

大豆抗病、虫转基因研究进展

王娟, 刘淼, 王志坤, 李文滨

(东北农业大学 大豆研究所/国家教育部大豆生物学重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘要: 大豆病、虫害不但造成大豆减产, 而且严重影响大豆的品质, 随着基因工程研究的深入, 利用转基因技术来改良品种的抗性已在许多作物上得到应用。该文对大豆花叶病毒病、大豆霜霉病、大豆蚜虫、大豆根腐病、大豆胞囊线虫和大豆食心虫抗性转基因方面的研究进行了综述, 并比较和讨论了各种基因的应用效果及目前抗病、虫转基因研究中存在的问题, 对抗病、虫转基因技术的应用前景进行了展望。

关键词: 大豆; 抗病虫害; 转基因

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841(2011)05-0865-04

Advances in Transgenic Soybean Resistant to Disease and Pest

WANG Juan, LIU Miao, WANG Zhi-kun, LI Wen-bin

(Key Laboratory of Soybean Biology of Chinese Education Ministry, Soybean Research Institute, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, Heilongjiang, China)

Abstract: Disease and pest not only reduce the soybean yield, but also severely affect its quality. This paper reviewed the major genes applied in recent transgenic studies, such as the application of *Bt* gene in the breeding of soybean with pod borer resistance, protease inhibitor gene in the breeding of resistant soybean for aphid and nematode, and the application of coat protein gene of virus in virus resistant soybean breeding. This study compared the effect of each gene and analyzed the current problems and feasible solutions in transgenic research. At last, the prospect of the transgenic soybean with disease and pest resistance was discussed.

Key words: Soybean; Disease and pest resistance; Transgene

大豆是世界上重要的粮食和油料作物, 也是植食性蛋白质的重要来源, 然而目前中国大豆生产总量还远远不能满足国内对大豆消费需求。在影响产量的诸多因素中, 各种病、虫害造成的产量损失尤为突出, 目前在生产上危害较大的病虫害有大豆食心虫、大豆蚜虫、大豆灰斑病、大豆疫霉根腐病、大豆菌核病、大豆胞囊线虫病等。虽然采用化学防治和耕作栽培措施等手段可以在一定程度上减轻由于病虫害造成的产量损失, 但无法从根本上解决问题。通过遗传改良的方法, 获得具有抗性的品种才是最有效的手段。传统育种由于育种周期长, 往往赶不上病害小种的变异速率, 且无法利用远源的抗性基因, 限制了传统育种在解决作物抗性方面应用。随着基因工程研究的深入, 用转基因技术来改良品种的抗性已在许多作物上得到应用。通过转基因技术配合传统育种方法提高大豆抗性是解决问题的有效途径。该文从叶部、根部及荚果病虫害三方面对近 10 年来国内外在大豆抗病、虫转基因

研究与利用方面取得的成绩进行综述。

1 叶部病、虫害抗性转基因研究

1.1 大豆花叶病毒抗性转基因研究

中国早在 1997 年就报道了关于抗花叶病毒转基因的实例, 国家大豆工程技术研究中心利用植物转基因技术, 首次成功地将外源 DNA 导入大豆, 并用这一技术进行分子育种, 培育出一批高抗大豆花叶病毒且农艺性状优良的品系。其中“D3053”、“D3437”2 个品系综合性状最为特异, 在黑、吉、辽、新疆、内蒙古等地进行了 3 a 地区性的大田抗性和适应性栽培。结果表明, 转基因植株对 SMV 的抗性表现稳定, 生长势强。在 SMV 常发区, 无人工接种的自然环境中, 除个别单株外, 几乎无 SMV 症状发生, 而在 SMV 的低发区, 无 SMV 的病株^[2]。

通过植物病毒基因转化植物获得抗病毒的工程植株, 已成为基因工程中增强作物对病毒病抗性的主要措施之一。Wang 等^[3]通过农杆菌介导的方

收稿日期: 2011-03-25

基金项目: 国家转基因作物新品种培育重大专项资助项目(2008ZX08004-002)。

第一作者简介: 王娟(1987-), 女, 在读硕士, 研究方向为大豆生物技术。E-mail: yingmylove@yahoo. cn。

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

法转化带有 SMV 3'-UTR 的 CP 基因转化大豆。共获得 4 个 T₀ 代植株,通过自花授粉最终获得了 4 个纯合的转基因株系,其中 2 个具有很高的抗性。徐香玲等^[4]以大豆的胚轴和子叶为外植体,经发根农杆菌侵染,将抗大豆花叶病毒病(SMV)的 CP 基因转入大豆,经 PCR、DNA 斑点杂交证明,获得转入 SMV 基因的大豆植株。

Furutani 等^[5]采用基因枪的方法将带有 SMV 外壳蛋白基因(CP gene)及潮霉素乙酰转移酶的载体转入到大豆品种'Jack'中,通过在液体培养基中加入潮霉素筛选及对 CP 基因的分子检测,获得了 11 株具有抗性的阳性植株。将获得的 11 株阳性接种 SMV 进行鉴定,通过肉眼的观察和 ELISA 鉴定,最终获得了 3 个高抗 SMV 的株系。这是首次报道的通过转 CP 蛋白基因获得对 SMV 具有极高抗性的研究结果。最终通过 Northern blot 及 Western blot 检测,证实其确实在植物体内进行表达且具有生物学活性。其中株系 55,据推测 SMV 抗性可能来源于 RNA 沉默介导的抗性,被选作后续的分析以验证 T₄、T₅ 代植株基因表达量的变化与抗性的相关性。结果显示,抗性植株比感病植株具有更低的 RNA 表达水平。在抗性株系的整个发育阶段,SMV CP 序列特异的小 RNA 只出现在真叶阶段,再后续的几个生长阶段未见表达。siRNAs 在 SMV 侵染之前的短暂表达与株系的抗性显著相关^[6]。

1.2 大豆霜霉病抗性转基因研究

孙文丽等^[7]利用大豆 EST 序列和 5'-Race 技术,首次从大豆霜霉病抗性品种早丰 5 号中克隆了编码丝氨酸乙醛酸转氨酶的 *GmSGT1* 基因。并利用抗病品种早丰 5 号探索了 *GmSGT1* 基因在大豆中的时空表达特性,研究结果表明该基因在大豆叶片中有表达,在根、茎中无表达,并且随着生育期的推进表达增强。Western 杂交结果显示,抗霜霉病品种早丰 5 号和九农 9 号中可检测到有目的蛋白的表达,而在感病品种黑农 10 号中无表达。同时构建了 *GmSGT1* 植物表达载体,进行烟草转化,获得了转基因植株,并对其进行烟草黑胥病的抗性鉴定,结果表明转基因烟草的抗性显著提高。之后又利用农杆菌 LBA4404 介导法将构建好的植物表达载体 *pIM1.1-GmSGT-plus* 转入到黑农 10;RNAi 植物表达载体 *pIM1.1-GmSGT-p1usF* 转入早丰 5 号,进行抗性功能验证,结果表明 *GmSGT1* 在感病品种中的过量表达能够显著提高植株的抗病性,而沉默抗性品种中的 *GmSGT1* 却可以降低品种的抗病性。

1.3 大豆蚜虫抗性转基因研究

以拓宽种质资源为目的,刘德璞等^[8]采用花粉

管通道技术向大豆品种吉 20、吉 25、吉 27、吉 30 等导入皂角(*Gleditsia japonica*)、鹰嘴豆(*Cicer arietinum*)和农家早期品种总 DNA,通过对从后代中的变异系进行抗虫鉴定和筛选获得了抗虫品系 4 个。由于导入的是总 DNA,因此,具体发挥作用的基因还不得而知。

大豆主要有 3 类基因被用于抗蚜虫转基因的研究中,一是从苏云金芽孢杆菌分离出来的苏云金芽孢杆菌杀虫结晶蛋白(*Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal protein)基因,简称 Bt 基因,最初被应用在棉花抗虫转基因育种中^[9];二是来自植物本身的抗虫基因,主要有蛋白酶抑制剂(Proteinase Inhibitor, PI)基因和外源凝集素(lectin)基因等^[10-11];三是从动物体内分离出来的毒素基因,主要有蝎毒素基因和蜘蛛毒素基因等^[12]。由于动物毒素基因是否对人体有害还存在争议,故在生产上得到应用的主要有苏云金芽孢杆菌、蛋白酶抑制剂基因和植物凝集素基因等。

刘德璞等^[13]利用花粉管通道技术将不同的带有雪花莲外源凝集素基因(GNA)的重组质粒导入到 8 个品种中,并获得了抗性较好的且遗传稳定的大豆株系。经过多代筛选,选出 R2069-5, R2069-6, FD11-17, FD17-9 和 FD19 共 5 个表现较高抗蚜性水平的株系。

马晓红等^[14]采用大豆高效整个子叶节再生体系,通过根癌农杆菌介导的方法将双价抗虫载体质粒 *pCambia3300-bt-pta* 转入到大豆品种合丰 48、合丰 46 和东农 42 这 3 个品种中,并分别获得了相应的转基因阳性植株。将 Southern 杂交检测呈阳性的转基因大豆植株的 T₁ 代进行离体叶片室内抗蚜虫的实验,结果表明:转基因大豆与对照相比,叶片上的蚜虫繁殖缓慢,蚜虫生长和发育受到明显的抑制,表现为个体较小,行动缓慢,说明外源抗虫基因在大豆体内能够成功表达并起到一定的抗虫作用。

2 根部病、虫害抗性转基因研究

2.1 大豆根腐病抗性转基因研究

几丁质是真菌细胞壁的组成成分之一,几丁质酶能分解真菌细胞壁中的几丁质,从而使真菌死亡,保护植物不受真菌病的侵袭。徐香玲等^[16]利用农杆菌介导法,将几丁酶基因导入大豆品种东农 37 号、吉林 28 号等 14 个品种,得到转化植株。

Salehi 等^[17]采用农杆菌介导的方法将来自莱豆的几丁质酶插入到 *pBI121* 上,并转入大豆栽培品种 Williams 和 Clark 中,离体接种表明,转基因阳性植株能有效阻止立枯丝核菌在离体叶片上的蔓延。

由于一些植物能产生损伤原核生物核糖体的核糖体失活蛋白,从而使核糖体不能和延长因子结合,阻止蛋白质的合成,起到抑菌的作用^[18]。李海燕等^[19]分别采用农杆菌介导法与基因枪直接转化的方法将含有菜豆几丁质酶和大麦核糖体失活蛋白基因的双价抗真菌基因载体转入到大豆品种黑农 35 中,对双价转基因大豆 T₂代的 5 个株系进行了大豆疫霉根腐病抗病性检测,结果表明,4 个转基因株系对大豆疫霉根腐病的抗性与非转基因对照组相比有显著提高。

郭玉双等^[20]通过农杆菌介导法,也对大豆进行几丁质酶基因和核糖体失活蛋白基因遗传转化,连续自交几代,获得了能够稳定遗传的转基因大豆植株,且转基因植株对大豆疫霉根腐病的抗性明显增强。

2.2 大豆胞囊线虫抗性转基因研究

田中艳等^[21]采用花粉管通道直接导入的方法将海狸豆总 DNA 导入到大豆受体中,选育出抗线虫大豆新品系安 D205-8。经抗性鉴定该品系高抗 3 号生理小种。

Ornatowski 等^[22]通过基因枪的方法,将一段编码烟草天蛾幼虫几丁质酶(*msc* gene)的 1.7 kb DNA 片段转入到大豆愈伤组织,并通过组织培养的方法进行再生,轰击之后,选择潮霉素抗性个体,一共获得 4 个抗性克隆。经 PCR 检验及 Southern blot 分析其中 2 株表现为转基因阳性,DNA blot 及后代遗传分析表明,转基因阳性植株包含了若干个拷贝的 *msc* 基因,Northern blot 分析确定了基因的表达,Western blot 分析表明 *msc* 基因编码一个 48 kDa 的并能与烟草天蛾抗体反应的蛋白质。对几丁质酶呈阳性的后代植株进行抗性分析,结果表明转基因后代组织的胞囊数为 272 个·g⁻¹,极显著的低于对照品种 Flyer(1 058 个·g⁻¹)。

RNAi 技术的出现,为大豆胞囊线虫的抗性转基因提供了一个新的方法。Steeves 等^[23]将带有大豆胞囊线虫主要精子蛋白基因(Major Sperm Protein Gene, *MSP*)的一段反向重复序列构建到 RNAi 表达载体上并转化大豆。通过 Northern blot 检测干扰片段在植物体内有一定的积累。接种鉴定结果显示:转基因植株能够降低 68% 的胞囊数,证实转 *MSPi* 的植株能显著的抑制 SCN 的生长,不仅证实了通过 RNAi 来控制 SCN 是一种有效的方法,同时也为其它线虫的控制提供了新的思路。

来自大豆胞囊线虫的半胱氨酸蛋白酶(*Heterodera glycines* Cysteine Proteinase, *HGCP*)前肽,是一种天然的抑制肽,能够抑制线虫的生长,Marra 等^[24]

通过发根农杆菌介导法转化将 *HGCP* 转入到大豆子叶节,后经 Western blot 及 ELISA 的方法检测前肽的表达情况,证实其在大豆根部成功表达。最后用 1 000 头二龄期的线虫接种转化植株,结果显示雌虫及胞囊的数目都有显著的降低,表明 *HGCP* 前肽能有效控制大豆胞囊线虫的侵害。

3 荚果病、虫害抗性转基因研究

大豆荚果虫害中以大豆食心虫(*Leguminivora glycinivorella*)的危害最大。对于抗大豆食心虫的转基因研究大多数都是利用 *Bt* 基因转化来提高抗虫性。王丕武等^[25]以大豆子叶节为外植体,以农杆菌菌株 EHA101 为转化菌,用 *Bt* + *CpTI* 基因转化大豆吉农 DG3256、吉农九号、吉林 30 等受体品种。对获得的 3 个受体亲本的 48 份转 *Bt* + *CpTI* 抗虫基因株系在棚内进行接虫鉴定。表现为高抗食心虫的株系有 3 个,它们的虫食率分别为 8.5%、8.8% 和 8.2%,而对照受体亲本的虫食率为 19%,这表明 *Bt* + *CpTI* 基因的导入提高了受体抗大豆食心虫的能力。

郭东全等^[26]利用大豆未成熟子叶体细胞胚发生系统高效转化体系,将携带有人工合成的 *CryIA* 杀虫基因和 *CpTI* 基因的高效双价杀虫基因植物表达载体 *pGBI121S4ABC* 转化到大豆主栽品种吉林 20 与吉林 27 中。*GUS* 活性分析、PCR、Southern blot 检测证明,目的基因已整合到受体大豆基因组中。T₁代转基因大豆抗虫测定表明,转基因材料虫食率比对照显著降低,抗虫能力显著提高。T₃ ~ T₅ 连续 3 代接虫测定结果表明,转基因大豆株系 0-195 和 0-150 的虫食率均比对照低大约 30%,其抗虫能力已基本稳定。

武小霞等^[27]利用农杆菌介导的方法将 *cryIIa1* 基因转入大豆栽培品种黑农 35 中,并获得了 5 个转基因植株。PCR、Southern blot 和 RT-PCR 检测结果表明,*cryIIa1* 基因已经整合到大豆基因组中并稳定表达。通过人工接种的方法对转基因植株抗大豆食心虫的水平进行了初步的评价,结果表明其中 2 株对大豆食心虫具有高度的抗性,2 株具有中等程度的抗性,1 株与对照无明显差异。

4 转基因抗病、虫育种的发展前景

利用转基因手段进行大豆病、虫害的抗性育种工作是十分有效的防治方法,具有巨大潜力。与其它作物相比,大豆转基因抗病、虫害育种的研究也相对滞后,这与大豆的再生系统建立难度大、遗传转化效率低等有直接的关系。这就需要在转化体系优化和寻

找稳定遗传的种质等方面做大量的工作。

目前,用于大豆抗病、虫害转基因研究的目的基因主要是 *Bt*、几丁质酶、蛋白酶抑制剂和植物凝集素类的基因。虽然自然界中抗病、虫基因资源丰富,数量多,分布广,但是目前可利用的基因数量和种类有限,需要进一步筛选鉴定。

另外,生物安全性问题使转基因技术颇受争议。例如常用的筛选标记,抗生素基因和除草剂抗性基因等可能会影响人类身体健康,破坏生态环境。因此,选用安全的选择标记是今后发展的一个必然趋势。此外,转基因作物中调控基因表达的启动子主要为 CaMV 35S,该启动子调控的基因在植物体内组成型表达,存在严重的食品安全性问题。因此,克隆能调节基因在不同部位不同时间特异表达的启动子显得至关重要。

随着分子生物学技术的不断发展,利用转基因技术进行大豆抗病、虫的育种工作会越来越显示出其优越性,在未来的大豆育种中,转基因技术将会发挥越来越大作用,新品种的选育对基因工程的依赖程度也会随之加大。

参考文献

- [1] 郑翠明,常汝镇,邱丽娟.大豆花叶病毒病研究进展[J].植物病理学报,2000,30(2):97-105. (Zheng C M, Chang R Z, Qiu L J. Progress on the disease of soybean mosaic virus[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2000, 30(2): 97-105.)
- [2] 唐绂忱.我国首例转基因抗病超高产大豆品种即将投入大田生产[J].新农业,1997(11):16. (Tang B C. The first super high-yielding and disease-resistant transgenic soybean will be produced soon in China[J]. New Agriculture, 1997(11): 16.)
- [3] Wang X Y, Eggenberger A L, Nutter F W, et al. Pathogen-derived transgenic resistance to soybean mosaic virus in soybean[J]. Molecular Breeding, 2001, 8(2): 119-127.
- [4] 徐香玲,李兴华,刘伟华,等. Ri 质粒介导大豆花叶病毒外壳蛋白基因转化大豆的研究[J].大豆科学,1996,15(4):279-288. (Xu X L, Li X H, Liu W H, et al. Study on transferring soybeans mosaic virus coat protein(SMV-CP) gene into soybeans by Ri-plasmid[J]. Soybean Science, 1996, 15(4): 279-288.)
- [5] Furutani N, Hidaka S, Kosaka Y, et al. Coat protein gene-mediated resistance to soybean mosaic virus in transgenic soybean[J]. Breeding Science, 2006, 56(2): 119-124.
- [6] Furutani N, Yamagishi N, Hidaka S, et al. Soybean mosaic virus resistance in transgenic soybean caused by post-transcriptional gene silencing[J]. Breeding Science, 2007, 57(2): 123-128.
- [7] 孙文丽.大豆丝氨酸乙酰胺转氨酶基因克隆、序列分析及转基因植株的抗病性研究[D].沈阳:沈阳农业大学,2008:1-40. (Sun L W. Cloning, sequence analysis of the serine glyoxylate aminotransferase gene of soybean, and research on the resistance of transgenic plants[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2008: 1-40.)
- [8] 刘德璞,袁鹰,王成武,等.导入外源 DNA 大豆后代的抗性鉴定与筛选[J].大豆科学,2002,21(4):245-249. (Liu D P, Yuan Y, Wang C W, et al. Selecting and evaluation of mutant lines resistant to pest by introducing exogenous DNA into soybean[J]. Soybean Science, 2002, 21(4): 245-249.)
- [9] 郭三堆.植物 *Bt* 抗虫基因工程研究进展[J].中国农业科学,1995,28(5):8-13. (Guo S D. Engineering of insect-resistant plant with bacillus thuringiensis crystal protein genes[J]. Scientia Agricultura Sinica, 1995, 28(5): 8-13.)
- [10] 许文峰,戚正武.蛋白酶抑制剂转基因植物用于农作物抗虫害[J].生命的化学(中国生物化学会通讯),1993(2):20-22. (Xu W F, Qi Z W. Protease inhibitor resistant transgenic plants for crop pests[J]. Chemistry of Life (Journal of Chinese Biochemistry Communication), 1993(2): 20-22.)
- [11] 肖松华,刘剑光,吴巧娟,等.转外源凝集素基因棉花对棉蚜的抗性鉴定[J].棉花学报,2005,17(2):72-78. (Xiao S H, Liu J G, Wu Q J, et al. Identification of Aphis (*Aphis gossypii* Glover.) resistant of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) with trans-exogenous agglutinin gene[J]. Acta Gossypii Sinica, 2005, 17(2): 72-78.)
- [12] 高燕会.农杆菌介导的几丁质酶基因及双价抗虫基因对小麦和棉花遗传转化的研究[D].太原:山西农业大学,2001:15-36. (Gao Y H. Study on *Agrobacterium tumefaciens*-mediated chitinase and scorpion venom gene genes transformation of wheat and cotton[D]. Shanxi: Shanxi Agricultural University, 2001: 15-36.)
- [13] 刘德璞,袁鹰,唐克轩,等.大豆花粉管通道技术转化雪花莲凝集素(*GNA*)基因[J].分子植物育种,2006,4(5):663-669. (Liu D P, Yuan Y, Tang K X, et al. Transforming the snowdrop lectin (*Galanthus nivalis* agglutinin, *GNA*) gene to soybean by pollen tube pathway technique[J]. Molecular Plant Breeding, 2006, 4(5): 663-669.)
- [14] 马晓红.大豆高效整个子叶节再生体系的建立及根瘤农杆菌介导的双价抗虫基因在大豆上的转化[D].上海:上海交通大学,2008:17-46. (Ma X H. Efficient regeneration in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] from whole cotyledonary node explants and *Agrobacterium*-mediated transformation in soybean for expression of binary insect resistance genes[D]. Shanghai: Shanghai Jiaotong University, 2008: 17-46.)
- [15] 辛惠普,马汇泉,刘静茹,等.大豆根腐病发生与防治的初步研究[J].大豆科学,1987,6(3):189-196. (Xin H P, Ma H Q, Liu J R, et al. A preliminary study on epidemiology and control of disease[J]. Soybean Science, 1987, 6(3): 189-196.)
- [16] 徐香玲,邹联沛,刘伟华,等.向大豆导入几丁质酶基因的初步研究[J].大豆科学,1999,18(2):101-108. (Xu X L, Zou L P, Liu W H, et al. A preliminary study on transferring chitinase gene into soybeans[J]. Soybean Science, 1999, 18(2): 101-108.)
- [17] Salehi A, Mohammadi M, Okhovvat S M, et al. Chitinase gene transformation through *Agrobacterium* and its explanation in soybean in order to induce resistance to root rot caused by *Rhizoctonia solani*[J]. Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences, 2005, 70(3): 399-406.
- [18] 李建国.核糖体失活蛋白的研究进展[J].分子植物育种,2005,3(4):566-570. (Li J G. The study progress on ribosome-inactivating proteins[J]. Molecular Plant Breeding, 2005, 3(4): 566-570.)

(下转第 873 页)

- and the volume of bread[J]. *Cereals Oil and Food Processing*, 2009(12):114-116.)
- [16] 肖安红,何东平,张世宏. 低温脱脂豆粕与大豆豆皮膳食纤维改善馒头品质及老化的比较[J]. *中国粮油学报*, 2005, 20(4):73-76. (Xiao A H, He D P, Zhang S H. The comparison between the low temperature defatted soybean meal and soybean hull dietary fiber improving and aging the quality of steamed bread [J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2005, 20(4):73-76.)
- [17] 孙小凡,杨依红. 豆渣膳食纤维保健面条烹煮品质特性研究[J]. *粮食加工*, 2010, 35(1):57-59. (Su X F, Yang Y H. Research of cooking quality of noodles made with dietary fiber from soybean dregs [J]. *Cereals Oil and Food Processing*, 2010, 35(1):57-59.)
- [18] 孙晓燕,李小林,钟振声等. 功能性强化大豆膳食纤维的生理功效及其在食品上的应用[J]. *食品工业科技*, 2005(10):184-186. (Sun X Y, Li X L, Zhong Z S. The physiological effects of functional enhanced soybean dietary fiber and its application in foods[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2005(10):184-186.)
- [19] 张晨,杨文杰. 豆渣水溶性膳食纤维的最新应用[J]. *中国食品添加剂*, 2005(3):78-82. (Zhang C, Yang W J. The latest application of the soybean dregs water-soluble dietary fiber in food industry[J]. *China Food Additives*, 2005(3):78-82.)
- [20] 郑刚,胡小松,李全宏,等. 脱脂大豆对面团流变学特性及用其制成面条品质的影响[J]. *食品科学*, 2007(4):101-102. (Zheng G, Hu X S, Li Q H, et al. Effect on dynamic rheological property of wheat dough after addition of defatted soybean flours [J]. *Food Science*, 2007(4):101-102.)
- [21] 刘忠萍,华聘聘. 大豆膳食纤维研究[J]. *粮食与油脂*, 2002(8):11-12. (Liu Z P, Hua P P. Study on soybean fiber[J]. *Journal of Cereals & Oils*, 2002(8):11-12.)
- [22] 郑建仙,丁霄霖. 一种多功能的膳食纤维添加剂[J]. *无锡轻工业学院学报*, 1996(4):189-193. (Zheng J X, Ding X L. A multi-functional additives of dietary fiber[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 1996(4):189-193.)
- [23] 伍立居,李平. 从玉米皮和豆皮中制取食用纤维的研究[J]. *食品与发酵工业*, 1996(5):44-48. (Wu L J, Li P. The preparation of dietary fiber from corn bran and the dried bean curd [J]. *Food and Fermentation Industries*, 1996(5):44-48.)
- [24] 陈正行,狄济乐. 食品添加剂新产品与新技术[M]. 南京:江苏科学技术出版社,1995. (Chen Z X, Di J L. The new products and new technologies of food additives[M]. Nanjing: Jiangsu Science and Technology Press, 1995.)
- [25] 王放,王显伦. 食品营养保健原理及技术[M]. 北京:中国轻工业出版社,1997. (Wang F, Wang X L. The principles and techniques of food nutrition and health[M]. Beijing: China Light Industry Press, 1997.)
- [26] 邵佩兰,徐明. 麦麸膳食纤维面条烹煮品质特性的研究[J]. *农业科学研究*, 2007, 28(2):27-29. (Shao P L, Xu M. Research of cooking quality of noodles made with food fiber from wheat bran [J]. *Journal of Agricultural Sciences*, 2007, 28(2):27-29.)

(上接第 868 页)

- [19] Li H Y, Zhu Y M, Chen Q, et al. Production of transgenic soybean plants with two anti-fungal protein genes via *Agrobacterium* and particle bombardment [J]. *Biologia Plantarum*, 2004, 48(3):367-374.
- [20] 郭玉双,张艳菊,朱延明,等. 转几丁质酶和核糖体失活蛋白双价基因大豆的获得与抗病性鉴定[J]. *作物学报*, 2006, 32(12):1841-1847. (Guo Y S, Zhang Y J, Zhu Y M, et al. Obtainment of transgenic soybean plants with chitinase and ribosome inactivating protein genes and their resistance identification[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2006, 32(12):1841-1847.)
- [21] 田中艳. 利用外源 DNA 直接导入方法进行大豆抗线育种研究[J]. *黑龙江农业科学*, 2003(5):27-29. (Tian Z Y. Study on the breeding of cyst nematode resistance by introducing of foreign DNA into soybean [J]. *Heilongjiang Agricultural Science*, 2003(5):27-29.)
- [22] Ornatowski W, Jayaraj J, Todd T C, et al. Introduction and constitutive expression of a tobacco hornworm (*Manduca sexta*) chitinase gene in soybean[J]. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 2004, 40(3):260-265.
- [23] Steeves R M, Todd T C, Essig J S, et al. Transgenic soybeans expressing siRNAs specific to a major sperm protein gene suppress *Heterodera glycines* reproduction [J]. *Functional Plant Biology*, 2006, 33(11):991-999.
- [24] Marra B M, Souza D S L, Aguiar J N, et al. Protective effects of a cysteine proteinase propeptide expressed in transgenic soybean roots[J]. *Peptides*, 2009, 30(5):825-831.
- [25] 王丕武,武丽敏,张君,等. *Bt + CpTI* 抗虫基因转化大豆的研究[C]. 海南:第四届全国植物分子育种学术研讨会, 2004. (Wang P W, Wu L M, Zhang J, et al. A study on transformation of *Bt + CpTI* insect resistant gene into soybean [C]. Hainan: The fourth National Symposium on Plant Molecular Breeding, 2004.)
- [26] 郭东全,杨向东,包绍君,等. 转 *CryIA* 和 *CpTI* 双价抗虫基因大豆的获得与稳定表达[J]. *中国农业科学*, 2008, 41(10):2957-2962. (Guo D Q, Yang X D, Bao S J, et al. Synchronous expression of *CryIA* and *CpTI* genes in soybean and analysis of their resistance to insect pests [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2008, 41(10):2957-2962.)
- [27] 武小霞,李静,王志坤,等. *cry1Aa1* 基因转化大豆及抗虫性的初步评价[J]. *上海交通大学学报(农业科学版)*, 2010, 28(5):413-419. (Wu X X, Li J, Wang Z K, et al. Transformation of *cry1Aa1* into soybean and rough assessing its resistance to soybean pests [J]. *Journal of Shanghai Jiaotong University (Agricultural Science)*, 2010, 28(5):413-419.)