

发根土壤杆菌介导的大豆发根转化体系改进

徐建美, 杨巧, 李硕, 刘倩, 简恒

(中国农业大学 植物病理学系, 北京 100193)

摘要: 鉴于大豆难以获得转基因植株的现实, 借鉴 Kereszt 等建立的发根土壤杆菌 (*Agrobacterium rhizogenes*) K599 介导的大豆转化体系, 并针对实验中遇到的具体问题, 对原体系进行了适当改进。结果表明: 改进的体系操作更简单, 对发根培养条件、人员操作技能要求更低, 所形成的植株更具生命力。同时, 应用改进体系以及 RNAi 技术, 构建了表达线虫特异基因 dsRNA 的转基因发根植株, 可在 60 d 内在转基因大豆发根上对植物线虫基因的 RNAi 效果完成验证。改进的体系为培育抗大豆胞囊线虫品种奠定了基础。

关键词: 大豆; 发根土壤杆菌 (*Agrobacterium rhizogenes*) K599; RNA 干扰; 遗传转化

中图分类号: S565.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-9841(2014)02-0161-07

Improvement of Soybean Hairy-root System Mediated by *Agrobacterium Rhizogenes*

XU Jian-mei, YANG Qiao, LI Shuo, LIU Qian, JIAN Heng

(Department of Plant Pathology, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract: In consideration of the fact that it is difficult to acquire transgenic soybean plants, we established a transformation system of soybean mediated by *Agrobacterium rhizogenes* K599 according to the method of Kereszt *et al.*, and improved it because of some specific questions in experiment. The improved transformation system and the original one were compared. Take advantage of the improved system and RNAi technology, transgenic hairy-root-plants that expressing nematode dsRNA of specific genes were constructed and the RNAi effects of these genes could be tested within 60 days on the transgenic hairy roots. The results indicate that the improved system is easier to manipulate, have less demands to environment conditions and personnel skill levels, and improve the vitality of acquired plants. Our results established the foundation for breeding new crop cultivars with highly resistant to soybean cyst nematode.

Key words: Soybean; *Agrobacterium rhizogenes* K599; RNA interference (RNAi); Genetic transformation

在研究基因功能和基因工程方面, 遗传转化有着极其重要的作用。为将目的基因转入植物, 在一些物种中, 发展了既简单又快速的发根土壤杆菌 (*Agrobacterium rhizogenes*) 介导的转化法。该法可以用于生产次级代谢物^[1-4], 鉴别启动子^[5], 根据根的发育情况分析基因功能^[6]以及重建整个植株^[7-8]等。但某些植物, 如大豆 (*Glycine max* L. Merrill) 的转化效率仍较低。近年来新开发的一种转化方法能够显著地减少形成转基因植物组织所消耗的时间, 利用此方法形成一种“嵌合体”植株, 其由野生型的非转基因茎叶系统和转基因的发根系统组成^[9-11], 此法已成功地应用于豆科植物, 鉴定与根瘤和菌根共生有关基因的功能^[12-17]。利用发根土壤杆菌进行大豆的转化在其他方面也有一些报道^[18-21]。

为了在植物体上快速评估靶标基因, 高通量的嵌合体发根体系已在多种植物系统中建立, 包括大豆^[22-24]、甜菜^[25-26]和番茄^[27]。相对于传统的大豆转基因方法, Li 等利用嵌合体的发根体系将筛选工序缩短了 8 个月^[24]。Klink 和 Li 等分别利用该体系鉴定了多个大豆胞囊线虫关键基因, 此法获得的

线虫关键基因可以转入大豆中以得到转基因大豆种子进行进一步研究^[23-24, 28]。

本文借鉴 Kereszt 等^[10]的方法, 建立了利用发根土壤杆菌 (*A. rhizogenes*) K599 介导的大豆发根转化体系, 但在实验中遇到了发根形成对湿度要求高而不利于植株地上部分健壮生长、继而影响到移栽后植株正常生长不能完成线虫侵染等具体问题。为此, 对原体系进行了改进, 并对改进前后两体系进行了比较, 利用改进体系以及 RNAi 技术构建的表达线虫特异基因 dsRNA 的转基因发根植株, 可以对影响大豆胞囊线虫生长、发育和寄生致病的关键基因进行筛选评价, 以期快速获得靶标基因, 为培育抗大豆胞囊线虫的新大豆品种奠定基础。本体系亦可用于可侵染大豆的其他线虫如根结线虫的生长发育及寄生致病起关键作用基因的筛选评价。

1 材料与方法

1.1 供试材料

大豆胞囊线虫 (Race 3) 由本实验室于温室种植

收稿日期: 2013-10-11

基金项目: 公益性行业 (农业) 科研专项 (20093040)。

第一作者简介: 徐建美 (1985-), 女, 硕士, 主要从事植物病原线虫研究工作。E-mail: yat0808@163.com。

通讯作者: 简恒 (1961-), 男, 教授, 主要从事植物病原线虫研究工作。E-mail: hengjian@cau.edu.cn。

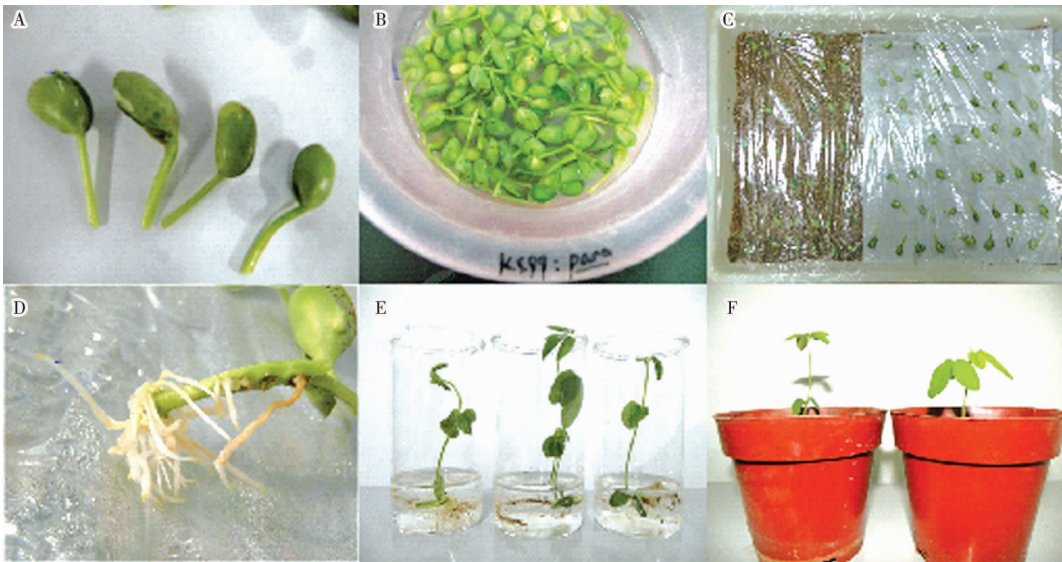
的感病大豆(中品 662)植株上繁殖;侵染试验所需新孵化二龄幼虫用改进贝曼漏斗法分离;发根体系所用的大豆品种为垦丰 16,由黑龙江省农垦科学院植保所刘辉研究员惠赠。

发根土壤杆菌株系 K599 (*Agrobacterium rhizogenes* NCPPB2659)经澳大利亚昆士兰大学 Gresshoff 教授许可、由中国农业科学院作物科学研究所韩天富研究员惠赠;植物表达载体 pCAMBIA3301,其上带有除草剂(PPT)抗性基因由本实验室改造。

1.2 大豆发根体系的改进

在本实验室条件下,借鉴 Kereszt 等^[10]的方法建立了大豆发根体系(下称为原体系)。针对实验

中遇到的问题,改变接种、培养以及炼苗方式以改善发根及实验后期发根植株的生理状况(改进后体系称为新体系,操作流程见图 1)。具体改进步骤及比较分析见表 1。本实验选用 pCAMBIA3301 载体,其上含有除草剂(PPT)抗性基因,在发根长至 1~2 cm 时,涂抹于根尖杀死非转基因阴性发根。所培育的发根植株,接种大豆胞囊线虫 1 000 条 J2/株,4~5 周后收集各处理植株发根及部分根际土壤,利用淘洗过筛法收集雌成虫或胞囊,称取发根干重并统计单株胞囊数、单位根重胞囊数以及单个胞囊卵粒数,利用 SPSS 13.0 软件进行统计分析。



A. 4 dpi 幼苗;B. 浸泡接种 K599;C. 保湿培养;D. 发根形成;E. 炼苗;F. 移栽后发根植株
A. Soybean seedling(4 dpi);B. Inoculation with *Agrobacterium rhizogenes* K599;C. Incubation in high humidity environment;D. Seedlings adaptation;E. Hardening-seedling;F. Hairy-root-plants after transplantation.

图 1 发根土壤杆菌介导的大豆转化新体系流程
Fig. 1 The procedure of the improved soybean transformation system mediated by *Agrobacterium rhizogenes*

表 1 发根新体系与原体系改进步骤比较及分析
Table 1 Comparison and analysis of manipulation procedures between the improved hairy-root transformation system and the original one

	新体系 Improved system	原体系 Original system	分析 ^a Analysis
接种方式 Ways of inoculation	播种 4~5 d 后,切取健康种子叶及部分下胚轴(图 1-A),每叶节下针刺 3 孔后,浸泡于 K599 菌悬液中 30~60 min 以接种(图 1-B)。	播种 4~5 d 后,选取健康种苗,于子叶节下用注射针头居中针刺 3 孔,向内注射 K599 菌液以接种。	新体系更优。新体系流水线式操作,浸泡接种,操作更简便,节省人力。
培养方式 Ways of cultivation	平摆于方盆内铺有湿润蛭石上的滤纸上,封口保湿,于温室(14 h 光照/10 h 黑暗,28℃/25℃)中培养(图 1-C)。	种植于穴盘中,1 株每穴,置于整理箱中严密封口保湿,于温室(14 h 光照/10 h 黑暗,28℃/25℃)中培养。	新体系更优。原体系接种位点悬于半空,形成发根对空气湿度要求极高,而高湿度会使植株徒长,变得细高。而新体系接种位点直接与湿润滤纸接触,易满足高湿度的要求,对空气湿度要求明显降低。

续表 1

	新体系 Improved system	原体系 Original system	分析 ^a Analysis
炼苗方式 Training ways of seedlings	塑料方盘中注水后放入带孔泡沫或育苗穴盘,之后将发根植株置于孔或穴中,使其地上部处于空气中而发根部处于水中,以使地上部逐渐适应温室环境,小规模炼苗可选用玻璃杯(图 1-E)。	发根长至合适长度后,于发根下 1 cm 处切除大豆初生根得发根植株,仍栽于部分封口的原整理箱中继续生长(操作需辅以加湿器),炼苗。	新体系更优。原体系植株因生长于高湿度下植株弱嫩,移栽时较大的环境变化,对操作要求较高。而新体系植株矮壮且环境变化相对较小,对操作要求较低。

dpi:接种后天数;PPT:草丁膦;^a对两体系差异步骤进行比较分析。
dpi means days post inoculation;PPT means Phosphinothricin;^a comparative analysis of the different steps of two systems.

1.3 两体系的比较

大豆发根原体系和新体系植株分别接种 K599-pCAMBIA3301 和 K599。统一播种出苗后,每个处理分别选择 30 株用于测量观察和比较,测量指标包括:不同时间点的株高、植株生长状况;发根形成时间、长度、生长状况;各体系植株发根株率、可移栽株率、移栽成活率、侵染株率以及侵染状况等。

2 结果与分析

2.1 株高变化

经多次试验得知,移栽时大豆发根植株株高对

植株后期生长状况存在很大影响。这是因为移栽时植株越高,其适应环境变化能力越低,越难以完成后续的线虫侵染试验。为此,对发根原体系和新体系移栽前多个时间点(7,11,14 和 18 dpi)测量了植株株高并进行比较分析。

对数据进行统计分析表明,在该 4 个时间点上新体系的植株株高皆显著低于原体系($P < 0.05$) (图 2),直到移栽时其株高一直显著低于原体系(表 1)。表明新体系大豆发根植株能够更好适应移栽时及移栽后环境条件的变化,完成后续的线虫侵染试验。

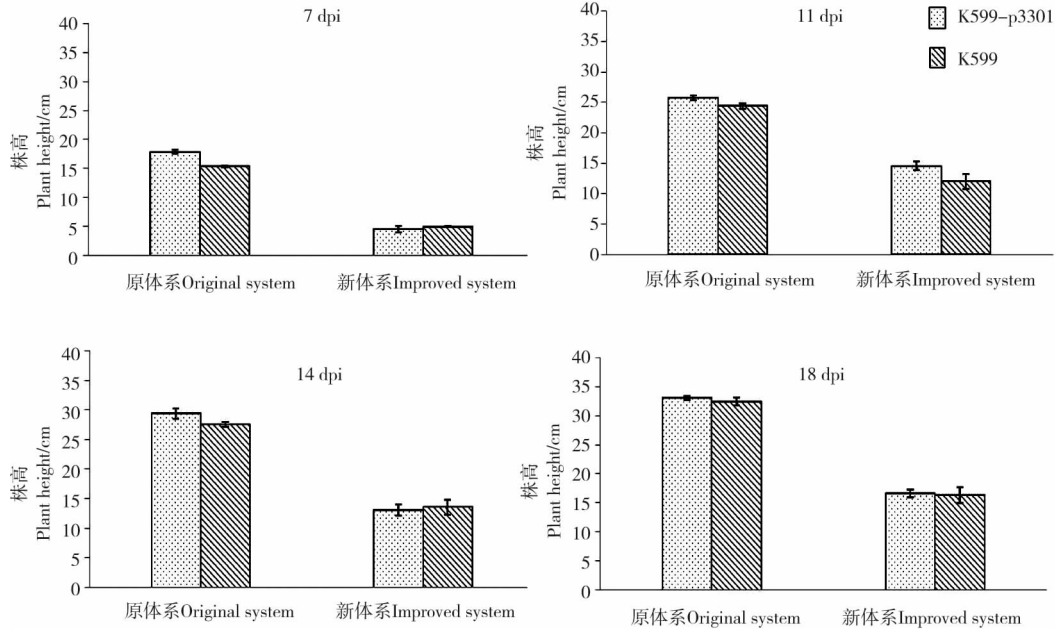


图 2 接种后不同处理时间新、旧发根体系的株高比较
Fig.2 Comparison the plant height of soybean plants acquired from the improved hairy-root system and the original one at different treatment times after inoculation

2.2 植株生长状况

接种后到移栽前,由于高湿条件的影响,原体系中发根种苗生长迅速但细高,而新体系种苗在同样条件下由于人为创伤而生长缓慢。接种后 7 d 时,原体系种苗的第一对真叶展开,但大部分叶缘开始变黄,变黄株率可达 60%,此时尚不影响植株

正常生长。
当原体系大豆发根植株长至与培养箱同高后(≥ 11 dpi),植株开始出现一些不良症状,如新叶与前一対真叶间距甚远,新叶小且大部变黄(图 3a, b);茎近顶部坏死(图 3c);真叶皱缩、叶尖变黄(图 3d)等。

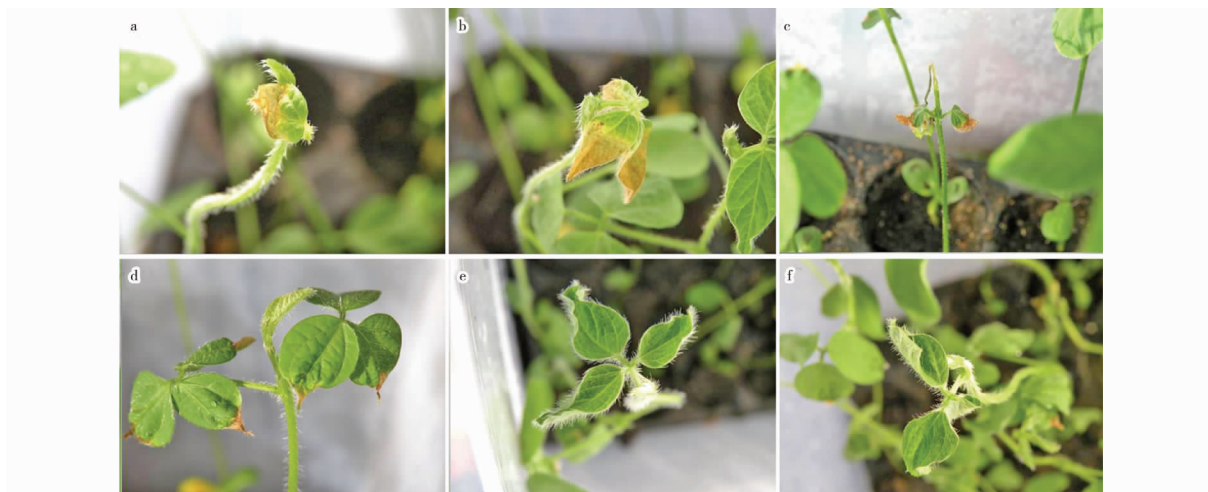


图3 发根原体系叶片症状(≥ 11 dpi, a-d)及移栽时植株脱水现象(20 dpi, e-f)
Fig. 3 The symptom on leaves of the original hairy-root-systems after 11 dpi (a-d) and dehydration when plants were transplanted at 20 dpi (e-f)

移栽时,由于环境条件变化很大,植株很容易脱水枯萎,而且原体系发根植株比新体系尤为严重。这是因为原体系获得的发根植株高、叶片极其幼嫩,对环境变化非常敏感;当环境中湿度降低时,旺盛的蒸腾作用得不到充足的水分供应,所以植株极易脱水枯萎(图 3e,f)。而且,原体系植株叶片存在的不良症状,使其移栽后更不易成活。因此,在移栽时应该逐渐降低湿度。

2.3 发根形成及发育状况

发根原体系与新体系在植株发根开始形成时差异较小,但其随后的生长发育则存在显著差异。在接种发根土壤杆菌 11 d 后(11 dpi),两体系植株

都开始长出发根,其长出发根的植株数与总植株数的比率都在 80% 以上。在 14 dpi 时,两体系植株的发根皆长势良好(图 4a,b)。在 20 dpi(移栽当天)时,两体系的发根长势存在显著差异(图 4c,d)。

移栽时(20 dpi)新体系发根植株的发根数量、长度、重量皆要优于原体系,且后者者在两体系中差异显著(表 2)。此时,新体系植株的发根长势要远远好于原体系,其更能适应移栽时环境变化并为移栽后保持良好长势打下基础。

2.4 发根植株其他农艺性状

从表 2 可以看出,移栽时新体系发根植株根冠比显著高于原体系。鉴于正常植物植株地上部



a 和 b:14 dpi 发根;c 和 d:20 dpi 发根及株高;c 和 d 左边植物为原体系发根植株;右边植物为新体系发根植株。
a/b:14 dpi;c/d:20 dpi;the left of c/d is the hairy-root-plant of the original system,the right of c/d is the hairy-root-plant of the improved system, respectively.

图4 发根新体系与原体系植株发根在不同时间的比较

Fig. 4 The growth and development of hairy roots of plants from the improved hairy-root-system and the original one

表 2 移栽时(20 dpi)发根植株农艺性状调查结果(n=10)

Table 2 The data analysis of agronomic traits of hairy-root-plant investigated at transplanting day(n = 10)

检测指标 Test index	原体系 Original system		新体系 Improved system	
	K599-p3301	K599	K599-p3301	K599
株高 Plant height/cm	33.17 ± 0.41 a	32.60 ± 0.66 a	16.58 ± 1.01 b	16.15 ± 0.98b
发根数目 Number of hairy roots	8.00 ± 0.92 c	10.50 ± 1.17 bc	12.70 ± 0.60 ab	13.40 ± 0.94 a
发根长度 Length of hairy roots/cm	2.92 ± 0.15 c	2.19 ± 0.07 d	6.55 ± 0.39 b	7.34 ± 0.31 a
发根重 Weight of hairy root/mg	23.37 ± 4.31 b	20.78 ± 2.47 b	126.53 ± 8.64 a	139.96 ± 14.08 a
冠重 Weight of shoots/mg	1433.07 ± 77.69 ab	1520.62 ± 28.16 a	1226.17 ± 72.20 c	1304.67 ± 21.40 bc
根冠比 Root shoot ratio/ × 10 ⁻³	16.71 ± 2.98 b	13.66 ± 1.56 b	108.10 ± 11.14 a	107.92 ± 11.47 a
冠重/株高	43.00 ± 1.92 c	46.66 ± 0.14 c	74.20 ± 1.93 b	82.92 ± 4.09 a

Weight of shoot to plant height/ × 10⁻³ g·cm⁻¹

同一行处理间标以不同字母者表示差异显著(P≤0.05)。下同。

Data marked with different letters are significantly different at P≤0.05 probability level. The same below.

长势与根系统发达程度显著相关,因此认为相对于原体系,新体系发根植株移栽后会有更好的长势。从表 2 还可以看出,虽然移栽时原体系植株株高和冠重都显著高于新体系,但其冠重与株高比显著低于后者,说明新体系植株单位长度的茎质量更大一些,即相较于原体系,新体系形成的植株更为健壮。

2.5 发根植株成活株率

两体系各自的两个处理在不同步骤中损失的植株数相差不大,最后可供采集 SCN 侵染数据的株率都在 80% 以上(表 3),但原体系的操作远比新体系繁琐和仔细。

表 3 原、新两体系不同处理时期部分性状比较

Table 3 The survival plant ratio of different treated times of the improved hairy-root transformation system and the original one

检测指标 Test index	原体系 Original system		新体系 Improved system	
	K599-p3301	K599	K599-p3301	K599
总株数 Total number	30	30	30	30
可移栽株率 Ratio of transplanted plants/%	96.67	93.33	96.67	93.33
可接种 J2 株率 Ratio of inoculated plants/%	96.67	93.33	96.67	93.33
可采集侵染数据株率 Ratio of last survival plants/%	89.66	82.14	86.21	82.14

2.6 发根植株被线虫侵染情况

在接种胞囊线虫侵染期幼虫后第 30 天(30 dpi)收集各处理植株发根系统及部分根际土壤,利用淘洗过筛法收集雌成虫或胞囊,称取发根

干重并统计单株胞囊数,单位根重胞囊数以及单个胞囊卵粒数。从表 4 的统计结果可以看出,发根原体系与新体系的各项指标没有明显的差异。

表 4 发根新体系与原体系侵染试验结果 ($n \geq 23$)

Table 4 The infection test findings of the improved hairy-root transformation system and the original one

检测指标 Test index	原体系 Original system		新体系 Improved system	
	K599-p3301	K599	K599-p3301	K599
单株胞囊数 Cyst number per plant	13.77 \pm 2.25 a	5.65 \pm 0.73 b	16.32 \pm 1.68 a	11.91 \pm 1.63 a
发根重 Weight of hairy roots/mg	101.32 \pm 18.93 c	96.58 \pm 19.83 c	189.08 \pm 37.40 b	272.64 \pm 33.98 a
单位根重胞囊数 Cyst number per gram of roots	201.09 \pm 35.70 ab	227.59 \pm 80.08 ab	413.36 \pm 151.85 a	77.15 \pm 18.38 b
单个胞囊卵粒数 Egg number per cyst	189.00 \pm 23.29 b	178.80 \pm 21.05 b	280.60 \pm 25.77 a	196.50 \pm 18.50 b

3 讨 论

目前已有许多实验室利用浸泡法沉默线虫靶标基因来分析其基因功能,但浸泡法诱导 RNAi 存在有效干扰持续时间较短的问题,而寄生阶段的线虫通过取食寄主形成的 dsRNA 则可避免这个问题。植物介导的 RNAi 不必像体外 RNAi 那样为诱导线虫取食需要人为加入吞食刺激剂,而且可以持续不断地向线虫供给 dsRNA 或 siRNA,从而使得线虫的整个寄生阶段持续受到干扰作用。因而植物介导的 RNAi 对线虫基因的干扰,其效果具有更持久、更可靠、更有效的评价能力。而鉴于获得大豆转基因植株困难的问题,本实验室着手构建发根土壤杆菌介导的大豆转化体系,希望利用其筛选出影响大豆胞囊线虫生长发育的关键基因。

本文建立的发根土壤杆菌介导的大豆转化新体系是针对原有体系存在的问题及不足所设计的,其优势体现在以下几个方面:通过切口使植株较原体系矮化,以保持较好的长势;接种操作更简便,在将切下的豆苗逐个针刺其子叶节及部分下胚轴造成伤口后,对所有材料整体进行浸泡接种以节省人力、时间,而且更易于进行较大规模线虫基因干扰效果评价;切口和针孔直接接触保湿的蛭石或滤纸,一方面蛭石或滤纸表面较大的湿度更利于大豆发根的形成与生长(发根更多、更长、多分支),另一方面对空气湿度的要求不严苛,这更利于大豆地上部的健壮生长;移栽时合适的根冠比更利于后期植株生长以及侵染试验顺利进行。

总之,本文建立了一个简便可靠的发根土壤杆菌介导的大豆转化体系,利用其并结合 RNAi 技术可在 60 d 内在大豆上验证线虫基因的干扰效果,从而筛选出影响线虫寄生致病及生长发育的关键基因。除大豆胞囊线虫外,本方法亦可用于其他可侵染大豆的线虫(如根结线虫等)中靶标基因的筛选评价。

参考文献

- [1] Lodhi A H, Bongaerts R J M, Verpoorte R, et al. Expression of bacterial isochorismate synthase in transgenic root cultures of *Rubia peregrius* [J]. Plant Cell Reports, 1996, 15: 54-57.
- [2] Fujimoto Y, Ohyama K, Nomura K, et al. Biosynthesis of sterols and ecdysteroids in *Ajuga hairy roots* [J]. Lipids, 2000, 35: 279-288.
- [3] Sevón N, Oksman C, Kirsi M. *Agrobacterium rhizogenes* mediated transformation; root cultures as a source of alkaloids [J]. Planta Medica, 2002, 68: 859-868.
- [4] Moyano E, Jouhikainen K, Tammela P. Effect of pmt gene overexpression on tropane alkaloid production in transformed root cultures of *Datura metel* and *Hyoscyamus muticus* [J]. Journal of Experimental Botany, 2003, 54: 203-211.
- [5] Xiao K, Zhang C, Harrison M, et al. Isolation and characterization of a novel plant promoter that directs strong constitutive expression of transgenes in plants [J]. Molecular Breeding, 2005, 15: 221-231.
- [6] Ivashuta S, Liu J, Liu J, et al. RNA interference identifies a calcium-dependent protein kinase involved in *Medicago truncatula* root development [J]. Plant Cell, 2005, 17: 2911-2921.
- [7] Cho H J, Wildholm J M. Improved shoot regeneration protocol for hairy roots of legume *Astragalus sinicus* [J]. Plant Cell Tissue Organ Culture, 2002, 69: 259-269.
- [8] Chaudhuri K N, Ghosh B, Tepfer D, et al. Spontaneous plant regeneration in transformed roots and calli from *Tylophora indica*; changes in morphological phenotype and tylophorine accumulation associated with transformation by *Agrobacterium rhizogenes* [J]. Plant Cell Reports, 2006, 25: 1059-1066.
- [9] Hansen A C, Busk H, Marcker A K, et al. *VsENBP1* regulates the expression of the early nodulin *PsENOD12B* [J]. Plant Molecular Biology, 1999, 40: 495-506.
- [10] Kereszt A, Li D, Indrasumunar A, et al. *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation of soybean to study root biology [J]. Nature Protocols, 2007, 2(4): 948-952.
- [11] Cao D, Hou W, Song S, et al. Assessment of conditions affecting *Agrobacterium rhizogenes* mediated transformation of soybean [J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 2009, 96: 45-52.
- [12] Ane J M, Kiss G B, Riely B K, et al. *Medicago truncatula* DMII required for bacterial and fungal symbioses in legumes [J]. Science, 2004, 303: 1364-1367.

- [13] Bersoult A, Camut S, Perhald A, et al. Expression of the *Medicago truncatula* DMI2 gene suggests roles of the symbiotic nodulation receptor kinase in nodules and during early nodule development[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2005, 18: 869-876.
- [14] Frendo P, Harrison J, Norman C, et al. Glutathione and homogluthione play a critical role in the nodulation process of *Medicago truncatula* [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2005, 18: 254-259.
- [15] Kaló P, Gleason C, Edwards A, et al. Nodulation signaling in legumes requires NSP2, a member of the GRAS family of transcriptional regulators[J]. Science, 2005, 308: 1786-1789.
- [16] Limpens E, Mirabella R, Fedorova E, et al. Formation of organelle-like N₂-fixing symbiosomes in legume root nodules is controlled by DMI2[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, 2005, 102: 10375-10380.
- [17] Vieweg M F, Hohnjec N, Küster H. Two genes encoding different truncated hemoglobins are regulated during root nodule and arbuscular mycorrhiza symbioses of *Medicago truncatula* [J]. Planta, 2005, 220: 757-766.
- [18] Cheon C I, Lee N G, Siddique A B, et al. Roles of plant homologs of Rab1p and Rab7p in the biogenesis of the peribacteroid membrane, a subcellular compartment formed de novo during root nodule symbiosis[J]. EMBO Journal, 1993, 12(11): 4125-4135.
- [19] Lee N G, Stein B, Suzuki H, et al. Expression of antisense nodulin-35 RNA in *Vigna aconitifolia* transgenic root nodules retards peroxisome development and affects nitrogen availability to the plant [J]. The Plant Journal, 1993, 3: 599-606.
- [20] Taylor C G, Fuchs B, Collier R, et al. Generation of composite plants using *Agrobacterium rhizogenes*[J]. Methods Molecular Biology, 2006, 343: 155-167.
- [21] Hayashi S, Gresshoff P M, Kinkema M. Molecular analysis of lipoxygenases associated with nodule development in soybean[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2008, 21: 843-853.
- [22] Cho H J, Farrand S K, Noel G R, et al. High-efficiency induction of soybean hairy roots and propagation of the soybean cyst nematode [J]. Planta, 2000, 210: 195-204.
- [23] Klink V P, Kim K H, Martins V, et al. A correlation between host-mediated expression of parasite genes as tandem inverted repeats and abrogation of development of female *Heterodera glycines* cyst formation during infection of *Glycine max* [J]. Planta, 2009, 230: 53-71.
- [24] Li J, Todd T C, Trick H N. Rapid in planta evaluation of root expressed transgenes in chimeric soybean plants[J]. Plant Cell Reports, 2010, 29: 113-123.
- [25] Kifle S, Shao M, Jung C, et al. An improved transformation protocol for studying gene expression in hairy roots of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) [J]. Plant Cell Reports, 1999, 18: 514-519.
- [26] Cai D, Thurnau T, Tian Y, et al. Sporamin-mediated resistance to beet cyst nematodes (*Heterodera schachtii* Schm.) is dependent on trypsin inhibitory activity in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) hairy roots[J]. Plant Molecular Biology, 2003, 51: 839-849.
- [27] Remeus P M, van Bezooijen J, Wijbrandi J, et al. In vitro testing is a reliable way to screen the temperature sensitivity of resistant tomatoes against *Meloidogyne incognita* [M]//In Proceedings of 5th International Symposium on Crop Protection. Belgium: Universiteit Gent, 1998, 63: 635-640.
- [28] Li J R, Todd T C, Oakley T R, et al. Host-derived suppression of nematode reproductive and fitness genes decreases fecundity of *Heterodera glycines* Ichinohe [J]. Planta, 2010, 232: 775-785.

第 24 届全国大豆科研生产会通知

为交流近期我国大豆生产、科研进展,加强全国大豆科研和产业人员之间的交流与合作,促进中国大豆产业的发展,中国作物学会大豆专业委员会计划于 2014 年 8 月在宁夏回族自治区银川市召开第 24 届全国大豆科研生产会。

一、会议组织单位

主办:中国作物学会大豆专业委员会

承办:宁夏农林科学院

二、参会人员

全国从事大豆科研、教学、推广、生产管理的科技人员、企业界人士和管理人员。

三、时间地点

时间:2014 年 8 月 19 日报到,20~22 日开会

地点:宁夏银川贺兰国际酒店

四、会议论文、资料

本次会议计划编辑印刷《第 24 届全国大豆科研生产会论文摘要集》,有意提供书面材料的代表,请将论文摘要于 2014 年 6 月 30 日前发至大会筹备处。

五、会务联系人

中国农业科学院作物科学研究所 吴存祥 E-mail:wucunxiang@caas.cn

中国作物学会大豆专业委员会
2014 年 4 月 15 日