

根癌农杆菌介导法在禾本科植物遗传转化中的应用

谭伟, 杨俊杰, 彭金环, 于元杰*

山东农业大学农学院, 泰安 271018

Application of *Agrobacterium tumefaciens*-mediated Genetic Transformation Methods in the Monocotyledons

TAN Wei, YANG Jun-Jie, PENG Jin-Huan, YU Yuan-Jie*

College of Agronomy, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China

摘要: 在植物基因工程中, 农杆菌质粒介导的遗传转化是比较完善与有效的基因转移方法, 但在单子叶植物中应用较少。文章介绍了农杆菌介导遗传转化技术在禾本科植物改良中的研究进展, 并对此法的应用前景作了分析。

关键词: 根癌农杆菌; 遗传转化; 禾本科植物

自从1983年Zambryski等以根癌农杆菌Ti质粒为转化载体, 将T-DNA上的基因转入烟草细胞, 获得第一株转基因植物(转基因烟草)以来, 作物遗传转化的研究得到迅速发展。1987年Grimsley等最早将玉米条纹病毒的cDNA通过根癌农杆菌转入玉米, 转化植株表现出感染症状; 而通过根癌农杆菌首次获得水稻和小麦转基因植株分别在1990年和1991年。据统计, 2006年全球转基因作物种植面积比2005年增加13%, 种植转基因作物的农户数量首次超过1 000万户, 在种植的转基因作物中, 转基因玉米种植面积为 252×10^5 hm² (占全球转基因作物总种植面积的25%, 位居第二)。在植物遗传转化中农杆菌介导法是首选的方法之一。

1 根癌农杆菌介导的转化方法及其特点

1.1 根癌农杆菌介导的转化方法 最常用的根癌农杆菌介导转化单子叶植物的方法是共培养法。此法由Márton等于1979年首次报道, 1985年Horsch等建立了农杆菌叶盘共培养转化法, 以后这一共培养系统又广泛用于愈伤组织细胞、悬浮培养细胞、茎切段、子叶切片、下胚轴切段等离体材料的转化。共培养前农杆菌感染愈伤组织大致有3种方式(易自力等2001): (1)整块愈伤组织浸泡于菌液中静置培养; (2)整块愈伤组织浸泡于菌液中摇动培养; (3)菌液加在愈伤组织上。常用的是第1种方法。载体法中新的转基因方法有: 基于Ac/Ds转座系统建立的转化载体; 利用噬菌体P1Cre-

lox位点的特异性重组系统; 利用酵母线粒体I-SceI核酸内切酶特异性诱导植物DNA双链断开引起的同源重组系统; 利用双链细菌人造染色体载体系统等, 这些方法都可提高转化率和转基因位点的质量(华志华和黄大年1999)。

农杆菌转化的过程可以用图1简单地说明。

1.2 农杆菌介导的遗传转化特点 农杆菌介导的转化系统是模仿或称之为利用天然的转化载体系统, 成功率高, 效果好。农杆菌转化系统是一种生物转化系统, 具有主动性, 能选择性地转移Ti质粒上以2个25 bp重复序列为两端的T-DNA; 在VirD₂的帮助下, 它可以主动地插入到植物染色体上。T-DNA上含有引导DNA转移和整合的序列, 以及能够被高等植物细胞转录系统识别的功能启动子和转录信号, 促使插入到T-DNA区的外源基因能够随同T-DNA一道在植物细胞中表达。整合进植物基因组中的T-DNA和插入其间的外源基因能够在再生植株的各种组织器官中特异性表达, 也就是说可进行人为的控制。农杆菌Ti质粒转化系统转化的外源基因以单拷贝为多数, 并且多数符合孟德尔遗传规律, 转基因植株能较好地育种提供中间选育材料(王关林和方宏筠2002)。

收稿 2008-01-07 修定 2008-04-07

* 通讯作者(E-mail: yuanjy@sdau.edu.cn; Tel: 0538-8242903)。

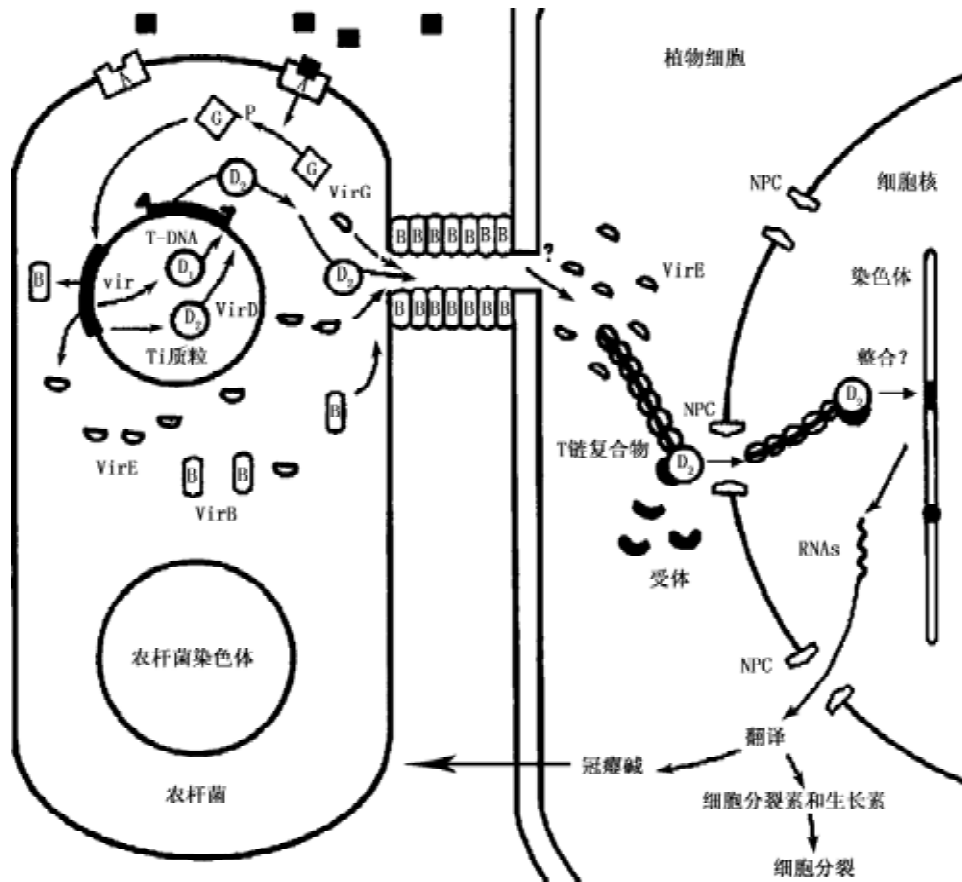


图1 农杆菌 T-DNA 转化植物细胞过程(李卫等 2000)

2 根癌农杆菌介导的遗传转化法在禾本科作物中的应用

早期的禾本科植物农杆菌介导的遗传转化, 研究多用其幼胚评估不同条件下受农杆菌侵染的可能性。随后人们用大量的实验测试不同谷类植物的不同外植体对农杆菌侵染的反应能力, 以期获得稳定的转化细胞或植株。Grimsley 等(1987)最早将玉米条纹病毒的cDNA通过根癌农杆菌转入玉米, 转化植株表现出感染症状; Mooney 等(1991)采用根癌农杆菌感染小麦胚得到转化细胞; Raineri 等(1990)和Chan 等(1992)用根癌农杆菌感染未成熟胚得到少量的水稻转基因植株, 这些研究得到的转化频率很低, 且没有足够的分子和遗传证据, 很少能为大家接受, 但为禾谷类作物转基因研究奠定了基础。直到1993年这方面的研究才取得了重大突破, Chan 等(1993)以水稻开花授粉后10~12 d的幼胚为受体, 经农杆菌感染后获得转基因植株; Hiei 等(1997)以水稻成熟胚愈伤组织和未成熟幼胚为受体, 获得较多有严格分子生物

学证据的转基因植株, 并对农杆菌介导法转化水稻的影响因素进行了详细研究, 从而建立了一套比较成熟的农杆菌转化水稻的技术体系。此后, 农杆菌介导法的转化范围又扩展到了许多重要的单子叶植物。

水稻转基因大部分用农杆菌介导, 至2007年8月为止, 国内用农杆菌介导的水稻转基因的文献已经超过200篇, 而经过严格检测说明转化成功的报道则比较少。农杆菌转化小麦取得了不小的成就, 已经成功转入小麦的目标基因有抗病性基因、抗衰老基因、抗除草剂类基因、嵌合雄性不育类基因、抗盐基因、胆碱脱氢酶基因、甜菜碱醛脱氢酶和胆碱单加氧酶基因。禾本科中还有许多种植物的农杆菌转化获得了成功(表1)。

3 结语

农杆菌介导遗传转化技术已日臻成熟; 但仍有以下问题尚待解决。

3.1 植物受体因子与农杆菌间的作用机制

目前对农杆菌介导转化的机制及分子调控研究比较深入,

表1 农杆菌介导禾本科植物的遗传转化

作物种类	农杆菌菌株	外源基因	参考文献		
水稻(<i>Oryza sativa</i>)	A281	<i>gus, nptII</i>	Chan 等(1993)		
	LBA4404, EHA101	<i>gus, hpt</i>	Hiei 等(1994)		
	EHA101	<i>gus, hpt</i>	Rashid 等(1996)		
	LBA4404	<i>gus, hpt</i>	Aldemita 和 Hodges (1996)		
	EHA101	<i>bar</i>	Park 等(1996)		
	LBA4404, EHA105	<i>Bt, gus, hpt</i>	Cheng 等(1998)		
	LBA4404	<i>BADH</i>	卢德赵等(2003)		
	EHA105	<i>IPT</i>	许明等(2003)		
	EHA105	<i>RCA</i>	金松恒等(2004)		
	EHA105, pCAMBIA1300	<i>Ac/Ds, gus</i>	王爱民等(2005)		
	pCAMBIA1300	<i>GS1, GS2</i>	Sun 等(2005)		
	LBA4404	<i>ICE1, hpt</i>	向殿军等(2007)		
	EHA105	<i>AGP</i>	吕桂兰等(2007)		
	小麦(<i>Triticum aestivum</i>)	A281	<i>gus</i>	Zaghmout 和 Trolinder (1993)	
AGL0		<i>npt</i>	Xia 等(1999)		
LBA4404, EHA101		<i>bar uidA</i>	Amoah 等(2001)		
EHA101		<i>NptII, gus</i>	Zeng 等(2001)		
AGL0, AGL1		<i>Pto134, pbx1</i>	Weir 等(2001)		
LBA440		<i>pHK21, pHK22</i>	Khanna 和 Daggard (2003)		
AGL1		<i>pAL156</i>	Wu 等(2003)		
EH105, AGL-1		<i>pC3301, pDM805</i>	王翠亭和卫志明(2003)		
GV3101		<i>NptII, gus</i>	毕瑞明和王洪刚(2006)		
LBA4404		<i>pad</i>	Yan 等(2006)		
C58C1, EHA105, LBA4404		<i>Ecppc, npt, gus</i>	张彬等(2007)		
C58*, A2034*		条纹病毒 DNA	Grimsley 等(1987)		
EHA1		<i>Gus, nptII</i>	Gould 等(1991)		
玉米(<i>Zea mays</i>)		LBA4404	<i>gus, bar</i>	Ishida 等(1996)	
	C58C, LBA4301	<i>gus</i>	Shen 等(1999)		
	LBA4404	<i>Bt, hpt, sck, gus</i>	伍晓丽等(2004)		
	C58	<i>Gfp, nptII</i>	Sidorov 等(2006)		
	C58*	条纹病毒 DNA	Donson 等(1988)		
	燕麦(<i>Avena sativa</i>) 大麦(<i>Hordeum vulgare</i>)	C58	<i>Bar, gus</i>	Tingay 等(1997)	
		C58	<i>gus, nptII</i>	Cheng 等(1997)	
		EHA105, PKYLX7	反义磷脂酶 D γ	吕维涛等(2005)	
		AGL0	<i>GFP</i>	Holme 等(2006)	
		LBA4404	<i>pUGAB7</i>	Shrawat 等(2007)	
		早熟禾(<i>Poa pratensis</i>) 高羊茅(<i>Festuca arundinacea</i>)	AGL1	<i>Gus, CR</i>	Chai 等(2003)
			LBA4404	<i>Bt</i>	余建明等(2005)
			EHA105	<i>CBF1</i>	胡繁荣(2005b)
			EHA105	<i>Hpt, bar</i>	Hu 等(2005)
AGL1, GV3101			<i>AtNHX1</i>	赵军胜等(2005)	
C58C1			<i>NptII, gus</i>	王艳丽等(2007)	
EHA105			<i>ppIP</i>	李达旭等(2006)	
B-256			<i>Gus</i>	陆小平和小岛峰雄(2003)	
老芒麦(<i>Elymus sibiricus</i>) 荞麦(<i>Fagopyrum esculentum</i>) 黑麦草(<i>Lolium perenne</i>)			LBA4404	<i>BADH</i>	刘萍等(2005)
	EHA101		<i>NptII, gus</i>	Bajaj 等(2006)	
	LBA4404		<i>Hyg, gus</i>	张振霞等(2007)	
	C58C1		<i>NptII, gus</i>	王艳丽等(2007)	
	谷子(<i>Foxtail millet</i>) 狗牙根(<i>Cynodon dactylon</i>) 高粱(<i>Sorghum bicolor</i>)		LBA4404	<i>Bt, Bar</i>	王永芳等(2003)
			LBA4404	<i>PBI121</i>	Liu 等(2007)
		EHA105	<i>gus</i>	胡繁荣(2005a)	
		LBA4404	<i>Hyg, gus</i>	张振霞(2005)	
		LBA4404	<i>bar, gus</i>	Zhao 等(2000)	
		EHA105	<i>cryIAb</i>	肖军等(2004)	
		甘蔗(<i>Saccharum officinarum</i>) 结缕草(<i>Zoysia sinica</i>)	C58C, Rif	<i>bar, nptII</i>	Enriquez-Obregon 等(1998)
			EHA105	<i>TSase</i>	王自章等(2003)
			EHA105, LBA4404	<i>GFP</i>	罗敬萍等(2003)
			LBA4404	<i>cryIA</i>	李瑞美等(2006)
EHA105			<i>cryIAb</i>	胡繁荣等(2003)	

* 为天然农杆菌。

但对有关植物因子的作用机制还知之甚少。农杆菌介导单子叶植物遗传转化已具备了与双子叶植物相似的农杆菌条件,但单子叶植物的转化相对要困难得多,这可能不仅是农杆菌一方的问题,单子叶植物本身也可能起关键作用,至于农杆菌和这些植物之间的相互作用也值得考虑。拟南芥农杆菌侵染突变体和酵母的成功转化(Ballas和Citovsky 1997; Bravo-Angel等 1999; Nam等 1999)拟于借鉴。

3.2 转化范围 据统计已经被成功转化的单子叶植物包括禾本科、石蒜科、百合科、鸢尾科、薯蓣科等8科30多种单子叶植物(吴关庭 2004),并且大部分为禾本科植物,而单子叶植物大概有4万余种,转化成功的单子叶植物太少,而且单子叶植物的转化有限。因此扩大其遗传转化范围可能是今后这一领域研究的重点之一。

3.3 转化率 大多数单子叶植物的转化受其基因型、外植体来源、组织培养难易程度等因素的影响,比较难,以至在重要禾谷类作物中的应用受到一定的限制。与双子叶植物相比,农杆菌转化单子叶植物还存在较大差距,其中烟草、葡萄等双子叶植物的转化效率高达60%以上,而单子叶植物中转化效率较高的禾本科植物还不到30%(蒋玉宝和于元杰 2005; 孟芮等 2006)。据统计,单子叶植物用农杆菌转化获得成功的遗传转化率玉米为5%~30%、水稻为29%、籼稻为22%,接近双子叶植物(任永霞等 2005)。

3.4 Ti载体容量 禾谷类作物的一些性状,如抗逆、高产优质等是数量性状,或是与质量性状相关的基因成簇排布,定位在片段范围较大DNA上。这些性状的改造需要一个能将大片段DNA导入植物细胞并稳定表达的转化体系,但改造的Ti质粒是难以胜任的,因此研究携带大片段DNA的双元细菌人工染色体(binary bacterial artificial chromosome, BBAC)和具转化功能人工染色体(transformation-competent artificial chromosome, TAC)分别对烟草和拟南芥进行转化(Hamilton 1997; Liu等 1999),这对实现禾谷类作物中导入大片段DNA并进行遗传改良来说是有意义的。

此外,农杆菌介导的遗传转化还有其他的不足之处。如农杆菌感染过程中会对植物材料造成损伤,T-DNA整合时边界可能会发生截断(Rashid

等 1996; Lee等 1999),T-DNA以串连形式整合(王关林和方宏筠 1998),基因依赖性较高(Lee等 1999),以及甲基化等原因会造成基因表达失活(Kumpatla等 1997; Kumpatla和Hall 1998; Pawlowski和Somers 1998),而且转移T-DNA区的2个基因未必共表达(Nam等 1999)等。至于转基因作物及其产品的安全性,培育具有安全选择标记或无选择标记的转基因植物(李晓兵等 2003),农杆菌介导的遗传转化中转化效率的提高,植物因子对其作用机制,大容量的可调控的表达载体都值得探讨。

参考文献

- 毕瑞明,王洪刚(2006). 农杆菌介导的小麦成熟胚遗传转化体系建立及抗储粮害虫转基因小麦分析[学位论文]. 泰安: 山东农业大学
- 胡繁荣(2005a). 根癌农杆菌介导的金边狗牙根遗传转化条件的优化. 植物资源与环境学报, 14 (2): 15~18
- 胡繁荣(2005b). 农杆菌介导的高羊茅遗传转化体系的优化. 分子植物育种, 3 (3): 375~380
- 胡繁荣,吴殿星,夏英武(2003). 结缕草农杆菌介导遗传转化影响因子的初探. 分子植物育种, 1 (5/6): 687~691
- 华志华,黄大年(1999). 转基因植物中外源基因的遗传学行为. 植物学报, 41 (1): 1~5
- 蒋玉宝,于元杰(2005). 农杆菌在单子叶植物上的研究进展. 中国农学通报, 21 (10): 47~52
- 金松恒,翁晓燕,王妮妍,李雪芹,毛伟华,蒋德安(2004). Rubisco活化酶基因反义表达载体的构建与水稻的遗传转化. 遗传, 26 (6): 881~886
- 李达旭,张杰,赵建,张艺,李力,刘素君,陈飞,杨志荣(2006). 根癌农杆菌介导转化川草二号老芒麦胚性愈伤组织. 植物生理与分子生物学学报, 32 (1): 45~51
- 李瑞美,郑回勇,陈永快,吴水金,鞠玉栋,吴松海(2006). 根癌农杆菌介导的甘蔗遗传转化体系的研究. 江西农业学报, 18 (2): 22~25
- 李卫,郭光沁,郑国锟(2000). 根癌农杆菌介导遗传转化研究的若干新进展. 科学通报, 45 (8): 798~807
- 李晓兵,陈彩艳,翟文学(2003). 培育具有安全选择标记或无选择标记的转基因植物. 遗传, 25 (3): 345~349
- 刘萍,张振霞,苏乔,袁剑刚,席嘉宾,辛国荣,杨中艺(2005). 应用农杆菌介导法的多年生黑麦草遗传转化研究. 中山大学学报(自然科学版), 44 (3): 126~128
- 卢德赵,王慧中,华志华,颜美仙,钱前,黄大年(2003). 转甜菜碱醛脱氢酶基因水稻的获得及其耐盐性研究. 科技通报, 19 (3): 179~182
- 陆小平,小岛峰雄(2003). 整体植株转化法在荞麦上的应用. 植物学报, 29 (1): 159~160
- 吕桂兰,王之旭,沈枫,马秀芳,唐志强,丁芬,华泽田(2007). 农杆菌介导的淀粉合成关键酶基因导入超级粳稻的研究. 辽宁农业科学, (3): 5~8
- 吕维涛,刘芳,崔德才,赵檀方(2005). 农杆菌介导法获得反义

- 磷脂酶 D γ 基因大麦. 生物技术, 15 (5): 11~13
- 罗敬萍, 张树珍, 杨本鹏(2003). 农杆菌介导甘蔗基因转化技术的优化. 热带作物学报, 24 (4): 23~28
- 孟芮, 王跃进, 刘雅莉(2006). 农杆菌介导的百合 ACC 氧化酶反义基因遗传转化研究[学位论文]. 西安: 西北农林科技大学
- 任永霞, 季静, 王里, 王萍(2005). 植物遗传转化方法概述. 河北北方学院学报(自然科学版), 21 (6): 38~42
- 余建明, 张保龙, 何晓兰, 陈志一, 倪万潮(2005). 草地早熟禾农杆菌介导法基因转化条件. 草地学报, 13 (1): 39~43
- 王爱民, 陈石燕, 沈革志, 王新其, 鞠丹花, 王钟林, 王宗阳, 蔡秀玲(2005). Ac/Ds (GUS) 结构介导的水稻启动子捕获系统的建立. 植物生理与分子生物学学报, 31 (6): 575~580
- 王翠亭, 卫志明(2003). 根癌农杆菌介导小麦幼胚遗传转化的影响因素. 植物生理与分子生物学学报, 29 (6): 521~529
- 王关林, 方宏筠(1998). 植物基因工程原理与技术. 北京: 科学出版社, 6: 323~329
- 王关林, 方宏筠(2002). 植物基因工程. 北京: 科学出版社, 402
- 王艳丽, 叶兴国, 董芳, 乔卫华, 陶丽莉, 李晓璐, 许兴(2007). 高羊茅和黑麦草农杆菌介导转化体系的研究. 中国生物工程杂志, 27 (1): 22~27
- 王永芳, 李伟, 刁现民(2003). 根癌农杆菌共培养转化谷子技术体系的建立. 河北农业科学, 7 (4): 1~6
- 王自章, 张树珍, 杨本鹏, 李杨瑞(2003). 甘蔗根癌农杆菌介导转化海藻糖合酶基因获得抗渗透胁迫能力增强植株. 中国农业科学, 36 (2): 140~146
- 吴关庭(2004). 农杆菌介导高羊茅遗传转化体系的建立及 CBF 耐逆相关基因的导入[学位论文]. 杭州: 浙江大学
- 伍晓丽, 朱祯, 李晚忱, 潘光堂, 曹墨菊, 荣廷昭(2004). 农杆菌介导豇豆胰蛋白酶抑制剂基因(*cpti*)在玉米中的遗传转化. 作物学报, 30 (3): 297~298
- 向殿军, 张瑜, 殷奎德(2007). 农杆菌介导寒地水稻遗传转化的研究. 生物技术通报, (2): 139~142
- 肖军, 石太渊, 郑秀春, 段有厚(2004). 根癌农杆菌介导的高粱遗传转化体系的建立. 杂粮作物, 24 (4): 200~203
- 许明, 刘峰, 郑金贵(2003). IPT 基因遗传转化谷秆两用稻的研究. 福建农林大学学报(自然科学版), 32 (2): 205~208
- 易自力, 曹守云, 王力, 储成才, 李祥, 何德洁, 唐祚舜, 周朴华, 田文忠(2001). 提高农杆菌转化频率的研究. 遗传学报, 28 (8): 235~258
- 张彬, 丁在松, 张桂芳, 石云鹭, 王金明, 方立锋, 郭志江, 赵明(2007). 根癌农杆菌介导获得稗草 Ecpc 转基因小麦的研究. 作物学报, 33 (3): 356~362
- 张振霞(2005). 影响农杆菌介导狗牙根遗传转化的因素. 植物生理学通讯, 41 (4): 449~452
- 张振霞, 刘萍, 杜雪玲, 苏乔, 杨中艺(2007). 农杆菌介导 GUS 基因对多年生黑麦草转化的研究. 广西植物, 27 (1): 121~126
- 赵军胜, 支大英, 薛哲勇, 夏光敏(2005). 根癌农杆菌介导的高羊茅遗传转化研究. 遗传学报, 32 (6): 579~585
- Aldemita RR, Hodges TK (1996). *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of japonica and indica rice varieties. *Planta*, 199: 612~617
- Amoah BK, Wu H, Sparks C, Jones HD (2001). Factors influencing *Agrobacterium*-mediated transient expression of *uidA* in wheat inflorescence tissue. *J Exp Bot*, 52: 1135~1142
- Bajaj S, Ran Y, Phillips J, Kularajathevan G, Pal S, Cohen D, Elborough K, Puthigae S (2006). A high throughput *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation method for functional genomics of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Plant Cell Rep*, 25 (7): 651~659
- Ballas N, Citovsky V (1997). Nuclear localization signal binding protein from *Arabidopsis* mediates nuclear import of *Agrobacterium* VirD2 protein. *Proc Natl Acad Sci USA*, 94: 10723~10728
- Bravo-Angel AM, Gloeckler V, Hohn B, Tinland B (1999). Bacterial conjugation protein MobA mediates integration of complex DNA structures into plant cells. *J Bacteriol*, 181: 5758~5765
- Chai BF, Liang AH, Wang W, Hu W (2003). *Agrobacterium*-mediated transformation of kentucky bluegrass. *Acta Bot Sin*, 45 (8): 966~973
- Chan MT, Chang H, Ho SL, Tong WF, Yu SM (1993). *Agrobacterium*-mediated production of transgenic rice plants expressing a chimeric α -amylase promoter/ β -glucuronidase gene. *Plant Mol Biol*, 22: 491~506
- Chan MT, Lee TM, Chang HH (1992). Transformation of indica rice (*Oryza sativa* L.) mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Cell Physiol*, 33 (5): 577~583
- Cheng M, Fry JE, Plant SZ, Zhou HP, Hironaka CM, Duncan DR, Conner TW, Wan YC (1997). Genetic transformation of wheat mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Physiol*, 115: 971~980
- Cheng X, Sardana R, Kaplan H, Altosaar I (1998). *Agrobacterium*-transformed rice plants expressing synthetic cryIA (b) and cryIA (c) genes are highly toxic to striped stem borer and yellow stem borer. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95: 2767~2772
- Donson J, Gunn HV, Woolston CJ, Pinner MS, Boulton MI, Mullineaux PM, Davies JW (1988). *Agrobacterium*-mediated infectivity of cloned digitaria streak virus DNA. *Virology*, 162 (1): 248~250
- Enriquez-Obregon GA, Vazquez-Padron RI, Prieto-Samsonov DL, Riva GA, Selman-Housein G (1998). Herbicide-resistant sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) plants by *Agrobacterium*-mediated transformation. *Planta*, 206 (1): 20~27
- Gould J, Devey M, Hasegawa O, Ulian EC, Peterson G, Smith RH (1991). Transformation of *Zea mays* L. using *Agrobacterium tumefaciens* and the shoot apex. *Plant Physiol*, 95: 426~434
- Grimsley N, Hohn T, Davies JW, Hohn B (1987). *Agrobacterium*-mediated delivery of infectious maize streak virus into maize plants. *Nature*, 325: 177~179
- Hamilton CM (1997). A binary-BAC system for plant transformation with high-molecular-weight DNA. *Gene*, 200: 107~116
- Hiei Y, Komari T, Kubo T (1997). Transformation of rice mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Mol Biol*, 3 (5): 3039~3041
- Hiei Y, Ohta S, Kumashiro T, Komari T (1994). Efficient transformation of rice (*Oryza sativa* L.) mediated by *Agrobacterium* and sequence analysis of the boundaries of the T-DNA. *Plant J*, 6 (2): 271~282
- Holme IB, Brinch-Pedersen H, Lange M, Holm PB (2006). Transformation of barley (*Hordeum vulgare* L.) by *Agrobacterium*

- tumefaciens* infection of *in vitro* cultured ovules. *Plant Cell Rep*, 25 (12): 1325~1335
- Horsch RB, Fry JE, Hoffmann NL, Eichholtz D, Rogers SG, Fraley RT (1985). A simple and general method for transferring genes into plants. *Science*, 227 (4691): 1229~1231
- Hu ZH, Chen JQ, Wu GT, Jin W, Lang CX, Huang RZ, Wang FL, Liu ZH, Chen XY (2005). Highly efficient transformation and plant regeneration of tall fescue mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. *J Plant Physiol Mol Biol*, 31 (2): 149~159
- Ishida Y, Sslo H, Ohta S, Hiei Y, Komari T, Kumashiro T (1996). High efficiency transformation of maize (*Zea mays* L.) mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. *Nat Biotechnol*, 14 (6): 745~750
- Khanna HK, Daggard GE (2003). *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of wheat using a superbinary vector for infection and polyamine modified medium for recovery of transformants. *Plant Cell Rep*, 21: 429~436
- Kumpatla SP, Hall TC (1998). Recurrent onset of epigenetic silencing in rice harboring a multi-copy transgene. *Plant J*, 14: 129~135
- Kumpatla SP, Teng W, Buchholz WG, Hall TC (1997). Epigenetic transcriptional silencing and 5-azacytidine-mediated reactivation of a complex transgene in rice. *Plant Physiol*, 115: 361~373
- Lee LY, Gelvin SB, Kado CI (1999). pSa causes oncogenic suppression of *Agrobacterium* by inhibiting VirE2 protein export. *J Bacteriol*, 181 (1): 186~196
- Liu YG, Shirano Y, Fukaki H, Yanai Y, Tasaka M, Tabata S, Shibata D (1999). Complementation of mutants with large genomic DNA fragments by a transformation-competent artificial chromosome vector accelerates positional cloning. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96: 6535~6540
- Liu YH, Yu JJ, Ao GM, Zhao Q (2007). Factors influencing *Agrobacterium*-mediated transformation of foxtail millet (*Setaria italica*). *Chin J Biochem Mol Biol*, 23 (7): 531~536
- Márton L, Wullems GJ, Molendijk L, Schilperoort RA (1979). *In vitro* transformation of cultured cells from *Nicotiana tabacum* by *Agrobacterium tumefaciens*. *Nature*, 277: 129~131
- Mooney PA, Goodwin PB, Dennis ES, Llewellyn DJ (1991). *Agrobacterium tumefaciens*-gene transfer into wheat tissues. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 25: 209~218
- Nam J, Mysore KS, Zhang C, Knue MK, Matthyse AG, Gelvin SB (1999). Identification of T-DNA tagged *Arabidopsis* mutants that are resistant to transformation by *Agrobacterium*. *Mol Gen Genet*, 26 (3): 429~438
- Park SH, Pinson SR, Smith RH (1996). T-DNA integration into genomic DNA of rice following *Agrobacterium* inoculation of isolated shoot apices. *Plant Mol Biol*, 32 (6): 1135~1148
- Pawlowski WP, Somers DA (1998). Transfer DNA integrated into the oat genome is frequently interspersed by host DNA. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95: 12106~12110
- Raineri DM, Bottini P, Gordon MP, Nester EW (1990). *Agrobacterium*-mediated transformation of rice (*Oryza sativa* L.). *Bio/Technology*, 8: 33~38
- Rashid H, Yokoi S, Toriyama K, Hinata K (1996). Transgenic plant production mediated by *Agrobacterium* in *Indica* rice. *Plant Cell Rep*, 15 (10): 727~730
- Shen WH, Escudero J, Hohn B (1999). T-DNA transfer to maize plants. *Mol Biotechnol*, 13: 165~170
- Shrawat AK, Becker D, Lörz H (2007). *Agrobacterium tumefaciens*-mediated genetic transformation of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Sci*, 172 (2): 281~290
- Sidorov V, Gilbertson L, Addae P, Duncan D (2006). *Agrobacterium*-mediated transformation of seedling-derived maize callus. *Plant Cell Rep*, 25 (4): 320~328
- Sun H, Huang QM, Su J (2005). Highly effective expression of glutamine synthetase genes *GS1* and *GS2* in transgenic rice plants increases nitrogen-deficiency tolerance. *J Plant Physiol Mol Biol*, 31 (5): 492~498
- Tingay S, Mcelroy D, Kalla R, Fieg S, Wang M, Thomson S, Brettell R (1997). *Agrobacterium tumefaciens*-mediated barley transformation. *Plant J*, 11 (6): 1369~1376
- Weir B, Wang M, Upadhyaya N, Elliott AR, Brettell R (2001). *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of wheat using suspension cells as a model system and green fluorescent protein as a visual marker. *Aust J Plant Physiol*, 28: 807~818
- Wu H, Sparks C, Amoah B, Jones HD (2003). Factors influencing successful *Agrobacterium*-mediated genetic transformation of wheat. *Plant Cell Rep*, 21: 659~668
- Xia GM, Li ZY, He CX, Chen HM, Richard B (1999). Transgenic plant regeneration from wheat (*Triticum aestivum* L.) mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. *Acta Phytophysiol Sin*, 25 (1): 22~28
- Yan F, Zheng YY, Zhang WW, Xiao H, Li SF, Cheng ZM (2006). Obtained transgenic wheat expressing *pac1* mediated by *Agrobacterium* is resistant against *Barley yellow dwarf virus-GPV*. *Chin Sci Bull*, 51 (19): 2362~2368
- Zaghmout OM, Trolinder NL (1993). Simple and efficient method for directly electroporating *Agrobacterium* plasmid DNA into wheat callus cells. *Nucleic Acids Res*, 21 (4): 1048
- Zambryski P, Joos H, Genetello C, Leemans J, van Montagu M, Schell J (1983). Ti plasmid vector for the introduction of DNA into plant cells without alteration of their normal regeneration capacity. *EMBO J*, 2 (12): 2143~2150
- Zeng LH, Chen ZG, Lu LX, Zhou P, Zheng XQ (2001). *In vitro* transformation mediated by Ri plasmid of *Agrobacterium rhizogenes* and transgenic plant regeneration of longan. *Acta Hortic*, 558 (1): 149~154
- Zhao ZY, Cai T, Tagliani L, Miller M, Wang N, Pang H, Rudert M, Schroeder S, Hondred D, Seltzer J, Pierce D (2000). *Agrobacterium*-mediated sorghum transformation. *Plant Mol Biol*, 44: 789~798