

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2008.01257

Micro-Tom 番茄矮化微型机制及其在植物功能基因组学研究中的应用

刘小花, 张岚岚, 朱长青, 陈昆松, 徐昌杰

浙江大学农业与生物技术学院园艺系, 杭州 310029

摘要: Micro-Tom 番茄植株矮小, 生长密度高, 生命周期短, 容易被高效转化, 成为功能基因组学研究的新模式植物。文章对 Micro-Tom 的由来和生物学特征作了概述, 重点阐述了 Micro-Tom 矮化微型的遗传机制以及该番茄在功能基因组学研究中的应用和遗传转化体系研究的进展。

关键词: Micro-Tom 番茄; 矮化微型; 功能基因组学; 遗传转化

Mechanisms for miniature dwarf characteristics of Micro-Tom tomato and its application in plant functional genomics studies

LIU Xiao-Hua, ZHANG Lan-Lan, ZHU Chang-Qing, CHEN Kun-Song, XU Chang-Jie

Department of Horticulture, College of Agriculture and Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China

Abstract: Micro-Tom is a miniature dwarf tomato, which can grow at a high density, has a short life cycle, and can be transformed efficiently. As a result, it became a new model plant for functional genomics study. The origin and biological characteristics of Micro-Tom were summarized. Recent advances in the mechanisms involved in the miniature dwarf trait, as well as the application of Micro-Tom in plant functional genomics study and the improved genetic transformation systems were reviewed.

Keywords: Micro-Tom; dwarf miniature; functional genomics; genetic transformation

番茄(*Solanum lycopersicum* L.)原产南美洲, 约于 16 世纪起成为全球性重要作物之一。目前全球年产量约为 1.3 亿吨, 其中中国约占 1/4。番茄由于富含番茄红素和 β -胡萝卜素等生物活性物质并具有抗氧化及延缓衰老和预防癌症等功能, 深受人们欢迎。同时, 番茄生长周期短、基因组较小、遗传背景较清楚、易于遗传转化, 并具有拟南芥、烟草和水稻等模式植物所不具备的生物学现象(如果实成熟等), 被公认为肉质果

实研究的模式植物而受到关注^[1]。

Micro-Tom 是一种番茄突变体, 它保留了普通番茄作为模式植物的基本特征, 但植株矮小、生命周期更短, 有利于节省研究空间、缩短研究时间, 比普通番茄更适合应用于功能基因组学研究^[1]。本文对其由来及生物学特征作了概述, 重点介绍了 Micro-Tom 矮化微型机制、在植物功能基因组学研究中的应用以及遗传转化体系的研究进展。

收稿日期: 2008-01-24; 修回日期: 2008-02-28

作者简介: 刘小花(1982-), 女, 硕士研究生, 专业方向: 园艺植物分子生理与生物技术。E-mail: xiaohua_2006@yahoo.com.cn

通讯作者: 徐昌杰(1972-), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向: 园艺植物分子生理与生物技术。E-mail: chjxu@zju.edu.cn

1 Micro-Tom 的品种由来和生物学特征

1.1 Micro-Tom 的品种由来

Micro-Tom 是一个番茄矮化品种, 由 Florida Basket 和 Ohio 4013-3 杂交而成, 其矮化特征源于 Ohio 4013-3 这一亲本^[2]。Micro-Tom 最初仅用于庭院观赏, 未受研究者重视。1997 年, Meissner 等^[1]研究表明它可作为番茄遗传研究的新型模式材料, 随后其研究与应用得到了广泛开展。

1.2 Micro-Tom 的生物学特征

Micro-Tom 属有限生长型, 极矮生, 植株高仅 10~20 cm。根系发达, 茎蔓非常紧凑, 节间短。叶片约比普通番茄小 3~5 倍, 叶色深绿, 比普通番茄叶色深。花、果实的形状和色泽与普通番茄无明显差异。果实比普通番茄显著小, 果径仅 1~2 cm, 但种子大小与普通番茄接近^[1, 3]。

Micro-Tom 生长周期较普通番茄短, 从播种到果实成熟只需 70~90 d, 每年可栽培 4 代, 而普通番茄只能繁殖 2 代^[1]。种植密度对 Micro-Tom 生长发育期影响较小, 但对植株高度、果实数和产量等性状有较大影响^[1]。

2 Micro-Tom 矮化微型性状的遗传和生理机制

总结已有报道的研究结果, Micro-Tom 的矮化微型表现型是 3 个基因隐性突变共同作用的结果。有两个突变基因已经确定, 为 *sp*(*self-pruning*) 和 *d*(*dwarf*), 前者与茎顶端分生组织的营养生长和生殖生长转换相关, 后者为油菜素内酯生物合成关键酶。第 3 个突变基因可能是 *mnt*(*miniature*), 与 GA 信号传导相关^[1, 3, 4]。

2.1 SP 突变基因

根据枝梢可否无限制地生长, 也就是顶芽可否发育成花芽, 番茄可分为有限生长型和无限生长型两类。Micro-Tom 属于有限生长型, 与 Ailsa Craig 等普通番茄不同。研究表明, Micro-Tom 呈现有限生长是由于 *SP* 基因发生了突变。与无限生长型番茄相比, 其 227 位核苷酸序列由 C 突变为 T, 致使所编码的蛋白质的第 76 位氨基酸由 Pro 转变为 Leu, 导致基因功能的丧失^[3]。在 M82 等其他有限生长型番茄上也发现了相同类型的突变^[4]。*SP* 基因编码一个 23 kDa 的调控蛋白, 与金鱼草 *CENTRORADIALIS*(*CEN*) 和拟南

芥 *TERMINAL FLOWER1* (*TFL1*) 具有高度同源性, 调控番茄茎尖生长点的营养生长和生殖生长转换^[5]。

SP 基因的突变使 Micro-Tom 失去无限生长的特性, 但并不是使植株产生矮化的主要原因。同属有限生长型的 Rutgers、UC-82、M82 和 Severianin 等番茄均表现高大表型。Micro-Tom 的矮化最主要归因于它的 *D* 基因发生了突变^[3]。

2.2 D 突变基因

根据遗传分析, Meissner 等^[1]推断 Micro-Tom 的矮化微型特征受两个主效隐性基因以及几个微效基因控制, 同时根据 Micro-Tom 的系谱, 推测这两个主效基因分别是 *D* 基因和 *MNT* 基因。在这之前不久, Bishop 等^[6]成功分离了番茄 *D* 基因, 并在随后的研究中发现该基因编码油菜素内酯生物合成途径中的一个关键酶^[7], *D* 基因突变可直接阻碍油菜素内酯合成。Micro-Tom 表现的矮化紧凑、叶小色深等症状与一些油菜素内酯缺失突变体十分相似, 而且 Martí 等^[3]发现外源油菜素内酯可使 Micro-Tom 节间显著变长, 并在 *D* 基因上找到了突变位点, 均表明 Micro-Tom 的 *D* 基因发生了突变并导致了植株矮化。与无限生长型番茄相比, 其 2 468 位核苷酸序列由 A 突变为 T, 致使基因第 8 内含子的剪切位点向第 9 外显子延伸了 8 bp 或 14 bp, 所合成的 mRNA 比正常 mRNA 相应缩短, 导致蛋白质翻译提前终止(短截了 24 个或 26 个氨基酸), 所合成的酶活性降低。

2.3 MNT 突变基因

将 Micro-Tom 与另一种有限生长型的 Severianin 番茄进行杂交, F₂ 株高分布暗示除了 *d* 突变基因, Micro-Tom 中还存在另一个株高相关基因的突变, 这一突变基因可能是 *MNT*^[1, 3]。*MNT* 突变基因目前尚未得到分离和鉴定, 但可能与 GA 信号传导系统相关。因为 Micro-Tom 对外源 GA₃ 的响应数倍弱于同属有限生长型但植株高大的 UC-82, 而两者内源 GA 含量相近^[3]。Micro-Tom 对 GA 响应能力的减弱以及油菜素内酯合成的障碍均使得植株节间变短, 并与 *SP* 基因突变导致的有限生长共同使 Micro-Tom 产生了矮化微型症状。

3 Micro-Tom 在功能基因组学研究中的应用

3.1 Micro-Tom 适于功能基因组学研究的特征

与普通番茄相比, 应用 Micro-Tom 开展基因组

学研究可大大节省时间和空间,且由于对光照要求较低而使植株培育从温室转入植物实验室成为可能,这使得转基因植株管理更易于满足有关安全管理规定^[8]。具体而言, Micro-Tom具有以下优于普通番茄的适于功能基因组学研究的特征: (1) 植株矮小,种植密度高。Meissner等^[1]研究表明,即使在 1 357 株/m²的高密度下植株仍能开花结果。通常应用的种植密度大多在 100~200 株/m²左右,远多于普通番茄。而且,由于株高低(10~20 cm),可在实验室内多层立体放置,从而可容纳大量植株。同时, Micro-Tom矮化微型的特征也降低了植株管理所需的人工。(2) 生命周期短,利于缩短实验周期,加快实验进程。Micro-Tom从播种到果实成熟只要 70~90 d^[1],一年最多可种植 4 代;另外,从子叶共培养到转基因番茄果实成熟最快只需要 100 d,也短于普通番茄^[1]。(3) 对光照要求不严,可在普通光照培养箱或组培室中培养。普通日光灯足可提供 Micro-Tom生长结实所需的光照强度^[9, 10]。(4) Micro-Tom可被高效转化,因而可加快通过转基因进行的基因功能鉴定进程。Micro-Tom的转化率可高达 40%~80%,明显高于普通番茄^[1, 10, 11]。

3.2 Micro-Tom 在高通量诱变及功能基因、启动子和增强子分离研究中的应用

突变体在植物功能基因组学中起着重要作用^[8],通过诱变可提高突变率,加快突变体的获得进程。虽然诱变育种的突变率远高于自然突变率,但仍然偏低,要培育足够多的诱变植株才有可能达到饱和诱变并筛选出目标突变体。与普通番茄相比, Micro-Tom更适合应用于高通量诱变,其植株矮小的特征节省了植株培育所需的空间和管理用工,其生命周期较短的特点可加快研究进程,其易于遗传转化的优势利于 T-DNA 或 *Ac/Ds* 转座子插入突变研究的开展^[8]。

Meissner等^[1]应用甲基磺酸乙酯(EMS)诱变法,以 Micro-Tom 为材料,获得了 9 000 株 M₁ 个体和 20 000 株 M₂ 个体,并从中筛选出叶片呈白色、黄色或浅绿色的叶绿素积累突变体、在叶片中积累花青苷的叶色突变体、果实形状呈柿形、梨形或椭圆形的突变体。这些突变体对于叶绿素和花青苷合成调控以及果形发育等研究具有重要价值。

David-Schwartz等^[12]以 Micro-Tom 为材料,利用快中子轰击诱变法获得了 2 500 株 M₂ 个体,从中筛

选出一个菌根发生受抑的突变体,结果表明至少有一个基因在菌根共生早期阶段控制真菌感染。在另一个研究中,应用 David-Schwartz 等^[12]提供的 M₂ 群体, Isaacson 等^[13]筛选出果实因缺乏番茄红素而呈黄色的 *tangerine^{mic}* 番茄突变体,继而促进了类胡萝卜素合成关键酶基因 - 类胡萝卜素异构酶基因的分离的功能鉴定。

Mathews 等^[14]应用高通量 T-DNA 插入突变法获得 10 000 余株转基因植株,从中筛选出大量叶片和果实色泽突变体,其中 *ant1* 突变体在幼梢中即积累大量花青苷。研究表明,该突变体中一个 MYB 转录因子得到过量表达,继而促进花青素合成、花青素糖基化以及花青苷转运进入液泡等过程中多个相关基因的协同表达。

Meissner 等^[1, 15]还建立了基于 *Ac/Ds* 转座子的诱变体系,获得了 2 392 株转座子转化的 Micro-Tom 群体。在后续研究中,他们从该群体中筛选获得一个果面角质层蜡积累发生改变的突变体并分离了其关键基因^[16]。除了旨在筛选因转座子插入导致正常功能基因破坏而创造的突变体,他们还构建了新型转座子表达载体,旨在分离功能基因、启动子和增强子。这一技术对于分离果实组织特异启动子或增强子尤其具有重要价值,因为番茄的肉质果实与拟南芥的荚果在结构、代谢和发育方面存在显著的不同,无法被拟南芥上的同类工作所代替^[15]。

3.3 Micro-Tom 在基因和启动子功能鉴定中的应用

由于 Micro-Tom 的优越性,近年来已开始逐渐取代普通番茄应用于基因和启动子的功能鉴定研究。如赵楠等^[17]分离了 Micro-Tom 番茄红素 β -环化酶基因,将其置于 CaMV 35S 启动子下构建成植物表达载体,成功转化 Micro-Tom 获得转基因植株,结果表明番茄红素 β -环化酶基因的过度表达不会影响植株的正常生长。陈双臣等^[18]成功地将烟草 β -1, 3-葡聚糖酶基因和苜蓿防御素基因导入 Micro-Tom,获得了灰霉病抗性增强的转基因植株,发现两目的基因对灰霉菌抗性表现一定的协同作用,同时也发现外源基因的表达水平与插入拷贝数无直接关系。

Micro-Tom 也已应用于启动子活性研究。李鹏丽等^[19]分离了大豆类受体蛋白激酶基因启动子,构建了该启动子指导 GUS 基因的植物表达载体,以 Micro-Tom 为实验材料,通过瞬时表达表明该启动子在愈伤组织中具有强表达活性。林璟瑜等^[20]以

Micro-Tom为试材,应用瞬时表达和稳定遗传转化两种手段,发现番茄ACC合成酶 6 基因启动子的-347~-266 区域可能存在有关响应乙烯负调控以及乙烯合成自抑制的顺式作用元件。

另外,Orzaez等^[21]以Micro-Tom为实验材料,研究了果实农杆菌注射之后基因或启动子在果实中的表达或沉默。由于果型较小,从花柱端注入农杆菌即可使全果得到感染,从而使得瞬时表达或基因沉默更加完全,这明显优于普通番茄。由于番茄果实组织为试材的工作无法被拟南芥代替,这一技术尤其受到关注。

总之, Micro-Tom比普通番茄更适于开展植物功能基因组学,尤其是与肉质果实性状相关的研究。该番茄已开始用于高通量诱变以及功能基因、启动子和增强子分离与功能分析等研究。另外,在植物生物学研究的其他领域, Micro-Tom还可作为果实发育的激素调控以及植物病害研究的理想材料^[3, 9, 22, 23]。

4 Micro-Tom 遗传转化体系的研究进展

高效稳定的遗传转化体系建立是功能基因组学研究的重要内容。番茄作为模式植物之一,其遗传转化体系研究历来受到重视。从 1986 年McMormick等^[24]和Koornneef等^[25]首次报道番茄遗传转化研究以来,其遗传转化体系得到不断改进。总体而言,番茄是较易转化的植物之一, Micro-Tom比普通番茄更易转化,但与拟南芥相比,其转化率仍不足以完全满足功能基因组学要求。因此,自Meissner等^[1]首次开展Micro-Tom遗传转化研究以来,已有诸多研究旨在进一步提高其转化率和重复性(表 1)。

从表 1 可知, Micro-Tom遗传转化体系已日渐成熟。已应用了多种抗性筛选体系,但只在筛选剂(抗生素或除草剂)及其使用浓度方面有所差别,其他遗传转化条件则大体相近。目前以NPT⁺/卡那霉素体系居多,也最为成熟。子叶和下胚轴均为常用的外植体,叶片少有应用,用于制备外植体的苗龄通常选用 7~10 d; 多个农杆菌菌株均可使用, A₆₀₀值处于 0.1~0.5 时为感染外植体的最佳浓度。Fillatti等^[26]建立的普通番茄(UC82)遗传转化体系被广泛作为基本操作方案,在此方案基础上,降低茎伸长培养基中玉米素核苷用量可加快茎伸长速度^[11],但对是否需保留外植体预培养步骤存在不同的观点^[11, 28]。在农杆菌感染时加入乙酰丁香酮至 0.18 mmol/L可提高

转化率^[29]。

我们以取自 10 日苗龄的子叶为外植体,将携带 pBI121 的 GV3101 过夜培养菌稀释至 A₆₀₀ 为 0.1,用于感染外植体。在感染时加入乙酰丁香酮至 0.18 mmol/L,在筛选阶段应用 100 mg/L 卡那霉素,经 35 d 后分离抗性梢进行生根,最终获得了 10 余棵转基因植株(经实时 PCR 鉴定),转化率达 20%左右。

另外,在普通番茄上, PAT(*bar*)/草铵膦(Basta)筛选体系也有应用^[34, 35],但Micro-Tom上尚未见报道。我们曾用 5 mmol/L Basta作为筛选剂,获得了 50 余棵抗性植株,但经实时PCR鉴定均非转基因植株,内在原因尚在进一步研究中。

5 展望

Micro-Tom因植株矮小成为基因组学研究的新模式植物,并开始在基因和启动子的分离和功能鉴定中得到广泛应用。但Micro-Tom的一些特点和不足之处有待今后研究加以注意或解决。(1)与拟南芥相比, Micro-Tom的转化率仍然偏低。通过对传统的遗传转化体系进行改进可进一步提高转化率,但大幅度的提高可能需要新的策略。Lima等^[36]将秘鲁番茄(*S. peruvianum* L.)的MsK基因导入Micro-Tom,新获得的Micro-MsK番茄以下胚轴为外植体时比Micro-Tom具有更高的转化率(约高 5 倍)。因此,用更多的利于遗传转化的基因改造Micro-Tom或Micro-MsK是今后研究的理想主题之一。(2)Micro-Tom高栽培密度下仍能结果的特性利于在有限空间内培育大量植株,但过高密度下单株果实数少,如需获得较多种子,仍需给植株生长提供足够土壤(200~500 mL)^[11]。同时,过高密度栽培时Micro-Tom植株矮小,加之该番茄有限生长的特性,导致可采集的叶片数量较少,不利于Southern杂交等分析的开展。(3)我们发现以pBI121为植物表达载体获得的Micro-Tom转基因植株虽然正常结果,但多数果实缺乏种子,不利于转基因子代植株的获得。而在相同条件下生长的非转基因植株果实中的种子数正常,转基因过程导致种子数减少的原因尚不清楚。Amemiya等^[30]将液泡质子ATPase基因反义导入Micro-Tom,也发现种子数减少的现象,但作者推测这是ATPase基因表达受到抑制而干扰种子形成的结果。对Micro-Tom遗传背景及代谢特征的全面和细致研究,如Micro-Tom EST库的建立^[37, 38]以及代谢物的系统分析和注解^[39]可望对这

表1 Micro-Tom遗传转化体系的主要参数

Table 1 Major parameters of the genetic transformation systems for Micro-Tom

抗性基因 Resistance gene	筛选剂 Selection agent	筛选剂浓度 Concentration of selection agent	外植体及其发育天数 Explant and its age	农杆菌菌株 <i>Agrobacterium</i> strain	农杆菌浓度 Concentration of <i>Agrobacterium</i> (A_{600})	文献 References	主要结果或改进之处 Main results or improvements	文献 References
<i>NPT</i>	卡那霉素 Kanamycin	100 mg/L	子叶, 7日苗龄 Cotyledon from 7-day-old seedling	LBA4404	0.4~0.5	26	转化率高达80% With a transformation efficiency as high as 80%	1
<i>NPT</i>	卡那霉素 Kanamycin	100 mg/L	子叶, 7日苗龄 Cotyledon from 7- to 10-day-old seedling	C58C1	/*	27	转化率高达40%; 应用安美汀控制外植体表面的农杆菌生长; 发现所建立的遗传转化体系也适用于Money Maker等其它番茄品种 With a transformation efficiency as high as 40%; augmentin was used to eliminate <i>Agrobacterium</i> cells from the inoculated explants; the established transformation protocol was suitable for other tomato cultivars including Money Maker	10
<i>NPT</i>	卡那霉素 Kanamycin	100 mg/L	子叶, 7日苗龄 Cotyledon from 7-day-old seedling	ABI	0.1~0.5	26	转化率高达24%~80%; 发现取消外植体预培养步骤可显著提高转化率; 发现降低茎伸长培养基中玉米素核苷用量至0.5 mg/L加快茎伸长速度 With a transformation efficiency as high as 24%–80%; the efficiency was higher for explants without pre-culture; shoot elongation can be promoted through reducing the concentration of zeatin riboside in medium to 0.5 mg/L	11
<i>NPT</i>	卡那霉素 Kanamycin	90 mg/L	下胚轴, 茎尖, 7~8日苗龄 叶片, 30~40日苗龄 Hypocotyl or shoot tip from 7- to 8-day-old seedling, leaf from 30- to 40-day-old seedling	GV3101	0.2	/	转化率高达40%~60%; 发现下胚轴是最佳外植体 With a transformation efficiency as high as 40–60%; hypocotyl was the most suitable explant	14
<i>NPT</i>	卡那霉素 Kanamycin	100 mg/L	叶片 Leaf	EHA105	/	26	将葡聚糖酶和防御素基因导入Micro-Tom番茄, 并提高对番茄灰霉病的抗性 Glucanase and defensin genes were introduced into Micro-Tom and the resistance of transgenic plants to <i>Botrytis cinerea</i> was increased	18
<i>NPT</i>	卡那霉素 Kanamycin	100mg/L	子叶, 下胚轴, 10 日苗龄 叶片, 4 周苗龄 Cotyledon or hypocotyl from 10-day-old seedling, or leaf from 4-week-old seedling	LBA4404	1.0	/	发现外植体预培养 1 d 可提高转化率; 发现子叶和下胚轴为理想的外植体; 所建立的转化体系在 Micro-Tom 和另 4 个番茄品种上均获得了高达 20%的转化率 The transformation efficiency was raised through pre-culturing explants for 1 d; cotyledon and hypocotyl were the most suitable explants; the established transformation protocol was suitable for other 4 tomato cultivars with a transformation efficiency as high as 20%	28

续 表

抗性基因 Resistance gene	筛选剂 Selection agent	筛选剂浓度 Concentration of selection agent	外植体及其发育天数 Explant and its age	农杆菌菌株 <i>Agrobacterium</i> strain	农杆菌浓度 Concentration of <i>Agrobacterium</i> (A_{600})	文献 References	主要结果或改进之处 Main results or improvements	文献 References
<i>NPT</i>	卡那霉素 Kanamycin	70 mg/L	子叶, 下胚轴, 8~10 日苗龄 Cotyledon or hypocotyl from 8- to 10-day-old seedling	Ag1 I	0.14	/	发现最适宜的农杆菌浓度为 $A_{600}=0.14$; 发现乙酰丁香酮可提高转化率并以0.18 mmol/L的浓度最佳 The most suitable concentration of <i>Agrobacterium</i> was reached when A_{600} was 0.14; acetosyringone, with strongest effect at 0.18 mmol/L, can promote transformation	29
<i>NPT</i>	卡那霉素 Kanamycin	50 mg/L	子叶 Cotyledon	LBA4404	/	24	在共培养培养基中加入 50 μ mol/L 乙酰丁香酮 Acetosyringone, with a final concentration of 50 μ mol/L, was supplemented to the co-cultivation medium	30
<i>NPT</i>	卡那霉素 Kanamycin	/	/	LBA4404	/	1	通过转基因证明 <i>LeCOPILIKE</i> 基因为番茄发育过程中光形态建成的抑制因子 <i>LeCOPILIKE</i> was found to be a negative regulator of photomorphogenesis in tomato through transformation of Micro-Tom with a <i>LeCOPILIKE</i> antisense expression vector	31
<i>NPT</i>	卡那霉素 Kanamycin	100 mg/L	子叶, 4~5 日苗龄 Cotyledon from 4- to 5-day-old seedling	EHA105	0.2	/	简化了番茄转化步骤, 获得了高于 20% 的转化率 The transformation procedures were simplified and an efficiency over 20% was obtained	32
<i>NPT</i>	卡那霉素 Kanamycin	100 mg/L	/	GV3101	/	1, 26, 28	发现针对番茄 TYLCV 外壳蛋白设计的 siRNA 可提高转基因植株对病毒的抗性 siRNA designed corresponding to tomato TYLCV coat protein can increase the resistance of transgenic plants to TYLCV	33
<i>HPT</i>	潮霉素 Hygromycin	10 mg/L	子叶 Cotyledon	LBA4404	0.6~0.8	/	发现最适宜的农杆菌浓度为 $A_{600}=0.6-0.8$; 发现侵染时间、乙酰丁香酮浓度、潮霉素浓度等影响转化率 The optimum concentration of <i>Agrobacterium</i> was reached when A_{600} was 0.6~0.8; transformation efficiency was affected by inoculation time of <i>Agrobacterium</i> , concentrations of acetosyringone and hygromycin	17
<i>HPT</i>	潮霉素 Hygromycin	/	/	/	/	1	获得了转基因植株并应用于番茄ACC合成酶6基因启动子活性分析 Transgenic plants were obtained and applied in study of promoter activity of tomato ACC synthase 6	20
<i>EPSPS</i> (<i>cp4</i>)	草甘膦 Glyphosate	0.03 mmol/L	子叶, 7日苗龄 Cotyledon from 7-day-old seedling	ABI	0.1~0.5	26	转化率高达24%~80%; 发现取消外植体预培养步骤可显著提高转化率; 发现降低茎伸长培养基中玉米素核苷用量至0.5 mg/L加快茎伸长速度 With a transformation efficiency as high as 24%~80%; the efficiency was higher for explants without pre-culture; shoot elongation can be promoted through reducing the concentration of zeatin riboside in medium to 0.5 mg/L	11

*: 信息无法从原文中获得。

*: The information was not available from the original report.

些问题的解决提供帮助,并有利于其作为功能基因组学研究模式植物的潜力得到充分发挥。

参考文献(References):

- [1] Meissner R, Jacobson Y, Melamed S, Levyatuv S, Shalev G, Ashri A, Elkind Y, Levy A. A new model system for tomato genetics. *Plant J*, 1997, 12(6): 1465–1472.
- [2] Scott JW, Harbaugh BK. Micro-Tom-a miniature dwarf tomato. *Florida Agric Exp Station Circ*, 1989, 370: 1–6.
- [3] Martí E, Gisbert C, Bishop GJ, Dixon MS, Garcia-Martinez JL. Genetic and physiological characterization of tomato cv. Micro-Tom. *J Exp Bot*, 2006, 57(9): 2037–2047.
- [4] Pnueli L, Carmel-Goren L, Hareven D, Gutfinger T, Alvarez J, Ganai M, Zamir D, Lifschitz E. The SELF-PRUNING gene of tomato regulates vegetative to reproductive switching of sympodial meristems and is the ortholog of CEN and TFL1. *Development*, 1998, 125(1): 1979–1989.
- [5] Pnueli L, Gutfinger T, Hareven D, Ben-Naim O, Ron N, Adir N, Lifschitz E. Tomato SP-interacting proteins define a conserved signaling system that regulates shoot architecture and flowering. *Plant Cell*, 2001, 13(12): 2687–2702.
- [6] Bishop GJ, Harrison K, Jones JDG. The tomato Dwarf gene isolated by heterologous transposon tagging encodes the first member of a new cytochrome P450 family. *Plant Cell*, 1996, 8(6): 959–969.
- [7] Bishop GJ, Nomura T, Yokota T, Harrison K, Noguchi T, Fujioka S, Takatsuto S, Jones JDG, Kamiya Y. The tomato DWARF enzyme catalyses C-6 oxidation in brassinosteroid biosynthesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(4): 1761–1766.
- [8] Emmanuel E, Levy AA. Tomato mutants as tools for functional genomics. *Curr Opin Plant Biol*, 2002, 5(2): 112–117.
- [9] Shibata D. Genome sequencing and functional genomics approaches in tomato. *J Gen Plant Pathol*, 2005, 71(1): 1–7.
- [10] Sun HJ, Uchii S, Watanabe S, Ezura H. A highly efficient transformation protocol for Micro-Tom, a model cultivar for tomato functional genomics. *Plant Cell Physiol*, 2006, 47(3): 426–431.
- [11] Dan YH, Yan H, Munyikwa T, Dong J, Zhang YL, Armstrong CL. MicroTom-a high-throughput model transformation system for functional genomics. *Plant Cell Rep*, 2006, 25(5): 432–441.
- [12] David-Schwartz R, Badani H, Wininger S, Levy AA, Galili G, Kapulnik Y. Identification of a novel genetically controlled step in mycorrhizal colonization: plant resistance to infection by fungal spores but not to extraradical hyphae. *Plant J*, 2001, 27(6): 561–569.
- [13] Isaacson T, Ronen G, Zamir D, Hirschberg J. Cloning of *tangerine* from tomato reveals a carotenoid isomerase essential for the production of β -carotene and xanthophylls in plants. *Plant Cell*, 2002, 14(12): 333–342.
- [14] Mathews H, Clendennen KS, Caldwell GC, Liu XL, Connors K, Matheis N, Schuster KD, Menasco DJ, Wagoner W, Lightner J, Wagner DR. Activation tagging in tomato identifies a transcriptional regulator of anthocyanin biosynthesis, modification, and transport. *Plant Cell*, 2003, 15(8): 1689–1703.
- [15] Meissner R, Chague V, Zhu Q, Emmanuel E, Elkind Y, Levy A. A high throughput system for transposon tagging and promoter trapping in tomato. *Plant J*, 2000, 22(3): 265–274.
- [16] Vogg G, Fischer S, Leide J, Emmanuel E, Jetter R, Levy AA, Riederer M. Tomato fruit cuticular waxes and their effects on transpiration barrier properties: functional characterization of a mutant deficient in a very-long-chain fatty acid β -ketoacyl-CoA synthase. *J Exp Bot*, 2004, 55(401): 1401–1410.
- [17] ZHAO Nan, LIN Cui-Yu, WANG Shu-Fang, WANG Yong, WANG Ning-Ning. Overexpression of a specific lycopene B cyclase gene B in transgenic Micro-Tom. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Nankaiensis*, 2006, 39(4): 103–107.
赵楠, 林璨瑜, 王淑芳, 王勇, 王宁宁. 过表达 B 基因的转基因微型番茄的获得. 南开大学学报(自然科学版), 2006, 39(4): 103–107.
- [18] CHEN Shuang-Chen, LIU Ai-Rong, ZOU Zhi-Rong. Transgenic tomato plants expressing glucanase and defensin genes and their resistance to *Botrytis cinerea*. *Acta Phytophylacica Sinica*, 2006, 33(4): 357–362.
陈双臣, 刘爱荣, 邹志荣. 转葡聚糖酶和防御素基因的番茄植株及其对番茄灰霉病的抗性. 植物保护学报, 2006, 33(4): 357–362.
- [19] LI Peng-Li, MA Yuan-Yuan, LI Xiao-Ping, ZHANG Li-Wen, WANG Yong, WANG Ning-Ning. Cloning and preliminary analysis of promoter of soybean receptor-like protein kinase gene rlpk2. *J Plant Physiol Mol Biol*, 2006, 32(3): 315–319.
李鹏丽, 马媛媛, 李小平, 张丽文, 王勇, 王宁宁. 大豆类受体蛋白激酶基因 rlpk2 启动子克隆及初步分析. 植物生理与分子生物学学报, 2006, 32(3): 315–319.
- [20] LIN Jing-Yu, FAN Rong, WAN Xiao-Rong, CHANG Yi-Yong, WANG Ning-Ning. Analysis of tomato ACC synthetase enzyme gene Le-ACS6 promoters structure. *Chinese Sci Bulletin*, 2007, 52(7): 791–796.
林璟瑜, 樊荣, 万小荣, 常怡雍, 王宁宁. 番茄 ACC 合成酶基因 Le-ACS6 启动子的结构分析. 科学通报, 2007, 52(7): 791–796.
- [21] Orzaez D, Mirabel S, Wieland WH, Granell A. Agroinjec-

- tion of tomato fruits. A tool for rapid functional analysis of transgenes directly in fruit. *Plant Physiol*, 2006, 140(1): 3–11.
- [22] Takahashi H, Shimizu A, Arie T Rosmalawati S, Fukushima S, Kikuchi M, Hikichi Y, Kanda A, Takahashi A, Kiba A, Ohnishi K, Ichinose Y, Taguchi F, Yasuda C, Kodama M, Egusa M, Masuta C, Sawada H, Shibata D, Hori K, Watanabe Y. Catalog of Micro-Tom responses to common fungal, bacterial and viral pathogens. *J Gen Plant Pathol*, 2005, 71(1): 8–22.
- [23] Serrani JC, Fos M, Atarés A, García-Martínez JL. Effect of gibberellin and auxin on parthenocarpic fruit growth induction in the cv Micro-Tom of tomato. *J Plant Growth Regul*, 2007, 26(3): 211–221.
- [24] McCormick S, Niedermeyer J, Fry J, Barnason A, Horsch R, Fraley R. Leaf disc transformation of cultivated tomato (*L. esculentum*) using *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Cell Rep*, 1986, 5(2): 81–84.
- [25] Koornneef M, Hanhart C, Jongsma M, Toma I, Weide R, Zabel P, Hille J. Breeding of a tomato genotype readily accessible to genetic manipulation. *Plant Sci*, 1986, 45(3): 201–208.
- [26] Fillatti J, Kiser J, Rose R, Comai L. Efficient transfer of a glyphosate tolerance gene into tomato using a binary *Agrobacterium tumefaciens* vector. *Bio-Technology*, 1987, 5(7): 726–730.
- [27] Ohyama A, Ito H, Sato T, Nishimura S, Imai T, Hirai M. Suppression of acid invertase activity by antisense RNA modifies the sugar composition of tomato fruit. *Plant Cell Physiol*, 1995, 36(2): 369–376.
- [28] Park SH, Morris JL, Park JE, Hirschi KD, Smith RH. Efficient and genotype-independent *Agrobacterium*-medium tomato transformation. *J Plant Physiol*, 2003, 160(10): 1253–1257.
- [29] SU Cai-Xia, LI Jun-Ming, HUO Xiu-Wen, FAN Wei-Qiang, LIU Lei. The expression of LC and GFP marker gene in transformation of tomato. *Chinese Agric Sci Bulletin*, 2007, 23(6): 131–136.
- 苏彩霞, 李君明, 霍秀文, 范维强, 刘磊. 番茄遗传转化体系的建立及 LC 和 GFP 标记基因的表达. *中国农学通报*, 2007, 23(6): 131–136.
- [30] Amemiya T, Kanayama Y, Yamaki S, Yamada K, Shiratake K. Fruit-specific V-ATPase suppression in antisense-transgenic tomato reduces fruit growth and seed formation. *Planta*, 2006, 223(6): 1272–1280.
- [31] CUI Meng-Xiang, LI Peng-Li, LIU Zhong-Qi, JIN Feng, CHANG Li, FENG Xiao-Xing, WANG Ning-Ning. Cloning, antisense construction and tomato transformation of *LeCO-PILIKE* gene. *J Mol Cell Biol*, 2007, 40(5): 329–338.
- 崔孟祥, 李鹏丽, 刘仲齐, 金凤, 常立, 冯晓星, 王宁. *LeCOPILIKE* 基因的克隆、反义构建及微型番茄的转化. *分子细胞生物学报*, 2007, 40(5): 329–338.
- [32] Qiu DL, Diretto G, Tavarza R, Giuliano G. Improved protocol for *Agrobacterium* mediated transformation of tomato and production of transgenic plants containing carotenoid biosynthetic gene *CsZCD*. *Sci Hort*, 2007, 112(2): 172–175.
- [33] Zrachya A, Kumar PP, Ramakrishnan U, Levy Y, Loyter A, Arazi T, Lapidot M, Gafni Y. Production of siRNA targeted against TYLCV coat protein transcripts leads to silencing of its expression and resistance to the virus. *Transgen Res*, 2007, 16(3): 385–398.
- [34] De Block M, Botterman J, Vandewiele M, Dockx J, Thoen C, Gosselé V, Movva NR, Thompson C, Van Montagu M, Leemans J. Engineering herbicide resistance in plants by expression of a detoxifying enzyme. *EMBO J*, 1987, 6(9): 2513–2518.
- [35] XIE Ying-Zhong, FANG Xiang-Ping, TAN Zhao-Ping, ZHANG Hong, LIANG Zhang-Hui, LIN Jin-Ying. Study on tomato transformation with a chitinase gene. *Guangdong Agric Sci*, 2003, (5): 22–24.
- 谢映忠, 方向平, 谭兆平, 张宏, 梁张慧, 林锦英. 几丁质酶基因转化番茄的研究. *广东农业科学*, 2003, (5): 22–24.
- [36] Lima JE, Carvalho RF, Tulmann Neto A, Figueira A, Peres LEP. Micro-MsK: a tomato genotype with miniature size, short life cycle, and improved in vitro shoot regeneration. *Plant Sci*, 2004, 167(4): 753–757.
- [37] Yamamoto N, Tsugane T, Watanabe M, Yano K, Maeda F, Kuwata C, Torki M, Ban Y, Nishimura S, Shibata D. Expressed sequence tags from the laboratory-grown miniature tomato (*Lycopersicon esculentum*) cultivar Micro-Tom and mining for single nucleotide polymorphisms and insertions/deletions in tomato cultivars. *Gene*, 2005, 356: 127–134.
- [38] Yano K, Watanabe M, Yamamoto N, Tsugane T, Aoki K, Sakurai N, Shibata D. MiBASE: A database of a miniature tomato cultivar Micro-Tom. *Plant Biotechnology*, 2006, 23(2): 195–198.
- [39] Iijima Y, Nakamura Y, Ogata Y, Tanaka K, Sakurai N, Suda K, Suzuki T, Suzuki H, Okazaki K, Kanaya S, Aoki K, Shibata D. Metabolite annotations based on the integration of mass spectral information. *The Plant Journal*, 2008, 54(5): 949–962.