GmGLP10* 蛋白的三维结构

Fig. 4 3D structure of *GmGLP10* protein

2.3 大豆 *GmGLP10* 启动子的功能预测

在 Phytozome 中检索大豆 *GmGLP10* 基因起始密码子上游 1 500 bp 序列 ,利用 PlantCare 在线网站

分析序列中所含有的顺式作用元件 ,结果表明: *GmGLP10* 预测的启动子区域含有多个与激素和逆境胁迫诱导相关的顺式作用元件。包括响应脱落酸、MeJA、乙烯与水杨酸的顺式作用元件及参与高温、低温、生长素等胁迫应答的顺式作用元件等( 表 1) 。预测结果表明 *GmGLP10* 基因在植物抵御逆境胁迫的过程中起到至关重要的作用。

2.4 大豆 *GmGLP10* 蛋白的系统进化树

按照李慧玉等<sup>[14]</sup>对植物 GLP 蛋白进行聚类分析的方法 ,*GmGLP10* 属于类萌发素亚家族 3( GLP subfamily 3) 中的成员 ,该亚类所具有的特点是只在叶部表达 ,且表达量很高。本研究通过将克隆得到的 *GmGLP10* 蛋白序列与 NCBI 中相似度较高的类萌发素蛋白进行同源性比对 ,并构建系统发生树。结果表明: *GmGLP10* 与苜蓿 ABP19a 蛋白亲缘关系最近 ,与川桑、碧桃中的生长素结合蛋白( ABP) 的亲缘关系也相对较近( 图 5) ,推测其可能作为生长素结合蛋白发挥作用。

表 1 *GmGLP10* 基因启动子顺式调控元件的位置与功能预测

Table 1 Location and putative function of cis-elements in *GmGLP10* promoter

基序 Motif	正( + ) 反( - ) 链 Sense( + ) antisense( - ) strand	位置 Location	序列 Sequence	预测功能 Putative function
ABRE	+ -	- 289 bp , - 575 bp	TACGTG	脱落酸顺式应答元件
CGTCA - motif	- +	- 585 bp , - 1076 bp	CGTCA	MeJA 顺式应答元件
ERE	+ -	- 906 bp , - 919 bp	ATTTCAAA	乙烯应答元件
HSE	+	- 103 bp	AAAAAATTTC	热胁迫应答元件
LTR	+	- 815 bp	CCGAAA	低温应答元件
TC-rich repeats	- +	- 1102 bp , - 1162 bp	GTTTCTTAC	防御与胁迫应答元件
TCA-element	- - +	- 26 bp , - 389 bp , - 202 bp	GAGAAGAATA	水杨酸顺式应答元件
TGA-element	-	- 747 bp	AACGAC	生长素应答元件
TGACG-motif	+ -	- 585 bp , - 1076 bp	TGACG	MeJA 顺式应答元件

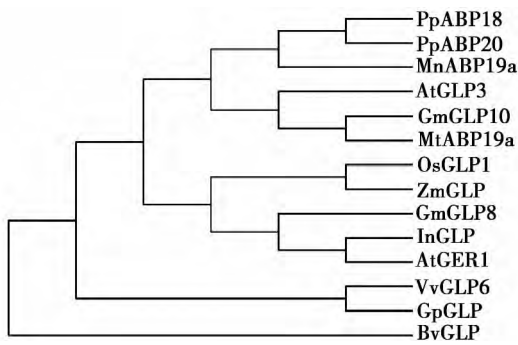


图5 GmGLP10 蛋白系统发生树分析

Fig. 5 Phylogenetic tree analysis of GmGLP10 protein

## 2.5 GmGLP10 基因在菌核胁迫处理下的表达规律

实时定量 PCR 分析表明 *GmGLP10* 基因在大豆菌核胁迫处理下,呈现出明显的上调表达,随着菌丝的不断侵染,在第4天时,*GmGLP10* 的表达量达到峰值,之后逐渐下降(图6)。表明 *GmGLP10* 基因参与大豆对于菌核病侵染的防卫应答。

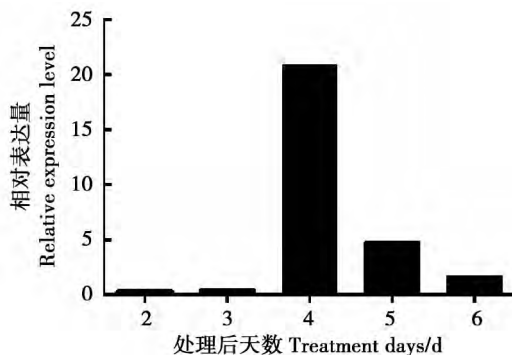


图6 GmGLP10 在菌核胁迫下的表达水平

Fig. 6 Expression level of *GmGLP10* under *Sclerotinia Sclerotiorum* treatment

## 3 结论与讨论

目前大量的植物 *GLP* 基因已被分离鉴定,并对其 *GLPs* 的结构、细胞定位、基因表达和调控进行了详细的研究。但大多数研究都停留在对于基因表达水平和酶活分析方面,少有对分子机理方面的解析。研究结果表明,盐、干旱、重金属、机械伤害等不良环境因素可诱导该基因的大量表达,这证明植物 *GLP* 基因在抵御环境胁迫中发挥着积极的作用。由此可以推断植物 *GLP* 基因在植物响应和适应环境胁迫中起着重要的作用<sup>[6]</sup>。

本研究根据 Phytozome 上预测的大豆 *GmGLP10* 基因序列信息,从大豆抗菌核病品种 Maple Arrow 中克隆得到 *GmGLP10* 基因,对 *GmGLP10* 蛋白质的生物信息学分析表明该基因具有 N 端信号肽,为胞

外分泌蛋白。这与之前的报道 *GLPs* 定位于细胞壁和细胞外基质中相符合<sup>[15-17]</sup>。Ohmiya 等<sup>[18]</sup> 在研究生长素受体中发现桃树中的生长素结合蛋白 (ABP) 有 2 种形式,ABP19 和 ABP20。ABP19 和 ABP20 与 ABP1(从玉米中分离的生长素受体)中的 Box A 的同源性高达 40%,而 Box A 是推测的生长素结合位点。对 *GmGLP10* 蛋白的系统进化分析结果显示 *GmGLP10* 与碧桃 ABP19 和 ABP20 等多个生长素结合蛋白亲缘关系较近,其可能作为生长素结合蛋白发挥作用。*GmGLP10* 基因在大豆菌核病菌侵染下明显上调表达,并且 *GmGLP10* 基因上游有多个与抗病胁迫应答相关的顺式作用元件,暗示其在大豆抵抗菌核病原菌入侵过程中可能发挥重要作用,但是其作用的分子机理还有待进一步解析。

## 参考文献

- [1] Sakamoto A, Nishimura T, Miyaki Y, et al. *In vitro* and *in vivo* evidence for oxalate oxidase activity of a germin-like protein from azalea [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2015, 458(3): 536-542.
- [2] James B, Matthew B. Germin-like proteins (GLPs) in cereal genomes: Gene clustering and dynamic roles in plant defence [J]. *Functional & Integrative Genomics*, 2010, 10(4): 463-476.
- [3] Banerjee J, Maiti M K. Functional role of rice germin-like protein1 in regulation of plant height and disease resistance [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2010, 394(1): 178-183.
- [4] Lane B G, Dunwell J M, Ray J A, et al. Germin, a protein marker of early plant development, is an oxalate oxidase [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1993, 268(17): 12239-12242.
- [5] Peng M, Kuc J. Peroxidase-generated hydrogen peroxide as a source of antifungal activity *in vitro* and on tobacco leaf disks [J]. *Phytopathology*, 1992, 82(6): 696-699.
- [6] 李莹, 柳参奎. 植物类萌发素蛋白研究进展 [J]. *中国农学通报*, 2014, 30(30): 246-254. (Li Y, Liu C K, Research progress on plant germin-like proteins [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2014, 30(30): 246-254.)
- [7] Bolwell G P, Butt V S, Davies D R, et al. The origin of the oxidative burst in plants [J]. *Free Radical Research*, 1995, 23(6): 517-532.
- [8] Greenberg J T, Guo A, Klessig D F, et al. Programmed cell death in plants: A pathogen-triggered response activated coordinately with multiple defense functions [J]. *Cell*, 1994, 77(4): 551-563.
- [9] 吕春梅, 赵月, 赵雪, 等. 大豆品种 Maple Arrow 耐菌核病生化机制 [J]. *中国油料作物学报*, 2014, 36(5): 630-634. (Lyu C M, Zhao Y, Zhao X, et al. Biochemical resistance mechanism of soybean cultivar Maple Arrow to *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2014, 36(5): 630-634.)
- [10] 赵雪, 韩英鹏, 李海燕, 等. 大豆主要品质性状资源评价及分

- 子标记分析[J]. 东北农业大学学报, 2014, 45(5): 1-7. ( Zhao X, Han Y P, Li H Y, et al. Evaluation and molecular marker analysis of soybean germplasm in main quality traits [J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2014, 45(5): 1-7. )
- [11] 孙晶, 盛碧涵, 韩英鹏, 等. 大豆基因组 WRKY31 同源基因的生物信息学分析[J]. 大豆科学, 2014, 33(5): 642-647. ( Sun J, Sheng B H, Han Y P, et al. Bioinformatics analysis of WRKY31 homologs in soybean genome [J]. Soybean Science, 2014, 33(5): 642-647. )
- [11] Orozcoordenas M L, Narvezsquez J, Ryan C A. Hydrogen peroxide acts as a second messenger for the induction of defense genes in tomato plants in response to wounding, systemin, and methyl jasmonate[J]. The Plant Cell Online, 2001, 13(1): 179-191.
- [12] 李红丽, 刘迪秋, 何华, 等. 类萌发素蛋白在植物防卫反应中的作用[J]. 植物生理学报, 2013, 49(4): 331-336. ( Li H L, Liu D Q, He H, et al. The role of germin-like protein in plant defense responses [J]. Plant Physiology Journal, 2013, 49(4): 331-336. )
- [13] 孟红岩, 杜雄明, 张春义, 等. 棉花转录因子基因 GhMS3 的克隆及其启动子功能的鉴定[J]. 中国农业科学, 2010, 43(17): 3489-3498. ( Meng H Y, Du X M, Zhang C Y, et al. Cloning and promoter function identification of cotton transcription factor GhMS3 [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2010, 43(17): 3489-3498. )
- [14] Li H Y, Jiang J, Wang S, et al. Expression analysis of *ThGLP*, a new germin-like protein gene, in *Tamarix hispida* [J]. Journal of Forestry Research, 2010, 21(3): 323-330.
- [15] Zimmermann G, B Umlein H, Mock H P, et al. The multigene family encoding germin-like proteins of barley. Regulation and function in basal host resistance [J]. Plant Physiology, 2006, 142(1): 181-192.
- [16] Lane B G, Cumming A C, Fregeau J, et al. Germin isoforms are discrete temporal markers of wheat development [J]. FEBS Journal, 1992, 209(3): 961-969.
- [17] Christensen A B, Thordal-christensen H, Zimmermann G, et al. The germinlike protein GLP4 exhibits superoxide dismutase activity and is an important component of quantitative resistance in wheat and barley [J]. Molecular Plant Microbe Interactions, 2004, 17(1): 109-117.
- [18] Ohmiya A, Tanaka Y, Kadowaki K, et al. Cloning of genes encoding auxin-binding proteins (A-BP19/20) from peach: Significant peptide sequence similarity with germin-like proteins [J]. Plant & Cell Physiology, 1998, 39(5): 492-99.

## 国产大豆进口大豆错位发展优势互补

在农业部近日举行的新闻发布会上, 农业部种植业管理司副司长潘文博表示, 中国大豆生产发展的定位就是满足国内食用大豆需求, 同时构建用地养地结合的耕作制度, 形成国产大豆与进口大豆错位发展、优势互补的格局。

### 1. 我国大豆进口量逐年增加

大豆是重要的植物蛋白源, 也是重要的食用植物油源, 同时也是种地养地结合的重要倒茬作物, 因为大豆有根瘤共生固氮作用。这些年国内大豆进口量较大, 有一组数据: 1996 年中国从大豆的净出口国转变为大豆的净进口国, 2000 年大豆进口量达到 1 000 万 t, 2010 年达到 5 000 万 t, 2013、2014、2015 年, 三年连续突破 6 000 万 t、7 000 万 t 和 8 000 万 t。2015 年大豆进口达到 8 169 万 t, 是国内生产量的 6.8 倍, 大约是世界大豆贸易量的 70%, 是国内消费量的 87%, 这在所有农产品中进口依存度是最高的。

### 2. 国产大豆生产莫轻言放弃

这些年, 各级农业部门在全力抓好粮食生产、保障国家粮食安全的同时, 也采取了一些积极措施, 努力稳定大豆生产。但是受多种因素的影响, 大豆生产出现了滑坡。而城乡居民消费水平的提高和畜牧业规模化养殖的发展, 大豆的需求快速增长, 国内生产不足, 只能依靠进口来弥补国内的需求缺口。专家分析, 近 3 年我国大豆每年消费增量是 800 万 t 左右, 每年自产 1 200 万 t。需求增量主要有 3 个方面: 一是饲料豆粕, 二是食用豆油, 三是食用大豆。今后 5~10 年, 这三方面还是呈刚性增长的趋势, 但是年均增量是下降的, 不会像前几年增速那么快。

中国是大豆原产地, 种植历史悠久, 而且消费文化底蕴深厚, 豆制品在百姓餐桌上不可或缺。综合考虑大豆的食用特性、生态功能和种植替代性, 应该保持大豆生产的稳定, 不能轻言放弃。大豆生产发展的定位就是满足国内食用大豆的需求, 同时构建用地养地结合的耕作制度。这不是追求大豆的自给水平, 也不是与进口大豆相抗衡, 而是要形成国产大豆与进口大豆错位发展、优势互补的格局。

### 3. 五措施提高大豆种植效益

日前农业部发布《关于促进大豆生产发展的指导意见》, 目标就是“一扩大”“三提高”。“一扩大”是指扩大大豆的种植面积, 主要来自于玉米面积调减下来的这一块, “三提高”就是提高单产、提高品质、提高效益。大豆能不能种, 核心还是在效益。

提高大豆种植效益主要采取 5 个方面措施: 一是调整优化布局, 把“镰刀弯”地区非优势区的玉米调下来, 推行玉米和大豆轮作, 构建合理轮作体系; 二是推进科技创新, 今年准备在东北、黄淮地区选择一批绿色高产高效的示范点, 创建一批亩产 200 kg 以上的高产示范典型, 目前全国大豆平均亩产水平只有 120 kg; 三是完善大豆的扶持政策, 主要是目标价格政策; 四是建立优质大豆保护区, 重点保护大豆的种质资源, 保护生产能力, 保护生产主体; 五是科学引导健康消费, 提倡健康的生活方式, 鼓励居民合理食油、用油, 宣传大豆食品的营养功效和保健功能, 扩大国内优质大豆消费市场。

转自中国食品网