

大豆分子育种研究进展

蒋炳军, 岳岩磊, 王彩洁, 孙 石, 韩粉霞, 韩天富

(中国农业科学院作物科学研究所 农业部北京大豆生物学重点实验室, 北京 100081)

摘要:分子育种技术的研究和应用是近十余年来世界大豆生产发展的重要科技动力。2011年,国内外在大豆分子育种相关领域取得了新的进展。在分子标记开发与辅助育种方面,发掘出与产量、发育、品质、抗病和抗逆等性状相关的新的分子标记或QTL;在新基因挖掘方面,克隆了与光周期反应、共生固氮、品质及抗逆性相关的基因,并分析了其功能。在大豆转基因育种方面,遗传转化体系的优化取得了新的进展,转化效率有所提高,同时对一些功能基因(包括来自其它物种的一些基因)进行了功能评价和育种利用价值评估。转基因大豆继续保持良好的发展势头,并且出现一些新的发展方向。该文对这些研究进展进行了综述,并对今后的发展趋势进行了展望。

关键词:大豆;分子标记;基因挖掘;转基因育种

中图分类号:S565.1

文献标识码:A

文章编号:1000-9841(2012)04-0662-06

Recent Advances in Molecular Breeding of Soybean

JIANG Bing-jun, YUE Yan-lei, WANG Cai-jie, SUN Shi, HAN Fen-xia, HAN Tian-fu

(MOA Key Lab of Soybean Biology(Beijing), Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: In the last decade, the research and application of molecular breeding becomes an important scientific and technological engine of soybean production development in the world. In 2011, new progresses were achieved in soybean molecular breeding in China and abroad. In molecular marker mining and assisted selection, new molecular markers and QTLs were developed. In the field of new gene discovery, some novel genes involved in photoperiodism, symbiotic nitrogen fixation, quality, resistance, etc., were cloned and their functions were analyzed. In transgenic breeding, the genetic transformation system was optimized with the transformation efficiency improved, and some functional genes including those from other species were evaluated for their functions and breeding values. Transgenic soybean still kept good growth and some new developmental trends were emerged. Therefore, we summarized these progresses and made some prospects on the future development.

Key words: Soybean; Molecular marker; Gene discovery; Transgenic breeding

自1994年抗除草剂转基因大豆推广以来,美国、巴西、阿根廷等国大豆综合生产能力迅速提升,市场份额不断扩大,同期我国大豆生产和科技发展相对滞后,市场竞争力不断下降^[1]。事实证明,转基因大豆品种及配套栽培技术的推广应用是美洲大豆主产国大豆生产迅速发展的主要科技动力。近几年,美国等大豆生产先进国家加大了新基因挖掘、转基因新产品开发和分子标记辅助选择等新技术的研究和应用力度,领先优势不断扩大。同期,在“转基因生物新品种培育重大专项”等科研项目的支持下,我国大豆分子育种研究的步伐明显加快,表现出良好的发展势头。本文从分子标记开发与辅助育种、新基因挖掘和转基因育种三个方面,总结了2011年国内外大豆分子育种领域的新进展,以期今后的研究和育种提供信息和思路。

1 大豆分子标记开发与辅助育种

1.1 产量性状

在产量性状相关的QTL定位方面,蒋春志等^[2]通过对冀豆12号(高蛋白)×冀黄13(高油)的F₂重组自交系群体进行QTL分析,发现C2连锁群上聚集了与产量相关的QTL位点。Xu等^[3]定位了种子大小及形状(长度、宽度和厚度以及它们的相互比值)相关的QTL,有助于进一步研究种子发育的遗传机制。

1.2 发育性状

生育期是大豆最为重要的发育性状之一,该性状受外界光温条件的严格调控。Cheng等^[4]对大豆生殖生长期长度及开花后光周期反应进行了遗传分析和QTL定位,发现大豆生殖生长期长度是由1对主基因加多基因控制,并检测到6个QTL(qRP-c-1、

收稿日期:2012-05-11

基金项目:农业部财政部现代农业产业技术体系建设专项(CARS-04);转基因生物新品种培育重大专项(2011ZX08004-001)。

第一作者简介:蒋炳军(1977-),男,博士,助理研究员,从事大豆分子育种研究,E-mail:bingjunjiang@qq.com。

通讯作者:韩天富(1963-),男,博士,研究员,从事大豆遗传育种研究。E-mail:hantf@mail.caas.net.cn。

qRP-g-1、qRP-m-1、qRP-m-2、qRP-l-1 和 qRP-o-1), 其中 2 个主效 QTL (qRP-c-1 和 qRP-l-1) 可能分别与 E8 (*GmCRY1a*) 和 E3 (*GmPhyA3*) 相关。Liu 等^[5]根据 3 个纬度不同地区的实验数据在 Jinpungkong 2 (晚花) × SS2-2 (早花) 重组自交系中鉴定到 4 个分别位于染色体 6、9、13、16 上的控制开花的 QTL, 这些 QTL 都具有一定的环境敏感性。由此可见, 大豆开花成熟是由主基因和多基因共同决定的, 并且受到环境因素的复杂调控。贾贞等^[6]利用嫁接方法, 研究了早熟砧木黑河 27 对晚熟接穗自贡冬豆的开花促进效应, 认为光周期通过调节开花促进物质与抑制物质的多少与比例, 协调营养生长与生殖生长的进度, 从而保证生命周期的完成, 这为研究大豆开花分子机制提供了新的思路。

在大豆育性分子标记方面, Frasch 等^[7]鉴定了 2 个环境敏感的雄性不育、雌性可育基因 *ms8* 和 *msp* 及分别与之连锁的 2 个标记 Sat_389 (位于 M 连锁群) 和 Satt172 (D1b 连锁群); Slattery 等^[8]定位了 8 个雄性不育、雌性不育突变位点: 3 个位于 Gm16 (J 连锁群)、3 个位于 Gm14 (B2 连锁群)、1 个位于 Gm02 (D1b 连锁群) 及 1 个位于 Gm18 (G 连锁群)。此外, 为研究大豆线粒体基因在雄性不育中的作用, 费晓艳等^[9]构建了与大豆细胞质雄性不育系配套的保持系 JLCMS1 的线粒体基因组 BAC 文库, 为育性相关基因的克隆与功能研究奠定了基础。

1.3 品质性状

大豆品质性状包括油分蛋白和次生代谢物质的含量与组分等。在油分脂肪酸组分上, Hoshino 等^[10]进一步研究了一个常用于培育高油酸品种的经 X 射线辐照产生的删除突变体 M23, 发现该突变体不仅删除了 *GmFAD2-1a* 而且还删除了其他 19 个基因, 他们还开发了一个与 M23 共显性的 PCR 分子标记。在改善大豆豆腥味方面, 脂肪氧化酶编码基因 *Lx* 是首要的目标基因, 包括 *Lx*₁、*Lx*₂ 和 *Lx*₃。Shin 等^[11]比较了 2 个品种 Pureunkong (*Lx*₂) 和 Jinpungkong 2 (*Lx*₂) 在脂肪氧化酶 *Lx*₂ 上的序列变异, 并在这 2 个品种杂交产生的 RIL 群体及 480 个不同来源和成熟期组的种质中, 调查了这些序列变异的分布, 发现 Jinpungkong 2 (*Lx*₂) 中存在的 175 bp 侧翼序列在野生大豆中广泛存在而在栽培大豆中非常罕见, 并且 *Lx*₂ 缺失表型与一个错义突变密切相关。Reinprecht 等^[12]比较了品系 OX948 (*Lx*₁、*Lx*₂、*Lx*₃, 3 种脂肪氧化酶全缺失) 和 RG10 (脂肪氧化酶水平正常) 在脂肪氧化酶基因上的区别, 发现在 OX948 中 *Lx*₁ 和 *Lx*₂ 的突变均影响了对活性至关重要的包

含 6 个组氨酸的保守序列, 而 *Lx*₃ 的变异则存在于启动子区域。在蛋白质含量方面, 检测与之相关的 QTL 仍然是基础性工作。单大鹏等^[13]在 Charleston × 东农 594 的重组自交系群体中利用 5 个地点的蛋白质含量数据检测到位于不同连锁群上的 25 个 QTL。对现有的蛋白含量相关 QTL 进行 Overview 整合分析, 可以挖掘出重演性更好的 QTL 或分子标记。例如, 刘硕等^[14]筛选出稳定性较强的标记 Satt127。在种子储藏蛋白构成上, Jegadeesan 等^[15]使用 3 个 11S 缺失的品系, 2 个 A4 缺失的日本品种 Enrei 和 Raiden, 一个对照品种 Harovinton, 寻找到大豆球蛋白 (glycinin) 基因 *Gy*₁ 到 *Gy*₅ 特有的分子标记; Kim 等^[16]开发了与大豆 β 伴球蛋白 α' 亚基共显性的 PCR 标记。此外, 在次生代谢物质 (如异黄酮) 和抗营养因子等方面, Gutierrez-Gonzalez 等^[17]利用 Magellan × PI437654 的 F₇ RIL 群体定位了 5 个控制异黄酮含量的 QTL, 具有单个或多个加性或上位性效应。

1.4 抗病性

1.4.1 大豆胞囊线虫病 大豆胞囊线虫病是大豆的重要病害之一, 与之相关的分子标记或 QTL 开发是抗病育种的基础工作。Li 等^[18]对 159 份大豆种质资源进行了遗传多样性分析和关联分析, 共检测到 21 个 SSR 标记与高油 (6 个)、高蛋白 (1 个)、耐旱 (5 个)、SCN 抗性 (6 个) 和 SMV 抗性 (3 个) 显著相关。Chang 等^[19]在 L-10 (抗) × 黑农 37 (感) 的重组自交群体中, 发现一些分子标记可用于选择抗 3 号小种的品系。Vuong 等^[20]则在 Magellan (感) × PI438489B (抗) 的杂交群体中检测到 5 个与抗单个或多个 SCN 小种的 QTL, 其中 2 个抗多种 SCN 小种的 QTL 分别位于染色体 8 和 18 上, 与已知的 *rhg1* 和 *Rhg4* 位置一致, 其他 QTL 位于染色体 4 上。此外, Mazarei 等^[21]比较了 2 个遗传相关但对大豆胞囊线虫 2 号小种抗性迥异的姊妹系 TN02-226 和 TN02-275 的转录组差异, 检测出基因表达显著变化的转录本, 有助于挖掘与鉴定防御反应相关基因。

1.4.2 大豆疫霉根腐病 武晓玲等^[22]采用下胚轴创伤法, 对“苏 88-M21” × “新沂小黑豆”重组自交系群体进行大豆疫霉菌株 Pm14 接种, 分析其抗性遗传方式, 将“苏 88-M21”对 Pm14 的显性抗性基因 *RpsSu* 定位到 O 连锁群的微卫星标记 Satt358 和 Sat_242 之间, 与这 2 个标记的遗传距离分别为 3.5 和 7.4 cM。Wu 等^[23]还利用“鲁豆 4 号” × “诱处 4 号”群体, 将抗大豆疫霉菌株 Pm28 的抗性基因定位于 N 连锁群的微卫星标记 Satt631 (7.5 cM) 和 Sat_186 (4.3 cM) 之间。Sun 等^[24]使用 2 个遗传群体

(豫豆 25 × NG6255 和郑 92116 × NH5), 定位了一个新的位于 N 连锁群的抗性基因 *RpsYu25*。

1.4.3 大豆花叶病毒病 Yang 等^[25]在 RN-9(抗) × 7605(感)重组自交群体中将大豆花叶病毒抗性基因 *R_{SC15}* 初步定位到分子标记 Sat_213(8.0 cM) 和 Sat_286(6.6 cM) 之间^[25]。Ma 等^[26]在齐黄 1 号(抗) × 南农 1138-2(感)的重组自交群体中, 将抗性基因 *R_{SC14Q}* 精细定位到分子标记 Satt334(0.6 cM) 和 MY750(0.5 cM) 之间 616 kb 大小的区间, 并根据该区间可能的抗性基因, 开发了一个 SNP 标记 MY525。Wang 等^[27]在 Dabaima(抗) × Nannong1138-2(感)的 F₂ 群体中, 将抗性 *R_{SC4}* 精细定位到分子标记 BARCSOYSSR_14_1413 和 BARCSOYSSR_14_1416 之间不到 100 kb 的区间, 并进一步用实时定量 PCR 发现位于该区间的 3 个基因 (*Glyma14g38510*、*38560* 和 *38580*) 可能与抗性有关。Domier 等^[28]在 PI 88799(高种子传染) × PI548391(低种子传染)重组自交系群体中评估 SMV 种子传染和种皮斑点的分离, 发现 C1 和 C2 连锁群的染色质区与之关联。

1.4.4 大豆灰斑病 在大豆灰斑病抗性方面, Mengistu 等^[29]筛选了一批抗大豆灰斑病的种质资源, 其中有很多不含以前鉴定的抗病基因 *R_{cs3}*, 可用于挖掘新的抗病基因和分子标记; 姜翠兰等^[30]检测到与大豆灰斑病抗病基因 *R_{cs15}* 紧密连锁的 5 个 SSR 标记, 其中 Satt547 和 Sat-224 的检测准确率达到 85%, 可用于标记辅助选择育种。

1.5 抗逆性

Ohnishi 等^[31]发现 *GmIRCHS* 或其邻近区域的变异与冷害诱导的种皮变色有关。Hamwieh 等^[32]利用 2 个 RIL 群体鉴定到了位于 N 连锁群的抗盐 QTL, 在 2 个群体中分别解释表型变异的 44% 和 47.1%。黄兰兰等^[33]对控制大豆磷高效的 QTL 进行了 Meta 分析, 筛选出一些稳定性的 QTL, 为大豆标记辅助选择提供了基础。

2 大豆新基因挖掘

在开花和光周期反应方面, Sun 等^[34]发现 *GmFT2a* 基因的表达不仅参与开花诱导过程, 而且保证了开花进程的持续。多个 *CONSTANS* 同源基因如 *GmCOL9*, *GmCOL10* 和 *GmCOL11* 相继被克隆, 具有不同的表达特异性, 显示出它们功能的复杂性和多样性^[35-37]; Wu 等^[38]则在拟南芥中过表达 *GmPHYB1*, 发现 *GmPHYB1* 具有与 *AtPHYB* 相似的生理功能。在雄性不育方面, Jiang 等^[39]在雄性不育系 NJCMS2A 中未能检测出 *Atp9* 基因的 RNA 编辑现

象, 但在其保持系 NJCMS2B 中可检测到该现象^[39]。在结瘤固氮方面, Cheng 等^[40]发现一个新结瘤基因 *GmN479* 与根瘤的发育紧密相关^[40]; Reid 等^[41]研究了 CLE 多肽编码基因 *GmRIC1*, *GmRIC2* 和 *GmNIC1* 在结瘤调节中的作用。在油分品质方面, Chi 等^[42]考察了大豆基因组中脂肪酸脱氢酶基因的数量和分布, 发现大部分脱氢酶基因的表达具有时空特异性。*GmFAD2* 是其中较受关注的脂肪酸脱氢酶。Pham 等^[43]则通过分析 22 个高油酸品系中 *GmFAD2-1A* 和 *GmFAD2-1B* 的突变情况, 在品系 PI603452 的 *GmFAD2-1A* 基因上发现了一个单碱基删除突变, 该突变可用于培育高油酸品种。在逆境胁迫上, Wu 等^[44]推测磷酸转运子 *Ph1* 家族的两个成员 *GmPT1* 和 *GmPT2* 可能参与了体内磷酸转运而与磷亏缺无关; Guo 等^[45]发现 β -扩展蛋白 *GmEXPB2* 可能通过调节根系结构来增强磷效率和磷反应性; Feng 等^[46]认为 *GmPGYRP* 家族成员在植株发育与非生物胁迫响应中发挥重要作用; Wu 等^[47]推测核蛋白 *GmPHD5* 在盐胁迫下调节 H3K4 二甲基化和 H3K14 乙酰化相互作用; Faria 等^[48]则发现 *GmNAC6* 参与内质网胁迫和渗透压胁迫诱导的细胞凋亡过程, 并且作用于 NRP(N-rich protein, 富含天冬酰胺蛋白) 的下游; Pereira 等^[49]研究了干旱胁迫下大豆根中转录因子的表达; Duressa 等^[50]分析了大豆根在铝胁迫下的蛋白质组变化, 而 Nanjo 等^[51]则对大豆幼苗根尖在渍涝胁迫下的蛋白质组变化进行了分析。此外, 姜威等^[52]克隆并分析了天冬氨酸途径关键酶基因 *GmASADH*; 党利洁等^[53]克隆了 *GmcpSecA*, 发现该基因可能参与了将核基因组编码的叶绿体蛋白输入到类囊体腔的蛋白分选途径。张庆林等^[54]克隆一个比较高效的种子特异性启动子—大豆球蛋白启动子 G1p。这些工作将深化对大豆生理生化过程分子机制的认识, 促进大豆分子育种工作的发展。

3 大豆转基因育种

3.1 遗传转化体系的优化

大豆遗传转化体系的优化, 涉及受体基因型及外植体的选择以及与之配套的转化方法的改良。叶美等以“荷豆 12”作为受体品种、成熟种子胚尖为外植体, 对大豆成熟种子胚尖基因枪法转化体系进行了优化^[55]。Wiebke-Strohm 等^[56]研究了无 DNA 钨粒轰击法与根癌农杆菌侵染法相结合的转化方法, 取得了较好的转化效果。Lee 等^[57]研究表明, 在暗处用含 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA 的培养基预培养大豆种子, 并提高培养基的维生素 E 含量, 可将大豆转

化效率从 0.5% 提高到 4.3%。此外,闫瑞叶等^[58]利用大豆农杆菌介导子叶节转化与花粉管通道转化技术,将植酸酶 *phyA* 基因转入大豆,并对这两种转化方法进行了初步比较。

3.2 目的基因的功能鉴定

在品质改良上, Kim 等^[59]获得了过表达 O-乙酰基丝氨酸硫氢化酶、半胱氨酸含量提高的转基因大豆。在抗性育种上,李勃等^[60]将从烟草野火病原菌中发现的 *HrpZpsta* 基因转入大豆,以期通过诱导大豆过敏性反应提高大豆抗病性; Cao 等^[61]将小麦 Na^+/H^+ 离子通道蛋白基因 *TaNHX2* 转基因到大豆中,提高了转基因大豆的耐盐性。在光周期反应方面, Sun 等^[34]将大豆开花素基因 *GmFT2a* 转入极晚熟大豆品种自贡冬豆,获得可在长日照下开花的极早熟大豆材料。此外,发根农杆菌 (*Agrobacterium rhizogenes*) 介导的发状根转化系统虽不能获得可遗传的转基因植株,但很适于大豆基因功能的快速验证。利用该方法证明 Na^+/H^+ 离子通道蛋白基因 *GmNHX1* 可提高大豆耐盐性^[62]。

3.3 转基因大豆新品种的选育和推广应用

转基因作物自商业化种植以来,种植面积一直稳步增长。2011 年,全球转基因作物的种植面积达到 1.6 亿 hm^2 ,其中转基因大豆占了将近 50%,达到 7 540 万 hm^2 ,是常规大豆种植面积的 3 倍^[1]。耐除草剂依然是转基因作物的主要性状,其中,耐除草剂草甘膦的大豆转基因事件 GTS-40-3-2 已通过 25 个国家的监管审批,受到越来越广泛的认可^[1]。新的转基因技术与产品也已经或即将推向市场,例如:孟山都公司计划在 2012 年推出超过 300 个第二代转基因耐草甘膦 RR2 Yield 大豆品种^[63];先锋公司已推出对草甘膦有更高抗性的 OptimumTM GATTM 转基因大豆;拜耳公司也推出 Liberty-link 抗除草剂转基因大豆品种^[1]。利用转基因手段,聚合多个优良性状已是今后的发展趋势,例如巴西首次批准了抗虫和耐除草剂复合性状大豆,并将于 2012 年商业化;同时批准了由 EMBRAPA (巴西农牧业研究公司) 开发的拥有自主知识产权的转基因抗病毒大豆^[1]。

4 总结与展望

纵观 2011 年国内外大豆分子育种的进展,可以看到如下几点趋势:分子标记的开发得到进一步加强,尤其重视对多个来源的相关分子标记进行重新挖掘,找出共性的稳定的分子标记;紧密结合大豆参考基因组的信息,进行基于目标基因的分子标记开发;在新基因挖掘方面,限于大豆转化效率低下

的实际情况,许多基因的功能验证仍然需要在模式植物如拟南芥中进行,利用大豆为受体进行转化以准确反映新基因在大豆中的功能成为亟待解决的问题;多品种间的序列比较与关联分析成为挖掘新基因和研究基因功能的新手段;在转基因育种领域,转化系统的优化仍在进行,但尚未取得突破性进展;聚合多个性状的转基因大豆已取得阶段性成果,成为未来转基因大豆育种的大趋势。

参考文献

- [1] James C. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops; 2011. ISAAA Brief No. 43 [M]. NY, Ithaca; 2011.
- [2] 蒋春志,裴翠娟,荆慧贤,等. 大豆品质及农艺性状的 QTL 分析 [J]. 华北农学报, 2011, 26 (5): 127-130. (Jiang C Z, Pei C J, Jing H X, et al. QTL analysis of soybean quality and yield related characters [J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2011, 26 (5): 127-130.)
- [3] Xu Y, Li H N, Li G J, et al. Mapping quantitative trait loci for seed size traits in soybean (*Glycine max* L. Merr.) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2011, 122 (3): 581-594.
- [4] Cheng L, Wang Y, Zhang C, et al. Genetic analysis and QTL detection of reproductive period and post-flowering photoperiod responses in soybean [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2011, 123 (3): 421-429.
- [5] Liu W, Kim M Y, Kang Y J, et al. QTL identification of flowering time at three different latitudes reveals homeologous genomic regions that control flowering in soybean [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2011, 123 (4): 545-553.
- [6] 贾贞, 吴存祥, 王妙, 等. 大豆嫁接体系中砧木或接穗保留叶片数对接穗生长发育的影响 [J]. 作物学报, 2011 (4): 650-660. (Jia Z, Wu C X, Wang M, et al. Effects of leaf number of stock or scion in graft union on scion growth and development of soybean [J]. Acta Agronomica Sinica, 2011 (4): 650-660.)
- [7] Frasch R M, Weigand C, Perez P T, et al. Molecular mapping of 2 environmentally sensitive male-sterile mutants in soybean [J]. Journal of Heredity, 2011, 102 (1): 11-16.
- [8] Slattery R A, Pritzl S, Reinwand K, et al. Mapping eight male-sterile, female-sterile soybean mutants [J]. Crop Science, 2011, 51 (1): 231-236.
- [9] 费晓艳, 赵洪锬, 刘晓东, 等. 大豆细胞质雄性不育系配套保持系线粒体基因组 BAC 文库的构建 [J]. 大豆科学, 2011, 30 (3): 401-404. (Fei X Y, Zhao H K, Liu X D, et al. BAC library construction for mitochondrial genome of a maintainer (JLCMS1) associated with cytoplasmic male sterility soybean [J]. Soybean Science, 2011, 30 (3): 401-404.)
- [10] Hoshino T, Kawashita N, Takagi Y, et al. Molecular characterization and marker development of mid-oleic-acid mutant M23 for the development of high-oleic cultivars of soybean [J]. Plant Breeding, 2011, 130 (5): 544-555.
- [11] Shin J H, Van K, Kim K D, et al. Molecular sequence variations of the lipoxygenase-2 gene in soybean [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2012, 124 (4): 613-622.
- [12] Reinprecht Y, Luk-Labey S Y, Yu K, et al. Molecular basis of seed

- lipoxygenase null traits in soybean line OX948 [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2011, 122(7): 1247-1264.
- [13] 单大鹏, 刘春燕, 蒋洪蔚, 等. 两种方法定位 5 个地点大豆蛋白质含量 QTL [J]. 中国油料作物学报, 2011, 33(1): 9-14. (Shan D P, Liu C Y, Jiang H W, et al. QTL analysis of soybean protein content using two methods in 5 different environments [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2011, 33(1): 9-14.)
- [14] 刘硕, 罗玲, 刘章雄, 等. 大豆蛋白质含量 QTL 的“整合”及 Overview 分析 [J]. 大豆科学, 2011, 30(1): 1-7. (Liu S, Luo L, Liu Z X, et al. Integration of QTLs related to soybean protein content and “qualification” of them by Overview method [J]. Soybean Science, 2011, 30(1): 1-7.)
- [15] Jegadeesan S, Yu K, Woodrow L, et al. Molecular analysis of glycinin genes in soybean mutants for development of gene-specific markers [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2012, 124: 365-372.
- [16] Kim S, Kim M Y, Van K, et al. The development of a co-dominant marker for the β -conglycinin α' subunit in soybeans [J]. Euphytica, 2011, 177(3): 355-363.
- [17] Gutierrez-Gonzalez J J, Vuong T D, Zhong R, et al. Major locus and other novel additive and epistatic loci involved in modulation of isoflavone concentration in soybean seeds [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2011, 123(8): 1375-1385.
- [18] Li Y, Smulders M J M, Chang R, et al. Genetic diversity and association mapping in a collection of selected Chinese soybean accessions based on SSR marker analysis [J]. Conservation Genetics, 2011, 12(5): 1145-1157.
- [19] Chang W, Dong L, Wang Z, et al. QTL underlying resistance to two HG types of *Heterodera glycines* found in soybean cultivar ‘L-10’ [J]. BMC Genomics, 2011, 12: 233.
- [20] Vuong T D, Slepner D A, Shannon J G, et al. Confirmation of quantitative trait loci for resistance to multiple-HG types of soybean cyst nematode (*Heterodera glycines* Ichinohe) [J]. Euphytica, 2011, 181(1): 101-113.
- [21] Mazarei M, Liu W, Al-Ahmad H, et al. Gene expression profiling of resistant and susceptible soybean lines infected with soybean cyst nematode [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2011, 123(7): 1193-1206.
- [22] 武晓玲, 周斌, 孙石, 等. 大豆对大豆疫霉菌株 Pm14 抗性的遗传分析及基因定位 [J]. 中国农业科学, 2011, 44(3): 456-460. (Wu X L, Zhou B, Sun S, et al. Genetic analysis and mapping of resistance to *Phytophthora sojae* of Pm14 in Soybean [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2011, 44(3): 456-460.)
- [23] Wu X, Zhang B, Sun S, et al. Identification, genetic analysis and mapping of resistance to *Phytophthora sojae* of Pm28 in soybean [J]. Agricultural Sciences in China, 2011, 10(10): 1506-1511.
- [24] Sun S, Wu X L, Zhao J M, et al. Characterization and mapping of *RpsYu25*, a novel resistance gene to *Phytophthora sojae* [J]. Plant Breeding, 2011, 130(2): 139-143.
- [25] Yang Q H, Gai J Y. Identification, inheritance and gene mapping of resistance to a virulent Soybean Mosaic Virus strain SC15 in soybean [J]. Plant Breeding, 2011, 130(2): 128-132.
- [26] Ma Y, Wang D, Li H, et al. Fine mapping of the *RSC14Q* locus for resistance to soybean mosaic virus in soybean [J]. Euphytica, 2011, 181(1): 127-135.
- [27] Wang D, Ma Y, Liu N, et al. Fine mapping and identification of the soybean *RSC4* resistance candidate gene to soybean mosaic virus [J]. Plant Breeding, 2011, 130(6): 653-659.
- [28] Domier L L, Hobbs H A, Mccoppin N K, et al. Multiple loci condition seed transmission of soybean mosaic virus (SMV) and SMV-induced seed coat mottling in soybean [J]. Phytopathology, 2011, 101(6): 750-756.
- [29] Mengistu A, Bond J, Mian R, et al. Identification of soybean accessions resistant to *Cercospora sojina* by field screening, molecular markers, and phenotyping [J]. Crop Science, 2011, 51(3): 1101-1109.
- [30] 姜翠兰, 丁俊杰, 文景芝, 等. 大豆对灰斑病菌 15 号小种的抗病基因定位及标记检测 [J]. 植物保护学报, 2011, 38(2): 116-120. (Jiang C L, Ding J J, Wen J Z, et al. Identification and mapping of the *Cercospora sojina* race 15 resistance gene in soybean [J]. Acta Phytophylacica Sinica, 2011, 38(2): 116-120.)
- [31] Ohnishi S, Funatsuki H, Kasai A, et al. Variation of *GmIRCHS* (*Glycine max* inverted-repeat *CHS* pseudogene) is related to tolerance of low temperature-induced seed coat discoloration in yellow soybean [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2011, 122(3): 633-642.
- [32] Hamwieh A, Tuyen D, Cong H, et al. Identification and validation of a major QTL for salt tolerance in soybean [J]. Euphytica, 2011, 179(3): 451-459.
- [33] 黄兰兰, 钟开珍, 马启彬, 等. 基于 Meta 分析的大豆磷效率相关 QTL 的整合 [J]. 中国油料作物学报, 2011, 33(01): 25-32. (Huang L L, Zhong K Z, Ma Q B, et al. Integrated QTLs map of phosphorus efficiency in soybean by Meta-analysis [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2011, 33(01): 25-32.)
- [34] Sun H, Jia Z, Cao D, et al. *GmFT2a*, a soybean homolog of *FLOWERING LOCUS T*, is involved in flowering transition and maintenance [J]. PLoS One, 2011, 6(12): e29238.
- [35] Huang G, Ma J, Han Y, et al. Cloning and expression analysis of the soybean *CO*-like gene *GmCOL9* [J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2011, 29(2): 352-359.
- [36] Jiang Y, Han Y Z, Zhang X M. Expression profiles of a *CONSTANS* homologue *GmCOL11* in *Glycine max* [J]. Russian Journal of Plant Physiology, 2011, 58(5): 928-935.
- [37] Liu L, Ma J, Han Y, et al. The isolation and analysis of a soybean *CO* homologue *GmCOL10* [J]. Russian Journal of Plant Physiology, 2011, 58(2): 330-336.
- [38] Wu F Q, Zhang X M, Li D M, et al. Ectopic expression reveals a conserved *PHYB* homolog in soybean [J]. PLoS ONE, 2011, 6(11): e27737.
- [39] Jiang W, Yang S, Yu D, et al. A comparative study of ATPase subunit 9 (*Atp9*) gene between cytoplasmic male sterile line and its maintainer line in soybeans [J]. African Journal of Biotechnology, 2011, 10(51): 10387-10392.
- [40] Cheng X, Wang L, Wang H, et al. Specific expression of a novel nodulin *GmN479* gene in the infected cells of soybean (*Glycine max*) nodules [J]. Agricultural Sciences in China, 2011, 10(10): 1512-1524.
- [41] Reid D E, Ferguson B J, Gresshoff P M. Inoculation-and nitrate-induced CLE peptides of soybean control NARK-dependent nodule formation [J]. Molecular Plant-microbe Interactions, 2011, 24

- (5):606-618.
- [42] Chi X, Yang Q, Lu Y, et al. Genome-wide analysis of fatty acid desaturases in soybean (*Glycine max*) [J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2011, 29(4):769-783.
- [43] Pham A, Lee J, Shannon J G, et al. A novel *FAD2-1A* allele in a soybean plant introduction offers an alternate means to produce soybean seed oil with 85% oleic acid content[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2011, 123(5):793-802.
- [44] Wu Z, Zhao J, Gao R, et al. Molecular cloning, characterization and expression analysis of two members of the *Phl1* family of phosphate transporters in *Glycine max* [J]. PLoS One, 2011, 6(6):e19752.
- [45] Guo W, Zhao J, Li X, et al. A soybean beta-expansin gene *GmEX-PB2* intrinsically involved in root system architecture responses to abiotic stresses[J]. Plant Journal, 2011, 66(3):541-552.
- [46] Feng Y, Peng H, Liang S. Molecular analysis of the *PGYRP* (proline-, glycine- and tyrosine-rich protein) gene family in soybean [J]. Molecular Biology Reports, 2011, 38(4):2739-2750.
- [47] Wu T, Pi E X, Tsai S N, et al. *GmPHD5* acts as an important regulator for crosstalk between histone H3K4 di-methylation and H3K14 acetylation in response to salinity stress in soybean [J]. BMC Plant Biology, 2011, 11(1):178.
- [48] Faria J A, Reis P A, Reis M T, et al. The NAC domain-containing protein, *GmNAC6*, is a downstream component of the ER stress- and osmotic stress-induced NRP-mediated cell-death signaling pathway [J]. BMC Plant Biology, 2011, 11:129.
- [49] Pereira S S, Guimaraes F C, Carvalho J F, et al. Transcription factors expressed in soybean roots under drought stress [J]. Genetics and Molecular Research, 2011, 10(4):3689-3701.
- [50] Duressa D, Soliman K, Taylor R, et al. Proteomic analysis of soybean roots under aluminum stress [J]. International Journal of Plant Genomic, 2011, DOI:10.1155/2011/282531.
- [51] Nanjo Y, Skultety L, Uvackova L, et al. Mass spectrometry-based analysis of proteomic changes in the root tips of flooded soybean seedlings [J]. Journal of Proteome Research, 2012, 11(1):372-385.
- [52] 姜威, 朱宝华, 高静瑶, 等. 大豆天冬氨酸途径关键酶基因 *GmASADH* 的克隆与分析 [J]. 中国油料作物学报, 2011, 33(3):221-225. (Jiang W, Zhu B H, Gao J Y, et al. Molecular cloning and analysis of key gene *GmASADH* of aspartate pathway in soybean [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2011, 33(3):221-225.)
- [53] 党利洁, 李鹏丽, 刘栋, 等. 大豆 *GmcpSecA* 基因的克隆及表达特异性 [J]. 植物生理学报, 2011, 47(1):49-56. (Dang L J, Li P L, Liu D, et al. Cloning and expressional characterization of soybean *GmcpSecA* gene [J]. Plant Physiology Journal, 2011, 47(1):49-56.)
- [54] 张庆林, 赵艳, 翟莹, 等. 大豆球蛋白 G1 启动子的克隆及表达活性分析 [J]. 分子植物育种, 2011, 9(4):457-461. (Zhang Q L, Zhao Y, Zhai Y, et al. Cloning and activity analysis of soybean G1 promoter [J]. Molecular Plant Breeding, 2011, 9(4):457-461.)
- [55] 叶美, 张敏, 杨素欣, 等. 大豆成熟种子胚尖基因枪法转化体系的优化 [J]. 大豆科学, 2011, 30(1):20-23. (Ye M, Zhang M, Yang S X, et al. Optimization of biolistics transformation of embryonic tips of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] mature seeds [J]. Soybean Science, 2011, 30(1):20-23.)
- [56] Wiebke-Strohm B, Droste A, Pasquali G, et al. Transgenic fertile soybean plants derived from somatic embryos transformed via the combined DNA-free particle bombardment and *Agrobacterium* system [J]. Euphytica, 2011, 177(3):343-354.
- [57] Lee K, Yi B Y, Kim K H, et al. Development of efficient transformation protocol for soybean (*Glycine max* L.) and characterization of transgene expression after *Agrobacterium*-mediated gene transfer [J]. Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry, 2011, 54(1):37-45.
- [58] 闫瑞叶, 李喜焕, 李桂兰, 等. 植酸酶基因 *phyA* 转化大豆品种研究 [J]. 大豆科学, 2011, 30(3):356-361. (Yan R Y, Li X H, Li G L, et al. Transgenic soybean (*Glycine max* L.) plants with *phyA* gene improved phytase activity [J]. Soybean Science, 2011, 30(3):356-361.)
- [59] Kim W S, Chronis D, Juergens M, et al. Transgenic soybean plants overexpressing *O*-acetylserine sulphydrylase accumulate enhanced levels of cysteine and Bowman-Birk protease inhibitor in seeds [J]. Planta, 2012, 235(1):13-23.
- [60] 李勃, 付永平, 王丕武, 等. *HrpZpsta* 基因植物表达载体的构建及其在大豆中的转化 [J]. 大豆科学, 2011, 30(3):393-396. (Li B, Fu Y P, Wang P W, et al. Construction of plant expression vector involving *HrpZpsta* gene and its transformation into soybean [J]. Soybean Science, 2011, 30(3):393-396.)
- [61] Cao D, Hou W, Liu W, et al. Overexpression of *TaNHX2* enhances salt tolerance of 'composite' and whole transgenic soybean plants [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2011, 107(3):541-552.
- [62] 王敏娟, 侯文胜, 王庆钰, 等. 过表达 *GmNHX1* 基因提高大豆根系的耐盐性 [J]. 大豆科学, 2011, 30(6):889-894. (Wang M J, Hou W S, Wang Q Y, et al. Enhancing salt tolerance of soybean roots by overexpression of *GmNHX1* [J]. Soybean Science, 2011, 30(6):889-894.)
- [63] Monsanto. Monsanto Biennial investor Event. 2011, http://www.monsanto.com/investors/Documents/2012/Brett_Begemann_Biennial_Ivestor_Event_11-10-11.pdf.