

大豆突变体库构建研究进展

张小明¹, 薛永国^{1,2}

(1. 东北农业大学 农学院, 黑龙江 哈尔滨 150030; 2. 黑龙江省农业科学院 大豆研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:大豆突变体库是大豆农艺性状变异的重要来源, 可以作为选育新品种资源和大豆基因功能研究的基础。综述了几种常用大豆突变体库的构建方法及其构建特点和应用范围, 介绍了一些突变体库构建的新方法及其优缺点, 并对这些新方法在大豆突变体库构建应用中进行了展望, 为大豆育种实践和基因功能研究拓宽思路 and 提供参考。

关键词:大豆; 诱变; 突变体库; 体细胞胚

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

DOI: 10.11861/j.issn.1000-9841.2016.02.0345

Research Progress of Soybean Mutant Library Construction

ZHANG Xiao-ming¹, XUE Yong-guo^{1,2}

(1. College of Agriculture, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China; 2. Soybean Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China)

Abstract: Soybean mutant library is an important source of agronomic traits variation of soybean, which can be used as a basis for the study of new varieties and soybean gene function. This paper reviewed several methods of soybean mutant library construction and their characteristics and application scope, introduced some new methods in this field as well as their advantages and disadvantages, meanwhile, the prospect of the new method in the construction of soybean mutant library was prospected. The summaries will broaden the thinking and reference for soybean breeding practice and gene function research.

Keywords: Soybean; Mutagenize; Mutant library; Somatic embryo

大豆是我国重要的油料、经济作物, 是人类重要的植物蛋白和油分的来源。大豆生长过程中极易受到病虫、逆境的影响, 致使产量、品质下降。通常培育各种抗性和耐性品种是所有防护措施中最经济有效的途径。在品种培育中最常采用的方法就是利用各种抗性资源或者突变体作为品种改良资源进行传统杂交育种, 或者利用突变体作为获得各类抗性基因来源进行分子标记或者转基因育种。这其中, 各类特异抗性种质或者特殊突变体的获得与鉴定就显得非常重要^[1]。自然界中存在的各类抗性资源是物种内部变异长期累积的结果, 这种变异需要长时间的自然选择和累积, 而且数量十分有限^[2]。而突变体库的创建无疑极大加速了变异, 可迅速获得新变异、新表型、新基因, 为发现和创造新材料、新资源开辟了一条新途径^[2-3]。大豆突变体库构建就是利用各种物理因素、化学因素以及生物因素等诱发大豆发生可遗传的变异。随着 2010 年大豆基因测序完成和新的测序技术的发展, 出现了海量的测序数据, 大量的大豆重要功能基因等待挖掘和解析^[4], 而突变体库的构建则为有效解决上述科学问题提供了基础平台和有效途径。本文总结了大豆突变体构建方面的一些研究进展, 为大豆育种实践和基因功能研究拓宽思路 and 提供参考。

1 大豆突变体库构建与应用

1928 年首次报道辐射诱变以来, 人们利用各种物理、化学以及生物学的手段, 创造作物内部 DNA 结构或序列发生变化, 诱发植物产生遗传变异, 进而获得自然界没有的或难以获得的新表型和突变^[5]。大豆突变体构建与其它作物一样, 化学诱变方法主要包括: 甲基磺酸乙酯 (EMS)、叠氮化钠 (sodium azide, NaN₃)、平阳霉素、秋水仙素等诱变剂的对大豆籽粒或者体细胞胚的诱变处理; 物理诱变方法利用电离辐射诱变大豆籽粒, 引起大豆 DNA 序列或结构变化, 最常采用的射线有⁶⁰Co- γ 射线、激光、热中子诱变和快中子等, 也有综合失重和多种射线辐射的航天诱变^[6]; 生物诱变主要时 T-DNA 插入诱变和转座子介导诱变等^[7]。

1.1 化学诱变

化学诱变多发生的是点突变, 其后代遗传较为清晰, 而且可以获得更多的方便研究和利用的变异。EMS 和 NaN₃ 是一种稳定、高效的诱变点突变的诱变剂。EMS 通常带有一个活性烷基, 能够烷化碱基, 改变氢键。一是鸟嘌呤 N-7 烷化, 糖苷键断裂脱去嘌呤, 原来位置空缺, 在 DNA 复制过程中其互补位置 4 种碱基均有可能进入, 造成一种置换突变;

二是烷化的鸟嘌呤能够与胸腺嘧啶配对,导致碱基替换即 G:C 变为 A:T,发生转换型突变。此外,EMS 还可以使遗传物质发生糖-磷酸骨架断裂,产生染色体缺失等。 NaN_3 在酸性溶液中产生 NH_3 分子碱基替换的方式影响 DNA 的正常合成,从而产生诱变^[3]。目前通过化学诱变获得的大豆突变体已经取得诸多成果,既有通过 EMS 诱变大豆籽粒,获得了大豆农艺性状^[7]、品质性状或营养成分^[8-12]、根瘤^[13-14]、抗除草剂^[15]等突变的突变体,也有针对同一品种所获突变体后代作为突变体库进行整体分析研究^[7,16],还有利用 NaN_3 诱变大豆籽粒,获得了类似的突变体^[17-20],以及通过多种诱变方法相结合,构建了大豆突变体库^[21-22]。

1.2 辐射诱导突变

辐射诱变指利用 x 、 γ 、 α 、 β 、中子和紫外光等电离辐射照射生物体,能够引起生物 DNA 序列或结构发生改变,直接的效应为碱基、脱氧核糖及糖-磷酸各自化学键的断裂,间接效应为因电离而产生的自由基较易作用于嘧啶,从而引起缺失和损伤,造成基因突变及染色体倒置、缺失和易位等畸变^[23]。辐射诱变是大豆获得变异的重要方法,因而被广泛应用。

^{60}Co - γ 射线和快中子是辐射诱变中应用最广泛的两种诱变方法。 ^{60}Co - γ 射线引发突变的主要是由染色体结构的颠换缺失异位等变化引起的,变异位点随机不固定^[4]。 ^{60}Co - γ 射线诱变和快中子都属于电离辐射,诱变方法简单、诱变率高,通过对大豆籽粒的照射,在 M_1 代中会表现大量的畸形和生育期变化,在 M_2 代中即出现大量稳定的突变体,通过外观农艺性状很容易分辨,被广泛应用于突变体库的构建。许多试验把 ^{60}Co - γ 射线诱变作为标准方法与其它诱变方法比较^[6]。快中子主要能够直接破坏基因或者引起大范围的基因缺少,能够引起几个碱基到几百万碱基的缺失^[24-27]。快中子辐射在许多植物中都有应用,包括拟南芥、水稻、苜蓿^[28-30]、以及豆科的百脉根、大豆和野生大豆^[31-33]。这些被用来构建突变体库进行基因和分子功能研究。

我国于 1958 年黑龙江省农业科学院首先开始应用直接辐射诱变选育大豆品种,主要育成品种有黑农 4~8 号、黑农 16、黑农 26、黑农 41 以及一批突变体材料^[34-35]。随后全国各地多个大豆培育单位开始辐射育种,1987 年全国辐射育成并推广的大豆品种有 22 个,辽豆 1、3 号、铁丰 18 和 19,丰收 11、诱变 31 等都是利用 ^{60}Co - γ 射线培育大豆品种^[35]。直接辐射育种从诞生至今一直在应用,近些年黑龙江辐射育成品种有合丰 36、合育 46 和 47、绥农 12、

垦鉴豆 33,截止 2014 年时,黑龙江通过辐射育成大豆品种占到全部品种的 6% 左右^[36]。

1.3 插入突变

插入突变实质就是基因捕获技术,就是将带有报告基因的重组载体随机整合到基因组中,使插入基因被激活或失活,然后通过检测报告基因的表达和利用一些基于 PCR 的分子生物学技术来分离被插入基因的研究基因功能的新方法^[37]。它一般包括 T-DNA 插入突变和转座子插入突变。利用 T-DNA 插入可建立起大规模的突变群体,有利于筛选出有价值的基因或个体^[38]。在拟南芥^[39-40]、水稻^[41-42]等植物上均有成功应用,现已被广泛应用于植物突变体库的构建和基因分离^[43]。

插入突变的另一种有效方式是转座子插入突变。转座子常被称跳跃因子,其实质是具有特定长度的 DNA 片段,可以从染色体的一个位点“跳”到另一个位点,或从一条染色体转移到另一条染色体上,在水稻^[43]、拟南芥^[44]、大豆^[45]中均有成功利用。其产生突变的机理为:转座子在转座时可以使染色体发生断裂、缺失、倒位、重复等变异,同时插入后或影响转录,或影响翻译,从而引起被插入基因的遗传不稳定性或突变^[37]。

FOX 捕获系统(full-length cDNA over-expression gene hunting system)是一种新兴基因捕获技术,也是获得突变体的一种方法。FOX 捕获系统是利用一类或者大量的全长 cDNA,构建表达载体,在拟南芥等容易转化的植物中进行遗传转化,可以获得此基因的异位表达。同时也属于基因插入突变,从而可以系统地得到功能获得型突变体^[46]。

2 大豆各类突变体库的特点

EMS 与 NaN_3 构建的突变体库类似,一般 M_1 代无明显的表型变异,只是出现大量致死突变和结荚少的情况,在 M_2 代可获得多种类型的变异,在可观测到的农艺性状方面,如茎、叶、花、荚、种子、成熟方面均可观察到变异植株。但变异率比较低,约为 0.1%~0.5%。变异位点相对较少,用 SSR 标记进行全基因组扫描分析发现,大部分是几个位点变异^[7],不仅出现原有基因功能缺失或者增强,而且也会出现新的变异,化学诱变产生的变异可以直接应用于育种^[40]。对于变异位点较少,而变异表型较明显的植株,利于挖掘有利基因和进行功能基因分析。同时,可在大豆改良育种中加以应用。

辐射突变直接或间接地引起 DNA 结构变化,造成基因突变及染色体倒置、缺失和易位等畸变。突变的频率较高,表型变异可达到 3% 以上,能够较容

易获得突变体,而且突变位置随机,突变会涉及大豆诸多农艺性状和品质性状。因为辐射多是造成染色体易位、倒位和缺失等大片段的突变,容易引起不相关基因缺失,所以对植株本身伤害较大,而且稳定慢,能够直接作为育种资源加以利用或者作为基因功能分析研究的较少^[40]。

T-DNA 或者转座子构建的大豆突变体库,很方便通过载体的已知序列克隆到突变基因^[43]。这种突变体库在基因克隆和功能方面研究起到很重要的作用。但是通过 T-DNA 或者转座子得到的多是插入突变,同时因为其标签序列的存在,还会存在生物完全性等方便的影响,不利于直接应用于育种^[47]。T-DNA 通常会在单一植株中造成多拷贝插入,可能是单个位点的多拷贝串联,也可能是多个位点的 T-DNA 插入。此外,插入事件中还往往有其他复杂的现象,比如 T-DNA 与临近染色体 DNA 的重排或者本身的同向或反向串联重复等^[48-49]。这些情况都使被插入基因的分离和分析变得困难。另外插入突变技术都要借助成熟的转化技术作为支撑,对于比较难转化的作物,难以获得大量的突变体库。

3 存在的问题与展望

3.1 存在的问题

目前大豆突变体构建主要是利用本文前述的方法,诱导的主要途径是通过大豆籽粒诱变或再生芽分化过程中的利用转基因技术插入突变。通过诱变大豆籽粒的途径,方便快捷,但嵌合体多,突变率低。这种途径是目前应用最多的途径。无论辐射还是化学诱变,一般都是应用籽粒这种途径。但是大豆籽粒的诱变属于多器官细胞发生诱变,而最终发育成植株时,会形成很多嵌合体,遗传不稳定,而且突变率低,有利突变太少。

各类突变都具有不确定性,获得的突变体后代,需要经过详细而大量的鉴定,才能明确其突变的位点和特点,工作量大,过程繁杂,耗时耗力,亟待寻求一条更高效的方法。

3.2 展望

虽然在大豆突变体构建中,各类诱变具有一定的随机性,诱变效率也不高,但目前分子生物技术等其他新技术的出现和结合,促使诱变获得大豆突变体库的技术重新焕发活力。

针对诱变率低的问题,人们通过体细胞胚诱变的途径逐渐得到解决。Chen 等^[47]利用 EMS 诱变水稻体细胞胚,进行悬浮培养,得到更理想效果,突变率达到 29.4%。大豆体细胞胚培育和 EMS 诱变是

两个非常成熟的技术,大豆体细胞胚发生是以未成熟胚子叶在诱导培养基上诱导生成体细胞胚,而体细胞经过诱导根、芽的生成,很容易获得再生植株^[50]。Lazzeri^[51]和 Ranch^[52]等建立形成了大豆体细胞胚的发生条件。Finer 等^[53]报道了一个体细胞胚胎发生的悬浮培养系统。该系统能让胚性细胞形成众多体细胞胚,并可以获得大量的再生植株;EMS 诱变原理清楚,技术成熟。所以,把这两个技术结合,是非常理想的组合。Sung^[54]早在 1976 年就进行了化学诱变悬浮培养大豆体细胞胚的尝试,发现诱变效果比自然突变高很多,确实有诱变效果。1986 年 Fujii 等^[55]进行了 EMS 诱变,通过观察特定的基因,发现确实发生了点突变,而且突变的显隐性具有随机性。并获得了叶子点突变的后代。van Kyujung 等^[56]用 EMS 诱导利用体细胞胚产生大量突变体,突变率达到 12% 以上,而且多是点突变。Hofmann 等^[57]利用 EMS 诱变体细胞胚突变,并用 RAPD 检测,达到很好的效果。

随着测序技术的发展,分子标记聚合育种技术的成熟,EMS 诱变获得突变体多为点突变诱变,已经在水稻育种上有成功应用,其点突变可以将生物信息学、分子生物学与遗传育种巧妙结合,使育种分离稳定和筛选年限比传统育种缩短一半以上。

对于较难转化的高等植物,人们难以获得大量的 T-DNA 突变体,人们发明了 FOX 捕获系统。只要能够克隆获得该植物的全长 cDNA,便可以使该基因在拟南芥等模式植物中进行异位表达,可以获得该基因的功能。目前已经在拟南芥和水稻中有上万条以上的 FOX-line,得到众多表型变异,并建立了相应的资源数据库^[58-61]。大豆是没有高效、稳定遗传转化系统,属于难以转化的作物,所以 FOX 捕获系统正好可以弥补这一缺点,对大豆分子功能学研究具有促进作用。

对于各种突变技术获得的大量突变体,人们发明了一种快捷的鉴定技术—TILLING (Targeting Induced Local Lesions In Genomes) 技术。TILLING 技术是把 PCR 筛选技术和高通量检测方法相结合,快速筛选突变点或突变基因的技术体系^[62]。针对构建的各类突变体库,可以利用 TILLING 技术,迅速筛选到发生突变的位点,结合观察到的突变表型,便于与常规育种技术相结合,实现优良等位基因或等位变异在一个品种中聚合,从而利于培育高产、抗逆、广适应的新品种^[63]。

诱变育种作为丰富种质资源,选育新品种的重要手段之一,已被广泛应用于植物的育种。世界上已经有 50 多个国家在 154 种植物上利用诱变方法

育成了品种^[64]。其在创制具有高产、矮秆、早熟等农艺性状的大豆新品种和新材料方面已经取得了一大批丰硕的成果^[65]。大豆通过诱变建立的突变体库可为大豆育种提供育种种质资源,同时可以加快大豆基因功能解析与应用。

参考文献

- [1] 盖钧镒,刘康,赵晋铭. 中国作物种业科学技术发展的评述[J]. 中国农业科学, 2015,48(17):3303-3315. (Gai J Y, Liu K, Zhao J M. A review on advances in science and technology in Chinese seed industry[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2015,48(17):3303-3315.)
- [2] 张文兴,赵晋锋. 谷子诱变育种研究现状[J]. 生物技术进展, 2013,3(4):243-247. (Zhang W X, Zhao J F. Research situation of mutagenesis breeding in millet[J]. Current Biotechnology, 2013,3(4):243-247.)
- [3] 徐明,路铁刚. 植物诱变技术的研究进展[J]. 生物技术进展, 2011,1(2):90-97. (Xu M, Lu T G. Research progress of plant mutagenesis technology[J]. Current Biotechnology, 2011,1(2):90-97.)
- [4] Courtney W. 美科学家完成大豆基因组测序[J]. 农业生物技术学报, 2010, 18(1): 191. (Courtney W. US scientists sequenced the genome of soybean[J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2010, 18(1): 191.)
- [5] 马惠平,赵永亮,杨光宇. 诱变技术在作物育种中的应用[J]. 遗传, 1998,20(4):48-50. (Ma H P, Zhao Y L, Yang G Y. Application of induced mutation technology for crop breeding[J]. Hereditas (Beijing), 1998,20(4):48-50.)
- [6] 吴春雷,翟红,吴红艳,等. 大豆极早熟品种⁶⁰Co- γ 射线突变体库的建立及突变表型鉴定[J]. 大豆科学, 2014,33(6):820-826. (Wu C L, Zhai H, Wu H Y, et al. Identify of mutant phenotype and construction of ⁶⁰Co- γ mutant population for soybean extremely early maturing cultivar[J]. Soybean Science, 2014,33(6):820-826.)
- [7] 谢圣男,王宏光,杨振,等. 大豆绥农 14 突变体库构建及株高性状分析[J]. 核农学报, 2018,27(3): 307-313. (Xie S N, Wang H G, Yang Z, et al. Construction of Suinong 14 mutant library and analysis of soybean height mutant[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2018,27(3): 307-313.)
- [8] 于秀普,杜连恩,魏玉昌. EMS 诱发大豆突变可筛选高蛋白或高脂肪含量种子资源[J]. 作物品种资源, 1996(1): 24-26. (Yu X P, Du L En, Wei Y C. Screening of high protein or high fat content seed resources by EMS induced soybean mutation[J]. China Seed Industry, 1996(1): 24-26.)
- [9] 王培英,王连铮,朴德万. EMS 诱发大豆脂肪酸组成优良突变的研究[J]. 核农学报, 1993,7(2): 81-87. (Study on the excellent soybean mutation of fatty acid composition by EMS[J]. Acta Agriculturae Nucleatae Sinica, 1993,7(2): 81-87.)
- [10] Awadhesh K, Varun K, Lal S K, et al. Influence of gamma rays and ethyl methane sulphonate (EMS) on the levels of phytic acid, raffinose family oligosaccharides and antioxidants in soybean seeds of different genotypes[J]. Journal of Plant Biochemistry Biotechnology, 2015,24(2):204-209.
- [11] Archana P, Taware S P, Oak M D, et al. Improvement of oil quality in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] by mutation breeding[J]. Journal of the American Oil Chemists Society, 2007, (84):1117-1124.
- [12] Gillman J D, Tetlow A, Hagely K, et al. Identification of the molecular genetic basis of the low palmitic acid seed oil trait in soybean mutant line RG3 and association analysis of molecular markers with elevated seed stearic acid and reduced seed palmitic acid[J]. Molecular Breeding, 2014,(34):447-455.
- [13] Park S J, Buti'ery B R. Ethyl-methane sulphonate (EMS) induced nodulation mutants of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) lacking effective nodules[J]. Plant and Soil, 1992, 139: 295-298.
- [14] Caetano-Anolles G, Bassam B J, Gresshoff P M. Enhanced detection of polymorphic DNA by multiple arbitrary amplicon profiling of endonuclease-digested DNA: Identification of markers tightly linked to the supernodulation locus in soybean[J]. Molecular and General Genetics, 1993,241:57-64.
- [15] 魏松红,纪明山,谷祖敏,等. 理化诱变筛选抗草甘膦大豆植株[J]. 江苏农业科学, 2007(5): 56-57. (Wei S H, Ji M S, Gu Z M, et al. Screening of glyphosate resistant soybean plants by physical and chemical mutagenesis[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2007(5): 56-57.)
- [16] 陈远东,喻德跃. EMS 诱发大豆“南农 94-16”突变体库的扩建及部分突变体的 SSR 分析[J]. 大豆科学, 2009,22(12):574-582. (Chen Y D, Yu D Y. Construction of mutant pools for soybean “Nannong 94-16” induced by EMS and analysis of SSR marker on several mutants[J]. Soybean Science, 2009,22(12): 574-582.)
- [17] 郝再彬,吴东岚. 矮秆大豆突变体的获得[J]. 核农学报, 2004,18(3): 204-206. (Hao Z B, Wu D L. Obtaining of soybean dwarf mutant[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2004,18(3): 204-206.)
- [18] 郭玉虹,王培英,许德春,等. 诱变改良大豆蛋白质含量的研究[J]. 大豆通报, 2005(6): 12-13. (Guo Y H, Xu P Y, Xu D C, et al. Study on the mutation of soybean protein content by induced mutation technology [J]. Soybean Bulletin, 2005(6): 12-13.)
- [19] 张俐俐,谷维,雷勃钧,等. 应用化学诱变法筛选抗草甘膦大豆突变株系[J]. 大豆科学, 2009,28(5): 938-940. (Zhang L L, Gu W, Lei B J, et al. Glyphosate resistant mutant strain of soybean filtered by chemomorphosis[J]. Soybean Science, 2009, 28(5): 938-940.)
- [20] Hajduch M, Debre F, Hmová B, et al. Two soybean mutants with increased total and sulphur amino acid content induced by sodium azide [J]. Journal of Genetics & Breeding, 2000, 54(2): 83-87.
- [21] 张力伟,樊颖伦,牛腾飞,等. 大豆“冀黄 13”突变体筛选及突变体库的建立[J]. 大豆科学, 2013,32(1): 33-37. (Zhang L W, Fan Y L, Niu T F, et al. Screening of mutants and construction of mutant population for soybean cultivar ‘Jihuang13’ [J]. Soybean Science, 2013,32(1): 33-37.)
- [22] 韩锁义,张恒友,杨玛丽,等. 大豆“南农 86-4”突变体筛选及突变体库的构建[J]. 作物学报, 2007,33(12): 2059-2062. (Han S Y, Zhang H Y, Yang M L, et al. Screening of mutants

- and construction of mutant population in soybean 'Nannong86-4' [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2007, 33(12): 2059-2062.)
- [23] Kodym A, Afza R. Physical and chemical mutagenesis[J]. *Methods Molecular Biology*, 2003, 236:189-204.
- [24] Belfield E J, Gan X, Mithani A, et al. Genome-wide analysis of mutations in mutant lineages selected following fast neutron irradiation mutagenesis of *Arabidopsis thaliana* [J]. *Genome Research*, 2012(22):1306-1315.
- [25] Bruggemann E, Handwerger K, Essex C, et al. Analysis of fast neutron-generated mutants at the *Arabidopsis thaliana* HY4 locus [J]. *Journal of Plant*, 1996, 10:755-760.
- [26] Li X, Zhang Y. Reverse genetics by fast neutron mutagenesis in higher plants[J]. *Functional & Integrative Genomics*, 2002(2): 254-258.
- [27] Li X, Song Y, Century K, et al. A fast neutron deletion mutagenesis based reverse genetics system for plants[J]. *Journal of Plant*, 2001, 27:235-242.
- [28] Wu J L, Wu C, Lei C, et al. Chemical- and irradiation-induced mutants of *Indica* rice IR64 for forward and reverse genetics[J]. *Plant Molecular Biology*, 2005 (59):85-97.
- [29] Oldroyd GED, Long S R. Identification and characterization of nodulation- signaling pathway 2, a gene of *Medicago truncatula* involved in Nod factor signaling[J]. *Plant Physiology*, 2003 (131): 1027-1032.
- [30] Zhang L, Fetch T, Nirmala J, et al. A gene required for Rpg1-dependent resistance to stem rust in barley[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2006(113):847-855.
- [31] Hoffmann D, Jiang Q, Men A, et al. Nodulation deficiency caused by fast neutron mutagenesis of the model legume *Lotus japonicus*[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2007 (164):460-469.
- [32] Bolon Y-T, Haun W J, Xu W W, et al. Phenotypic and genomic analyses of a fast neutron mutant population resource in soybean [J]. *Plant Physiology*, 2011(156): 240-253.
- [33] Salvi S, Tuberosa R. To clone or not to clone plant QTLs: Present and future challenges [J]. *Trends Plant Science*, 2005 (10): 297-304.
- [34] 翁秀英,王彬如,吴和礼. 大豆辐射育种的研究[J]. *遗传学报*, 1974, 1(2):152-160. (Wang X Y, Wang B R, Wu L H, et al. Study on radiation breeding of soybean [J]. *Acta Genetica Sinica*, 1974, 1(2):152-160.)
- [35] 战明奎,赵经荣. 我国大豆诱变育种概况[J]. *中国核科技报告*, 1988, 00:1-17. (Zhan M K, Zhao J R. Introduction of mutation breed and genetic research of soybean in China [J], *China Nuclear Science and Technology Report*, 1988, 00:1-17.)
- [36] 薛永国,魏峡,唐晓飞,等. 黑龙江省育成大豆品种性状演变分析[J]. *大豆科学*, 2015, 34(3):361-366. (Xue Y G, Wai L, Tang X F, et al. Analysis and evolution on different traits of soybean varieties from Heilongjiang province [J]. *Soybean Science*, 2015, 34(3):361-366.)
- [37] 李素一. 基因捕获技术及其在水稻突变体库构建上的应用[J]. *现代农业科技*, 2012(2):125-126, 129. (Li S Y. Gene trapping technique and its application in the construction of rice mutant library[J]. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2012(2):125-126, 129.)
- [38] 苏红,印莉萍. 插入突变在水稻功能基因组学中的研究进展[J]. *生物技术通报*, 2009(5):1-4. (Su H, Yin L P. Study on the insertional mutagenesis in rice functional genomics [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2009(5):1-4.)
- [39] Li Y, Rosso M G, Viehoveer P, et al. GABI-Katsimple search: An *Arabidopsis thaliana* T-DNA mutant data-base with detailed information for confirmed insertions[J]. *Nucleic Acids Research*, 2007, 35:874-878.
- [40] 李志邈,张海扩,曹家树,等. 拟南芥激活标记突变体库的构建及突变体基因的克隆[J]. *植物生理与分子生物学学报*, 2005, 31:499-506. (Li Z M, Zhang H K, Cao J S, et al. Construction the *Arabidopsis* activation tagging mutant library and cloning of mutant gene [J]. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2005, 31:499-506.)
- [41] Hsing Y I, Chern C G, Fan M J, et al. A rice gene activation knockout mutant resource for high throughput functional genomics [J]. *Plant Molecular Biology*, 2007, 63:351-364.
- [42] Zhang J W, Li C S, Wu C Y, et al. RMD: A rice mutant database for functional analysis of the rice genome[J]. *Nucleic Acids Research*, 2006, 34: 745-748.
- [43] 杨珍珍,李萍,王崇英,等. T-DNA 介导的基因诱捕技术及其在植物功能基因组学研究中的应用[J]. *植物学通报*, 2008, 25(1): 112-120. (Li Z Z, Li P, Wang Z Y. Gene identification via T-DNA mediated gene trap tagging in plants Functional genomics [J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2008, 25(1): 112-120.)
- [44] Wu C, Li X, Yuan W, et al. Development of enhancer trap lines for functional analysis of the rice genome [J]. *Plant Journal*, 2003, 35:418-427.
- [45] 刘斌. 转 Ac/Ds 转座因子大豆后代的鉴定与分析[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2006. (Liu B. Detection and analysis of Ac/Ds transposon in transgenic soybean [D]. Yangling: Northwest A&F University, 2006.)
- [46] 刘亚运,吴金霞,路铁刚. FOX 基因捕获技术在植物中的研究进展与应用[J]. *生物技术进展*, 2013, 3(5): 324-327. (Liu Y Y, Wu J X, Lu T G. Advance and application of FOX gene hunting system in plant [J]. *Current Biotechnology*, 2013, 3(5): 324-327.)
- [47] Chen Y L, Liang H L, Ma X L, et al. An efficient rice mutagenesis system based on suspension-cultured cells[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2013, 55(2): 122-130.
- [48] 王凤华,李光远. T-DNA 插入突变及其研究进展[J]. *河南农业科学*, 2007(6):12-14. (Wang F, Li G Y. The research progress on T-DNA insertion mutagenesis[J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2007(6):12-14.)
- [49] Nakano S, Uotani Y, Uenishi K, et al. DNA base flipping by a base pair -mimic nucleoside [J]. *Nucleic Acids Research*, 2005(33): 7111-7119.
- [50] 王鹏飞,刘丽君,唐晓飞,等. 适于体细胞胚发生的大豆基因型筛选[J]. *大豆科学*, 2013, 32(1):43-45. (Wang P F, Liu L J, Tang X F, et al. Screening of soybean genotypes suitable for somatic embryogenesis[J]. *Soybean Science*, 2013, 32(1):43-45.)
- [51] Lazzeri P A, Hildbrand D F, Collins G B. A procedure for plant regeneration from immature cotyledon tissue of soybean[J]. *Plant Molecular Biology Reporter*, 1985, 3: 160-167.
- [52] Ranch J P, Oglesby L, Zielinski A C. Plant regeneration from embryo derived tissue cultures of soybean [J]. *In Vitro Cell & De-*

- velopment Biology, 1985, 21: 653-658.
- [53] Finer J J, McMullen M D. Transformation of soybean via particle bombardment of embryogenic suspension culture tissue [J]. In *Vitro & Development Biology*, 1991, 27: 175-182.
- [54] Sung Z R. Mutagenesis of cultured plant cells [J]. *Genetics*, 1976, 84: 51-57.
- [55] Fujii T. EMS 对大豆体细胞突变 (M1) 和 隐性突变 (M:) 的诱变效力 [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 1986, 26 (2): 191-195. (Fujii T. Mutation effect on soybean somatic mutation (M1) and recessive mutation (M:) via EMS [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 1986, 26 (2): 191-195.)
- [56] van K, Jang H J, Jang Y E, et al. Regeneration of plants from EMS-treated immature embryo cultures in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] [J]. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 2008, 11 (2): 119-126.
- [57] Hofmann N E, Raja R, Nelson L, et al. Mutagenesis of embryogenic cultures of soybean and detecting polymorphisms using RAPD markers [J]. *Biologia Plantarum*, 2004, 48 (2): 173-177.
- [58] Ichikawa T, Nakazawa M, Kawashima M, et al. The FOX hunting system: An alternative gain-of-function gene hunting technique [J]. *The Plant Journal*, 2006, 48: 974-985.
- [59] Fujita M, Mizukado S, Fujita Y, et al. Identification of stress-tolerance-related transcription factor genes via mini-scale full-length cDNA over-expressor (FOX) gene hunting system [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 2007, 364: 250-257.
- [60] Kondou Y, Higuchi M, Takahashi S, et al. Systematic approaches to using the FOX hunting system to identify useful rice genes [J]. *The Plant Journal*, 2009, 57: 883-894.
- [61] Nakamura H, Hakata M, Amano K, et al. A genome-wide gain-of-function analysis of rice genes using the FOX-hunting system [J]. *Plant Biology*, 2007, 65: 357-371.
- [62] 李春寿, 阮关海, 张琳琳, 等. TILLING 技术的原理、特点及其在点突变筛选中的应用 [J]. *核农学报*, 2005, 19 (4): 317-332. (Li C S, Ruan J H, Zhang L L, et al. The methodology and characteristic of TILLING and its application in screening for induced point mutation [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2005, 19 (4): 317-332.)
- [63] 闫智慧, 郭会君, 徐荣旗, 等. TILLING 技术的发展和其在不同植物中的应用 [J]. *核农学报*, 2014, 28 (2): 224-233. (Yan Z H, Guo H J, Xu R Q, et al. The development of TILLING technique and its application in plants [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2014, 28 (2): 224-233.)
- [64] Maluszynski M. Application of in vivo and in vitro mutation techniques for crop improvement [J]. *Euphytica*, 1995, 85: 303-315.
- [65] 陈丽霞, 杜吉到, 费志宏, 等. 诱变育种技术在大豆育种中的应用 [J]. *大豆科学*, 2008, 27 (50): 874-878. (Chen L X, Du J d, Fei Z H, et al. Induced mutation technique and the application on soybean breeding [J]. *Soybean Science*, 2008, 27 (50): 874-878.)

第四届中国国际大豆食品产业发展大会 4 月在沪召开

2016 年 4 月 14 ~ 15 日, 中国国际大豆食品产业发展大会将上海光大国际会展中心隆重召开。大会由中国食品工业协会豆制品专业委员会主办, 将继续秉承“为人类提供安全美味、营养健康的大豆食品”的宗旨, 邀请国内外政府官员、经济学者、行业专家、知名企业代表及媒体, 就新常态下大豆食品产业将要面临的机遇与挑战进行深入探讨。

作为与 2016 第六届中国国际大豆食品加工技术及设备展览会同期召开的盛会, 本届产业发展大会将围绕三个专题进行研究和探讨:

第一专题: 新常态下大豆食品产业将要面临的机遇与挑战。当前中国经济呈现出新常态, 从高速增长转为中高速增长, 经济结构优化升级。面对新常态, 本届大会将对大豆食品行业现状进行分析, 挖掘“互联网”时代豆制品企业面临的机遇, 探讨大豆食品营养健康新发现, 同时讨论新食品安全法律法规环境下企业需要采取的应对措施。

第二专题: 大豆食品专用原料。近年来, 大豆食品行业一直在努力提升大豆原料品质, 发展专用品种大豆, 学习国外发展食品专用品种大豆及贸易模式的经验, 寻找适合我国国情的食品大豆发展之路。本届大会将针对我国农业生产现状, 探讨推进食品大豆专用化、组织化、品牌化发展道路。此外还将就北美、乌克兰、加拿大食品级大豆生产、贸易现状及模式经验方面展开交流, 加强我国食品大豆品种研究、基地推广和贸易对接, 并就食品大豆转基因问题存在的市场风险加以探讨。

第三专题: 大豆食品生产及环保技术创新。随着科技的不断发展, 新技术、新工艺不断运用于豆制品生产过程中, 环保理念也融入生产技术中, 使豆制品行业技术提升且注重环保。本届大会将邀请业内专家阐述豆制品生产新技术、新工艺及新设备在新产品开发及生产自动化方面的应用, 探讨豆制品企业的三废处理新技术应用, 研究新环保法下豆制品企业的设备提升及应对措施。

我国大豆食品的消费量占全球总量的 50%, 历经 10 年中国国际大豆食品加工技术及设备展览会, 已经成为了全球大豆食品行业共同关注和参与的盛会, 同期举办的第四届中国国际大豆食品产业大会将云集国内外大豆食品行业的相关人士共同探讨大豆食品新政策、新技术及新消费发展的相关问题, 也将为大豆食品行业的企业或者计划进入大豆食品行业的投资者答疑解惑。