



# 农杆菌介导大豆遗传转化影响因素研究进展

杨 柳, 于翠梅, 刘 铭, 赵明哲, 谢甫绀

(沈阳农业大学 农学院, 辽宁 沈阳 110866)

**摘 要:**大豆基因工程育种和功能基因组分析亟需建立高效大豆转化体系。本文综述了近年来影响农杆菌介导大豆遗传转化体系的农杆菌因素、植物因素及培养条件等方面的进展, 主要包括农杆菌菌株、菌株生长状态、大豆基因型、外植体类型、防御酶、内源激素及侵染和共培养方法等, 为提高大豆遗传转化效率及基因工程育种等相关研究提供参考。

**关键词:**大豆; 农杆菌; 转化; 影响因素

## Research Advances of *Agrobacterium*-mediated Transformation Affecting Factors in Soybean

YANG Liu, YU Cui-mei, LIU Ming, ZHAO Ming-zhe, XIE Fu-ti

(Agronomy college of Shenyang Agrocultural University, Shenyang 110866, China)

**Abstract:** There is an urgent need to establish a high-efficiency transformation system for soybean genetic engineering breeding and functional genome analysis. This article summarized research advances of affecting factors including *Agrobacterium* factors, plants factors and culture conditions that affect *Agrobacterium tumefaciens* mediated transformation recent years, mainly about *Agrobacterium* strains, bacterial growth state, soybean genotypes, explant types, defense enzymes, endogenous hormones and the condition of infection and co-culture. It will would provide reference for correlational studies of improving soybean transformation efficiency and genetic engineering breeding.

**Keywords:** Soybean; *Agrobacterium*; Transformation; Affecting factors

近年来利用遗传转化方法和再生技术对大豆进行遗传改良的基因工程育种已成为大豆育种研究的热点<sup>[1]</sup>, 大豆研究已进入基因组时代<sup>[2]</sup>, 而基因序列的功能验证依赖于遗传转化和再生技术的应用, 因此建立稳定、高效的大豆遗传转化体系可以为大豆基因工程育种和功能基因组分析提供良好的基础。

高效遗传转化一直是大豆基因工程领域的难点之一<sup>[3-4]</sup>。目前应用于大豆遗传转化的方法主要有农杆菌介导法、电击法、基因枪法、花粉管通道法等。农杆菌介导的遗传转化方法操作简单快速, 没有季节限制, 而且具有拷贝数低、基因沉默现象少、遗传稳定和成本低等优点而倍受人们关注, 成为大豆遗传转化应用最为广泛的方法<sup>[5]</sup>。大豆属双子叶植物, 是农杆菌的天然宿主, 但其转化率只有 0.2%~10.0%<sup>[6-9]</sup>。近年来随着转化体系的优化和农杆菌转化机制研究深入, 在有些大豆品种上转化率有大幅度提高, 中黄 13 品种转化率达 23.1%<sup>[10]</sup>; PK 416 品种转化率达 18.6%<sup>[11]</sup>; YC-1、YC-2 品种转化率达到约 14.7%<sup>[12]</sup>, 但还是远低于其它一些

双子叶植物如烟草、拟南芥、番茄, 为此, 很多学者开展关于农杆菌介导大豆遗传转化影响因素的研究。本文根据现有的研究基础, 从农杆菌因素、植物因素及培养条件来综述与大豆农杆菌转化相关因素的研究进展, 以期能够为建立高效的大豆遗传转化体系及探索农杆菌转化遗传机制的研究提供参考。

### 1 农杆菌对大豆遗传转化的影响

农杆菌是一种革兰氏阴性菌, 在土壤中分布广泛, 主要包括根癌农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*)和发根农杆菌(*Agrobacterium rhizogenes*), 其细胞中分别含有 Ti 质粒和 Ri 质粒, 在自然条件下自发感染绝大多数的双子叶植物的受伤部位, 并诱导其产生冠瘿瘤或者发状根。Ti 质粒和 Ri 质粒上包含有一段 T-DNA (transferred DNA), 可插入外源基因, 在农杆菌与植物相互作用下, 可以将 T-DNA 上的外源基因整合到宿主细胞的基因组 DNA 中, 以完成对植物的转化<sup>[13]</sup>。大量研究发现不同农杆菌菌株及生长状态直接影响着农杆菌对大豆植株的转化

收稿日期: 2018-04-19

基金项目: 辽宁省教育厅项目 (L2015490); 辽宁省科技厅项目 (2015020762)。

第一作者简介: 杨柳 (1992-), 女, 硕士, 主要从事大豆转基因研究。E-mail: 948753955@qq.com。

通讯作者: 于翠梅 (1974-), 女, 博士, 副教授, 主要从事大豆高产育种及转基因研究。E-mail: yucui mei@163.com。

能力<sup>[4-5,10-11]</sup>。

1.1 农杆菌菌株对大豆遗传转化的影响

自从 Hinchee 等<sup>[14]</sup>利用农杆菌菌株 A208 筛选到大豆敏感基因型 Peking 进行转化获得大豆转基因植株以来,很多学者在大豆转化研究中采用了不同菌株,包括 EHA105、EHA101、ABI、LBA4404、KYRT1、AGL1 等,利用这些菌株转化可以获得转基因大豆植株,但是这些菌株在不同大豆基因型及同一基因型的不同外植体类型转化中,转化效率都有很大差异<sup>[5]</sup>。Meurer 等<sup>[15]</sup>在子叶节农杆菌转化试验中比较了 3 个农杆菌菌株转化能力,发现 KYRT1 菌株优于 EHA105 和 LBA4404。王凤敏等<sup>[16]</sup>比较了 24 个大豆基因型对农杆菌菌株 EHA101、LBA4404 和 EHA105 的敏感性,发现不同品种对同一菌株或同一品种对不同菌株敏感性都不同,总体上农杆菌侵染能力由强到弱次序为 EHA101 > EHA105 > LBA4404。薄路花等<sup>[17]</sup>研究发现农杆菌 GV3101 的侵染能力高于 EHA105。不同大豆基因型对不同农杆菌菌株敏感性各不相同,对于特定大豆品种需要选择适合的农杆菌菌株才能获得较好的转化效果。

1.2 菌株生长状态对大豆遗传转化的影响

对农杆菌转化的分子生物学研究发现,农杆菌 Ti 质粒和 Ri 质粒上 *vir* 区则是 T-DNA 转移的“主开关”,*vir* 区基因及表达产物参与调控 T-DNA 的剪切、转移及植物基因组的整合过程,而 *vir* 区基因的表达是由 Vir A/Vir G 双组分信号转导系统介导的诱导性表达,因此通过调整菌株生长状态,增加 *vir* A 和 *vir* G 基因的表达量,从而诱导 *vir* 区基因表达对于农杆菌转化至关重要。研究表明酚类化合物、酸性 pH、糖类物质及环境温度等因素对诱导 *vir* 区基因表达具有重要影响<sup>[18-20]</sup>。大豆农杆菌转化研究中对于 22 ~ 25℃ 的低温环境、pH5.2 ~ 5.4 的酸性 pH 及乙酰丁香酮等酚类物质有利于转化已经达到共识,并广泛应用于不同品种的转化研究中<sup>[11,21-26]</sup>。

侵染过程中农杆菌浓度和侵染时间也是转化效率的重要影响因素。贾钰莹等<sup>[27]</sup>进行大豆子叶节转化体系优化研究发现农杆菌 OD 值为 0.5,侵染 30 min 为适宜条件。Yang 等<sup>[12]</sup>研究表明农杆菌浓度与大豆子叶节 *GUS* 基因瞬时表达率有关,OD 值为 0.8 ~ 1.0 有利于农杆菌的侵染。大多数研究菌液浓度的 OD 值一般为 0.5 ~ 1.0,侵染时间控制在 30 min 之内有利于转化。

2 植物因素对大豆遗传转化的影响

农杆菌转化过程是农杆菌、植物及环境条件相

互作用来共同完成,随着研究的深入,植物因素越来越成为决定农杆菌遗传转化效率的重要因素<sup>[28-30]</sup>。对于大豆遗传转化,过去研究多集中于大豆基因型、外植体类型及生长状态对转化的影响,近年来随着大豆基因组测序完成,同时在拟南芥和烟草等模式植物中农杆菌转化的分子机制取得了很多进展<sup>[31-33]</sup>,在大豆中与防御和细胞分裂相关的物质对转化的影响也有了初步进展。以下从大豆基因型、外植体类型、防御酶及内源激素等方面对影响大豆农杆菌转化的植物因素进行综述。

2.1 大豆基因型对大豆遗传转化的影响

大豆遗传转化具有很强的基因型依赖性。最初 Hinchee 等<sup>[14]</sup>从 100 多个大豆基因型中只筛选出 Peking 对农杆菌较为敏感。Donaldson 等<sup>[34]</sup>采用 12 个大豆品种进行转化研究,只在 Aceolibri 品种中获得了稳定遗传的转基因植株。后来随着试验体系的不断优化,一些易感大豆品种被逐渐筛选出来。王罡等<sup>[35]</sup>从栽培大豆中筛选出吉林 43 对农杆菌最为敏感。李文霞等<sup>[36]</sup>从 11 个大豆品种中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。Song 等<sup>[37]</sup>从 22 个大豆品种中筛选出天龙 1 号,其转化率显著高于转化常用品种 Jack 和 Williams 82。贾钰莹等<sup>[27,38]</sup>对不同大豆品种农杆菌转化研究中叶发现不同基因型间转化率具有显著差异,并从中筛选出 3 个高转化效率的品种,Williams 82、沈农 9 号和 Bert,以及 3 个低转化效率的品种 General、Kottman 和辽豆 16。不同大豆基因型对农杆菌敏感性不同,在实践中选择较强敏感性的品种进行转化以便获得较高的转化效率。

2.2 大豆外植体类型对大豆遗传转化的影响

Hinchee 等<sup>[14]</sup>首次以大豆子叶节为外植体获得转基因植株,之后很多学者以子叶<sup>[39]</sup>、胚性悬浮系<sup>[40]</sup>、胚尖<sup>[41]</sup>、愈伤组织<sup>[42]</sup>等外植体建立了农杆菌转化体系。其中子叶节再生体系具有再生时间短、再生过程简单、再生频率高、外植体容易获得等优点,已成为目前较为成熟的大豆农杆菌转化的受体系统<sup>[6-9,36]</sup>。

不同生长状态的大豆子叶节对转化也会有很大影响。王爽等<sup>[43]</sup>根据子叶和下胚轴的颜色和形态变化将外植体划分为 6 种状态,比较不同萌发状态外植体靶细胞对农杆菌的敏感性,结果表明不同萌发状态的外植体对农杆菌侵染效率和瞬时表达效率有显著差异,而且不同品种间外植体最佳萌发状态也不同。

2.3 防御酶酶活及相关代谢基因表达对遗传转化的影响

对植物来说,农杆菌的侵染过程相当于一种逆

境,从而引起外植体内可溶性蛋白质、POD 和 SOD 等膜保护酶系都发生很大变化,而这些变化是农杆菌的侵染活动与植物的抗病机制相互作用的结果<sup>[44]</sup>;一些抗氧化剂例如抗坏血酸、半胱氨酸、二硫苏糖醇(DTT)用来抑制 PPO 反应和 POD 反应,缓解植物防御反应从而减少组织坏死,增加 T-DNA 的转移效率<sup>[45-46]</sup>。Jia 等<sup>[38]</sup>以较高转化效率和较低转化效率的大豆品种为试材,在农杆菌转化的共培养阶段,比较和防御反应相关的物质和防御酶酶活,研究发现在共培养初期高转化效率品种子叶节的总酚含量和 PAL 活性高于低转化效率品种,丰富的酚类物质有利于农杆菌转化;共培养后期低转化效率品种 PPO 活性和 POD 活性迅速升高,高于高转化效率品种,较强的防卫反应可能是转化效率较低的重要原因。进一步对防御酶相关基因表达研究中,发现农杆菌侵染后,子叶节中编码 PPO 的基因 *PPO1* 和编码 POD 的基因 *PRX71* 的表达量升高,且高转化效率品种高于低转化效率品种。这说明在农杆菌侵染大豆过程中,受体防御酶系统是植物对农杆菌防御机制的重要影响因素。此外在拟南芥转化研究中发现泛素-蛋白酶体系统(ubiquitin-proteasome system, UPS)在植物防御农杆菌转化过程中发挥着重要作用,拟南芥通过 UPS 降解农杆菌 VirF 蛋白以抵御入侵的病原体,同时拟南芥转录因子 VFP4 可以与 VirF 蛋白相互作用,使 VFP4 成为 UPS 蛋白酶降解的靶点,从而削弱 VFP4 在植物防御反应中的作用<sup>[33]</sup>。这方面研究在大豆中有待开展。

## 2.4 内源激素含量及相关基因表达对大豆遗传转化的影响

大量研究表明细胞的快速分裂更有利于农杆菌的转化。细胞分裂素、生长素、赤霉素等植物内源激素都有促进细胞分裂进程的效应。大豆转化研究中采用的子叶节、胚尖、愈伤组织等转化受体都是处于旺盛的分裂状态。外源激素会影响内源激素含量及相关基因表达的变化,进而对农杆菌转化进行调控。在优化农杆菌转化体系研究中经常会外源添加激素以提高农杆菌转化效率,大豆转化中经常添加 6-BA 和 GA<sub>3</sub> 以提高转化效率<sup>[3-5]</sup>。

Ditt 等<sup>[47]</sup>在霍香蓟细胞悬浮系, Tie 等<sup>[48]</sup>在水稻愈伤组织, Zhou 等<sup>[49]</sup>在小麦愈伤组织中对应答农杆菌转化的基因表达分析研究中都发现了激素能够调控基因的差异表达。Jia 等<sup>[38]</sup>对大豆激素代谢相关基因表达分析表明农杆菌侵染后,高转化效率品种子叶节 ZR 合成酶基因 *IPT3* 和 *IPT5* 的表达量升高,且高于低转化效率品种;在共培养 1 d 时,

子叶节 GA 合成酶基因 *GA20ox2* 的表达量达到最高,且高转化效率品种高于低转化效率品种; IAA 合成酶基因 *TAA1* 随着共培养的进行,所有品种 *TAA1* 基因表达都呈现先升高后降低的趋势,在共培养后第 3 天表达量达到最高,低转化效率品种辽豆 16 和 Kottman 基因表达量显著高于高转化效率品种。有关这些内源激素含量检测研究中也得到了同基因表达一致的结果,说明对农杆菌转化, IAA 是负调节因子,而 ZR 和 GA 是正调节因子。

此外,植物中还含有茉莉酸、茉莉酸甲酯、水杨酸、豆科植物异黄酮等激素类物质,参与植物许多生理活动,尤其在防御系统中发挥重要作用<sup>[23,50]</sup>。在大豆转化研究中发现,与农杆菌共培养前期,低转化效率品种子叶节 MeJA 含量急剧上升,而且显著高于高转化效率品种。基因表达分析表明 MeJA 合成酶基因 *OPR3* 的表达量,在与农杆菌共培养 1 d 时,高转化效率品种远低于低转化效率品种<sup>[38]</sup>。同时还发现子叶 MeJA 含量出现峰值的时间晚于子叶节,出现在共培养后的第三天,并且含量低于子叶节,可能是因为子叶节部位的伤口和农杆菌侵染促使了子叶节内 MeJA 的快速积累。这也说明了 MeJA 是伤害的信号分子,对农杆菌的侵染具有抑制作用。

异黄酮是大豆生长中形成的一类次生代谢产物,是生物黄酮中的一种,也是一种植物雌激素。Zhang 等<sup>[21]</sup>研究表明大豆异黄酮阻碍农杆菌的生长和呼吸,进而降低对大豆的转化效率,但是在侵染阶段采用超声波 40 kHz 3 min 及在共培养阶段添加异黄酮的拮抗剂氨基氧乙酸(AOA) 20 μM,这样的方法抑制异黄酮合成以减少异黄酮对农杆菌转化的不利影响,使转化效率提高 3.6 倍。他们利用基因表达分析方法对异黄酮抑制农杆菌转化机理深入分析表明,在农杆菌侵染的早期阶段,触发病原体相关分子模式 PAMP(Pathogen-associated molecular pattern),利用激活因子如 BAK1, BZR1, BRI1 等上调了植物 MAPK(mitogen-activated protein kinases)通路的转录因子,如 WRKY25、WRKY29、MEKK1P 等表达,加强了黄酮类和异黄酮的生物合成,导致强烈的防御反应,最终降低大豆转化效率。而采用 AOA 和超声波处理后,下调了诸如异黄酮合成相关基因 F3'H, HCT, β-glucosidase 和 IF7GT 等;植物-病原体相互作用的重要基因 *FLS2* 和 *PBS1*, 转录因子 MYC2 等;与细胞膜上聚酯形成和细胞膜外表面的糖蛋白和糖脂降解相关基因 *GPAT* 和 α-L-岩藻糖苷酶(α-L-fucosidase)等,缓解了农杆菌进入细胞的结构屏障,阻碍植物信号的感知和传输,减

弱了植物的防御反应,从而增加了植物细胞的易感性<sup>[22]</sup>。因此内源激素在促进细胞分裂和增强植物防御方面的作用对农杆菌转化有重要影响。

3 侵染和共培养方法对大豆遗传转化的影响

在农杆菌转化过程中,侵染和共培养阶段是植物受体与农杆菌直接接触的时期,在这个阶段采用合适的方法可以大大提高转化效率。Mariashibu等<sup>[51]</sup>利用750 mmHg渗透压2 min的真空渗透辅助农杆菌侵染大豆未成熟子叶诱导的体细胞胚,提高转化效率。Guo等<sup>[52]</sup>利用超声波与表面活性剂协同处理,辅助农杆菌侵染大豆子叶节,提高瞬时表达效率和稳定转化效率。

共培养过程中的培养基成分,培养时间,pH及光照条件等因素都会影响农杆菌转化效率。大豆转化的共培养阶段经常采用MS或B<sub>5</sub>基本培养基,一般添加适当的生长调节剂可以促进转化受体的旺盛分裂状态;添加酚类化合物提高农杆菌的侵染效率。还有一些试验中添加抗氧化剂,例如L-半胱氨酸、AgNO<sub>3</sub>、抗坏血酸(Vc)、硫代硫酸钠(Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)、二硫苏糖醇(DTT)、聚乙烯吡咯烷等,可以抑制植物细胞的POD和PPO酶的活性,减少植物组织褐化,提高转化率<sup>[6,48,53]</sup>。大豆共培养阶段大多采用3~5 d的共培养时间,较低的pH和黑暗条件<sup>[5,54]</sup>,但也有研究表明适当延长共培养时间利于提高转化效率,以7~10 d为宜,培养基最适pH为6.6,光照条件为10~16 h·d<sup>-1</sup>能提高转化效率,与完全黑暗差异显著<sup>[55]</sup>。

4 展望

农杆菌介导植物转化法是目前应用最为广泛的植物遗传转化方法。大豆作为双子叶植物是农杆菌的天然宿主,但是转化率却远低于其它双子叶植物和一些单子叶植物,同时面对大豆基因工程和分子生物学快速发展的需求,因此开展农杆菌介导大豆遗传转化体系影响因素的研究显得十分重要和迫切。目前对影响转化体系因素的研究已有很多报道,取得了一定的进展,但是多集中在对培养条件的优化方面,而对于参与转化过程的内源物质研究还很少,关于与转化相关的内源物质有哪些,内源物质与农杆菌及T-DNA如何相互作用,外源培养条件如何通过内源物质来影响转化效率等,都是科学家未来亟待解决的问题。

参考文献

[1] Hartman G L, West E D, Herman T K. Crops that feed the world

2. Soybean-worldwide production, use, and constraints caused by pathogens and pests[J]. Food Security, 2011, 3(1): 5-17.

[2] Lam H M, Xu X, Liu X, et al. Resequencing of 31 wild and cultivated soybean genomes identifies patterns of genetic diversity and selection[J]. Nature Genetics, 2010, 42(12): 1053-1059.

[3] Olhoft P M, Donovan C M, Somers D A. Soybean (*Glycine max*) transformation using mature cotyledonary node explants[J]. Methods in Molecular Biology, 2006, 343: 385-396.

[4] Yamada T, Takagi K, Ishimoto M. Recent advances in soybean transformation and their application to molecular breeding and genomic analysis[J]. Breeding Science, 2012, 61(5): 480-494.

[5] 侯文胜,林抗雪,陈普,等. 大豆规模化转基因技术体系的构建及其应用[J]. 中国农业科学, 2014, 47(21): 4198-4210. (Hou W S, Lin K X, Chen P, et al. Establishment and prospect of efficient transformation systems for soybean[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2014, 47(21): 4198-4210.)

[6] 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, 216(5): 723-735.

[7] Paz M M, Shou H, Guo Z, et al. Assessment of conditions affecting *Agrobacterium*-mediated soybean transformation using the cotyledonary node explant[J]. Euphytica, 2004, 136(2): 167-179.

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

[9] Yamada T, Watanabe S, Arai M, et al. Cotyledonary node prewounding with a micro-brush increased frequency of *Agrobacterium*-mediated transformation in soybean[J]. Plant Tissue Culture Letters, 2010, 27(2): 217-220.

[10] Zhang F, Chen C, Ge H, et al. Efficient soybean regeneration and *Agrobacterium*-mediated transformation using a whole cotyledonary node as an explant[J]. Biotechnology and Applied Biochemistry, 2014, 61(5): 620-625.

[11] Arun M, Subramanyam K, Mariashibu T S, et al. Application of sonication in combination with vacuum infiltration enhances the *Agrobacterium*-mediated genetic transformation in Indian soybean cultivars[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2015, 175(4): 2266-2287.

[12] Yang X F, Yu X Q, Zhou Z, et al. A high-efficiency *Agrobacterium tumefaciens*, mediated transformation system using cotyledonary node as explants in soybean (*Glycine max* L.)[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2016, 38(3): 1-10.

[13] Gelvin S B. *Agrobacterium*-mediated plant transformation: The biology behind the ‘gene-jockeying’ tool[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews Mmbr, 2003, 67(1): 16-37.

[14] Hinchee M A W, Connorward D V, Newell C A, et al. Production of transgenic soybean plants using *Agrobacterium*-mediated DNA transfer[J]. Nature Biotechnology, 1988, 6(6): 915-922.

[15] 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.

[16] 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 affect-

- ing soybean cotyledonary-node *Agrobacterium*-mediated genetic transformation[J]. Soybean Science, 2011, 30(4): 557-562. )
- [17] 薄路花, 曹越平. 不同大豆品种对农杆菌 EHA105 和 GV3101 敏感性及其培养条件的优化[J]. 上海交通大学学报(农业科学版), 2015, 33(1): 26-31. (Bo L H, Cao Y P. Sensitivity of different soybean genotype to *Agrobacterium* EHA105 and GV3101 and optimization of cocultivation conditions[J]. Journal of Shanghai Jiaotong University(Agricultural Science), 2015, 33(1): 26-31. )
- [18] Lacroix B, Tzfira T, Vainstein A, et al. A case of promiscuity: *Agrobacterium*'s endless hunt for new partners[J]. Trends in Genetics, 2006, 22(1): 29-37.
- [19] Gelvin S B. Traversing the cell: *Agrobacterium* T-DNA's journey to the host genome[J]. Frontiers in Plant Science, 2012, 4(1): 27-32.
- [20] 邹智. 农杆菌 *vir* 基因诱导因子研究进展[J]. 中国生物工程杂志, 2011, 31(7): 126-132. (Zou Z. Advances on factors influencing induction of *Agrobacterium tumefaciens* virulence genes[J]. China Biotechnology, 2011, 31(7): 126-132. )
- [21] Zhang Y M, Zhang H M, Liu Z H, et al. Inhibition of isoflavone biosynthesis enhanced T-DNA delivery in soybean by improving plant-*Agrobacterium tumefaciens* interaction[J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 2015, 121(1): 1-11.
- [22] Zhang Y M, Liu Z H, Yang R J, et al. Improvement of soybean transformation via *Agrobacterium tumefaciens*, methods involving  $\alpha$ -aminooxyacetic acid and sonication treatments enlightened by gene expression profile analysis[J]. Plant Cell Reports, 2016, 35(6): 1259-1271.
- [23] Arun M, Chinnathambi A, Subramanyam K, et al. Involvement of exogenous polyamines enhances regeneration and *Agrobacterium*-mediated genetic transformation in half-seeds of soybean[J]. Biotech, 2016 6(2): 148;1-12.
- [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 K, 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] 吴国栋, 修宇, 王华芳. 优化子叶节转化法培育大豆 Mt DREB2A 转基因植株. 植物学报[J], 2018, 53(1): 59-71. (Wu G D, Xiu Y, Wang H F. Breeding of Mt DREB2A transgenic soybean by an optimized cotyledonary-node method[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2018, 53(1): 59-71. )
- [26] Li S X, Cong Y H, Liu Y P, et al. Optimization of *Agrobacterium*-mediated transformation in soybean[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 1-15.
- [27] 贾钰莹, 蒋滢, 赵强, 等. 农杆菌介导超高产大豆子叶节遗传转化研究[J]. 大豆科学, 2014, 33(5): 634-637. (Jia Y Y, Jiang Y, Zhao Q, et al. Study on *Agrobacterium*-mediated transformation system of super-high-yielding soybean cotyledon node[J]. Soybean Science, 2014, 33(5): 634-637. )
- [28] Brencic A, Winans S C. Detection of and response to signals involved in host-microbe interactions by plant-associated bacteria[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2005, 69(1): 155-194.
- [29] Gelvin S B. Integration of *Agrobacterium* T-DNA into the plant genome[J]. Annual Review of Genetics, 2017, 40(1): 195-217.
- [30] Ziemienowicz A. *Agrobacterium*-mediated plant transformation: Factors, applications and recent advances[J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2014, 3(4): 95-102.
- [31] Huang F C, Fu B J, Liu Y T, et al. *Arabidopsis* RETICULON-LIKE3 (RTNLB3) and RTNLB8 participate in *Agrobacterium*-mediated plant transformation[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19(3): 638-659.
- [32] Bourras S, Rouxel T, Meyer M. *Agrobacterium tumefaciens* gene transfer: How a plant pathogen hacks the nuclei of plant and non-plant organisms[J]. Phytopathology, 2015, 105(10): 1288-1301.
- [33] Garcíacano E, Hak H, Magori S, et al. The *Agrobacterium* F-box protein effector VirF destabilizes the *Arabidopsis* GLABROUS1 enhancer/binding protein-like transcription factor VFP4, a transcriptional activator of defense response genes[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2018, DOI: 10.1094/MPMI-07-17-0188-FL.
- [34] 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.
- [35] 王罡, 王萍, 蔺宇, 等. 大豆基因型对根癌农杆菌菌株敏感性的研究[J]. 遗传, 2002, 24(3): 297-300. (Wang G, Wang P, Lin Y, et al. The studies of sensitivity of genotype in soybean to lines of *Agrobacterium tumefaciens*[J]. Hereditas, 2002, 24(3): 297-300. )
- [36] 李文霞, 宁海龙, 吕文河, 等. 农杆菌介导大豆子叶节转化系统的优化[J]. 中国农业科学, 2008, 41(4): 971-977. (Li W X, Ning H L, Lyu W H, et al. Optimization of the *Agrobacterium*-mediated transformation systems of soybean cotyledonary node[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2008, 41(4): 971-977. )
- [37] Song Z Y, Tian J L, Fu W Z, et al. Screening Chinese soybean genotypes for *Agrobacterium*-mediated genetic transformation suitability[J]. Journal of Zhejiang University-Science B (Biomedicine and Biotechnology), 2013, 14: 289-298.
- [38] Jia Y Y, Yao X D, Zhao M Z, et al. Comparison of soybean transformation efficiency and plant factors affecting transformation during the *Agrobacterium* infection process[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2015, 16(8): 18522-18543.
- [39] Parrott W A, Williams E G, Hildebrand D F, et al. Effect of genotype on somatic embryogenesis from immature cotyledons of soybean[J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 1989, 16(1): 15-21.
- [40] 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.
- [41] 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(6): 1042-1049.
- [42] Hong H P, Zhang H, Olhoft P, et al. Organogenic callus, as the target for plant regeneration and transformation via *Agrobacterium*, in soybean (*Glycine max*, (L.) Merr.) [J]. In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant, 2007, 43(6): 558-568.
- [43] 王爽, 郭兵福, 张丽娟, 等. 农杆菌介导大豆子叶节转化法外

植株选择新方法[J]. 大豆科学, 2016, 35(5): 723-729. (Wang S, Guo B F, Zhang L J, et al. New method for the selection of explants in the *Agrobacterium* mediated cotyledon nodes transformation in soybean[J]. Soybean Science, 2016, 35(5): 723-729. )

[44] 龚一富, 高峰. 根癌农杆菌感染对甘薯外植体生理生化特性的影响[J]. 中国农业科学, 2008, 41(6): 1649-1654. (Gong Y F, Gao F. Effects of *Agrobacterium tumefaciens* on the physiological and biochemical characters in sweet potato explants[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2008, 41(6): 1649-1654. )

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

[46] Olhoft P M, Lin K, Galbraith J, et al. The role of thiol compounds in increasing *Agrobacterium*-mediated transformation of soybean cotyledonary-node cells[J]. Plant Cell Reports, 2001, 20, 731-737.

[47] Ditt R F, Nester E W, Comai L. Plant gene expression response to *Agrobacterium tumefaciens*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2001, 98(19): 10954-10959.

[48] Tie W, Zhou F, Wang L, et al. Reasons for lower transformation efficiency in indica rice using *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation: Lessons from transformation assays and genome-wide expression profiling[J]. Plant Molecular Biology, 2012, 78(1-2): 1-18.

[49] Zhou X, Wang K, Lyu D, et al. Global analysis of differentially expressed genes and proteins in the wheat callus infected by *Agrobacterium tumefaciens*[J]. Plos One, 2013, 8(11): e79390.

[50] Creelman R A, Mullet J E. Jasmonic acid distribution and action in plants: Regulation during development and response to biotic and abiotic stress[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1995, 92(10): 4114-4119.

[51] Mariashibu T S, Subramanyam K, Arun M, et al. Vacuum infiltration enhances the *Agrobacterium*-mediated genetic transformation in Indian soybean cultivars[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2013, 35(1): 41-54.

[52] Guo B F, Yong G, Wang J, et al. Co-treatment with surfactant and sonication significantly improves *Agrobacterium*-mediated resistant bud formation and transient expression efficiency in soybean[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2015, 14(7): 1242-1250.

[53] 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.

[54] 李艳超, 赵青松, 王凤敏, 等. 大豆遗传转化技术研究进展[J]. 大豆科学, 2015, 34(1): 155-162. (Li Y C, Zhao Q S, Wang F M, et al. Recent advances of soybean transformation[J]. Soybean Science, 2015, 34(1): 155-162. )

[55] 李桂兰, 刘晨光, 乔潇, 等. 共培养条件对农杆菌转化大豆子叶节的影响[J]. 核农学报, 2014, 28(9): 1567-1575. (Li G L, Liu C G, Qiao X, et al. Conditions of co-culture affecting on the efficiency of *Agrobacterium*-mediated transformation of cotyledonary node of soybean[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2014, 28(9): 1567-1575. )

## 《种业导刊》征稿启事

《种业导刊》创刊于1981年，由河南省农业科学院主管，河南省农业科学院农业经济与信息研究所主办。刊号：ISSN 1003-4749, CN 41-1392/S。国家新闻出版广电总局第一批认定学术期刊，河南省一级期刊。

《种业导刊》主要栏目包括政策经纬、专家论坛、种业管理、市场预测、栽培技术、植物保护、蔬菜园艺、园林绿化、种业315、审定品种等。

《种业导刊》全年12期，每月10日出版。国内邮发代号：36-119，每期定价8.0元，全年96元，全国各地邮局均可订阅。

敬请赐稿！欢迎订阅！

联系方式：

地址：郑州市花园路116号  
河南省农业科学院《种业导刊》编辑部  
邮编：450002  
电话：0371-87000220

QQ 在线：1661317955  
邮箱：zydaokan@126.com  
网址：种业在线（www.seedsee.com）