

大豆遗传转化技术研究进展

李艳超, 赵青松, 王凤敏, 陈 强, 史晓蕾, 杨春燕

(河北省农林科学院 粮油作物研究所/国家大豆改良中心石家庄分中心/农业部黄淮海大豆生物学与遗传育种重点实验室/河北省遗传育种重点实验室, 河北 石家庄 050035)

摘要:近年来,随着植物基因工程的快速发展,利用转基因技术进行大豆分子育种和基因功能研究成为一种重要手段。现阶段大豆转基因的研究重点主要集中在大豆遗传转化的方法和建立高效、稳定地遗传转化再生体系方面。本文对大豆遗传转化相关方法、转化再生体系及转化效率相关的因素进行了阐述,为大豆遗传转化及转基因新品种培育等相关研究提供参考。

关键词:大豆;遗传转化;研究进展

中图分类号:S565.1 **文献标识码:**A **DOI:**10.11861/j.issn.1000-9841.2015.01.0155

Research Progress on Soybean Genetic Transformation Technology

LI Yan - chao, ZHAO Qing - song, WANG Feng - min, CHEN Qiang, SHI Xiao - lei, YANG Chun - yan

(Hebei Academy of Agricultural and Forestry Sciences/Shijiazhuang Branch of National Soybean Improvement Centre/North China Key Laboratory of Soybean Biology and Genetic Improvement/Ministry of Agriculture Cereal & Oil Crop Institute, Shijiazhuang 050035, China)

Abstract: In recent years, soybean transgenic technology as an important way has been used for soybean molecular breeding and gene function research, with the rapid development of plant genetic engineering. Now the main progress on soybean transformation focuses on soybean genetic transformation method and establishing a highly efficient and stable genetic transformation regeneration system. This paper reviewed related methods of soybean genetic transformation, transformation regeneration system and some factors affecting transformation efficiency. It provided reference for the research on transgenic soybean breeding.

Keywords: Soybean; Genetic transformation; Research progress

大豆 [*Glycine max* (L.) Merrill] 是我国重要的油料和经济作物,是食用油和植物蛋白的重要来源,在食品工业和农业生产中有着重要地位^[1-3]。大豆生长过程中易受病、虫害、干旱及盐碱等不良环境的影响,造成其产量低而不稳。在常规杂交育种中,由于较难突破物种间的杂交不亲和以及不良基因性状间的连锁等,使得优良基因的利用受到一定限制^[4]。随着基因工程技术的发展,将外源基因通过转基因技术整合到大豆基因组中,培育目标性状优良的转基因大豆,成为大豆分子育种和基因功能研究的重要手段,并获得了一定成效。目前,全球种植面积最大的转基因作物是转基因大豆,相关资料显示,2012年全球转基因大豆的种植面积占全部转基因作物面积的近50%,达到8 086万hm²,是常规大豆种植面积的3倍^[5]。在我国,大豆转基因研究已列为国家农作物重点资助课题,但商业化种植转基因大豆仍是空白,因此加强我国转基因大豆的自主研发能力是现阶段大豆育种研究的重要任务^[6-8]。

早在1988年,McCabe等^[9]利用基因枪轰击大

豆未成熟胚生长点,获得了大豆转基因植株,同一年Hinchee等^[10]利用农杆菌侵染大豆子叶节的方法同样获得转基因大豆植株。此后关于大豆遗传转化的报道较多,但大批量规模化遗传转化突破性进展报道很少,其主要原因是转化率没能得到显著提高。本文通过对国内外大豆遗传转化方法的研究与探讨,对大豆遗传转化的再生体系的构建和完善以及影响大豆转化效率的一些关键因素等问题进行了综述,为遗传转化技术的提高、转基因大豆新品种培育等相关研究提供借鉴。

1 大豆遗传转化方法

目前大豆遗传转化的方法较多,主要有农杆菌介导法、基因枪法、花粉管通道法、PEG法、显微注射法、电激法、超声波辅助农杆菌转化法^[11-12]等,其中常用的方法有农杆菌介导法、基因枪法和花粉管通道法。

1.1 农杆菌介导法

农杆菌是普遍存在于土壤中的一种革兰氏阴性

收稿日期:2014-05-06

基金项目:国家转基因生物新品种培育重大专项(2012ZX08004);国家现代农业产业技术体系(CARS-004-PS06)。

第一作者简介:李艳超(1985-),女,硕士,主要从事大豆转基因育种研究。E-mail:yanchao@163.com。

通讯作者:杨春燕(1966-),女,研究员,主要从事大豆遗传育种研究。E-mail:chyyang66@163.com。

细菌,该细菌能够在自然条件下有趋化性的感染大多数双子叶植物的伤口部位,并能够诱导其产生冠瘿瘤或发状根。农杆菌介导法(*Agrobacterium - mediated*)中应用的主要有根癌农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*)和发根农杆菌(*Agrobacterium rhizogenes*),这两种菌的细胞中分别含有 Ti 质粒和 Ri 质粒,其上有一段转移 DNA(T-DNA),在病原菌致病过程中,即农杆菌通过侵染植物伤口进入细胞后,植物微伤口分泌的乙酰丁香酮(AS)作为信号因子诱导农杆菌中的 *vir* 基因的表达,使农杆菌附着在植物细胞上,但此时只留在细胞间隙中,而后启动 T-DNA 的进一步加工、剪切、复制,最终进入植物细胞并整合到植物核基因组上,并稳定表达。农杆菌介导的遗传转化具有以下优点:技术操作简单、经济成本低、可靠性高,外源基因通常以单拷贝或者低拷贝的形式插入到植物基因^[13-15],其转化率相对较高,可以转化的外源基因片段较大(≥ 50 kb),并且没有明显的基因重排现象,但大豆转化的效率受到农杆菌菌株感染转化能力、大豆基因型、组织培养条件和转化后的筛选模式等因素影响,目前仍需要突破性改进。

农杆菌转化的方法主要有整体植株接种共感染法和叶盘转化法。其中,叶盘法于 1985 年由 Horsch 等发明的。该方法是用打孔器从消毒叶片上取得的叶圆片为外植体^[16]。随后,研究人员在此基础上对叶盘法进行了改良^[10,17]。Parrot 等^[17]在 1988 年采用以子叶为外植体的改良叶盘法,经农杆菌侵染后诱导不定芽再生植株,通过对 100 个栽培大豆品种进行试验,筛选出 3 个对农杆菌较敏感的基因型。目前,大豆中农杆菌转化大多采用以子叶、下胚轴或子叶节等器官为外植体的改良叶盘法。1999 年 Zhang 等^[18]利用农杆菌介导子叶节转化系统获得 *bar* 基因大豆,转化率为 3%。2003 年卜云萍等^[19]同样利用子叶节转化体系成功将深黄被孢酶 $\Delta 6$ -脂肪酸脱氢酶基因导入大豆。2003 年 Olhoft 等^[20]报道了在共培养基中添加硫醇类化合物和 L-半胱氨酸可防止农杆菌侵染导致的组织坏死现象,从而提高转化率。2006 年 Paz 等^[21]以无菌水浸泡 16 h 的子叶节为外植体进行转化,转化率由 1.4% 提高到 7.8%。2010 年 Yamada 等^[22]采用微型金属毛刷对子叶节外植体造成机械损伤并在侵染液中加入 0.02% 的 SilwetL-77,可使遗传转化效率从 1.0% 提高到 4.4%。

近几年,农杆菌介导法在我国得到越来越广泛的应用,刘圣君等^[23]通过优化子叶节转化体系,经

农杆菌侵染后获得了遗传稳定的 T_1 代转化植株。赵晓雯等^[24]以大豆子叶节为外植体采用农杆菌介导法建立了一套较稳定的大豆子叶节遗传转化体系。刘翠等^[25]分别以茎尖、胚尖、子叶节和下胚轴为外植体,比较农杆菌介导大豆不同外植体的遗传转化技术并获得了 3 个供试大豆品种的转基因 T_1 植株。蓝岚等^[26]通过根癌农杆菌介导法,以子叶节为外植体将抗虫基因 *cryIA* 转入大豆品种东农 50 中,经 RT-PCR 及 Southern 杂交法检测 *cryIA* 基因已整合到受体大豆基因组中。王萍等^[27]、党尉等^[28]、姜楠等^[29]也通过农杆菌介导法侵染大豆的不同外植体获得了转基因植株。

1.2 基因枪法

基因枪转化法(Particle bombardment)主要是通过物理介导的方法将外源的 DNA 分子导入植物细胞、组织、器官或原生质体中,并实现在植物基因组中的整合。该方法利用低压气体加速以包被着 DNA 的金粉颗粒或其他惰性金属颗粒轰击植物组织细胞,广泛应用于对农杆菌侵染不敏感的植物遗传转化中^[30]。与农杆菌转化法相比,其优点在于该方法对外植体的基因型没有依赖性,具有相对高的转化率,而且可转移多拷贝的重组 DNA 或者 DNA 片段;而缺点则是该方法耗资较大,转移的外源基因片段相对较小(≥ 10 kb),易发生基因重组,转基因植株还容易出现嵌合体等。

目前基因枪转化法主要采用大豆未成熟子叶诱导产生的体细胞团为外植体^[31]。在 1991 年,Finer 等^[31]便以大豆悬浮体细胞团为外植体利用基因枪法获得了转基因大豆的植株。到 1996 年,Stewart 等^[33]利用该方法获得了抗虫(抗虫基因 *Bt - CryIA*)转基因大豆植株,Hadi 等^[34]利用该方法将 12 个具有不同功能的基因同时导入大豆体细胞团中,并获得了转基因植株。1999 年,Santarem 等^[35]利用未成熟大豆子叶诱导产生胚性悬浮培养物,并以此为外植体利用基因枪法进行转化得到了有效可育的转基因大豆植物。Maughan 等^[36]用基因枪轰击固体培养的胚性细胞团,成功的将牛酪蛋白基因转入大豆,并获得了可育的转基因植株。此外利用大豆其他组织、器官作为外植体进行基因枪转化的研究也有报道。1988 年 McCabe 等^[9]以大豆芽分生组织为外植体利用基因枪法进行转化,在其获得的再生植株中有 2% 的 *GUS* 基因嵌合表达并获得可育的转基因植株。2000 年 Aragao 等^[32]以大豆胚尖为外植体,利用基因枪转化法获得了转基因植株,转化效率可达 20.1%。同时,前人对影响该方法转化效率的

主要因素进行了研究和优化^[37-39]。

1.3 花粉管通道法

花粉管通道法(Pollen-tube pathway)的原理主要是当植物授粉后开花、受精过程中会形成花粉管通道,此时将含有目的基因的 DNA 溶液注射进该部位,使得外源 DNA 可经过珠心通道进入胚囊,对尚未发育完全的胚胎细胞进行转化,通过观察后代的变异,最终筛选出转基因植株。该方法由周光宇等^[40] 1983 年建立并研究发展起来,现已被许多育种工作者采用,并培育出一批抗病、抗虫等农作物新品种。1991 年雷勃钧等^[41]利用花粉管通道法将外源 DNA 导入大豆中,其转化后代变异涉及到了包括成熟期、株型、花色等多个产量或品种性状。1994 年,Lei 等^[42]报道了利用花粉管通道法转化大豆植株,获得了转基因大豆植株。2009 年,Liu 等^[43]利用花粉管法直接将一个无选择标记的 smGFP 片段转入大豆中,并获得转基因阳性植株,其转化效率为 3.2%。

花粉管通道法的优点是操作简单、不依赖于复杂的组织培养过程,可将目的基因 DNA 片段直接导入,而不需要报告基因等,因此,不会带入多余的载体骨架,环境安全性较好。但是该方法转化大豆效率较低且可重复性不高^[44],受到花期和环境影响较大,后代筛选难度较大。因此在大豆转化的实际研究中应用不广泛。

2 大豆遗传转化的受体再生系统

受体再生体系是大豆遗传转化系统中的重要组成部分,该体系的优化和研究是解决转化效率、试验周期及嵌合体等问题重要途径^[45]。目前大豆遗传转化研究中应用的受体再生系统主要有以下 3 种:不定芽器官发生途径的再生体系、原生质体再生体系、体细胞胚胎发生途径的再生体系。

2.1 不定芽器官发生再生体系

不定芽器官发生方式所用的外植体包括子叶节、半种子、茎尖、下胚轴、初生叶、花序等。目前大豆再生体系中以子叶节不定芽器官发生体系的应用最为成熟。早在 1980 年,Cheng 等^[46]以大豆子叶节为外植体,在附加高浓度 BA 的 B₅ 培养基上诱导丛生芽获得了高频率的再生植株。1994 年,Luo 等^[47]分别利用含有野生型 *TipTiB0542* 基因和具有 *Uida* 与 *npt I* 基因的农杆菌对大豆萌发的子叶进行转化,被转化基因在转化大豆瘤中得到了表达。2008 年,姬月梅等^[48]利用优化的农杆菌介导大豆子叶节遗传转化体系成功获得 *TaNHX2* 基因的转化植株。2012 年,王伟等^[49]利用优化的大豆子叶节再生体

系获得转 *EPSPS* 基因的抗性植株。以子叶节为外植体进行遗传转化不受季节限制,外植体容易获得,再生时间较短,过程简单,未经脱分化过程,再生频率相对较高,易于培养。但此转化方法的效率仍然偏低,不仅存在外植体较大、再生芽之间具有保护作用以及外植体本身抗性等对转化后不利于筛选工作的因素,而且子叶节经器官发生再生植株,未经过愈伤组织的增殖,不定芽多数为多细胞起源,转化后得到的多为嵌合体,致使后代纯化、筛选的难度加大^[50]。

除了子叶节再生系统以外,还有胚尖^[51]、无菌苗茎尖^[52]、未成熟胚子叶^[53]、上胚轴和初生叶^[54-55]、幼胚轴^[56]、初生叶节^[57]等通过器官发生获得再生植株的再生系统。

2.2 原生质体培养的植株再生体系

1988 年,卫志明等^[58]从大豆成熟种子的子叶分离原生质体,获得愈伤组织并诱导成苗,得到再生植株。进而对不同的品种进行了研究,获得了大豆原生质体再生植株,这是大豆原生质体再生系统的首次报道。随后的几年中,前人^[59-61]采用相似的方法对不同的品种进行了研究,并获得不同品种的大豆原生质体再生植株。肖文言等^[62]采用大豆幼胚子叶分离原生质体,培养并获得再生植株。以上研究表明通过原生质体的分离培养可获得再生植株,为大豆遗传转化受体系统的研究提供了依据。

与外植体培养再生途径相比较,原生质体再生体系的优点在于易摄取外源遗传物质,理论上可克服大豆遗传转化嵌合体现象。而缺点则有原生质体培养较难、再生频率较低、受遗传背景影响较大、可重复性差、再生植株易发生变异以及相关转化方法效果不理想等,最终导致该体系在大豆遗传转化中的应用并不广泛,近年来研究报道很少。

2.3 体细胞胚胎发生再生体系

体细胞胚胎发生再生体系一般采用液体悬浮培养法,使胚性细胞团在 2,4-D 的诱导作用下不断增殖,首先可为大豆转化提供丰富的外植体材料,另外在筛选时能够与筛选剂充分接触,使得只有转化部位的细胞可以增殖,这样就增加了筛选的有效性。与不定芽器官发生方式相比,体细胞胚胎发生方式的一个主要优势是体细胞胚体为单细胞起源,可有效避免嵌合体的产生,因此有被认为是解决大豆遗传转化中嵌合体问题的最有潜力的再生体系。

该方法中常用到的外植体有未成熟子叶、未成熟胚和未成熟下胚轴等。1983 年,Christianson 等^[63]首次以未成熟胚的胚轴为外植体,用改良的 MS 培养基附加 2,4-D 诱导体细胞胚胎发生,并获

再生植株。在此基础上,前人分别用大豆未成熟胚和未成熟子叶诱导胚状体并获得了再生植株^[64-67,69]。在1988年Finer等^[67]报道了体细胞胚胎悬浮培养技术,相关研究显示其为较好的再生体系,之后他又对体细胞胚胎发生体系进行了改进,采用胚性细胞团作为外植体,提高了转化和筛选的效率^[68]。王晓春等^[70]利用球形期的体细胞胚受伤处理作为转基因的受体进行转化,研究结果显示体细胞胚团的转化率高达8.0%,而发育晚期的子叶胚很难诱导出抗性体细胞胚,转化率为0%。通过前人的研究改良,大豆体细胞胚再生体系虽取得了一定进展,但此系统中体细胞胚胎组织培养过程较复杂,培养周期较长,转化后再生频率低,另外该体系还存在诱导出的体细胞易发生突变,较难发育成正常植株,体细胞胚多次继代增殖后胚性丧失及再生植株变异不结实等问题,所以该体系还需进一步研究改良^[71]。

3 影响大豆转化效率的主要因素

目前大豆转基因工作中,遗传转化效率低是亟待解决的问题。影响大豆转化效率的主要因素有基因型、农杆菌菌株、激素浓度、抗氧化剂、筛选剂等。不同的转化方法导致转化率差异较大,其中农杆菌介导的大豆转化体系具有较高的基因型依赖性。不同基因型对农杆菌的敏感程度和组织培养的再生情况影响着大豆的遗传转化效率。Donaldson等^[72]对12个大豆品种进行了遗传转化,只有品 Accolibri 获得了遗传稳定的转基因植株。李文霞等^[73]研究发现大豆基因型对子叶节丛生芽诱导及对农杆菌的易感性均有较大影响,筛选得出最易感的大豆品种为黑农35,其次为绥农14和合丰35。王凤敏等^[74]对24个大豆基因型的再生能力进行了比较,发现吉林小豆和Maverick的再生能力最强。邱波等^[75]也采用农杆菌介导的子叶节遗传转化方法对16个大豆基因型进行转化,比较不同大豆基因型再生性及对农杆菌敏感性的差异。基因型对大豆转化效率的影响主要表现在对农杆菌的敏感程度和对组织培养再生的反应程度。不同基因型的外植体和农杆菌的互作关系复杂,农杆菌感染后的外植体再生的情况存在差异。

选择适合的农杆菌菌株也是影响转化效率的重要因素。已经报道的大豆遗传转化中常用到的农杆菌菌株主要有EHA101、EHA105、LBA4404、GV3101、AGL1等。王凤敏等^[74]选用EHA101、LBA4404和EHA105进行了大豆转化发现EHA101的侵染能力最强。Ko等^[76]分别选用YRT1、

GV3101和EHA105菌株转化大豆未成熟胚愈伤组织,结果显示农杆菌菌株YRT1效果优于另两个菌株,经PCR分析发现转基因胚性愈伤组织达55%。刘海坤等^[77]采用EHA105进行大豆胚尖的转化,其转化频率可达6.4%~12.1%。

农杆菌侵染大豆外植体后常会导致组织褐化和坏死,而产生褐化和坏死的原因是大豆中含有较多的多酚氧化酶和过氧化氢酶,遇到病原体侵染时这类物质会氧化成醌,醌再通过非酶促反应产生有色物质从而导致组织褐化,并逐渐扩散到培养基中,同时还会抑制细胞内其他酶的活性,影响细胞的正常代谢,甚至导致组织死亡^[78]。前人研究结果显示,可在培养基中添加抗氧化剂和抑制剂,减轻外植体在培养过程中的酶促反应,从而减轻褐化,提高转化效率。常用的抗氧化剂主要有L-半胱氨酸、AgNO₃、抗坏血酸(Vc)、二硫苏糖醇(DTT)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)等。李海燕等^[79]在大豆转化过程添加L-半胱氨酸和AgNO₃能够明显抑制大豆外植体的褐化。

王昌陵等^[80]在共培养或诱导丛生芽阶段的培养基中加入一定浓度的L-半胱氨酸,结果抗性丛生芽的诱导率均显著高于对照,表明抗氧化剂的使用可以促进大豆的转化和再生效果。Olhoft等^[81]将二硫苏糖醇等3种抗氧化剂混合添加在共培养培养基中,结果大豆基因Bert的转化效率平均可以达到16.4%。汲逢源等^[82]将硫代硫酸钠、L-半胱氨酸和二硫苏糖醇3种药品配合使用,结果明显地抑制多酚氧化酶和过氧化氢酶的活性,达到了抑制大豆褐化的作用。Wang等^[83]以大豆下胚轴作为转化外植体,诱导培养基中加入适量的AgNO₃可以有效提高不定芽的诱导率。

适合的植物生长调节剂能够诱导和促进外植体分化形成丛生芽。大豆转化不同阶段常用到的激素包括6-BA、IAA、ZT、GA₃、NAA等。龚学臣等^[84]以4个栽培大豆品种的子叶节为外植体,进行了苗龄与6-BA浓度对大豆子叶节丛生芽诱导影响的研究,发现大豆子叶节丛生芽率在不同大豆品种、无菌苗龄和6-BA浓度间都存在着极显著的差异。武小霞等^[85]进行了大豆子叶节再生中植物生长调节剂的浓度及基因型的筛选,确定在大豆子叶再生过程中所用到的激素及浓度并筛选出适合的基因型,其中6-BA浓度为1.70 mg·L⁻¹、GA₃浓度为0.5 mg·L⁻¹时,分化率最高达78.1%;生根培养基中添加0.37 mg·L⁻¹ NAA更适合根的生长。陈李森等^[86]通过研究农杆菌介导法转化大豆子叶节的影响因素,优化了农杆菌侵染浓度与侵染时间的最佳

配比组合、乙酰丁香酮浓度并采用超声波辅助处理提高大豆转化效率。邱承祥等^[87]认为不同浓度的 6-BA 影响丛生芽的诱导率、不定芽的数量和芽的伸长。低浓度的 6-BA 有利于芽的伸长,但芽的数量少,丛生芽诱导率低;高浓度的 6-BA 可提高丛生芽诱导率,但诱导的芽数量过多,芽生长的慢,一段时间即黄化脱落。

据报道大豆遗传转化的筛选剂包括卡那霉素、潮霉素、草丁膦、草甘膦、甘露糖等,而随着转基因生物的安全性越来越受到人们的关注,除草剂类筛选剂已成为大豆转化中常用的筛选剂^[88]。

4 展 望

经过多年研究,大豆遗传转化技术获得了一定成果,国外已大面积商业化种植,但大豆的遗传转化仍存在一些问题,如遗传转化方法较少,遗传再生体系不完善,转化的外源目的基因单一等。因此尚不能满足大豆育种和功能基因研究的需要。

虽然大豆的遗传转化技术研究面临种种问题,但随着相关研究不断深入。相信在不久的将来,通过大豆遗传转化体系的优化完善和转化方法的不断创新,遗传转化效率低、重复性差的问题会得到解决。同时大豆基因组测序的完成会有大批重要农艺性状的基因被克隆,这将促进大豆基因工程的全面展开,培育出优质、抗病虫、抗逆的转基因大豆新品种。

参 考 文 献

[1] Stacey G, Vodkin L, Parrott W A, et al. National science foundation - sponsored workshop report. Draft plan for soybean genomics [J]. *Plant Physiology*, 2004, 135(1): 59-70.

[2] Alkharouf N W, Matthews B F. SGMD: the soybean genomics and microarray database [J]. *Nucleic Acids Research*, 2004, 32: 398-400.

[3] 武小霞,李文滨,张淑珍. 我国大豆转基因研究进展 [J]. *大豆科学*, 2005, 24(2): 144-149. (Wu X X, Li W B, Zhang S Z. The research advance on soybean transgene in China [J]. *Soybean Science*, 2005, 24(2): 144-149.)

[4] 李凤. 大豆子叶节高效再生体系的建立与 *GmCOI1* 基因的遗传转化 [D]. 长沙: 湖南农业大学, 2006. (Li F. Establishment of effective regeneration system of soybean cotyledonary nodes and genetic transformation of *GmCOI1* gene in soybean [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2006.)

[5] James C. Global status of commercialized biotech/GM crops: 2012. ISAAA Brief No.44 [M]. NY, Ithaca: 2012.

[6] 杨加银. 转基因大豆生产的现状与趋势 [J]. *世界农业*, 2002 (6): 40-42. (Yang J Y. Present situation and developing trends of transgenic soybean production [J]. *World Agriculture*, 2002 (6): 40-42.)

[7] 钱迎倩,魏伟,桑卫国,等. 转基因作物对生物多样性的影响 [J]. *生态学报*, 2001, 21(3): 337-343. (Qian Y Q, Wei W, Sang W G, et al. Effect of transgenic crops on biodiversity [J]. *2001*, 21(3): 337-343.)

[8] 陈继承,周瑞宝. 转基因大豆及其安全性 [J]. *粮食与油脂*, 2004 (9): 36-39. (Chen J C, Zhou R B. Transgenic soybeans and safety [J]. *Journal of Cereals & Oils*, 2004 (9): 36-39.)

[9] McCabe D E, Swain W F, Martinell B J, et al. Stable transformation of soybean (*Glycine max*) by particle acceleration [J]. *Bio Technology*, 1988, 6: 923-926.

[10] Hinchee M A W, Connor-Ward A V, Newell C A, et al. Production of transgenic soybean plants using *Agrobacterium* - mediated DNA transfer [J]. *Biotechnology*, 1988, 6: 915-922.

[11] Meurer C A, Dinkins R D, Collins G B. Factors affecting soybean cotyledonary node transformation [J]. *Plant Cell Reports*, 1998, 18(3-4): 180-186.

[12] Trick H N, Finer J J. Sonication - assisted *Agrobacterium* - mediated transformation of soybean [*Glycine max*(L.) Merrill] embryogenic suspension culture tissue [J]. *Plant Cell Reports*, 1998, 17 (6-7): 482-488.

[13] Zhao Z Y, Gu W, Cai T, et al. Molecular analysis of T₀ plants transformed by *Agrobacterium* and comparison of *Agrobacterium* - mediated transformation with bombardment transformation in maize [J]. *Maize Genetics Cooperation Newsletter*, 1998, 72: 34-37.

[14] Dai S H, Zheng P, Marmey P, et al. Comparative analysis of transgenic rice plants obtained by *Agrobacterium* - mediated transformation and particle bombardment [J]. *Molecular Breeding*, 2001, 7: 25-33.

[15] Shou H X, Frame B R, Whitham S A, et al. Assessment of transgenic maize events produced by particle bombardment or *Agrobacterium* - mediated transformation [J]. *Molecular Breeding*, 2004, 13(2): 201-208.

[16] Horsch R B, Fry J E, Hoffman N L, et al. A simple and general method for transferring genes into plants [J]. *Science*, 1985, 227 (4691): 1229-1231.

[17] Parrott W A, Hoffman L M, Hildebrand D F, et al. Recovery of primary transformants of soybean [J]. *Plant Cell Reports*, 1989, 7(8): 615-617.

[18] Zhang Z Y, Xing A Q, Staswick P, et al. The use of glufosinate as a selective agent in *Agrobacterium* - mediated transformation of soybean [J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 1999, 56: 37-46.

[19] 卜云萍,王广科,胡国武. 深黄被孢酶 $\Delta 6$ -脂肪酸脱氢酶基因导入大豆 [J]. *生物技术*, 2003, 13(3): 6-8. (Bu Y P, Wang G K, Hu G W. Introduction of $\Delta 6$ - fatty acid desaturase gene from *Mortierella isabellina* into soybeans by *Agrobacterium* infection [J]. *Biotechnology*, 2003, 13 (3): 6-8.)

[20] Olthoff P M, Somers D A. L - cysteine increases *Agrobacterium* - mediated T - DNA delivery into soybean cotyledonary - node cells [J]. *Plant Cell Reports*, 2001, 20(8): 706-711.

[21] Paz M M, Martinez J C, Kalvig A B, et al. Improved cotyledonary node method using an alternative explants derived from mature seed for efficient *Agrobacterium* - mediated soybean transformation [J]. *Plant Cell Reports*, 2006, 25(3): 206-213.

[22] Yamada T, Watanabe S, Arai M, et al. Cotyledonary node pre -

- wounding with a micro-brush increased frequency of *Agrobacterium*-mediated transformation in soybean [J]. *Plant Biotechnology*, 2010, 27(2): 217-220.
- [23] Liu S J, Wei Z M, Huang J Q. The effect of co-cultivation and selection parameters on *Agrobacterium*-mediated transformation of Chinese soybean varieties [J]. *Plant Cell Reports*, 2008, 27(3): 489-498.
- [24] 赵晓雯, 吴芳芳, 狄少康, 等. 农杆菌介导的大豆子叶节遗传转化技术流程及操作要点 [J]. *大豆科学*, 2011, 30(3): 362-368. (Zhao X W, Wu F F, Di S G, et al. Technique flow and key operation points of *Agrobacterium*-mediated genetic transformation of soybean cotyledonary node [J]. *Soybean Science*, 2011, 30(3): 362-368.)
- [25] 刘翠, 李喜焕, 常文锁, 等. 农杆菌介导大豆不同外植体遗传转化研究 [J]. *华北农学报*, 2012, 27(3): 35-40. (Liu C, Li X H, Chang W S, et al. Studies of *Agrobacterium*-mediated genetic transformation by different explants in soybean (*Glycine max*. L) [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2012, 27(3): 35-40.)
- [26] 蓝岚, 吴帅, 申丽威, 等. 根瘤农杆菌介导大豆转 Bt-cryIA 杀虫基因 [J]. *中国油料作物学报*, 2013, 35(1): 29-35. (Lan L, Wu S, Shen L W, et al. Transgenic of soybean with Bt-cryIA gene mediated by *Agrobacterium tumefaciens* [J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2013, 35(1): 29-35.)
- [27] Wang P, Wang G, Ji J, et al. Genetic transformation of immature cotyledon via *Agrobacterium tumefaciens* in soybean [J]. *Soybean Science*, 2004, 23(2): 86-89.
- [28] Dang W, Wei Z M. Efficient *Agrobacterium*-mediated transformation of soybean [J]. *Journal of Molecular Cell Biology*, 2007(3): 85-96.
- [29] 姜楠, 王东, 崔征, 等. 异黄酮合成酶基因高表达的大豆转基因愈伤组织的研究 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2009, 26(1): 63-68. (Jiang N, Wang D, Cui Z, et al. Transgenic soybean callus with high expression of IFS gene [J]. *Journal of Shenyang Pharmaceutical University*, 2009, 26(1): 63-68.)
- [30] 王晓春, 李静, 王萍, 等. 基因枪法对大豆进行 *CpTI* 基因的遗传转化 [J]. *华北农学报*, 2007, 22(2): 10-14. (Wang X C, Li J, Wang P, et al. Put CpTI Gene transfer of soybean somatic embryo via microprojectile bombardment [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2007, 22(2): 10-14.)
- [31] Finer J J, McMullen M D. Transformation of soybean via particle bombardment of embryonic suspension culture tissue [J]. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 1991, 27: 175-182.
- [32] Aragão F J L, Sarokin L, Vianna G R, et al. Selection of transgenic meristematic cells utilizing a herbicidal molecule results in the recovery of fertile transgenic soybean [*Glycine max*(L.) Merrill] plants at a high frequency [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2000, 101: 1-6.
- [33] Stewart C N J, Adang M J, All J N, et al. Genetic transformation, recovery, and characterization of fertile soybean transgenic for a synthetic *Bacillus thuringiensis cryIAc* gene [J]. *Plant Physiology*, 1996, 112(1): 121-129.
- [34] Hadi M Z, McMullen M D, Finer J J. Transformation of 12 different plasmids into soybean via particle bombardment [J]. *Plant Cell Reports*, 1996, 15(7): 500-505.
- [35] Santarem E R, Finer J J. Transformation of soybean [*Glycine max*(L.) Merrill] using proliferative embryonic tissue maintained on semi-solid medium [J]. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 1999, 35(6): 451-455.
- [36] Maughan P J, Philip R, Cho M J, et al. Biolistic transformation, expression, and inheritance of bovine beta-casein in soybean (*Glycine max*) [J]. *In Vitro Cellular & Developmental Biology*, 1999, 35(4): 344-349.
- [37] Ponappa T, Brzozowski A E, Finer J J. Transient expression and stable transformation of soybean using the jellyfish green fluorescent protein [J]. *Plant Cell Reports*, 1999, 19(1): 6-12.
- [38] Khalafalla M M, Rahman S M, El-Shemy H A, et al. Optimization of particle bombardment conditions by monitoring of transient sGFP (S65T) expression in transformed soybean [J]. *Breeding Science*, 2005, 55(3): 257-263.
- [39] 王萍, 王罡, 吴颖, 等. 影响大豆基因枪遗传转化因子的研究 [J]. *农业生物技术学报*, 2002, 10(3): 36-37. (Wang P, Wang G, Wu Y, et al. Studies in the factors affecting on genetic transformation by particle bombardments in soybean [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2002, 10(3): 36-37.)
- [40] 周光宇, 翁坚, 龚蓁蓁. 农业分子育种-授粉后外源 DNA 导入植物的技术 [J]. *中国农业科学*, 1988, 21(3): 1-6. (Zhou G Y, Wong J, Gong Z Z. Molecular breeding of agriculture-A technique for introducing exogenous DNA into plants after self pollination [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 1988, 21(3): 1-6.)
- [41] Lei B J, Yin G C, Lu C H, et al. Study on exogenous DNA directly transferred into soybean [J]. *Soybean Science*, 1991, 10(1): 58-63.
- [42] Lei B J, Li X C, Lu C H, et al. Introduction of wild soybean DNA into cultivar soybean and molecular RAPD confirmation [J]. *Science in China Series B*, 1994, 24: 596-601.
- [43] Liu J F, Su Q, An L J, et al. Transfer of a minimal linear marker free and vector-free smGFP cassette into soybean via ovary-drip transformation [J]. *Biotechnological Letters*, 2009, 31(2): 295-303.
- [44] Shou H X, Palmer R G, Wang K. Irreproducibility of the soybean pollen-tube pathway transformation procedure [J]. *Plant Molecular Biology Reporter*, 2002, 20: 325-334.
- [45] 刘北东, 朱延明, 杨谦, 等. 大豆再生体系的建立及遗传转化的研究进展 [J]. *大豆科学*, 2003, 22(1): 64-70. (Liu D B, Zhu Y M, Yang Q, et al. Recent advances in soybean tissue culture and gene transformation [J]. *Soybean Science*, 2003, 22(1): 64-70.)
- [46] Cheng T Y, Saka H, Voqui-Dinh T H. Plant regeneration from soybean cotyledonary node segments in culture [J]. *Plant Science Letters*, 1980, 19: 91-99.
- [47] Luo G, Hepburn A, Widholm J. A simple procedure for the expression of genes in transgenic soybean callus tissue [J]. *Plant Cell Reports*, 1994, 13(11): 632-636.
- [48] 姬月梅, 陈受宜, 李英慧. 农杆菌介导大豆子叶节遗传转化体系的优化研究 [J]. *大豆科学*, 2008, 27(1): 26-32. (Ji Y M, Chen S Y, Li Y H, et al. Optimization of genetic transformation system from soybean cotyledon mediated by *Agrobacterium* [J]. *Soybean Science*, 2008, 27(1): 26-32.)

- [49] 王伟, 王罡, 季静, 等. 大豆子叶节植株再生体系的优化及转 *EPSPS* 基因的研究 [J]. 作物杂志, 2012(3): 23-27. (Wang W, Wang G, Ji J, et al. Optimization of plant regeneration system via cotyledonary node and transformation of *EPSPS* gene in soybean [J]. Crops, 2012(3): 23-27.)
- [50] 姬月梅, 张银霞, 宋晓华. 农杆菌介导大豆遗传转化的研究进展 [J]. 农业科学研究, 2009, 30(1): 47-50. (Ji Y M, Zhang Y X, Song X H, et al. Research progress of *Agrobacterium*-mediated transformation in soybean [J]. Journal of Agricultural Sciences, 2009, 30(1): 47-50.)
- [51] Liu H K, Yang C, Wei Z M. Efficient *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of soybeans using an embryonic tip regeneration system [J]. Planta, 2004, 219: 1042-1049.
- [52] Kartha K K, Pahl K, Leung N L, et al. Plant regeneration from meristems of grain legumes: Soybean, cowpea, peanut, chickpea, and bean [J]. Canadian Journal of Botany, 1981, 59: 1671-1679.
- [53] Barwale U B, Keans H R, Widholm J M. Plant regeneration from callus cultures of several soybean genotypes *via* embryogenesis and organogenesis [J]. Planta, 1986, 167(4): 473-481.
- [54] Wright M S, Ward D V, Hinchee M A, et al. Regeneration of soybean (*Glycine max* L. Merr.) from cultured primary leaf tissue [J]. Plant Cell Reports, 1987, 6(2): 83-89.
- [55] Wright M S, Williams M H, Pierson P E, et al. Initiation and propagation of *Glycine max* (L.) Merr.: Plants from tissue-cultured epicotyls [J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 1987, 8: 83-90.
- [56] McCabe D E, Swain W F, Martinell B J, et al. Stable transformation of soybean (*Glycine max*) by particle acceleration [J]. Biotechnology, 1988, 6: 923-926.
- [57] Kim J, LaMotte C E, Hack E. Plant regeneration *in vitro* from primary leaf nodes of soybean (*Glycine max*) seedlings [J]. Journal of Plant Physiology, 1990, 136(6): 664-669.
- [58] Wei Z M, Xu Z H. Plant regeneration from protoplasts of soybean (*Glycine max* L.) [J]. Plant Cell Reports, 1988, 7(5): 348-351.
- [59] 罗希明, 赵桂兰, 简玉瑜. 大豆原生质体的植株再生 [J]. 植物学报, 1990, 32(8): 616-621. (Luo X M, Zhao G L, Jian Y Y. Plant regeneration from protoplast of soybean [J]. Acta Botanica sinica, 1990, 32(8): 616-621.)
- [60] Dhir S K, Dhir S, Widholm J M. Regeneration of fertile plants from protoplasts of soybean (*Glycine max* L. Merr.): Genotypic differences in culture response [J]. Plant Cell Reports, 1992, 11(2): 85-89.
- [61] 张贤泽, 小松田隆夫. 大豆原生质体经体细胞胚胎再生植株 [J]. 中国科学(B辑), 1993, 23(2): 154-158. (Zhang Z X, Takao Komatsuda. Plant regeneration from somatic embryogenesis of soybean protoplast [J]. Science in China (Series B), 1993, 23(2): 154-158.)
- [62] 肖文言, 王连铮. 大豆幼荚子叶原生质体培养及植株再生 [J]. 作物学报, 1994, 20(6): 2665-2669. (Xiao W Y, Wang L Z. Protoplast culture and plant regeneration of immature cotyledons of soybean (*Glycine max* L.) [J]. Acta Agronomica Sinica, 1994, 20(6): 2665-2669.)
- [63] Christianson M L, Warnick D A, Carlson P S. A morphogenetically competent soybean suspension culture [J]. Science, 1983, 222: 632-634.
- [64] Lazzeri P A, Hildebrand D F, Collins G B. A procedure for plant regeneration from immature cotyledon tissue of soybean [J]. Plant Molecular Biology Reporter, 1985, 3(4): 160-168.
- [65] Ranch J P, Oglesby L, Zielinski A C. Plant regeneration from embryo derived tissue cultures of soybeans [J]. In Vitro Cellular & Developmental Biology, 1985, 21(11): 653-658.
- [66] Barwale U B, Keans H R, Widholm J M. Plant regeneration from callus cultures of several soybean genotypes *via* embryogenesis and organogenesis [J]. Planta, 1986, 167: 473-481.
- [67] Finer J J. Apical proliferation of embryogenic tissue of soybean (*Glycine max* L. Merrill) [J]. Plant Cell Reports, 1988, 7(4): 238-241.
- [68] Finer J J, Nagasawa A. Development of an embryogenic suspension culture of soybean (*Glycine max* Merrill.) [J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 1988, 15(2): 125-136.
- [69] 张淑珍, 徐鹏飞, 林世锋. 大豆体细胞胚再生体系的研究进展及展望 [J]. 大豆科学, 2004, 23(3): 232-236. (Zhang S Z, Xu P F, Lin S F. Recent advances and prospect on soybean somatic embryogenesis system [J]. Soybean Science, 2004, 23(3): 232-236.)
- [70] 王晓春, 王罡, 季静. 农杆菌介导的大豆体细胞胚遗传转化影响因子的研究 [J]. 大豆科学, 2005, 24(1): 21-26. (Wang X C, Wang G, Ji J. The factors influencing genetic transformation system in somatic embryos of soybean mediated by *Agrobacterium* [J]. Soybean Science, 2005, 24(1): 21-26.)
- [71] 刘北东, 朱延明, 杨谦, 等. 大豆再生体系的建立及遗传转化的研究进展 [J]. 大豆科学, 2003, 22(1): 63-68. (Liu D B, Zhu Y M, Yang Q, et al. Recent advances in soybean tissue culture and gene transformation [J]. Soybean Science, 2003, 22(1): 63-68.)
- [72] Donaldson P A, Simmonds D H. Susceptibility to *Agrobacterium tumefaciens* and cotyledonary node transformation in short-season soybean [J]. Plant Cell Reports, 2000, 19(5): 478-484.
- [73] 李文霞, 吕文河, 李文滨, 等. 基因型对大豆子叶节系统再生和转化的影响 [J]. 作物杂志, 2007(3): 71-73. (Li W X, Lyu W H, Li W B, et al. Effect of genotype on soybean cotyledonary node regeneration system and transformation [J]. Crops, 2007(3): 71-73.)
- [74] 王凤敏, 李涛, 王运杰, 等. 影响农杆菌介导大豆子叶节遗传转化因素的研究 [J]. 大豆科学, 2011, 30(4): 557-562. (Wang F M, Li T, Wang Y J, et al. Assessment of factors affecting soybean cotyledonary node *Agrobacterium* mediated genetic transformation [J]. Soybean Science, 2011, 30(4): 557-562.)
- [75] 邱波, 王志坤, 孟凡立, 等. 不同大豆基因型再生性及对农杆菌敏感性的研究 [J]. 大豆科学, 2011, 30(5): 752-756. (Qiu B, Wang Z K, Meng F L, et al. Regeneration and sensitivity to *Agrobacterium* of different soybean genotypes [J]. Soybean Science, 2011, 30(5): 752-756.)
- [76] Ko T S, Lee S, Krasnyanski S, et al. Two critical factors are required for efficient transformation of multiple soybean cultivars: *Agrobacterium* strain and orientation of immature cotyledonary explant [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2003, 107(3): 439-447.

- [77] 刘海坤, 卫志明. 利用根瘤农杆菌介导转化大豆成熟种胚尖获得转基因植株 [J]. 植物生理与分子生物学学报, 2004, 30(6): 631-636. (Liu H K, Wei Z M. Transgenic soybean obtained with *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of embryonic tip of soybean mature seeds [J]. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology, 2004, 30(6): 631-636.)
- [78] 王栋, 买合木提·克衣木, 王永雄, 等. 植物组织培养中的褐化现象及其防止措施 [J]. 黑龙江农业科学, 2008(1): 7-10. (Wang D, Keyimu·M, Wang Y X, et al. Browning phenomenon in plant tissue culture and its prevention measures [J]. Heilongjiang Agricultural Sciences, 2008(1): 7-10.)
- [79] 李海燕, 刘森, 吴小霞, 等. 大豆转化过程中的褐化现象研究 [J]. 作物杂志, 2010(1): 33-36. (Li H Y, Liu M, Wu X X, et al. Study on the browning during soybean transformation [J]. Crops, 2010(1): 33-36.)
- [80] 王昌陵, 赵军, 李英慧, 等. 转录因子 ABP9 转化大豆 (*Glycine max* L.) 及遗传转化条件优化 [J]. 中国农业科学, 2008, 41(7): 1908-1916. (Wang C L, Zhao J, Li Y H, et al. Transforming transcription factor ABP9 into soybean and optimization of the transformation system [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2008, 41(7): 1908-1916.)
- [81] Olhoft P M, Flagel L E, Donovan C M, et al. Efficient soybean transformation using hygromycin B selection in the cotyledonary-node method [J]. Planta, 2003, 5: 723-735.
- [82] 汲逢源, 王戈亮, 许亦农. 抗氧化剂对农杆菌介导的大豆下胚轴 *GUS* 基因瞬时表达的影响 [J]. 植物生态学报, 2006, 30(2): 330-334. (Ji F Y, Wang G L, Xu Y N. The effects of antioxidants on the transient expression of *GUS* gene in soybean hypocotyls mediated by *Agrobacterium tumefaciens* [J]. Journal of Plant Ecology, 2006, 30(2): 330-334.)
- [83] Wang G L, Xu Y N. Hypocotyl based *Agrobacterium* mediated transformation of soybean (*Glycine max*) and application for RNA interference [J]. Plant Cell Reports, 2008, 27(7): 1177-1184.
- [84] 龚学臣, 季静, 王萍, 等. 苗龄与 6-BA 浓度对大豆子叶节丛生芽诱导的影响 [J]. 吉林农业大学学报, 2005, 27(2): 128-130. (Gong X C, Ji J, Wang P, et al. Effect of aseptic seeding age and 6-BA concentration on overgrowing shoots of soybean cotyledonary node [J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2005, 27(2): 128-130.)
- [85] 武小霞, 李静, 姜成涛, 等. 大豆子叶节再生中植物生长调节剂浓度及基因型筛选 [J]. 中国油料作物学报, 2011, 33(2): 123-129. (Wu X X, Li J, Jiang C T, et al. Optimization of regeneration system from soybean cotyledonary node [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2011, 33(2): 123-129.)
- [86] 陈李森, 田星星, 单志慧, 等. 利用农杆菌介导法转化大豆子叶节的影响因素研究 [J]. 大豆科学, 2012, 31(1): 17-23. (Chen L M, Tian X X, Shan Z H, et al. Optimization of the factors affecting genetic transformation of soybean cotyledonary node mediated by *Agrobacterium tumefaciens* [J]. Soybean Science, 2012, 31(1): 17-23.)
- [87] 邱承祥, 武天龙. 6-BA 对大豆茎尖诱导再生植株的研究 [J]. 大豆科学, 2003, 22(1): 32-35. (Qiu C X, Wu T L. Study on 6-BA to the regeneration of tip shoot of soybean [J]. Soybean Science, 2003, 22(1): 32-35.)
- [88] Zeng P, Vadvnais D A, Zhang Z, et al. Refined glufosinate selection in *Agrobacterium*-mediated transformation of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] [J]. Plant Cell Reports, 2004, 22(7): 478-482.
- [89] 刘京, 刘建巍, 韩天富, 等. 潮霉素作为筛选剂对大豆发状根诱导的影响 [J]. 大豆科学, 2013, 32(4): 449-454. (Liu J, Liu J W, Han T F, et al. Effect of hygromycin as a screening agent on the induction of soybean hairy roots [J]. Soybean Science, 2013, 32(4): 449-454.)
- [90] 宋张悦. 以草甘膦为筛选剂的大豆转基因研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2013. (Song Z Y. Transformation of soybean using glyphosate as a selective agent [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2013.)
- (上接第 154 页)
- [48] 范冬梅, 孙殿君, 马占洲, 等. 多种环境下大豆单株粒重 QTL 的定位与互作分析 [J]. 作物学报, 2013, 39(6): 1021-1029. (Fan D M, Sun D J, Ma Z Z, et al. QTL mapping and interaction analysis of seed weight per plant in soybean among different environments [J]. Acta Agronomica Sinica, 2013, 39(6): 1021-1029.)
- [49] 孙梦阳, 王艳, 武林, 等. 黑龙江省主栽大豆品种脂肪含量分析及 SSR 分子标记辅助鉴定 [J]. 大豆科学, 2013, 32(2): 143-148. (Sun M Y, Wang Y, Wu L, et al. Analysis of oil content underlying major soybean cultivars of Heilongjiang province and SSR molecular marker-assisted identification [J]. Soybean Science, 2013, 32(2): 143-148.)
- [50] 王涛, 杨春燕, 赵青松, 等. 两个大豆开花期 QTL 定位及对农艺性状的影响分析 [J]. 华北农学报, 2013, 28(2): 63-69. (Wang T, Yang C Y, Zhao X S, et al. Two quantitative trait loci for flowering time and their effect on agronomic traits in soybean [J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2013, 28(2): 63-69.)
- [51] 邢光南, 刘泽稀楠, 谭连美, 等. 大豆叶面茸毛密度和长度的 QTL 定位 [J]. 作物学报, 2013, 39(1): 12-20. (Xing G N, Liu Z X N, Tan L M, et al. QTL mapping of pubescence density and length on leaf surface of soybean [J]. Acta Agronomica Sinica, 2013, 39(1): 12-20.)
- [52] 王吴彬, 何庆元, 杨红燕, 等. 大豆结荚习性、荚色和种皮色相关野生片段分析 [J]. 作物学报, 2013, 39(7): 1155-1163. (Wang W B, He Q Y, Yang H Y, et al. Identification of wild segments associated with stem termination, pod color, and seed coat color in soybean [J]. Acta Agronomica Sinica, 2013, 39(7): 1155-1163.)
- [53] 徐艳平. 分枝数和种皮色相关 QTL 的定位及抗旱野生大豆种质的筛选 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2013: 13-27. (Xu Y P. Mapping the QTL for soybean branch number and seed coat color and screening drought-tolerant wild soybean germplasm [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2013: 13-27.)