

基因工程在花卉遗传改良中的应用研究^①

滕年军 陈发棣

(南京农业大学园艺学院 南京 210095)

摘要 对 10 年来基因工程技术在花卉花色、形态、抗性、花期、瓶插寿命和花香等重要性状改良中的应用进行了综述,并对基因工程在花卉分子育种中的应用前景提出了一些见解。

关键词 花卉 基因工程 遗传改良 分子育种

Advances of Genetic Improvement for Ornamental Plants through Genetic Engineering

TENG Nian-Jun CHEN Fa-Di

(College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095)

Abstract This paper reviews advancement and progress in the improvement for important ornamental characteristics in the last decade through genetic engineering, which include flower color, plant architecture, resistance, florescence, vase life and fragrance. And some suggestions concerning the prospects of application of genetic engineering to flower molecular breeding are put forward.

Key words Ornamental plants, Genetic engineering, Genetic improvement, Molecular breeding

近 20 年,世界花卉业迅速发展。据资料统计,20 世纪 50 年代,世界花卉业贸易不足 30 亿美元,1990 年为 350 亿美元,1995 年增加到 680 亿美元(潘会堂和张启翔,2000)。经济发展和生活水平提高对花卉质量要求越来越高。传统杂交育种技术在新品种选育方面做出了巨大贡献,但存在杂交育种时间长、杂交难以引入亲缘性较远种的优良种质、引入某一或某些优良性状时往往伴随一些不良的性状引入等缺点。基因工程技术发展和应用为花卉新品种培育提供了一套全新思路。与传统育种手段相比,基因工程育种具有定向修饰花卉某个或某些性状而保持其它性状不变的优点,通过引入外来基因可以扩大基因库(傅荣昭等,1995),转基因花卉容易被公众接受,转基因花卉的观赏指标通过目测和少量辅助手段就可以很容易判断其性状优劣等优点(傅荣昭等,1994)。因此,基因工程技术在花卉品种改良和新品种选育方面的应用倍受关注,取得了显著的进展。

1 花卉基因工程研究现状

1.1 花色改良

花是观赏植物最重要的器官,花色是所有观赏植物最重要的观赏性状之一,所以在花卉植物遗传改良上首推花色。花色主要有三大类色素决定,即类黄酮(flavonoids)、类胡萝卜素(carotenoids)和甜菜色素(betalains)(傅荣昭等,1995)。花色是光线照射到花瓣上穿

① 江苏省“十五”攻关资助项目(BE2001354)。

作者简介 滕年军,男,1977 年生,南京农业大学园艺学院 2000 级观赏园艺专业在读硕士,正在从事菊花生物技术育种研究。陈发棣,男,1970 年生,博士,副教授,硕士生导师,主要从事花卉遗传育种研究。

收稿日期 2002-01-20 接受日期 2002-04-27 责任编辑 姜联合 孙冬花

透色素层时部分被吸收,部分在海绵组织反射折回,再度通过色素层进入我们眼帘所产生的色彩,因此与花瓣色素种类、含量、花瓣内部或表面结构引起的物理性状等多因素有关(程金水,2000)。此外,花成色作用也受到其它一些因素影响,如液泡 pH 值、共着色作用(copigmentation)、色素分子内及分子间堆积作用(intermolecular and intramolecular stackings)、金属络合物作用(metal complexation)等(Elomaa and Holton,1994)。有关花色基因工程研究开始主要是在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、矮牵牛(*Petunia hybrida*)、金鱼草(*Antirrhinum majus*)等模式植物上进行。近年来已经将花色基因工程的重点转移到以菊花(*Dendranthema morifolium*)、香石竹(*Dianthus caryophyllus*)等重要花卉的花色改良中来,并且主要集中在对黄酮类生物合成途径的修饰(傅荣昭等,1995;Elomaa and Holton,1994;包满珠,1997)。Mol 等(1998)报道控制矮牵牛液泡 pH 值的等位基因已经有 7 个,即 pH1-pH7,此外 An2 和 An11 基因突变也能影响液泡 pH 值。Tanaka 等(2000)首先在裂叶牵牛(*Ipomoea nil*)中获得了与调节液泡 pH 有关的 Pk (purple)基因,该基因编码的蛋白对液泡上 Na^+/H^+ 的交换具有调节作用,进而调节液泡 pH。Pr-m (purple-mutant)型紫花裂叶牵牛紫色花瓣带有蓝色斑块,他们对紫花区域和蓝花区域的提取液的色素成分和 pH 进行分析,发现两者色素成分没有差异,但 pH 却有区别,后者 pH 比前者高 0.7;进一步对 Pr-m 或 Pr-r (purple-revertant)分析,证实 Pr-m 和 Pr-r 是同源的。表明蓝色斑块是由花瓣局部区域 Pr-m 型发生了 Pr-r 型回复突变提高了液泡 pH 值。Courtney-Gutterson 等(1994)将苯基苯乙烯酮合成酶(CHS)基因以有义和反义方向导入开粉红色花的菊花品种‘Moneymaker’中,获得开白花或浅粉色花的植株各 3 株。Mitiouchkin 等(2000b)、Dolgov 等(1997)通过叶盘转化方法将 CHS 基因,以反义形式导入菊花品种‘Parliament’中,获得了与 Courtney-Gutterson 相似的结果。转 CHS 基因蓝猪耳(*Torenia fournieri*)也出现花色变浅的现象(Aida *et al*,2000)。Ovadis 等(2000)将编码黄酮-3-羟化酶的 *fht* 基因以反义形式导入花瓣为深橘黄色边缘带有深红色条纹的香石竹‘Eilat’品种中,获得 14 株转基因植株中有 6 株花色发生改变,其中有两株的花瓣边缘红色条纹变浅,出现不连贯纹带;另两株的花瓣边缘红色条纹消失,花色也变成浅橘黄色;最后两株花色变成浅黄和白色。可能是反义 *fht* 基因在不同程度上抑制 *fht* 基因表达的结果。转基因紫色香石竹品种‘Moondust’已在澳大利亚和日本上市(Tanaka *et al*,1998)。

1.2 形态改良

花卉形态改良包括花器官结构、花枝着生状态、花序类型、植株形态等改良。通过基因工程技术对植物形态和结构的修饰将对花卉业的发展带来巨大推动作用。在形态改良中应用最广的基因是 *rolC* 基因。在转 *rolC* 基因的香石竹中,发现转基因香石竹与对照相比侧芽成枝率高而且发育好,因而可降低植株高度;可用于扦插的插条数量比对照植株多,转基因植株的插条生根能力强。进一步用商用生根粉对转基因插条和对照的插条进行处理,转基因插条生根所需时间短而且发根的数目多、鲜重也高于对照植株;商用生根粉对非转基因插条进行扦插时是必须的,而转基因插条即使不用生根粉也能正常生根(Ovadis *et al*,2000;Zuker *et al*,2001)。盆栽或地被绿化用途的小菊,要求植株矮化、分枝性强、着花数目多等。转 *rolC* 基因菊花品种‘White Snowdon’表现为丛生、矮化,叶多分裂(Mitiouchkina *et al*,2000a;Dolgov *et al*,1997)。Mercuri 等(2001)通过根癌农杆菌将 *rol A*,

B, *C* 基因导入补血草杂交种 L116 (*Limonium otolepis* × *Limonium latifolium*), 获得超压缩 (supercompact) 类型转基因植株, 高度比对照降低 1 米, 叶面积变小, 叶色加深, 花序增多, 密度增加, 可用于盆栽。

此外, 花卉形态改良还涉及其他一些基因, 如 Zheng 等 (2001) 将烟草光敏色素 *PHYB1* 基因导入菊花品种 'Iridon' 中, 转基因植物与对照相比, 株型明显矮化, 分枝角度变大, 冠幅变宽。但 Petty 等 (2000) 将 *PHYA* 和 *PHYB* 基因导入菊花中, 转基因植株形态与对照相比没有明显差异, 可能与基因表达水平太低有关。Yu 等 (2000, 2001) 将 *DOH1* 基因以反义形式导入石斛 (*Dendrobium nobile*) 获得分枝性强且矮化的转基因石斛, 表明 *DOH1* 在改变植株的形态与结构上也具有潜在的利用价值。

1.3 抗性改良

花卉抗性改良是现代花卉育种的又一个热点, 利用基因工程技术进行花卉抗性改良主要包括抗虫和抗病性。其中转基因抗虫育种应用最广泛的是 *Bt* 基因, 该基因能够产生 δ -内毒素, 对鳞翅目幼虫有毒害作用, 而达到抗虫目的。Dolgov 等 (1995) 将 *Bt* 基因导入再生能力强的菊花中, 转化植株在不喷施化学药剂的情况下, 表现出对扁虱的抗性。此外, Jong (1999) 将 *CryIC* 基因转入到菊花中, 该基因编码的蛋白对甜菜夜蛾幼虫有毒害作用, 此害虫对菊花等植物的生产会造成巨大损失。对转 *CryIC* 基因菊花抗虫性鉴定发现, 用转基因叶片喂养幼虫, 幼虫的重量比对照要轻, 而且幼虫在未成熟前就已死亡。

在抗病毒育种中, 主要是将一些编码病毒外壳蛋白基因导入花卉中。许多重要花卉植物, 如菊花、秋海棠 (*Begonia* spp.)、非洲菊 (*Gerbera jamesonii*)、鸢尾 (*Iris* spp.) 对病毒很敏感, 如番茄斑萎病毒 (tomato spotted wilt virus - TSWV)、风仙坏死斑病毒 (impatiens necrotic spot virus-INSV) 和花生环斑病毒 (groundnut ringspot virus-GRSV)。Yepes 等 (1999) 将编码以上三种病毒外壳蛋白的基因导入菊花品种 'Polaris'、'Golden Polaris' 和 'Iridon' 中, 分别获得了 158、66 和 277 株转基因植株, 并对 TSWV 抗性进行了鉴定。Sherman 等 (1998) 将从大丽花 (*Dahlia pinnata*) 中克隆到的番茄斑萎病毒外壳蛋白基因分别以有义全长片段、有义核心片段和反义全长片段形式导入菊花 'Polaris' 中, 转入反义全长片段植株对 TSWV 有明显抗性, 没有发病症状, 而且植株体内没有病毒外壳蛋白积累。转入有义全长片段、有义核心片段植株也表现对 TSWV 一定的抗性, 发病时间比对照推迟。

几丁质酶基因 (Chitinase gene) 在抗菌育种中应用最为广泛。几丁质是霉菌细胞壁成分的主要构成物质, 该基因编码的几丁质酶能够降解真菌细胞壁, 从而达到抗菌目的。Takatsu 等 (1999) 将水稻几丁质酶基因导入菊花品种 'Yamabiko' 中, 获得了抗灰霉病 (*Botrytis cinera*) 的转化植株。月季 (*Rosa* spp.) 黑斑病 (blackspot disease) 严重影响月季的正常生长与发育, Marchant 等 (1998) 将几丁质酶基因转入现代月季 (*Rosa hybrida*) 中, 转基因植株黑斑病的发生率降低了 13% ~ 43%。Yamagami 等 (2000) 在郁金香 (*Tulipa gesneriana*) 中克隆到几丁质酶基因, 并进行了测序, 有望将该基因导入郁金香中而获得抗真菌植株。Malek 等 (2000) 对月季黑斑病菌抗性基因 *Rdr1* 紧密连锁的分子标记进行了鉴定, 以便在抗黑斑病菌月季育种过程中, 可以通过分子标记方法进行辅助选择, 进而加快育种进程。

1.4 花期改良

利用拟南芥已分离到多种影响开花时间的突变体。一些基因促进开花,另一些抑制开花。这些开花诱导基因常分两类:与开花时间有关的基因(flowering time gene)和分生组织特征基因(meristem-identity gene)。前一类基因的突变会使突变体的开花时间提早或推迟,其中促进开花的基因包括: *CONSTANS*(*CO*)、*FCA*、*ELF3* 等,抑制开花的如 *EMF1*。后一类基因决定新形成的原基发育方向,即继续营养生长的发育方式,还是转向花的发育,这类基因如 *CLF*、*LEAFY*(*LFY*)、*APETALA1*(*API*)和 *AP2*(许智宏 2000)。邵寒霜等(1999)克隆了调控花分生组织启动相关基因—拟南芥 *LFY*cDNA,将其转入菊花,在转化后代中,有 3 株与对照相比其花期分别提早 65、67 和 70 天;另外 2 株,花期分别推迟 78 和 90 天。Zheng 等(2001)将 *PHYB1* 基因转入菊花,转基因植株 LE31 和 LE32 花芽分化比对照植株分别延迟 4 天和 5 天,而开花分别延迟 17 天和 20 天,表明 *PHYB1* 基因主要影响花芽发育而不是影响花芽分化。安利忻等(2001)将从拟南芥中克隆的花分生组织决定基因(flower-meristem-identity gene)*API* 转化到矮牵牛中,获得的 R_0 代在分化成苗后不久在组培容器中即可持续不断开花,说明 *API* 基因在植物花的形成过程中具有重要作用。Yu 等(2000)将反义 *DOH1* RNA 导入石斛中,转化株花期比对照早 10 天。

1.5 瓶插寿命改良

鲜切花从采收、分级、包装、储运、销售等一系列过程,需要很长时间,而且会损伤切花。因此,往往会出现在切花售出以前,就已失去其商业价值。所以,切花保鲜在鲜切花产业中显得很重要,尤其对乙烯敏感型(ethylene sensitivity)的花卉,如香石竹、月季等。乙烯能够促进花瓣衰老(petal senescence),衰老过程中释放的乙烯会进一步加速切花衰老。利用基因工程技术,对乙烯敏感型花卉瓶插寿命改良是一个经济、安全和有效的延长花卉寿命的方法。

乙烯合成中最重要的两个酶是 ACC 合成酶(1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase)和 ACC 氧化酶(1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase),前者是限速酶(rate-limiting enzyme)(Müller *et al* 2000)。故可以利用基因工程技术将这两种酶合成相关的基因导入需要改良的乙烯敏感型花卉植物中,降低植株对乙烯的敏感,以达到保鲜目的。利用反义技术将 ACC 合成酶或 ACC 氧化酶基因反义导入香石竹中,转基因切花瓶插寿命明显延长(潘会堂和张启翔 2000)。Bovy 等(1999)将拟南芥 *etr-1*(ethylene receptor-1)等位基因,导入香石竹中,大约一半再生转化植株花的瓶插寿命比对照延长了 6~16 天,是对照瓶插寿命的 3 倍左右。

1.6 花香改良

花香是花卉品质的重要标志之一。产生花香的物质通常有萜类、醇类等,由于这些有机化合物结构和合成过程复杂,因此有关花香基因调控方面研究进展缓慢。目前主要集中在单萜类物质的合成过程,*Lis* 基因可编码 S-萜烯醇(S-linalool)合成酶,该酶可将 牛儿基焦磷酸(GPP)转化成 S-萜烯醇(Dudareva *et al* ,1996)。Pellegrineshi 等(1994)利用发根农杆菌转化柠檬天竺葵(*Pelargonium* spp.)转化株的芳香物质 牛儿醇(Geraniol)含量是对照的 2~4.4 倍,萜烯醇(Linalool)的含量是对照的 1.5~2.8 倍,而桉树脑(1,8-Cineole)的含量是对照的 3.3~13 倍之多(表 1)。

表1 近5年部分花卉遗传改良研究状况

Table 1 Some genetically-modified ornamental plants in the past five years

花卉植物	基因	方法	结果	参考文献
龙胆 (<i>Gentiana triflora</i> × <i>G. scabra</i>)	<i>ro1A, B, C</i>	发 根 农 杆	转化植株矮化	Hosokawa <i>et al</i> , 1997
曼陀罗 (<i>Datura mariesii</i>)	<i>ro1C</i>		转化植株矮化	Giovannini <i>et al</i> , 1997
矮牵牛 <i>Petunia axillaris</i> × (<i>P. axillaris</i> × <i>P. hybrida</i>)	<i>ro1C</i>		转化株高度降低, 分枝数目增加, 叶片和花的尺寸变小, 花期提前, 育性降低	Winefield <i>et al</i> , 1999
金鱼草 (<i>Antirrhinum majus</i>)	<i>ro1C</i>		再生植株矮化、叶片褶皱增加	Cui <i>et al</i> , 2001
唐菖蒲 (<i>Gladiolus hybrida</i>)	<i>GUS</i>	菌	获得转化株	Kamo <i>et al</i> , 1999
亚美尼亚蓝壶花 (<i>Muscari armeniacum</i>)	<i>hpt</i>		获得转化株	Suzuki and Nakano, 2002
杜鹃 (<i>Rhododendron catawbiense</i>)	<i>GFP</i>		获得转化株	Knapp <i>et al</i> , 2001
麝香百合 (<i>Lilium longiflorum</i>)	<i>GUS</i>	基 因	获得转化株	Watad <i>et al</i> , 1998
六出花 (<i>Alstroemeria aurantiaca</i>)	<i>Luc</i>		获得转化株	Lin <i>et al</i> , 2000
矮牵牛 (<i>Petunia hybrid</i>)	<i>ech-42</i>	枪	获得抗灰霉病菌的转化株, 发病率比对照降低 20~50%	Esposito <i>et al</i> , 2000
天竺葵 (<i>Pelargonium hortorum</i>)	<i>Cecropin B</i>		获得抗细菌性枯萎病的植株	Renou <i>et al</i> , 2000
蝴蝶兰 (<i>Phalaenopsis amabilis</i>)	<i>GUS</i>		获得转化株	Belardino and Mii, 2000
仙客来 (<i>Cyclamen persicum</i>)	<i>NPT II</i> 、 <i>GUS</i>		获得转化株	Aida <i>et al</i> , 1999
蝴蝶草 (<i>Torenia hybrida</i>)	<i>CHS</i> 、 <i>F3'</i> , <i>5'H</i>		部分转化株的花色由蓝色变成纯白或黄色	Suzuki <i>et al</i> , 2000
聚花风铃草 (<i>Campanula glomerata</i>)	<i>ipt</i>		转化株的玉米素含量是对照 43~269 倍, 顶端优势降低分枝性增强	Joung <i>et al</i> , 2001
草原龙胆 (<i>Eustoma grandiflorum</i>)	<i>CHS</i>	转化株花色由蓝变为杂色, 花开放时间延长	Deroles <i>et al</i> , 1998	

2 基因工程在花卉分子育种中的应用前景

2.1 基因工程与抗寒花卉分子育种

一些热带、亚热带花卉如一品红(*Euphorbia pulcherrima*)、红掌(*Anthurium andraeanum*)、蝴蝶兰、观叶植物以及一些重要切花植物如月季、唐菖蒲、香石竹、非洲菊等在冬季越冬或生产时往往要进行加温,不仅生产成本提高,同时也限制了它们的栽培范围。Wada 等(1990)从抗寒的蓝绿藻(*Synechocystis*)克隆了与脂肪酸不饱和度有关的基因 *DesA*,并导入不耐寒的蓝绿藻(*Anacystis nidulans*)改变了膜脂的组成,增强了其抗寒能力。另外,Murata 等(1992)通过向烟草导入拟南芥叶绿体的甘油-3-磷酸乙酰转移酶基因,明显改变了磷脂酰甘油(PG)的脂肪酸组成,使得转基因烟草的抗寒性增加。黄永芬等(1997)将美洲拟蝶抗冻蛋白基因 *afp*(antifreezing protein)通过花粉管通道和子房注射方法导入番茄中,转化株抗寒性提高,其致死温度比对照降低 2℃。这些抗寒基因工程研究为花卉抗寒性分子育种提供了一定的理论技术保证。如果将这些基因转入不耐寒花卉中,就很有可能培育出比对照耐寒的品种。

2.2 基因工程与雄性不育型花卉分子育种

Aarts 等(1993)从拟南芥中通过转座子标签方法获得了第一个核不育基因 *MS2*。Pla 等(1995)发现烟草的两个胞质雄性不育突变体,由于线粒体中 *nad7* 基因上最后两个外元缺失,引起 *NAD7* 多肽缺失,而导致花粉败育。从烟草、油菜等花药中分离出与花药发育有关的基因启动子,将这种启动子与雄性不育基因或水解酶基因构成嵌合基因,然后转入植物,转化株产生的蛋白或酶可以阻止花粉的产生,从而获得雄性不育植物(陈章良,2000)。Yu 等(1999)从非洲菊(*Gerbera hybrida*)中克隆到 6 个在功能上与 *MADS* 盒基因同源的花器官发育有关的基因,其中 *Gagal* 和 *Gaga2* 调控非洲菊雄蕊和心皮的发育。Kotilainen 等(2000)也是从杂种非洲菊中克隆到一个与雄蕊发育有关的 *GRC1* 基因,将反义 *GRC1* 导入杂种非洲菊,转化株的头状花序第三轮花器官中的雄蕊变成花瓣型,而导致雄蕊败育。雄性不育在草花种子生产中具有非常重要的作用,大量雄性不育材料的获得和应用将会极大地推动花卉 F1 代种子生产。

2.3 基因工程与光周期不敏感型花卉分子育种

许多花卉植物必须在特定光周期条件下,才可以花芽分化和开花,如秋菊绝大多数品种是在短日照下开花,唐菖蒲在一定长日照条件下才现花,所以在实际生产中为了达到周年生产就必须进行遮光或补光处理,生产成本高。植物由营养生长转向生殖发育过程中的作用与光敏色素和隐花色素有关。在拟南芥中已克隆到 *PHYA-PHYE* 5 种光敏色素基因,Bagnall 等将 *PHYA* 导入长日照拟南芥中,结果转化植株在短日条件下开花提前(许智宏,2000)。如能利用分子育种手段培育光周期不敏感品种,它的经济效益将可能比培育蓝色的月季、香石竹要高的多。

3 花卉基因工程与花卉传统育种的关系

利用基因工程技术培育一些传统育种方法无法培育出的新奇品种是花卉业发展的必然趋势。但是分子育种就现状而言仍存在不少缺点,如必须先建立再生转化体系,需要先进仪器设备、昂贵药品,需要专门科研人员,育种规模小,花卉种类繁多,不可能对每个种

类进行转基因操作等。因此,常规育种方法尤其是杂交育种技术在育种实践中仍占主导地位。所以,必须将分子育种与传统育种相结合,充分发挥两者的长处,以便加速新奇花卉品种选育的进程。如可以将外源目的基因通过基因工程手段先导入少数优良品种中,然后再通过杂交育种方法将目的基因导入其它品种或亲缘关系较近花卉中,进而扩大育种规模。

参 考 文 献

- 包满珠,1997. 植物花青素基因的克隆进展及其应用—文献综述. 园艺学报, **24**(3):279~284
- 安利忻,刘维荣,陈章良,2001. 花分生组织决定基因 AP1 转化矮牵牛的研究. 植物学报, **43**(1):63~66
- 许智宏,2000. 走向 21 世纪的植物分子生物学. 见:林忠平等主编. 北京:科学出版社,13~21
- 邵寒霜,李继红,郑学琴,1999. 拟南芥 LFY cDNA 的克隆及转化菊花的研究. 植物学报, **41**(3):268~271
- 陈章良,2000. 走向 21 世纪的植物分子生物学. 见:林忠平等主编. 北京:科学出版社,1~11
- 黄永芬,汪清胤,付桂荣,赵晓祥,杨志兴,1997. 美洲拟蝶抗冻蛋白基因 (*afp*) 导入番茄的研究. 生物化学杂志, **13**(4):418~422
- 傅荣昭,马江生,曹光诚,李文彬,孙如勇,1995. 观赏植物色形基因工程研究进展—文献综述. 园艺学报, **22**(40):381~385
- 傅荣昭,孙勇如,贾士荣,1994. 植物遗传转化技术手册. 北京:中国科学技术出版社,42~50
- 程金水,2000. 园林植物遗传育种学. 北京:中国林业出版社,23~32
- 潘会堂,张启翔,2000. 花卉种质资源与遗传育种研究进展. 北京林业大学学报, **22**(1):81~83
- Aarts M, Dirkse W G, Stiekema W J, Pereira A, 1993. Transposon tagging of a male sterility gene in *Arabidopsis*. *Nature*, **363**(24):715~717
- Aida R, Kishimoto S, Shibata M, Hirose Y, 1999. Agrobacterium tumefaciens-mediated transformation of *Cyclamen persicum* Mill. *Plant Science*, **148**(1):1~7
- Aida R, Kishimoto S, Tanaka Y, Shibata M, 2000. Modification of flower colour in torenia (*Torenia fournieri* Lind.) by genetic transformation. *Plant Science*, **153**(1):33~42
- Belarmino M M, Mii M, 2000. Agrobacterium-mediated genetic transformation of a phalaenopsis orchid. *Plant Cell Rep*, **19**(5):435~442
- Boyd A G, Anogen G C, Dons H J M, Altvorst A C V, 1999. Heterologous expression of the *Arabidopsis* *etr1-1* allele inhibits the senescence of carnation flowers. *Molecular Breeding*, **5**(4):301~308
- Courtney-Gutterson N, Napoli C, Lemieux C, Morgan A, Firoozabady E, Robinson K E P, 1994. Modification of flower color in florist's chrysanthemum: production of a white-flowering variety through molecular genetics. *Bio/Technology*, **12**:268~271
- Cui M, Takayanagi K, Kamada H, Nishimura S, Handa T, 2001. efficient shoot regeneration from hairy roots of *Antirrhinum majus* L. transformed by the rol type MAT vector system. *Plant Cell Rep*, **20**(1):55~59
- Deroles S C, Bradley J M, Schwinn K E, Markham K R, Bloor S, Manson D G, Davies K M, 1998. An antisense chalcone synthase cDNA leads to novel colour patterns in lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) flowers. *Molecular Breeding*, **4**:59~66
- Dolgov S V, Mitiouchkina T Y, Skryabin K G, 1997. Agrobacterial transformation of cheysnathemum. *Acta Hort*, **447**:329~334
- Dolgov S V, Mityshkina T U, Rukavtsova E B, Buryanov Y I, 1995. Production of transgenic plants of *Chrysanthemum morifolium* Ramat with the gene of *Bac. thuringiensis* δ -endotoxin. *Acta Hort*, **420**:46~47
- Dudareva N, Cseke L, Blanc V M, Pichersky E, 1996. Evolution of floral scent in Clarkia: Novel patterns of S-linalool synthase gene expression in the *C. breweri* flower. *Plant Cell*, **8**:1137~1148
- Elomaa P, Holtton T, 1994. Modification of flower colour using genetic engineering. *Biochem & Gen Engin Rev*, **12**:63~88
- Esposito S, Colucci M G, Lorito M, Bressan R A, 2000. Antifungal transgenes expression in *Petunia hybrida*. *Acta Hort*, **508**:151~161
- Giovannini A, Pecchioni N, Rabaglio M, Allavena A, 1997. Characterization of ornamental Datura Plants transformed by *Agrobacterium rhizogenes*. *In Vitro Cell Dev Biol*, **33**:101~106
- Hosokawa K, Matsuki R, Oikawa Y, Yamamura S, 1997. Genetic transformation of gentian using wild-type *Agrobacterium rhizogenes*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, **51**:137~140
- Jong J D, 1999. Genetics, breeding and biotechnology of cut flowers. *Acta Hort*, **482**:287~290
- Joung Y H, Roh M S, Kamo K, Song J S, 2001. Agrobacterium-mediated transformation of *Campanula glomerata*. *Plant Cell Rep*, **20**(4):289~295
- Kamo K, Blowers A, 1999. Tissue specificity and expression level of gusA under rolD, mannopine synthase and translation elongation factor I subunit alpha promoters in transgenic Gladiolus plants. *Plant Cell Rep*, **18**(10):809~815
- Knapp J E, Kausch A P, Auer C, Brand M H, 2001. Transformation of *Rhododendron* through microprojectile bombardment. *Plant Cell Rep*, **20**(8):749~754
- Kotilainen M, Elomaa P, Uimari A, Albert V A, Yu D Y, Teeri T H, 2000. GRCD1, an AGL2-like MADS box gene, participates in the C function during stamen development in *Gerbera hybrida*. *Plant Cell*, **12**:1893~1902
- Lin H S, De J M J, Jacobsen E, 2000. Development of a plant regeneration system applicable for gene transformation in the ornamen-

- tal *Alstroemeria*. *Acta Hort*, **508**:61 ~ 67
- Malek B V, Weber W E, Debener T, 2000. Identification of molecular markers linked to *Rhr1*, a gene conferring resistance to blackspot in roses. *Theor Appl Genet*, **101**:977 ~ 983
- Marchant R, Davey M R, Lucas J A, Lamb C J, Dixon R A, Power J B, 1998. Expression of a chitinase transgene in rose (*Rosa hybrida* L.) reduces development of blackspot disease (*Diplocarpon rosae* Wolf.). *Molecular Breeding*, **4**:187 ~ 194
- Mercuri A, Bruna S, Benedetti L D, Burchi G, Schiva T, 2001. Modification of plant architecture in *Limonium* spp. induced by *rol* genes. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, **65**:247 ~ 253
- Mitiouchkina T Y, Dolgov S V, 2000a. Modification of chrysanthemum plant and flower architecture by *roC* gene from *Agrobacterium rhizogenes* introduction. *Acta Hort*, **508**:163 ~ 169
- Mitiouchkina T Y, Ivanova E P, Taran S A, Dolgov S V, 2000b. Chalcone synthase gene from *Antirrhinum majus* in antisense orientation successfully suppressed the petals pigmentation of chrysanthemum. *Acta Hort*, **508**:215 ~ 217
- Mol J, Grotewold E, Koes R E, 1998. How genes paint flowers and seeds. *Trends Plant Sci*, **3**:212 ~ 217
- Müller B R, Lind-Iversen S, Stummann B M, Serek M, 2000. Expression of genes for ethylene biosynthetic enzymes and an ethylene receptor in senescing flowers of miniature potted roses. *J Hort Sci Biotechnol*, **75**(1):12 ~ 18
- Murata N, Ishizaki-Nishizawa O, Higashi S, Hayashi H, Tasaka Y, Nishida I, 1992. Genetically engineered alteration in the chilling sensitivity of plants. *Nature*, **356**(6371):710 ~ 713
- Ovadis M, Zuker A, Tzfira T, Shklaman E, Scovel G, Itzhaki H, Ahroni A, Ben-Meir H, Vainstein A, 2000. A highly efficient procedure for generating carnation plants with traits. *Acta Hort*, **508**:49 ~ 51
- Pellegrineshi A, Damon J P, Valtorta N, Palliard N, Tepfer D, 1994. Improvement of ornamental characters and fragrance production in lemon-scented geranium through genetic transformation by *Agrobacterium rhizogenes*. *Bio/technology*, **12**:64 ~ 68
- Petty L M, Thompson A J, Thomas B, 2000. Modifying chrysanthemum (*Dendranthema grandiflorum*) growth habit genetic manipulation. *Acta Hort*, **508**:319 ~ 321
- Pla M, Mathieu C, De P R, Chetrit P, Vedel F, 1995. Deletion of the last exons of the mitochondrial *nad7* gene results in lack of the NAD7 polypeptide in a *Nicotiana glauca* CMS mutant. *Mol Gen Genet*, **248**:79 ~ 88
- Renou J P, Mary I, Hanteville S, Florack D, Narcy J P, Diolez A, 2000. Evaluation of the protection against *Xanthomonas* in transgenic *Pelargonium* containing a chimaeric *cepripin*. *Acta Hort*, **508**:323 ~ 325
- Sherman J M, Moyer J W, Daub M E, 1998. Tomato spotted wilt virus resistance in chrysanthemum expressing the viral nucleocapsid gene. *Plant Disease*, **82**(4):407 ~ 414
- Suzuki K I, Xue H M, Tanaka Y, Fukui Y, Fukuchi-Mizutani M, Mueakami Y, Katsumoto Y, Tsuda S, Kusumi T, 2000. Flower colour modification of *Torenia hybrida* by cosuppression of anthocyanin biosynthesis genes. *Molecular Breeding*, **6**:239 ~ 246
- Suzuki S, Nakano M, 2002. *Agrobacterium*-mediated production of transgenic plants of *Muscari armeniacum* Leicht. ex Bak. *Plant Cell Rep*, **20**(9):835 ~ 841
- Takatsu Y, Nishizawa Y, Hibi T, Akutsu K, 1999. Transgenic chrysanthemum (*Dendranthema grandiflorum*) expressing a rice chitinase gene shows enhanced resistance to gray mold (*Botrytis cinerea*). *Scientia Hort*, **82**:113 ~ 123
- Tanaka S F, Inagaki Y, Yamaguchi T, Saito N, Iida S, 2000. Color-enhancing protein in blue petals. *Nature*, **407**(6804):581
- Tanaka Y, Tsuda S, Kusumi T, 1998. Metabolic Engineering to Modify Flower Color. *Plant Cell Physiology*, **39**(11):1119 ~ 1126
- Wada H, Gombos Z, Murata N, 1990. Enhancement of chilling tolerance of a cyanobacterium by genetic manipulation of fatty acid desaturation. *Nature*, **347**(6289):200 ~ 203
- Watad A A, Matsumoto T, Niu X, Wu Y, Kononowicz A K, Bressan R A, 1998. Microprojectile bombardment mediated transformation of *Lilium longiflorum*. *Plant Cell Rep*, **17**(4):262 ~ 267
- Winefield C, Lewis D, Arathoon S, Deroles S, 1999. Alteration of *Petunia* plant form through the introduction of the *roC* gene from *Agrobacterium rhizogenes*. *Molecular Breeding*, **5**:543 ~ 551
- Yamagami T, Tsutsumi K, Ishiguro M, 2000. Cloning, sequencing and expression of the Tulip Bulb Chitinase-1 cDNA. *Biosci Biotechnol Biochem*, **64**(7):1394 ~ 1401
- Yepes L M, Mittak V, Slightom J L, 1999. *Agrobacterium tumefaciens* versus biolistic-mediated transformation of the chrysanthemum cvs. *Polaris* and *Gloden Polaris* with nucleocapsid protein genes of three tospovirus species. *Acta Hort*, **482**:209 ~ 218
- Yu D Y, Kotilainen M, Pöllänen E, Mehto M, Elomaa P, Helariutta Y, Albert V A, Teeri T H, 1999. Organ identity genes and modified patterns of flower development in *Gerbera hybrida* (Asteraceae). *The Plant Journal*, **17**(1):51 ~ 62
- Yu H, Yang S H, Goh C J, 2000. *DOH1*, a class 1 *knox*, is required for maintenance of the basic plant architecture and floral transition in orchid. *Plant Cell*, **12**:2143 ~ 2159
- Yu H, Yang S H, Goh C J, 2001. *Agrobacterium*-mediated transformation of a *Dendrobium* orchid with the class 1 *knox* gene *DOH1*. genetics, breeding and biotechnology of cut flowers. *Plant Cell Rep*, **20**(4):301 ~ 305
- Zheng Z L, Yang Z B, Jang J C, Metzger J D, 2001. Modification of plant architecture in chrysanthemum by ectopic expression of the tobacco phytochrome *BI* Gene. *J Amer Soc Sci*, **126**(1):19 ~ 26
- Zuker A, Tzfira T, Scovel G, Ovadis M, Shklaman E, Itzhaki H, Vainstein A, 2001. *RoC*-transgenic carnation with improved horticultural traits: quantitative and qualitative analyses of greenhouse-grown plants. *J Amer Soc Hort Sci*, **126**(1):13 ~ 18