

DOI: 10.16861/j.cnki.zggc.2024.0558

白菜类蔬菜遗传转化研究进展

张家新^{1,2}, 张文静², 路翠玲³, 苏贺楠², 赵艳艳², 魏小春²,
杨双娟², 王志勇², 冯健起⁴, 张晓伟², 原玉香², 袁敬平¹

(1. 河南科技学院园艺园林学院 河南新乡 453003; 2. 河南省农业科学院蔬菜研究所 郑州 450002;
3. 郑州市农业科技研究院 郑州 450006; 4. 河南省开封市农林科学研究院 河南开封 475004)

摘要: 遗传转化技术是研究白菜类蔬菜基因功能和开展遗传育种的重要手段。通过适宜的遗传转化方法, 可以将目标基因导入生物基因组, 实现对其生物学特性和经济性状的改良。然而, 白菜类蔬菜的遗传转化面临着再生能力差、转化效率低等问题。通过查阅国内外白菜类蔬菜遗传转化相关文献, 对影响白菜类蔬菜遗传转化效率的因素(基因型、再生体系、转化方法等)进行了分析和总结, 探讨了 CRISPR/Cas9 在遗传转化中的应用, 并对其再生与遗传转化的前景进行了展望。

关键词: 白菜类蔬菜; 遗传转化; 再生体系; 转化方法; CRISPR/Cas9

中图分类号: S634

文献标志码: A

文章编号: 1673-2871(2025)02-001-06

Research progress on genetic transformation of *Brassica rapa* vegetables

ZHANG Jiixin^{1,2}, ZHANG Wenjing², LU Cuiling³, SU Henan², ZHAO Yanyan², WEI Xiaochun², YANG Shuangjuan², WANG Zhiyong², FENG Jianqi⁴, ZHANG Xiaowei², YUAN Yuxiang², YUAN Jingping¹

(1. College of Horticulture and Landscape Architecture, Henan University of Science and Technology, Xinxiang 453003, Henan, China; 2. Vegetable Research Institute, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, Henan, China; 3. Zhengzhou Institute of Agriculture Science and Technology, Zhengzhou 450006, Henan, China; 4. Kaifeng Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Kaifeng 475004, Henan, China)

Abstract: Genetic transformation technology is an important toll for exploring the gene functions of *Brassica rapa* vegetables and conducting genetic breeding. Through appropriate genetic transformation methods, target genes can be introduced into the genome to improve their biological characteristics and economic traits. However, the genetic transformation of *Brassica rapa* vegetables faces challenges such as poor regeneration ability and low transformation efficiency. This paper reviews the relevant literature on genetic transformation of *Brassica rapa* vegetables both domestically and internationally, analyzes and summarizes the factors affecting transformation efficiency (such as genotype, regeneration system and transformation method, etc.), discusses the application of CRISPR/Cas9 in genetic transformation, and provides prospects for regeneration and genetic transformation in the future.

Key words: *Brassica rapa* vegetables; Genetic transformation; Regeneration system; Transformation methods; CRISPR/Cas9

白菜类蔬菜包括大白菜(*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*)、小白菜(*Brassica rapa* L. *chinensis*)和菜心(*Brassica rapa* L. *chinensis* var. *utilis* Tsen et Lee)等, 属于十字花科(Cruciferae)芸薹属(*Brassica*)作物。白菜类蔬菜在我国蔬菜产业中占据重要地位,

白菜类蔬菜育种对提高农业生产力至关重要。随着组织培养技术、分子标记辅助育种技术和基因工程育种技术的进步, 生物技术在农业中的应用越来越广泛。将抗虫、抗病等优异基因导入植物基因组中, 对改良农作物、解决农业生产中的难题具有重要意义。

收稿日期: 2024-09-04; 修回日期: 2024-11-22

基金项目: 中原科技创新领军人才(244200510041); 省科技研发计划联合基金优势学科重点项目(232301420024); 国家自然科学基金(32202485, 32472730)

作者简介: 张家新, 女, 在读硕士研究生, 研究方向为蔬菜生物技术和遗传育种。E-mail: zhangjx4302022@163.com

通信作者: 原玉香, 女, 研究员, 主要从事蔬菜生物技术和遗传育种研究。E-mail: yuxiangyuan126@126.com

袁敬平, 女, 副教授, 主要从事分子生物学及遗传育种研究。E-mail: jpyuan666@163.com

义。目前,遗传转化技术已成为白菜类蔬菜育种工作的重要手段之一,但白菜类蔬菜的遗传转化仍面临着许多问题。白菜种是芸薹属3个基本种和3个复合种中最难进行组织培养的一类^[1],其转化效率远远低于同为芸薹属的油菜和甘蓝。目前,研究者不断探索和改良遗传转化方法,提高其再生率和转化效率。笔者将归纳汇总目前已报道的白菜类蔬菜遗传转化方法和影响因素,以期对白菜类蔬菜遗传转化效率的提升和技术的优化提供参考^[2]。

1 遗传转化的再生体系

高频再生体系是遗传转化的基础,近年来,国内外学者在白菜类蔬菜再生体系的建立方面做了大量工作,并取得了较大进展。用于白菜类蔬菜遗传转化的再生体系包括诱导愈伤组织的再生体系、直接分化的再生体系以及以生殖细胞为受体的再生体系^[2]。其中,诱导愈伤组织的再生体系是最常用的方法。在诱导愈伤组织的再生体系中,影响再生的因素包括基因型、外植体类型、培养基成分等诸多因素。

1.1 基因型

白菜类蔬菜的基因型对愈伤组织诱导和植株再生频率影响极大,即使采用相同的培养条件,不同基因型也具有不同的再生频率^[2]。选择合适的基因型对建立高频再生体系至关重要。研究表明,白菜的再生率由核基因控制^[3]。白菜类蔬菜属于AA基因组,而控制芽再生的相关基因位于C基因组上^[4-5]。Murata等^[6]指出缺乏C基因的白菜类蔬菜,相比于CC型的甘蓝类蔬菜,其不定芽再生困难、植株再生能力较低,这一现状已成为制约白菜类蔬菜功能研究以及白菜转基因品种培育的一大因素。张凤兰等^[7]比较了123个大白菜基因型的再生频率,结果表明,不同大白菜品种再生频率差异极大,再生频率与品种起源、结球类型及熟性无相关性。曹家树等^[8]研究了7个白菜类蔬菜栽培品种和1个杂交亲本离体培养再生情况,发现青梗类品种的离体再生频率明显高于白梗类品种,认为青梗类品种更适宜离体培养的植株再生。任家利^[9]对22个不同基因型的大白菜和小白菜进行再生分析,其中有17个可被诱导出不定芽,并指出纯合基因型利于诱导出不定芽。

1.2 外植体类型

目前,白菜类蔬菜再生中应用最多的外植体有子叶、子叶柄、带柄子叶、下胚轴、小孢子、花粉等。

外植体只有同时具备再生能力强、易于农杆菌侵染、适应性强等特点,才能成为良好的转化受体。Li等^[10]对大白菜的下胚轴、带柄子叶和根的不定芽分化进行评估,发现带柄子叶的平均分化率高达81.15%。刘雨佳^[11]用大白菜花粉和小孢子诱导胚状体的形成。张晓东等^[12]以大白菜品种Seoul下胚轴为外植体,建立了大白菜高效稳定再生体系,诱导出不定芽的频率最高为39.15%。范爱丽等^[13]提出白菜外植体保留单片子叶的切割方式明显优于保留2片子叶的切割方式。陈敏敏等^[14]比较了不结球白菜的带柄子叶、子叶、沿叶脉切开的半子叶-子叶柄和下胚轴4种不同外植体的再生率,发现带柄子叶的再生能力最强,子叶次之,下胚轴最差。刘学成等^[15]利用06J28基因型大白菜真叶建立了高效再生体系,再生率最高达87.63%。

1.3 培养基成分

白菜类蔬菜再生体系的研究中大多使用MS培养基和B5培养基,并在这些培养基的基础上再添加有利于愈伤组织诱导分化及再生的物质。在植物组织培养中,激素的种类和浓度对植株的再生效率具有决定性影响,特别是在白菜类蔬菜的遗传转化和再生过程中,确定合适的激素配比对提高再生频率尤为重要。

在白菜类蔬菜离体芽诱导阶段培养中,常用的生长素及类似物有NAA、IAA、IBA、2,4-D等,细胞分裂素有KT、6-BA、TDZ、CPPU等,其他种类激素有ABA、GA₃等^[9,16-18]。在诱导白菜类蔬菜不定芽分化时使用的激素组合多为6-BA+NAA或TDZ+NAA^[19-20]。在生根方面,有研究发现用单一的生长素(IAA、IBA、NAA)刺激能表现出较高的生根率,而有研究则认为细胞分裂素和生长素组合的共同作用的生根效果更佳,只是与诱导培养基的激素比例不同^[21]。

在植株生长的过程中会产生乙烯等气体,所以多数培养基中都会添加AgNO₃来中和这些气体,同时它还具有促进植物器官和体细胞胚胎发生^[22]、缓解褐化与玻璃化现象的作用。杜红等^[23]研究表明,培养基添加AgNO₃能明显促进大白菜子叶的芽再生。不同基因型的植株、不同的外植体类型和不同的转化方法在离体培养各阶段所需要的成分都不尽相同。

2 遗传转化的方法

目前,常用于白菜类蔬菜遗传转化的方法有基因枪法、磁转染法和农杆菌介导法等。

2.1 基因枪法

基因枪法也称粒子轰击法,其基本原理是将外源 DNA 包被在金粉或钨粉微粒中,通过基因枪轰击将包被的颗粒直接转移到细胞或组织中,进而在受体植株基因组中稳定遗传表达,其本质是一种物理过程,故基本不受受体基因型的限制,使用范围也更广泛^[24]。李菲^[25]第一次报道以基因枪法进行大白菜遗传转化体系的构建。刘雨佳^[11]利用基因枪法轰击大白菜小孢子得出转化效率为 10.83%。但基因枪法作为转基因技术工具,存在转化率低、成本高、外源 DNA 易损和仅能转移小于 10 kb DNA 片段等局限性^[24]。

2.2 磁转染法

利用磁性纳米粒子(magnetic nanoparticles, MNPs)载体运转外源基因,通过磁场进入和转化细胞的过程称作磁转染法。磁性纳米颗粒介导的转化技术通过将质粒 DNA 包裹在磁性纳米颗粒中,形成 MNP-DNA 复合物,利用磁场将这些复合物引入花粉中,然后用这些花粉给植物授粉,DNA 会整合到植物的基因组中,产生转基因种子,这些种子可以再生为转基因植物^[24]。该方法通过将 DNA 直接送入花粉中,通过授粉实现遗传转化,无需组织培养。刘雨佳^[11]利用大白菜小孢子及花粉粒分别作为转化受体,初步探讨了以磁转染法转化大白菜的方式。许可翠^[26]等用磁转染法转化不结球白菜,转化效率为 8.89%。侯忠乐^[27]利用花粉磁转化方法成功将外源基因编辑载体导入不结球白菜植株,获得了转基因植株。磁转染法作为一个新兴的遗传转化手段,仍存在许多问题,如基因转化机制尚未明确、纳米载体设计复杂以及需要针对不同植物系统定制建立有效的转化体系等。

2.3 农杆菌介导法

农杆菌介导法是实现遗传转化成功例子最多的植物转基因方法,因其具有转化大片段 DNA、转化效率高、操作简便且能稳定遗传等优势,已成为植物遗传转化的首选。在植物基因工程中大约有 80%的遗传转化是通过农杆菌介导完成的^[28]。农杆菌分为根癌农杆菌和发根农杆菌,其含有 Ti (tumor-inducing)质粒,可通过对植物受伤部位的侵染将外源 DNA 整合入宿主细胞基因组。通过人为改造 Ti 质粒上的 DNA 片段,可以实现对植物的转基因改造^[11]。此方法选择灵活,可基于离体再生体系完成转化,又可独立完成转化^[29]。李海艳^[30]对 4 种农杆菌菌株(GV3101、LBA4404、EHA105、

AGL-1)的大白菜遗传转化效率进行了比较,结果显示 GV3101 菌株得到了最高的抗性愈伤组织诱导率、抗性芽分化率和转化率,表明其转化能力最强。EHA105、LBA4404 和 AGL-1 的抗性愈伤组织诱导率、抗性芽分化率、转化率都依次降低。贾艳丽^[31]利用农杆菌介导法将抗虫基因转入汉阳青小白菜中,转化率为 3.65%。梁雯雯^[32]利用农杆菌介导法建立了菜心的遗传转化 59

体系,转化率为 2.22%。但农杆菌介导法也存在对物种基因型和外植体依赖性强、对组织培养技术要求高、转化周期长等缺点。

2.4 其他方法

基因枪法、磁转染法和农杆菌介导法各有利弊,研究者们也尝试了其他方式。如孟茜^[33]首次构建了细胞穿透肽介导的大白菜小孢子遗传转化体系,其主要是利用 CPPs 作为承载外源 DNA 等生物大分子物质的载体进入细胞。Liu 等^[34]用浸花法转化普通白菜,结果表明用于拟南芥转化的浸花法也可以适用于其他十字花科植物。Khan 等^[35]用浸花法转化高产多室类型白菜,发现半开花转化率为 7.2%,完全开花转化率为 5.2%。胡毅等^[36]利用蘸花法对普通白菜进行遗传转化并得到转基因植株。赵静^[37]采用真空渗入法将目的载体转入大白菜中,转化率为 0.37%。杨慧莹^[38]用超声波-真空渗入法转化结球白菜,但未获得转基因植株。

3 转化载体的选择

遗传转化载体构建是其中最为关键的一步。选择具有合适的选择标记基因和报告基因的遗传转化载体能极大地提高试验效率。

3.1 选择标记基因

在遗传转化过程中,标记基因的选择起着关键作用。选择标记基因通常用于识别成功整合到细胞或组织的目标基因。白菜类蔬菜遗传转化中常见的选择标记基因分别为抗生素抗性基因(*nptII*、*hpt*)和除草剂抗性基因(*bar*)。通过将相应筛选剂加入培养基中来筛选带有转基因载体的植株,筛选剂提供选择性压力,仅使包含目标基因的细胞能够存活和生长。筛选剂的选择必须与选择标记基因匹配,筛选剂的浓度需要足够高以抑制未转化细胞的生长,但又不能对转化细胞产生毒性^[37]。

含有新霉素磷酸转移酶基因(*nptII*)标记的载体可以选择卡那霉素(Kan)、遗传霉素(G418)、新霉素等作为筛选剂。含有潮霉素磷酸转移酶基因(*hpt*)

标记的载体可以选择潮霉素(Hyg)作为筛选剂。贾艳丽^[31]在建立白菜高效遗传转化体系当中使用20和25 mg·L⁻¹的Kan进行筛选。潮霉素作为筛选剂时质量浓度范围多在8~20 mg·L⁻¹。Sivanandhan等^[39]通过逐渐增加潮霉素质量浓度(10~12 mg·L⁻¹),对大白菜子叶外植体进行3次筛选,成功实现了14%的转化率。

抗除草剂基因(*bar*)编码膦化麦黄酮(phosphinothricin, PPT)和乙酰转移酶(phosphinothricin acetyltransferase, PAT),可以使转基因植株对筛选剂草丁膦、草铵膦及其类似物Basta具有耐性^[2]。刘任源^[29]发现,8 mg·L⁻¹膦化麦黄酮(PPT)可作为菜心转化过程中的最适筛选剂和质量浓度。Park等^[40]用5 mg·L⁻¹草铵膦筛选出了过表达的大白菜转基因植株。

选择合适的标记基因,探索最适宜的筛选剂浓度对抑制和筛选未转化的植株、提高筛选效率、提高转化率有重要作用。

3.2 报告基因

为方便快捷地鉴定转化植株,需要用到报告基因。在白菜类蔬菜转基因研究中常用的报告基因包括*uidA(GUS)*和*GFP*。*uidA(GUS)*基因编码能够水解X-葡萄糖苷底物(如5-溴-4-氯-3-吡啶基-β-D-葡萄糖苷)的β-葡萄糖醛酸酶(β-glucuronidase),进而产生蓝色反应物。因此,通过*GUS*基因的表达能够观察到组织或细胞中的活性位置,从而检测转基因的表达情况^[41]。张国裕等^[42]利用*GUS*染色组织分析法研究最适转化条件,建立了农杆菌介导的菜心遗传转化体系。绿色荧光蛋白(GFP)是一个广泛应用的荧光报告基因。*GFP*基因可以通过其独特的绿色荧光标记在细胞或组织中表达,GFP自身可发光,不需要外加底物,可以直接通过荧光显微镜观察,因此应用于基因表达、蛋白质定位等研究中^[43]。报告基因的表达实现了转基因表达的实时检测和可视化,是研究基因功能及生物过程的强大工具。Xin等^[44]利用抗GFP抗体对大白菜转基因植株进行验证。侯忠乐^[27]在转化后的第3天检测到GFP荧光蛋白标签的表达,得到CRISPR/Cas9系统编辑的不结球白菜,编辑效率为12.5%。选择合适的标记基因不仅可以提高转化效率,鉴定转基因植物的准确性和简便性,还能帮助人们快速识别成功转化的个体,从而加速育种进程,减少筛选时的工作量和降低成本。

4 应用

近年来CRISPR/Cas9基因编辑技术得到广泛

应用并与遗传转化相结合。CRISPR/Cas9基因编辑技术利用Cas9核酸酶和向导RNA,精确识别和切割基因组中的特定位点^[45]。切割后通过DNA修复机制(如NHEJ或HDR)引入插入、缺失等修饰,实现基因的精准编辑和改造。与传统的转基因技术相比,CRISPR/Cas9具有靶向性高、操作简便、成本低廉、精确定位和编辑特定基因序列等特点,适用于各种生物体的基因编辑^[46]。此外,CRISPR/Cas9能够实现稳定遗传的突变,确保编辑后的基因能够在后代中传递。在农业中,它常被用于培育具有抗病性、耐逆性和高产特性的作物品种^[47]。CRISPR/Cas9在大白菜中的应用并不影响大白菜转化效率^[30]。吴栋雄^[48]对菜心CRISPR/Cas9系统进行了初步的探索。李海燕^[30]建立了稳定高效的大白菜遗传转化体系,并将CRISPR/Cas9系统成功地应用于大白菜基因编辑,最终该体系经重复试验证明,平均转化率为10.83%。王薇^[49]在研究中对白菜材料中的基因进行特异敲除,在得到的基因编辑植株中,检测到在靶点处发生不同程度的碱基替换,进而验证了白菜目的基因的功能。Park等^[50]研究表明,CRISPR/Cas9介导的基因敲除能够成功生成具有独特代谢特性的白菜育种资源,且CRISPR/Cas9技术能够高效应用于功能性大白菜育种中。

5 展望

目前,白菜类蔬菜遗传转化仍面临遗传转化效率较低、筛选困难、后代难以收种、基因型依赖性强、受生长激素和培养条件影响较大、转化不稳定、转基因植株嵌合体多、假阳性高等问题。解决这些问题需要综合利用新的技术和方法。在再生体系方面需要对外植体类型、培养基成分等进行综合优化,以提高再生效率。面对再生困难的品种应重点研究不依赖于组织培养的转化方法,选择合适的载体与工具。随着CRISPR/Cas9基因编辑技术的发展,其越来越多地应用于相关作物的分子育种及基因功能鉴定上,遗传转化技术与CRISPR/Cas9基因编辑技术相结合必将推动白菜类蔬菜育种技术的发展。

参考文献

- [1] 袁家铮. 农杆菌介导的小白菜遗传转化体系的构建[D]. 广东深圳: 深圳大学, 2018.
- [2] 韩立杰, 才宏伟. 高粱遗传转化研究进展[J]. 中国农业科学, 2024, 57(3): 454-468.
- [3] ONO Y, TAKAHATA Y. Genetic analysis of shoot regeneration from cotyledonary explants in *Brassica napus*[J]. Theoretical

- and Applied Genetics, 2000, 100(6): 895-898.
- [4] LIM H T, YOU Y S, PARK E J, et al. High plant regeneration, genetic stability of regenerants, and genetic transformation of herbicide resistance gene (*bar*) in Chinese cabbage (*Brassica campestris* ssp. *pekinensis*) [J]. Acta Horticulturae, 1998(459): 199-210.
- [5] PALMER C E. Enhanced shoot regeneration from *Brassica campestris* by silver nitrate [J]. Plant Cell Reports, 1992, 11(11): 541-545.
- [6] MURATA M, ORTON T J. Callus initiation and regeneration capacities in *Brassica* species [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1987, 11(2): 111-123.
- [7] 张凤兰, 高田义人, 徐家炳. 不同基因型对白菜子叶培养不定芽再生的影响 [J]. 华北农学报, 2002, 17(3): 64-69.
- [8] 曹家树, 余小林, 黄爱军, 等. 提高白菜离体培养植株再生频率的研究 [J]. 园艺学报, 2000, 27(6): 452-454.
- [9] 任家利. 白菜高频再生体系的构建 [D]. 昆明: 云南农业大学, 2024.
- [10] LI X N, LI H Y, ZHAO Y Z, et al. Establishment of a simple and efficient *Agrobacterium*-mediated genetic transformation system to Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*) [J]. Horticultural Plant Journal, 2021, 7(2): 117-128.
- [11] 刘雨佳. 大白菜小孢子遗传转化体系研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2022.
- [12] 张晓东, 李利斌, 宋宜现, 等. 大白菜高效稳定遗传转化体系的建立 [J]. 山东农业科学, 2010(2): 1-7.
- [13] 范爱丽, 张鲁刚, 武云霞, 等. 大白菜子叶段高频再生体系的建立 [J]. 核农学报, 2009, 23(4): 581-586.
- [14] 陈敏敏, 侯喜林. 不结球白菜离体培养再生体系的优化 [J]. 南京农业大学学报, 2008, 31(1): 27-30.
- [15] 刘学成, 张鲁刚, 茹磊, 等. 大白菜真叶高频再生体系的建立 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2011, 39(11): 146-152.
- [16] 刘旭堃. 适合抗根肿病研究的大白菜遗传转化体系的构建 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2020.
- [17] 孙敏红, 张蜀宁, 邓云. 诱导二倍体和同源四倍体白菜细胞质雄性不育系不定芽培养基的筛选 [J]. 植物生理学通讯, 2005, 41(6): 741-744.
- [18] 孙保娟. 白菜花组织再生体系的建立及离体条件下阶段发育转变的研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2005.
- [19] 杨洁. 芜菁再生体系构建及耐盐性分析 [D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2019.
- [20] 樊明琴, 朱月林, 朱茂英, 等. 白菜类蔬菜作物离体再生研究进展 [J]. 中国蔬菜, 2010(14): 8-12.
- [21] 卞莹莹, 颜彬, 崔丽洁, 等. 不结球白菜子叶离体培养与植株再生的研究 [J]. 上海师范大学学报(自然科学版), 2015, 44(6): 579-584.
- [22] CRISTEA T O, LEONTE C, BREZEANU C, et al. Effect of AgNO₃ on androgenesis of *Brassica oleracea* L. anthers cultivated *in vitro* [J]. African Journal of Biotechnology, 2012, 11(73): 13788-13795.
- [23] 杜虹, 庄东红, 黄文华. AgNO₃ 对大白菜子叶芽再生的促进作用 [J]. 热带亚热带植物学报, 2000, 8(2): 109-112.
- [24] SU W B, XU M Y, RADANI Y, et al. Technological development and application of plant genetic transformation [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(13): 10646.
- [25] 李菲. 白菜游离小孢子培养及胚胎发生能力的基因座位分析 [D]. 北京: 中国农业大学, 2017.
- [26] 许可翠. 磁性纳米颗粒介导的不结球白菜遗传转化体系的建立 [D]. 南京: 南京农业大学, 2019.
- [27] 侯忠乐. 利用基因编辑创制不结球白菜紫色新种质技术的初步建立 [D]. 南京: 南京农业大学, 2020.
- [28] 高丽, 崔崇士, 屈淑平. 白菜类蔬菜转基因研究进展 [J]. 中国蔬菜, 2010(12): 7-13.
- [29] 刘任源. 农杆菌介导的大白菜和菜心遗传转化体系的构建 [D]. 山东泰安: 山东农业大学, 2012.
- [30] 李海艳. 大白菜遗传转化和 CRISPR/Cas9 基因编辑体系的建立 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2019.
- [31] 贾艳丽. 农杆菌介导的白菜高效遗传转化体系研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2014.
- [32] 梁雯雯. 菜心高频再生和遗传转化体系的建立及优化 [D]. 广州: 华南农业大学, 2020.
- [33] 孟茜. 细胞穿透肽介导的大白菜小孢子遗传转化体系的构建 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2014.
- [34] LIU F, CAO M Q, YAO L, et al. In planta transformation of pak-choi (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis*) by infiltration of adult plants with agrobacterium [J]. Acta Horticulturae, 1998(467): 187-192.
- [35] KHAN U M, SHAHEEN N, FAROOQ A, et al. Optimization of regeneration and agrobacterium-mediated transformation protocols for bi and multilocular varieties of *Brassica rapa* [J]. Plants, 2022, 12(1): 161.
- [36] 胡毅, 付超, 王雪婷, 等. 抗除草剂转基因普通白菜的获得和检测 [J]. 山西农业科学, 2019, 47(5): 734-737.
- [37] 赵静. 大白菜遗传转化体系的优化 [D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2016.
- [38] 杨慧莹. 结球白菜抗逆基因遗传转化方法的研究 [D]. 兰州: 兰州理工大学, 2010.
- [39] SIVANANDHAN G, MOON J, SUNG C, et al. L-cysteine increases the transformation efficiency of Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*) [J]. Frontiers in Plant Science, 2021, 12: 767140.
- [40] PARK Y H, CHOI C, PARK E M, et al. Over-expression of rice leucine-rich repeat protein results in activation of defense response, thereby enhancing resistance to bacterial soft rot in Chinese cabbage [J]. Plant Cell Reports, 2012, 31(10): 1845-1850.
- [41] 袁思玮, 黄锐之, 罗红兵. GUS 报告基因在植物功能基因研究中的应用 [J]. 作物研究, 2008, 22(增刊 1): 310-314.
- [42] 张国裕, 王岩, 程智慧, 等. 农杆菌介导的菜心遗传转化体系的建立 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2006, 24(9): 60-64.
- [43] 朱丹, 王希, 朱延明, 等. 植物亚细胞定位载体卡盒 pCEG 的构建及验证 [J]. 东北农业大学学报, 2011, 42(4): 83-88.
- [44] XIN X Y, LI P R, ZHAO X Y, et al. Temperature-dependent jumonji demethylase modulates flowering time by targeting

- H3K36me2/3 in *Brassica rapa*[J]. *Nature Communications*, 2024, 15(1):5470.
- [45] 王晨雨,刘孟军,王立新,等. CRISPR/Cas9 技术研究进展及其在园艺植物中的应用进展[J]. *园艺学报*, 2024, 51(7): 1439-1454.
- [46] 许磊,何菡子,范楚川. 基于 CRISPR/Cas9 的基因编辑及其在甘蓝型油菜中的应用[J]. *华中农业大学学报*, 2024, 43(5): 51-64.
- [47] 谭晓菁,王忠华,吴月燕,等. 基因编辑技术在水稻抗病基因与育种研究中的应用进展[J]. *浙江农业学报*, 2021, 33(10): 1982-1990.
- [48] 吴栋雄. 白菜 *TCP* 基因家族的鉴定及利用 CRISPR-Cas9 系统进行编辑的初步探索[D]. 福州:福建农林大学,2017.
- [49] 王薇. *BrAPI* 调控白菜抽薹开花的功能验证[D]. 沈阳:沈阳农业大学,2023.
- [50] PARK S Y, LEE H, SONG J, et al. Gene editing of authentic *Brassica rapa* flavonol synthase 1 generates dihydroflavonol-accumulating Chinese cabbage[J]. *Horticulture Research*, 2023, 10(12):uhad239.