

农杆菌介导的大豆转基因研究进展^{*}

张银霞^{1, 2} 宋晓华¹ 李英慧² 邱丽娟²

(1 宁夏大学农学院, 宁夏 750021; 2 中国农科院作物科学研究所,
国家基因资源与遗传改良重大科学工程, 北京 100081)

摘要 植物基因工程是大豆遗传改良的重要途径。近几年来转基因植物与日俱增, 转化方法也得到了快速的发展。本文综述了农杆菌介导的大豆遗传转化体系及其优缺点, 分析了影响转化效率的因素, 介绍了农杆菌介导的转基因大豆研究成果。通过对不同方法的比较, 结果表明农杆菌介导法是目前大豆转基因中发展较为成熟的方法, 但转化体系有待于进一步的优化, 从而提高转化率。

关键词 农杆菌介导法; 大豆; 转基因; 研究进展

中图分类号 S 565.1 文献标识码 A 文章编号 1000-9841(2006)03-0309-05

植物转基因技术作为一种新兴的生物技术手段, 在抗性育种、提高产量和品质以及缩短育种周期等方面有着显著的优势。转基因植物在全球的种植面积从 1996 年的 170 万公顷迅速增加到 2003 年的 6770 万公顷, 增长了 40 倍。可见, 转基因大豆已经被广泛接受, 有着乐观的发展前景。

大豆转基因研究始于 1984 年^[1, 2], 在 1988 年获得大豆转基因植株^[3]。转基因大豆研究不断扩大, 主要是用农杆菌介导外源基因转化, 其中以根癌农杆菌介导大豆子叶节是较有效的大豆遗传转化系统^[4]。本文对农杆菌介导的大豆转基因的再生体系, 研究进展以及影响农杆菌介导的因素等方面进行综述。

1 大豆转基因的再生体系

大豆再生体系的建立和遗传转化频率的提高是大豆转基因研究的重要组成部分, 受到了广泛的重视。目前大豆遗传转化的再生体系主要有不定芽器官发生途径、体细胞胚胎发生途径和原生质体途径。为提高转化效率、缩短实验周期、解决大豆遗传转化的嵌合体问题, 国内外研究者对不同途径的大豆再生体系进行了研究和优化^[5], 其中, 以不定芽器官发生途径中的大豆子叶节再生体系的应用较多且比较

成功。

1.1 不定芽器官发生再生体系

大豆子叶节不定芽器官发生体系目前已经被公认为较成熟、易行的大豆再生体系。周思君等^[6]通过大豆幼胚培养诱导器官发生, 获得较高频率的再生植株。程林海等人^[7]以大豆上胚轴、下胚轴、幼胚和小真叶为外植体, 较高频率地诱导出再生植株。但不同基因型由于遗传和生理差异, 诱导植株再生效果不同。刘博林等人^[8]从大豆幼胚中诱导形成体细胞胚胎愈伤组织并分化成苗, 建立了一套再生频率较高的大豆植株再生方法^[9]。所以, 无菌苗子叶节、子叶是用于遗传转化较好的外植体, 具有取材不受季节限制, 诱导再生快、转化突变率低等优点, 并且获得了多个成功转化的例子。但也存在再生频率低、受基因型限制, 特别是转化株的嵌合体等问题。目前从大豆成熟种子分离出的具有选择性的子叶节作为受体进行转化, 获得了较高的转化率, 能够提高 1.5 倍, 达到 8.7%。这是大豆遗传转化率中较高的报道^[10]。

1.2 原生质体培养的植株再生体系

植物原生质体培养, 在遗传工程研究和开拓植物育种新途径方面具有重要意义。与利用大豆外植体培养再生植株相比, 其优越之处为容易摄取外源

^{*} 收稿日期: 2006-01-04

基金项目: 国家自然科学基金重大项目, 编号: 30490250

作者简介: 张银霞(1980-), 女, 在读硕士, 研究方向作物遗传育种。E-mail: zyxinxia2008@126.com, Tel: 13995403161.

遗传物质,从理论上讲克服了大豆遗传转化嵌合体现象^[11]。但实践证明,获得大豆原生质体再生植株十分困难,经过多年的艰苦探索,直到近年来才有新的突破。卫志明^[12]对大豆成熟种子子叶原生质体培养,得到了再生植株。张贤泽^[13]培养大豆原生质体经体细胞胚胎发生获得再生植株。中国农业科学院肖文言^[14]经大豆幼胚子叶原生质体培养获再生植株。尽管利用原生质体直接导入外源基因是可靠且可重复的遗传转化方法,但由于培养过程繁杂,工作量大,不易掌握,再生周期长,不同基因型差异很大,再生效率低,以及相关的遗传转化方法(电击法、脂质体法、PEG法)的转化效果不理想,所以在一定程度上限制了此研究在遗传转化上的应用。

1.3 细胞胚胎发生再生体系

Lazzeri^[15]首先用未成熟的子叶作外植体经体细胞胚胎发生途径获得再生植株,此后已有许多相关研究。以 Lazzeri、Ranch 和 Finer^[16,17]的体胚再生体系较有代表性,其中 Finer 的体胚再生体系可较为有效地解决转化嵌合体问题。同时,未成熟子叶在高浓度的生长素诱导下可经体细胞胚胎发生再生植株,尽管有些大豆品种的体细胞胚胎发生率不是很高,但它克服了子叶节进行遗传转化时易产生嵌合体的缺点,已报道将 Bt 基因、牛酪蛋白基因转入 Jack 等少数大豆品种中^[18]。目前王晓春、王罡、刘尚前等用球形期的体细胞胚受伤处理作为转基因的受体用于转化,结果表明体细胞胚团有很高的转化率为 8.0%,而发育晚期的子叶胚很难诱导出抗性体细胞胚,转化率为 0^[19]。虽然大豆体细胞胚再生体系取得了一定进展,但存在后代不育、传代时间长(一般大于 6 个月)、再生植株常出现变异等问题,是影响其用于遗传转化的主要因素,需要进一步研究解决。其发生机理及分子基础还需探讨,最终揭示大豆体细胞胚发生这一特定细胞分化过程的本质^[20]。

综上所述,大豆不定芽发生再生体系,相对于体胚和原生质体再生体系,具有对农杆菌“敏感性”较高、再生时间短、转化再生植株育性好、外植体来源范围广等优点,以子叶节不定芽再生体系为例:再生时间短,通常 1~3 个月就可获得生根的再生植株;外植体容易获得,不受季节限制;再生过程简单,只需丛生芽分化培养、芽伸长及生根培养 3 个步骤;再生频率高的优点,成为目前较为成熟的适合于农杆菌介导大豆遗传转化的再生体系。

2 农杆菌介导的大豆转基因影响因素研究

农杆菌介导的大豆转基因已经取得了很大的成就,表现最为突出的是抗除草剂转基因大豆的商业化生产。然而,目前研究还是在数量的基础上来获得转基因的再生植株,不少研究显示农杆菌介导法转化大豆的频率低,李明春等(2004)^[21]报道的转化率为 1.27%,崔欣(2002)的转化率为 0.49%~0.91%,Chen(2004)认为大豆的转化率一般在 0.5%~1.8%之间。吕慧颖研究表明,转化率为 2.39%^[22]。其转化率低是由于有很多因素影响农杆菌介导大豆遗传转化。

2.1 农杆菌菌株转化能力

农杆菌转化能力与农杆菌菌株有关。王连铮等(1984)利用致癌农杆菌的 15 个菌系浸染 2759 个大豆品种,筛选出 7 个致瘤能力较强的菌系,其中致瘤效果较好的菌株为 B3/73, C58 和 A 208。李洪泉等(1984)用 Chry5 分析我国 10 个大豆品种子叶致瘤作用,其中 7 个品种上致瘤作用比我国的超毒菌株 A28j 还强,对所有品种致瘤率均高于 T37,这与 Benny 和 Pueppke 首先发现的 Chry5 具有强致瘤性一致^[23],但导致转化能力差异的原因还未见报道^[24]。目前已对农杆菌质粒的转移功能有较多了解,以 Ti 质粒上的 T-DNA 起作用,受侵染的植物细胞转化过程是由一系列反应构成的相当复杂的程序^[25]。其中已经应用到大豆上的措施就是在共培养基培养基里添加疏醇类化合物,通过缓解植物对农杆菌的防卫反应造成的组织坏死来增加 T-DNA 向外植体的转移频率^[26]。最近, Ko 等报告了农杆菌菌株对农杆菌转化大豆未成熟胚愈伤组织的影响,农杆菌菌株 YRT1 效果明显优于 GV3101 和 EHA105。之后,他们又报告了采用农杆菌菌株 KYRT1 辅以辅助质粒 pKYRT1 来转化由大豆未成熟胚来源的胚性愈伤组织。观察到在共培养基培养基中添加 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid)的情况下, KYRT1+pKYRT1 得到转基因的体细胞胚的数目明显大于没有添加 2,4-D 的。该系统是截至目前应用前景最好的农杆菌介导大豆未成熟胚来源的胚性愈伤组织转化系统,PCR 分析表明得到转基因胚性愈伤组织的频率可达 55%^[27,28],而刘海坤等采用 EHA105 也获得了较高的转化频率可达 6.4%~12.1%^[29]。

2.2 大豆基因型对农杆菌的易感性

农杆菌感染能力还与大豆基因型有关。王连铮(1984)用 15 个农杆菌菌株从 2759 个大豆基因型中进行筛选,发现不同大豆基因型的易感性差异很大,其中 858 个为结瘤基因型,而其余基因型则不被感染^[30]。研究表明,随着大豆蛋白质含量增高,农杆菌致瘤率有下降趋势,以野生大豆表现比较明显。Owens 和 Cress^[31]对 24 个栽培大豆和 3 个野生大豆进行活体转化,筛选出 3 个栽培品种(Biloxi、Jupiter 和 Peking)及一个野生材料(PI398.693B)对土壤农杆菌 A398(pTiA6)高度易感,进一步研究表明,易感性是受少数几个基因控制的数量性状。用 4 个表型明显不同的大豆品种及杂交后代 F₁、F₂ 分析表明, F₁ 结瘤率表现介于双亲之间, F₂ 呈正态分布,遗传力较高^[32]。在易感品种 Peking 和难感品种 Clark 的后代遗传力大于 0.5,估算其遗传受 2~3 个基因控制^[33]。

2.3 酚类化合物、外植体类型、诱导条件等对菌株转化能力的影响

酚类化合物乙酰丁香酮(AS)等对农杆菌转化能力有明显影响。许跃^[34]和李宝键^[35]研究表明,多酚化合物或用对农杆菌敏感的植物提取物处理农杆菌,诱导 Vir 区基因活化,增加农杆菌在培养植物细胞上的附着。徐香玲等(1997)^[36]用烟草提取物处理菌液,经卡那霉素抗性筛选,发现烟草组织提取物的菌液比 YEP 液培养的菌液转化率高。刘金华在农杆菌转化大豆的过程中辅加化合物脯氨酸、硝酸银,结果表明这两种化合物均能明显地提高大豆的转化率^[37],之后 Olthoff 等报告如果在共培养培养基中添加半胱氨酸、二硫基苏糖醇(dithiothreitol, DTT)和硫代硫酸盐(sodium thiosulfate)的混合物,则从农杆菌转化子叶节系统得到转基因植株的频率可达 9.4%~26.2%。这是目前为止农杆菌介导大豆子叶节系统转化最为成功的报告^[38]。

不同外植体类型由于再生能力等差异对农杆菌的转化效率也有影响。刘兰英研究发现,与农杆菌共培养时,子叶外植体以 3 天较好,而子叶节外植体以 2 天最好,这可能是子叶节外植体对农杆菌比较敏感的缘故^[39]。另外,大豆外植体与农杆菌菌液共培养时人为划伤痕的转化效果优于未造成伤口的;共培养时,培养基上铺一层灭菌滤纸,可抑制暗培养过程中的污染,提高转化频率^[40]。近来有报道:将经过共培养的大豆外植体先在固体培养基上筛选培养 2 周后转移到液体培养基中培养,可以提高转化

率为 1.8%,同时可缩短丛生芽诱导时间,由以前的 5~6 周缩为 3~4 周^[41]。

最近一些新的,潜在高效的农杆菌转化方法,如超声辅助农杆菌转化法(SAAT)^[42],真空抽滤辅助农杆菌转化完整植株法,微粒轰击与农杆菌综合法得到发展。SAAT 法^[43]的应用必将提高农杆菌介导的转化效率,同时使农杆菌介导的转化方法也广泛的应用于其他目标组织。真空抽滤可以产生与 SAAT 类似的效果,微粒轰击与农杆菌综合法是在农杆菌感染之前或之后,进行微粒轰击以提高转化效率^[44]。

总之,影响或限制农杆菌介导大豆遗传转化效率的因素可概括为(1)大豆基因型;(2)农杆菌菌株和 Ti 质粒;(3)外植体类型及再生植株移栽成活率;(4)酚类化合物等各类诱导条件及转化时各种技术性环节等。

3 农杆菌介导法转化大豆的研究成果

农杆菌介导法是目前大豆转基因方法中最为有效的^[45],其在基因转移获得成功的例子最多,达 80%左右;对农杆菌转化机制研究也较多。其转化系统具有以下优点:方法简单、有效,不需专门仪器;宿主范围广,包括大多数双子叶植物和少数单子叶植物;插入外源基因的片段较大,可达 50kb 以上;外源基因整合到植物基因组上的拷贝数较少,多为单拷贝;整合的外源基因变异小,转化率高,在双子叶植物中可达 80%~90%,在单子叶植物中达 20%~30%^[46],转入的外源基因通常呈预期的孟德尔遗传,转化再生的植株通常是可育的。是目前各种植物尤其是双子叶类的作物转基因的主要方法。农杆菌介导的大豆转基因研究成果如表 1。

由表 1 可知,目前大豆转基因中使用的目的基因多为抗病、虫的单一基因,对抗胁迫、耐储藏、参与代谢、光合作用以及与品质有关的基因则很少使用。而植物在生长过程中可能会同时受到多种胁迫的影响,因此,对胁迫敏感的作物基因改良可能需要转移多个耐不同胁迫的基因。随着近几年转基因工程的发展,已有望从改良或增强一个关键的调节因子的调控能力入手,通过它促使多个功能基因发挥作用,从而使植物抗逆性得到综合的,根本的改良。这是农杆菌介导的转基因大豆发展的趋势和焦点。

表 1 农杆菌介导法获得转基因大豆
Table 1 Transgenic soybean were get via Agrobacterium-mediati

外源基因 Genes	受体 Receptor	外植体 Explant	研究者 Researcher	报到时间 Report time	结果 Result
nptII	细胞系 SB1	原生质体	Robert. B	1988	表达得稳定转化细胞系
nptII	A0949	子叶节, 芽尖	Paul P Chee	1989	16 株 R0 转化植株
Neomycin	Fayette	未成熟子叶	Al	1989	得嵌合植株无后代
玉米转座子	Peking	子叶	James H Zhou	1990	获得转化植株
GUS	Thron	子叶节	BW Delzer	1991	抗 Kan 愈伤
nptII	Peking	成熟子叶	Salah Muhawi	1992	抗 Kan 植株
nptII	小黑豆	子叶节	王慧中	1993	NptII 转化株
nptII	卫 515	子叶节	吕慧能	1993	得 1 株 NptII 转化植株
GUS	Willim82	未成熟子叶	Wenbin L.	1994	抗 Kan 胚
ipr	黑农 36	萌动种子	汪清胤等	1994	转 ipr 植株
BPMV CP—P	Fayette	子叶	Rong Di et	1996	转 BPMV CP—P 植株
Bt	东农 37	胚轴、子叶节	徐香玲	1997	获得 7 株转 Bt 植株
GUS	Nayette	子叶节	RS Torisky	1997	抗 Kan 植株
GUS	中黄 4 号	未成熟子叶	苏彦辉	1999	体胚未分化
Bt	吉林 29	子叶节, 下轴	苏彦辉	1999	转 Bt 植株
npt II	Accolibri	子叶节	PA Donaldson	2000	GUS 稳定表达转 nptII 植株
Hy promycin	Jack	未成熟子叶	B Yan et al.	2000	获得转化植株
Barnase	黑农 37	未成熟子叶	W A Parrott	2000	获得转化植株
GUS	Throne	子叶节	JKe et al.	2001	获得 GUS 稳定表达的植株
Bt	合丰 35	子叶节	周思君	2001	得阳性植株后代具抗性
Barnase	吉林 20	未成熟子叶	赵桂兰	2001	获得一批 Barnase 转基因植株
CPT II 基因	合丰 25	子叶	吴颖等	2003	获得抗 Kan 的芽
热激转录因子 8	科新 3 号	子叶节	吕慧颖	2004	获得 13 株抗 Kan 植株
psy	合丰 25 等	子叶节	龚学臣等	2005	获得抗性再生苗
D6D	吉林 47	子叶节	卜云萍等	2005	获得一批转基因植株

综上所述, 经过多年的研究, 农杆菌介导的大豆转化已取得很大的进展, 但尚不能满足大豆育种和功能基因研究的需要。因此, 仍需对大豆转化受体系统的优化和转化过程中影响因素做进一步研究, 转化后基因的表达调控也是转化研究的重要内容。虽然利用农杆菌介导的方法已将许多具有实际应用价值的外源基因导入植物中, 利用农杆菌介导的某些种属植物的遗传转化体系已渐趋成熟, 但要获得稳定高效的遗传转化程序还有许多方面的工作要做。

参 考 文 献

1 De Block M, Herrera Estrilas L, Van Montagu M, et al. Expression of foreign genes in regenerated plants and their progeny[J].

2 Horsch RB, Fraley RT, Rogers SG, et al. Inheritance of functional foreign genes in plants[J]. Science, 1984, 223: 496—498.

3 Hinchee MA, Connerward DV, Newell CA, et al. Prosuvcion of transgenic soybean plants using Agrobacterium mediated DNA transfer[J]. Biotechnology, 1988, 6: 915—922.

4 王萍, 王罡, 季静, 等. 大豆转基因体系的研究进展[J]. 遗传, 2004, 26 (6): 969—976.

5 刘北东, 朱延明, 杨谦, 等. 大豆再生体系的建立及遗传转化的研究进展[J]. 大豆科学, 2003, 1(22): 64—70.

6 周思君, 尹光初, 雷勃钧, 等. 从大豆 幼胚 诱导器官发生再生植株 [J]. 大豆科学 1990, 9(4): 285—290.

7 程林海, 孙毅, 王立国, 等. 大豆不同外植体植株再生的研究[J]. 中国油料作物学报, 1998, 20(2): 25—24.

8 刘博林, 徐民新. 两个栽培大豆品种的体细胞胚胎发生和植株再生的研究[J]. 中国油料作物学报, 1999, 21(2): 11—13.

9 程林海, 孙毅, 岳焕荣. 大豆生物工程研究进展[J]. 大豆科学,

- 2001, 20: 66—71.
- 10 Margie M. Par, Juan Carlos Martinez, Andrea B. Kalvig, et al. Improved cotyledonary node method using an alternative explant derived from mature seed for efficient *Agrobacterium*-mediated soybean transformation[J]. *Plant Cell Rep*, 2005, 7, 1—8.
- 11 刘北东, 朱延明, 杨谦, 等. 大豆再生体系的建立及遗传转化的研究进展[J]. *大豆科学*, 2003, 22(2): 64—70.
- 12 Wei ZM, Xu ZH. Plant regeneration from protoplast of soybean (*Glycine max* L.)[R]. *Plant Cell Rep*, 1988, 7: 348—351.
- 13 张贤泽, 小松田隆夫. 大豆原生质体经体细胞胚胎再生植株[J]. *中国科学(B 辑)*, 1993, 23(2): 154—158.
- 14 肖文言, 王连铮. 大豆幼荚子叶原生质体培养及植株再生[J]. *作物学报*, 1994, 20(6): 665—669.
- 15 Lazzeri PA, Hildebrand DF, Collins GB. A procedure for plant regeneration from immature cotyledon tissue of soybean[J]. *Plant Mol Biol Rep*, 1985, 3: 160—167.
- 16 Finer JJ, Mcullen MD. Transformation of soybean via particle bombardment of embryogenic suspension culture tissue[J]. *In Vitro Cell Development Biology*, 1991, 27: 175—182.
- 17 Finer KR, JJ Finer. Use of *Agrobacterium* expressing green fluorescent protein to evaluate colonization of sonication assisted *Agrobacterium*-mediated transformation-treated soybean cotyledons[J]. *Lett Appl Microbiol*, 2000, 30: 406—410.
- 18 张淑珍, 徐鹏飞, 林世锋, 等. 大豆体细胞胚再生体系的研究进展及展望[J]. *大豆科学*, 2004, 3(23), 232—236.
- 19 王晓春, 王昱, 季静, 等. 农杆菌介导的大豆体细胞胚遗传转化影响因素的研究[J]. *大豆科学*, 2005, 24(1), 21—26.
- 20 杨荣仲, 谭裕模, 陈如凯. 大豆遗传转化研究进展[J]. *广西农业科学*, 2003, 6: 11—15.
- 21 吕慧颖, 朱保葛, 张敬. 农杆菌介导法将热激转录因子 8 基因转入大豆[J]. *分子植物*, 2004, 2(6), 783—787.
- 22 Byrne MC. Strain and cultivar specificity in the *Agrobacterium* soybean interaction[J]. *Plant Cell Tissue Organ Cult*, 1987, 8(1): 3—15.
- 23 Owens, Cress DE. Genotypic variability of soybean response to *Agrobacterium tumefaciens* strains harboring Ti or Ri plasmids[J]. *Plant Physiol*, 1985, 77: 87—94.
- 24 谢友菊. 遗传工程概论[M]. 北京: 农业大学出版社, 1990.
- 25 Gelvin SB. *Agrobacterium*-mediated plant transformation the biology behind the "gene jockeying" tool. *Mic Mol J*. *Biol Rev*, 2003, 67: 16—37.
- 26 Ko TS, Lee S, Farrand SK, et al. A partially disabled vir helper plasmid, pKYRT1, in conjunction with 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid promotes emergence of regenerable transgenic somatic embryos from immature cotyledons of soybean[J]. *Planta*, 2004, 218: 536—541.
- 27 Ko TS, Lee S, Krasnyanski S, Korban SS. Two critical factors are required for efficient transformation of multiple soybean cultivars: *Agrobacterium* strain and orientation of immature cotyledonary explant[J]. *Theor Appl Genet*, 2003, 107: 439—447.
- 28 刘海坤, 卫志明. 利用根癌农杆菌介导转化大豆成熟种胚尖获得转基因植株[J]. *植物生理与分子生物学报*, 2004, 30(6) 631—636.
- 29 王连铮. 大豆致瘤及基因转移研究[J]. *中国科学, B 辑*, 1984, 2: 137—141.
- 30 Owens LD, Cress DE. Genotypic variability of soybean response to *Agrobacterium* strains harboring the Ti or Ri plasmids[J]. *Plant Physiol*, 1985, 77: 87—94.
- 31 Bailey MA, Boerma HR, Parrott WA. Inheritance of tumor formation in response to *Agrobacterium tumefaciens* in soybean[J]. *Crop Sci*, 1994, 34: 514—519.
- 32 Mauro AO, Pfeiffer TW, Collins GB. Inheritance of soybean susceptibility to *Agrobacterium tumefaciens* and its relationship to transformation[J]. *Crop Sci*, 1995, 35: 1152—1156.
- 33 许跃. 酚类化合物促进根癌农杆菌对植物离体外植体的高效转化[J]. *科学通报*, 1988, 33(2): 1745—1785.
- 34 李宝健. 应用农杆菌 Ti 质粒系统将外源基因导入水稻的研究[J]. *中国科学(B)*, 1990, 2: 144—149.
- 35 徐香玲. Ti 质粒介导的 Bt_{k-δ} 毒素蛋白基因转化大豆的初步研究[J]. *大豆科学*, 1997, 1: 6—11.
- 36 刘金华, 王丕武, 武丽敏, 等. 脯氨酸、硝酸银对农杆菌转化大豆的影响[J]. *大豆科学*, 2003, 1(22), 36—40.
- 37 Olhoft PM, Flagel LE, Donovan CM, et al. Efficient soybean transformation using hygromycin B selection in the cotyledonary-node method[J]. *Planta*, 2003, 5: 723—735.
- 38 刘兰英, 等. 大豆品质改良的基因工程[D]. 中国农业大学硕士学位论文, 1996.
- 39 Santarem ER, Trick HN, Essig JS, et al. Sonication assisted *Agrobacterium*-mediated transformation of soybean immature cotyledons optimization of transient expression[J]. *Plant Cell Rep*, 1998, 17: 752—759.
- 40 Chen Shiyun. High-efficiency *Agrobacterium*-mediated transformation of soybean[J]. *Acta Botanica Sinica*, 2004, 46(5): 610—617.
- 41 Trick HN, Finer JJ. Sonication assisted *Agrobacterium* mediated transformation of soybean [*Glycine max* (L) Merrill] embryogenic suspension culture tissue[J]. *Plant Cell Rep*, 1998, 17: 482—488.
- 42 Nnetateh-rosté, Giancarlo Pasquali, Maria Helena Bodanese Zanettini. Integrated bombardment and *Agrobacterium* transformation system, an alternative method for soybean transformation[J]. *Plant Mol Biol Reporter*, 2000, 18: 51—59.
- 43 林树柱, 曹越平, 卫志明. 根癌农杆菌介导的大豆遗传转化[J]. *生物工程学报*, 2004, 11, 20(6): 817—821.
- 44 崔广荣. 植物转基因方法及特点和转基因沉默现象[J]. *安徽技术师范学院学报*, 2003, 17(1): 37—41.
- 45 国家食物与营养咨询委员会科技部编. 大豆产业最新动态与大豆行动计划[M]. 大豆遗传转化方法和转基因研究进展., 2000, 63—69.

(下转第 328 页)

EFFECTS OF Snf907 FUNGAL METABOLITES ON EGG HATCHING AND JUVENILE MORTALITY OF *HETERODERA GLYCINES*

Liu Ting^{1,2} Wang Li³ Duan Yuxi¹ Chen Lijie¹ Wang Xue¹

(1. *Plant Protection College of Shenyang Agricultural University Shenyang 110161*;
2. *Institute of Plant and Environmental protection, Beijing Academy of Agricultural and Forestry
Science Beijing 100089*; 3. *College of Science of China Agricultural University Beijing 100083*)

Abstract The effect of Snf907 fungal metabolites at the original, 5×、10×、20× and 50× diluted solution on cysts and individual eggs hatching and juvenile of *Heterodera glycines* were investigated. The hatching rate of cysts were suppressed by 88.34%、82.33%、74.32%、57.01% and 38.62% and the corrected mortality rate of juveniles were 96.33%、83.18%、63.15%、47.04% and 33.99%, respectively. The difference between these treatments and water control were significant. The hatching rate of individual eggs were suppressed by 98.86%、92.66%、84.19%、72.32% and 65.54%, respectively, the difference between these treatments except for 50× diluted solution and water control being significant.

Key words Fungal metabolites; *Heterodera glycines*; Cyst; Individual eggs; Juvenile

(上接第 313 页)

ADVANCES ON THE STUDY OF AGROBACTERIUM-MEDIATED TRANSFORMATION OF SOYBEAN

Zhang Yinxia^{1,2} Song Xiaohua¹ Li Yinhui² Qiu Lijuan²

(1. *College of Agronomy, Ningxia University, Ningxia 750021*;
2. *Institute of Crop Germplasm Resources, CAAS, Beijing 10081*)

Abstract This paper introduced the receptor system used for Soybean transgenic technology and their advantages and limitations, factors influencing agrobacterium-mediated soybean transformation, research and production results of transgenic soybean. Cotyledonary node via Agrobacterium-mediated was thought to be the efficient systems of genetic transformation. Three problems existed in genetic transformation of soybean. So optimization of the transformation system would develop a high-efficiency soybean transformation system.

Key words Agrobacterium-mediated method; Soybean; Transgene; Advances