

DOI: 10.13332/j.cnki.jbfu.2014.05.019

## 蜡梅 *SAMT* 基因在烟草中的遗传转化及其功能分析

庞宏东<sup>1,2</sup> 向林<sup>3</sup> 赵凯歌<sup>1</sup> 李响<sup>1</sup> 杨楠<sup>1</sup> 陈龙清<sup>1</sup>

(1 华中农业大学园艺林学学院 园艺植物生物学教育部重点实验室 2 湖北省林业科学研究院 3 浙江省农业科学院园艺研究所)

**摘要:** 为研究蜡梅 *SAMT* 基因的调控功能, 利用农杆菌介导法将其转入烟草中。经 PCR 方法对转基因烟草进行检测, 结果显示: 16 株转化植株中有 15 株扩增出了目的条带, 进一步的 RT-PCR 检测结果表明, 阳性植株均发生了正确转录。对转基因烟草植株和未转基因对照植株进行植株大小、叶片形态、花色、花瓣大小以及花期进行观察, 均未发现有明显差异。采用顶空固相微萃取以及气相色谱-质谱技术 (HS-SPME-GC-MS) 对转基因烟草鲜花进行花香成分分析, 结果表明, 转 *CpSAMT* 基因烟草中有较高含量的苯甲醇、己烯醇、芳樟醇、石竹烯和苯甲醛等成分, 但未检测到水杨酸甲酯和苯甲酸甲酯成分。

**关键词:** 蜡梅; 花香; *CpSAMT*; 烟草; 遗传转化; 气相色谱-质谱

中图分类号: S685.99 文献标志码: A 文章编号: 1000-1522(2014)05-0117-06

PANG Hong-dong<sup>1,2</sup>; XIANG Lin<sup>3</sup>; ZHAO Kai-ge<sup>1</sup>; LI Xiang<sup>1</sup>; YANG Nan<sup>1</sup>; CHEN Long-qing<sup>1</sup>.

**Genetic transformation and functional characterization of *Chimonanthus praecox* *SAMT* gene in tobacco.** *Journal of Beijing Forestry University* (2014) 36(5): 117-122 [Ch, 19 ref.]

1 Key Laboratory of Horticultural Plant Biology of Ministry of Education, College of Horticulture and Forestry Science, Huazhong Agricultural University, Wuhan, 430070, P. R. China;

2 Hubei Academy of Forestry, Wuhan, 430075, P. R. China;

3 Institute of Horticulture, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou, 310021, P. R. China.

In order to investigate the biological function of *Chimonanthus praecox* *SAMT* gene, *CpSAMT* was introduced into tobacco through *Agrobacterium tumefaciens* mediated transformation. Among 16 independent transgenic lines obtained, 15 lines were positive, which was revealed by PCR and further confirmed by RT-PCR. Further analysis showed that transgenic plants were indistinguishable from untransformed controls in terms of plant size, leaf morphology, flower color, petal size and flowering time. In addition, HS-SPME-GC-MS was employed to analyse the components of flower flavor. We found that the content of benzyl alcohol, hexenol, linalool, caryophyllene and benzaldehyde in transgenic *CpSAMT* plants increased, while that of methyl salicylate and methyl benzoate was undetectable compared with non-transgenic controls.

**Key words** *Chimonanthus praecox*; floral scent; *CpSAMT*; tobacco; genetic transformation; GC-MS

蜡梅 (*Chimonanthus praecox*) 为我国特有传统名花, 冬季开放, 芳香宜人, 具有很高的观赏价值, 同时也是提取香精的理想材料。据郑瑶青等<sup>[1]</sup>、周明芹等<sup>[2]</sup>、周继荣等<sup>[3]</sup> 的研究可知, 蜡梅花香成分主要为萜烯类化合物和苯环型化合物, 罗勒烯、芳樟醇、水杨酸甲酯等为重要的芳香物质。前人对蜡梅功能

基因的研究多集中在抗寒、抗旱等抗逆性状功能基因上<sup>[4-7]</sup>, 花香、花色等观赏性状功能基因的研究尚处于起步阶段。本实验室利用同源克隆的方法从蜡梅花瓣中首次克隆得到水杨酸羧基位甲基转移酶 (*S*-adenosyl-*L*-methionine: salicylic acid carboxyl methyltransferase, *SAMT*) 基因, 全长为 1 498 bp, 具

收稿日期: 2013-09-05 修回日期: 2013-11-06

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30972019)。

第一作者: 庞宏东。主要研究方向: 植物分类。Email: panghd37@163.com 地址: 430073 湖北省武汉市华中农业大学园艺林学学院。

责任作者: 陈龙清 教授, 博士生导师。主要研究方向: 观赏植物种质资源。Email: chenlq0206@163.com 地址: 同上。

本刊网址: <http://journal.bjfu.edu.cn>

有一个1143 bp的完整的开放阅读框,编码具有380个氨基酸的羧基位甲基转移酶蛋白,GenBank登录号为EU106367。该酶在花香物质代谢途径中属于苯丙酸类化合物/苯环型化合物(phenylpropanoids/benzenoids)代谢类型,起源于莽草酸途径(shikimic acid pathway),以苯丙氨酸为起始,经过一系列的酶催化最后形成水杨酸甲酯(methyl salicylate, MeSA)<sup>[8]</sup>。MeSA是广泛存在于植物花香中的苯环型酯类低分子挥发物,它以水杨酸和S-腺苷甲硫氨酸为底物,在SAMT的催化下形成。目前从仙女扇(*Clarkia breweri*)、金鱼草(*Antirrhinum majus*)、多花黑鳃藤(*Stephanotis floribunda*)、烟草(*Nicotiana tabacum*)、水稻(*Oryza sativa*)、薇甘菊(*Mikania icrantha*)等30多种植物中都已成功分离出SAMT基因,并对这些基因的功能进行了分析<sup>[9-13]</sup>。近来的研究表明,MeSA在植物防御系统方面起着重要作用,蜘蛛螨(*Tetranychus urticae*)的啃食可以诱发番茄(*Lycopersicon esculentum*) MeSA的产生<sup>[14]</sup>。水稻在受到草地夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)的伤害后MeSA散发量是未受伤害前的23倍<sup>[15]</sup>。然而对SAMT基因在花香产物代谢调控功能以及利用该基因进行花香遗传改良等方面的研究报道较少。

为进一步研究蜡梅SAMT(*CpSAMT*)基因在花香产物代谢途径中的调控功能,本实验利用农杆菌介导,采用叶盘转化法将*CpSAMT*基因转入模式植物烟草中,并用分子检测方法鉴定转化效果,然后利用顶空固相微萃取和气相色谱质谱相结合方法对转化植株的花香成分进行分析,观察转化前后烟草形态和花香成分的变化情况,为观赏植物进行花香遗传改良提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 植物材料

烟草野生型无菌苗由华中农业大学园艺林学学院宁国贵老师惠赠。

### 1.2 菌株及质粒

含目的基因的植物双元表达载体pBI121-*CpSAMT*由本实验室构建并保存。采用的根癌农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*)菌株为EHA105菌株。

### 1.3 试剂和仪器

DNA凝胶回收试剂盒、Taq酶和dNTP购自广州东盛生物科技有限公司;RNA提取试剂盒购自上海华舜生物技术公司;固相RNase清除剂购自北京天恩泽基因科技有限公司;M-MLV Reverse Transcriptase试剂盒购自Invitrogen上海英骏生物技术有限公司。75 μm Carboxen/PDMS萃取纤维头,

美国Supelco公司制造;DSQII单四级杆气相色谱质谱联用仪(GC/MS),带有智能化自动进样器,美国Thermo公司制造。

### 1.4 方法

#### 1.4.1 农杆菌介导转化烟草

将烟草无菌苗叶片组织去除主脉切成5 mm×5 mm大小置于MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L共培养基上预培养2 d,然后将预培养后的叶片组织置于制备好的农杆菌菌液中( $OD_{600}$ 约为0.3~0.4)侵染10 min,无菌滤纸吸干多余菌液,重新置于共培养基上,暗培养2 d;再将叶片转移至MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+Kan 100 mg/L+Cef 400 mg/L分化培养基上,正常光照条件下培养,每15 d更换1次培养基,直到分化出不定芽;长芽后,将芽切下,转入MS+NAA 0.1 mg/L+Kan 50 mg/L+Cef 300 mg/L继代培养基上继代培养;待长至2~3片叶时,切下转入1/2MS+Kan 50 mg/L+Cef 300 mg/L生根培养基上进行生根培养;待根系发育好后,移栽至花盆,温室大棚常规管理。培养室温度25℃,日光灯照明,光照时间14 h/d。

#### 1.4.2 转基因烟草的PCR、RT-PCR检测

根据表达载体和*CpSAMT*基因的全长序列设计1对扩增引物,上游引物S1(5'-GAGAGGATCCATGGAAGTACTTAGCGTTCT-3',划线部分为BamH I酶切位点),下游引物S2(5'-GATGGAGCTCTTAGATGTCTGCTTTCTTCTCCAA-3',划线部分为Sac I酶切位点),特异引物由上海英骏生物技术有限公司合成。

采用CTAB法提取烟草抗性植株嫩叶基因组总DNA作为模板,以S1、S2为引物,进行PCR扩增。反应条件为94℃预变性4 min,然后进入循环反应,94℃变性30 s,70~60℃复性30 s(每进行5个循环退火温度下降2℃),72℃延伸2 min,总共进行30个循环,退出循环后再72℃延伸20 min。

提取烟草抗性植株嫩叶RNA,反转录成cDNA,以S1、S2为引物进行PCR扩增,电泳检测后将产物送华大基因测序分析。

#### 1.4.3 转基因烟草鲜花中挥发性成分分析

PDMS萃取纤维头在气相色谱的进样口老化,老化温度260℃,老化时间2 h。然后取刚完全开放鲜花1朵,将整朵花剪碎迅速放入20 mL样品瓶中,盖上盖子,放置于样品盘固定器上,自动进样,40℃下吸附5 min。吸附完成后,于250℃解吸2 min,启动仪器采集数据。色谱条件:色谱柱为毛细管柱HP-5MS 30 m×0.25 mm×0.25 μm,载气为高纯氮气(99.999%),氮气流速为1 mL/min,进样口温度

为 260 ℃, 起始柱温度 60 ℃, 保持 2 min, 以 10 ℃/min 升温至 230 ℃, 保持 13 min。质谱条件: 电离源为 EI, EI 电离能量为 70 eV, 离子源温度为 250 ℃, 传输线温度 250 ℃, 质量扫描范围为 30 ~ 500 amu。芳香成分分析用气相色谱-质谱-计算机联用仪进行分析鉴定; 各组分质谱图经 NIST98 谱图库检索法结合人工谱图分析法进行分析。

## 2 结果与分析

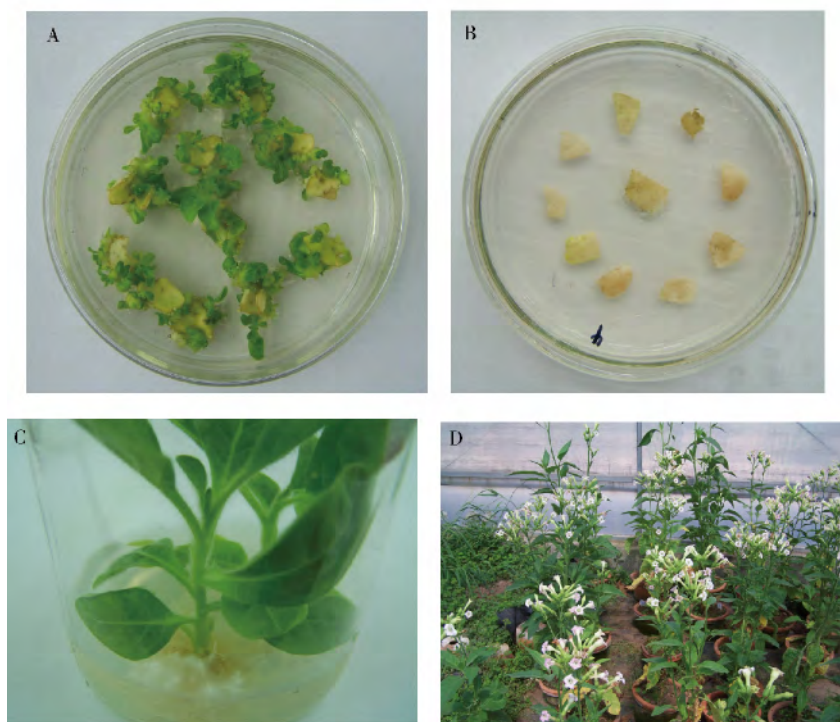
### 2.1 农杆菌介导 *CpSAMT* 转化烟草

烟草叶片侵染培养 20 d 左右, 在含 100 mg/L

Kan 抗性筛选培养基上即可看见有绿色芽点分化, 而未经农杆菌侵染转化的对照烟草叶片组织在抗性培养基上慢慢白化死亡。抗性苗经继代和生根培养后共获得 70 株转化植株。将转基因烟草植株于 2010 年 10 月栽培于大棚, 常规栽培管理 5 个月后开始开花结果(图 1)。对转基因烟草植株和未转基因对照植株进行植株大小、叶片形态、花色、花瓣大小以及花期进行观察, 均未发现有明显差异。

### 2.2 转基因植株的 PCR 检测

对获得的烟草抗性苗随机取 16 株, CTAB 法提取叶片 DNA, 经 PCR 扩增、电泳检测后发现, 其中有



A. 为转基因烟草再生; B. 为未转化烟草叶片在抗性培养基上枯死; C. 为转基因烟草生根; D. 为转基因烟草开花。

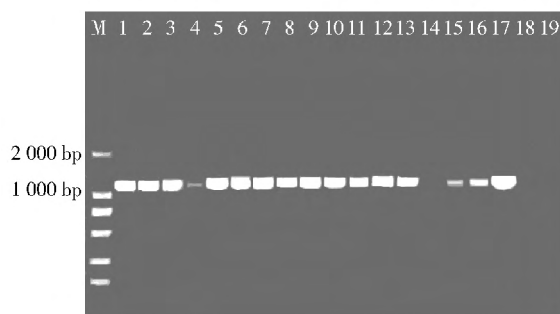
图 1 转化 pBI121-*CpSAMT* 基因烟草

Fig. 1 Cultivar of transgenic tobacco with pBI121-*CpSAMT* expression vector

15 株在约 1 200 bp 处能扩增出单一的条带, 并且与转入的对照 *CpSAMT* 质粒 PCR 产物大小相似, 而未转基因烟草植株和转 pBI121 载体烟草植株均未能扩增出条带(图 2), 可以初步判断 *CpSAMT* 基因已经整合到植物基因组中。

### 2.3 转基因植株的 RT-PCR 检测

随机选取经 PCR 检测为阳性的烟草苗 9 株, 提取叶片 RNA, 经 RT-PCR 扩增, 电泳检测, 在大小约 1 200 bp 处有单一明亮条带, 与对照质粒 PCR 产物大小一致(图 3), 可以断定在这 9 个单株中发生了基因转录。为了进一步验证转录的正确性, 将 RT-PCR 产物回收纯化, 连接克隆载体, 转化大肠杆菌, 摇菌送去测序, 将测序结果与原序列比对, 基因编码区序列同源性达到 99% 以上, 证明阳性转基因植株



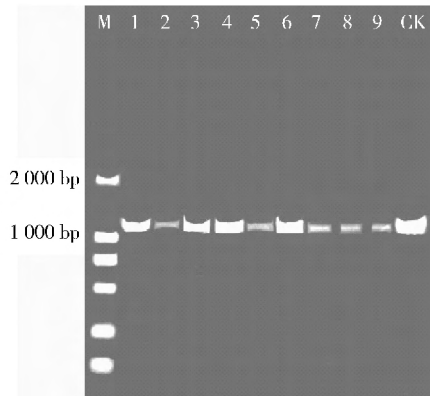
M 为 DS2 000 分子量标记; 1 ~ 16 为不同的转基因株系 PCR 扩增产物; 17 为 pBI121-*CpSAMT* 质粒 PCR 产物; 18 为未转化植株 PCR 产物; 19 为转 pBI121 载体植株 PCR 产物。

图 2 转基因烟草的 PCR 检测

Fig. 2 PCR assay of transgenic tobacco plants



发生了正确的基因转录(图 4)。少数基因发生了突变,这可能是由于在 DNA 复制过程中偶然产生的差错,导致个别碱基发生代换、增添;至于这些位点的突变是否会影响到其功能的表达,这有待进一步验证。



M 为 DS2 000 分子量标记;1~9 为不同的转基因株系 RT-PCR 扩增产物;CK 为 pBI121-*CpSAMT* 质粒 PCR 产物。

图 3 转基因烟草 RT-PCR 鉴定

Fig. 3 RT-PCR assay of transgenic tobacco plants

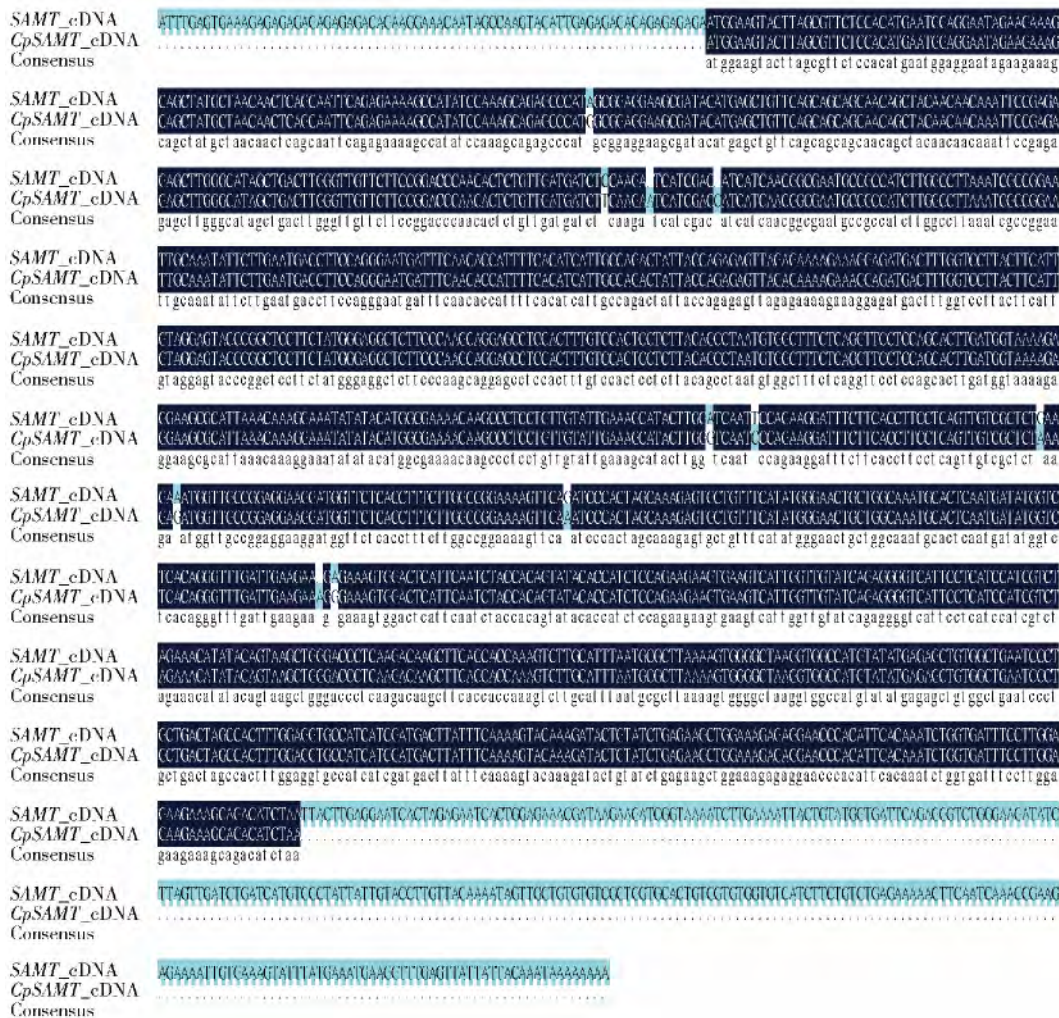


图 4 蜡梅 *SAMT* cDNA 全长序列(上)和转基因烟草中扩增的 *CpSAMT* cDNA 序列(下)比对

Fig. 4 Comparison of *SAMT* cDNA sequence from *C. praecox* (up) and *CpSAMT* cDNA sequence from 35S: *CpSAMT* tobacco (down)

## 2.4 转 *CpSAMT* 基因烟草鲜花中挥发性成分分析

烟草鲜花挥发性成分较为复杂,主要成分多为苯环类、萜类、烷烃类、烯烃类化合物以及含硫、氮等有机化合物。未转基因烟草鲜花主要花香挥发物成分有苯甲酸甲酯、雪松醇、石竹烯、邻苯二甲酸二异丁酯,以及少量的  $\alpha$ -柏木烯和邻苯二甲酸二甲酯等(表 1、图 5)。转 *CpSAMT* 基因后烟草芳香成分中,产生含量较高的己烯醛、苯甲醇、芳樟醇、己烯醇和苯甲醛,而这些成分在未转化的烟草中未能检测到;石竹烯含量明显升高,雪松醇、邻苯二甲酸二甲酯和邻苯二甲酸二异丁酯无明显变化,苯甲酸甲酯成分未能检出(表 2)。由 *SAMT* 基因催化形成的目标芳香成分水杨酸甲酯也没有检出。

## 3 结论与讨论

花香的遗传改良是一项极为复杂的工程,本研究利用农杆菌介导法将 *CpSAMT* 基因转入烟草中,经 PCR 和 RT-PCR 检测结果确定转化成功。然而

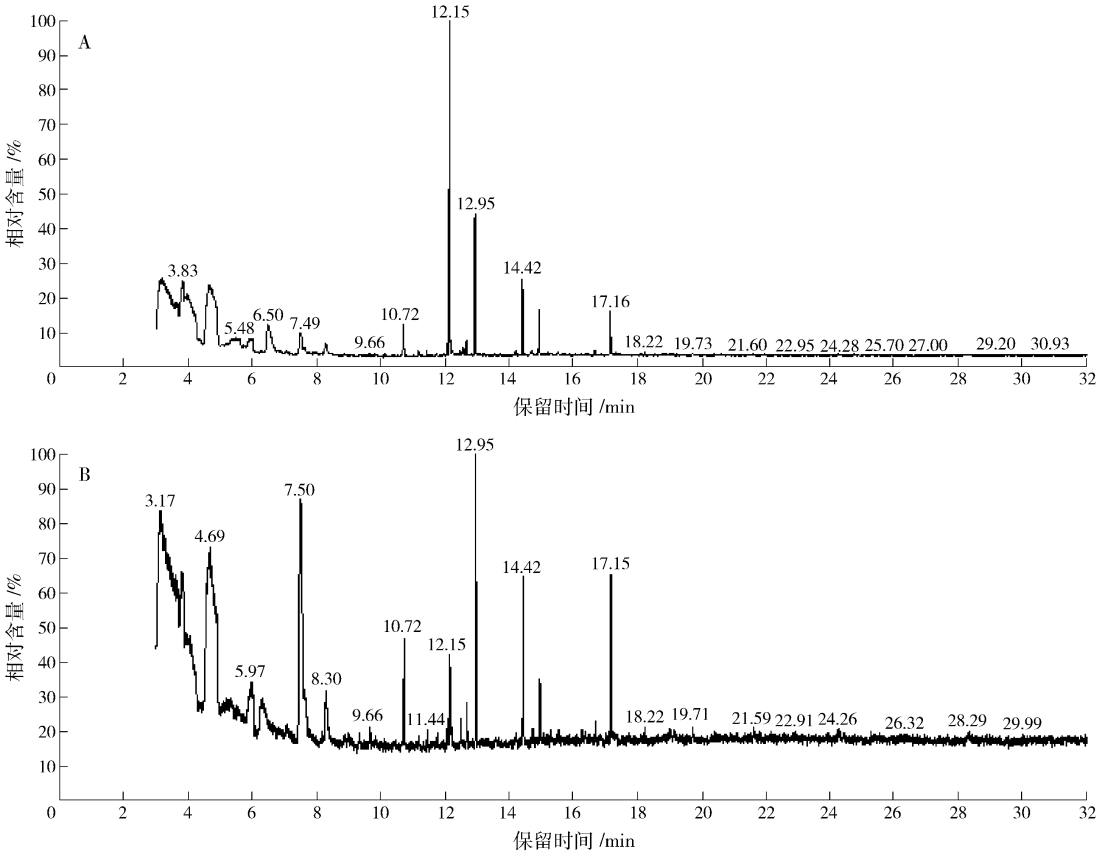
表 1 烟草鲜花主要挥发性成分  
Tab. 1 Main volatile components in fresh flower of tobacco

化合物	保留时间/min	相对含量/%	
		A 转基因烟草	B 未转基因烟草
三氟氧十三烷	3.12	6.30	6.02
六氢吡啶	3.68	—	0.96
六甲基环三硅氧烷	3.83	4.30	2.79
己烯醇	3.97	2.59	—
2-己二烯醇	4.60	6.83	7.51
并环戊二烯	4.91	3.34	2.87
苯甲醛	5.51	0.91	—
八甲基环四硅氧烷	5.97	2.00	3.99
苯甲醇	6.50	5.76	—
芳樟醇	7.49	2.87	—
苯甲酸甲酯	7.50	—	10.34
十甲基环戊硅氧烷	8.29	1.17	1.92
环己硅氧烷	10.72	1.75	2.15
α-柏木烯	12.07	—	0.48
石竹烯	12.15	17.72	1.85
邻苯二甲酸二甲酯	12.48	0.29	0.56
α-石竹烯	12.58	0.39	—
十四甲基环庚硅氧烷	12.95	7.11	12.97
雪松醇	14.42	3.70	2.83
十六甲基环辛硅氧烷	14.94	2.38	1.27
邻苯二甲酸二异丁酯	17.16	2.09	2.85

表 2 不同株系烟草中主要芳香成分  
Tab. 2 Main aroma components in different strain tobacco

主要芳香成分	%					
	未转基因烟草			转 <i>CpSAMT</i> 基因烟草		
	CK1	CK2	CK3	S1	S2	S3
苯甲酸甲酯	10.34	7.82	5.67	—	—	—
α-柏木烯	0.48	—	—	—	—	—
石竹烯	1.85	—	1.87	7.29	9.50	10.72
β-榄香烯	—	0.89	—	—	—	—
长叶烯	—	—	0.25	—	—	—
邻苯二甲酸二甲酯	0.56	—	—	0.24	—	0.29
雪松醇	2.83	0.74	0.56	0.96	0.46	3.70
邻苯二甲酸二异丁酯	2.85	0.82	0.56	0.78	0.53	2.09
苯甲醇	—	—	—	1.58	14.10	5.76
己烯醇	—	—	—	11.12	2.59	5.43
芳樟醇	—	—	—	3.21	4.48	2.87
苯甲醛	—	—	—	2.34	0.91	—
己烯醛	—	—	—	10.76	13.94	24.70

对转基因烟草植株和未转基因对照植株进行植株大小、叶片形态、花色、花瓣大小以及花期等方面进行观察,均未发现有明显差异,花香检测结果也没能检出目标成分水杨酸甲酯的存在。转基因后,烟草花香成分发生了一定的变化,最明显的是在转基因烟草中未能检出苯甲酸甲酯成分,而在对照烟草中却大量存在,但同时产生了较高含量的己烯醛、苯甲醇



A 为转 *CpSAMT* 基因烟草; B 为未转基因烟草。

图 5 烟草鲜花挥发性成分总离子流图

Fig. 5 Ion chromatogram of volatile components in fresh flower of tobacco

和芳樟醇等物质,这些成分在对照烟草中没有检出。此外,由 *SAMT* 基因所催化合成的目标产物水杨酸甲酯也未能检出。烟草内芳香物质的代谢途径较为复杂,在转入 *CpSAMT* 基因后可能导致了烟草中苯甲酸甲酯合成途径的终止,从而影响到其上游物质的代谢,积累下更多的苯甲醛和苯甲醇。至于其合成途径的终止是由于外源基因导入后对原有基因产生沉默作用还是使酶的活性降低导致产物减少从而检测不到其产物,这需要进行更多的实验来验证才能了解。

Lücker 等<sup>[16]</sup>将芳樟醇合成酶(*LIS*)基因转入矮牵牛(*Petunia hybrida*)转化植株花中只产生少量的芳樟醇,反而非挥发性的芳樟醇糖苷在转基因植株中大量累积。Aranovich 等<sup>[17]</sup>将从仙女扇中克隆得到的苯甲醇乙酰基转移酶(*BEAT*)基因转入洋桔梗(*Eustoma grandiflorum*)中,在有外源底物苯甲醇的情况下转化植株的花和叶中都有乙酸苄酯的产生,但在没有外源底物的情况下不能产生相应产物。这与本实验的结果较为相似,说明并非所有外源基因的导入都能引起相应的变化,反而有可能会对插入点的基因产生破坏或者干扰。然而 Koo 等<sup>[18]</sup>将水稻 *OsBSMT1* 基因构建超表达载体转入拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中后发现,其水杨酸甲酯挥发量约为野生型对照拟南芥的 10 倍。Ament 等<sup>[19]</sup>使用 RNA 干扰技术将番茄中 *SAMT* 基因沉默后发现水杨酸甲酯明显减少,但不影响萜类化合物的产生。本实验未能发现如此明显变化,可能与所使用的表达载体和转化方法有关。

芳香植物在园林应用中具有较高的地位,利用花香遗传改良工程进行香花植物的转基因育种具有重要的经济价值和观赏价值。目前在这方面的研究已经取得了一定的成果,但由于花香物质数量众多,其代谢调控的机理又非常复杂,而且目标基因在不同转化体和不同植物中的表达存在较大差异,花香遗传改良工程还面临着许多问题;因此构建 RNAi 干扰载体和超表达载体,开展 *CpSAMT* 基因遗传转化进一步的验证,将是我们的后续研究工作。

#### 参 考 文 献

[1] 郑瑶青,朱芸,张瑞燕,等. 蜡梅鲜花香气成分的研究[J]. 北京大学学报, 1990, 26(6): 667-672.  
 [2] 周明芹,向林,陈龙清. 蜡梅花香及花色色素成分的初步研究[J]. 北京林业大学学报, 2007, 29(增刊1): 22-25.  
 [3] 周继荣,倪德江. 蜡梅不同品种和花期香气变化及其花茶适制性[J]. 园艺学报, 2010, 37(10): 1621-1628.  
 [4] 秦华,陆顺照,李名扬,等. 蜡梅 *Chimonanthus praecox*(L.) Link COR413 蛋白基因(*Cpcor413pm1*)的分子特性与表达分析[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2006, 22(7): 547-552.  
 [5] 刘群,马婧,祝钦波,等. 蜡梅非特异性脂转移蛋白基因家族

个成员的分子特征及非生物胁迫应答分析[J]. 农业生物技术学报, 2009, 17(6): 1027-1034.  
 [6] 张迷,马婧,马鑫,等. 蜡梅水通道蛋白基因分子特征分析及植物表达载体的构建[J]. 西南大学学报: 自然科学版, 2010, 32(6): 83-88.  
 [7] ZHANG S H, WEI Y, LIU J L, et al. An apoplastic chitinase *CpCHT1* isolated from the corolla of wintersweet exhibits both antifreeze and antifungal activities [J]. *Biologia Plantarum*, 2011, 55(1): 141-148.  
 [8] BOATRIGHT J, NEGRE F, CHEN X, et al. Understanding *in vivo* benzenoid metabolism in petunia petal tissue [J]. *Plant Physiology*, 2004, 135(4): 1993-2011.  
 [9] ROSS J R, NAM K H, D'AURIA J C, et al. S-adenosyl-L-methionine: salicylic acid carboxyl methyltransferase, an enzyme involved in floral scent production and plant defense, represents a new class of plant methyltransferases [J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1999, 367(1): 9-16.  
 [10] NEGRE F, KOLOSOVA N, KNOLL J, et al. Novel S-adenosyl-L-methionine: salicylic acid carboxyl methyltransferase, an enzyme responsible for biosynthesis of methyl salicylate and methyl benzoate, is not involved in floral scent production in snapdragon flowers [J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2002, 406(2): 261-270.  
 [11] POTT M B, EFFMERT U, PIECHULLA B. Transcriptional and posttranslational regulation of S-adenosyl-L-methionine: salicylic acid carboxyl methyltransferase (*SAMT*) during *Stephanotis floribunda* flower development [J]. *J Plant Physiol*, 2003, 160(6): 635-643.  
 [12] XU R R, SONG F M, ZHENG Z. *OsBSMT1*, a gene encoding S-adenosyl-L-methionine: salicylic acid carboxyl methyltransferase, is differentially expressed in rice defense responses [J]. *Molecular Biology Reports*, 2006, 33(3): 223-231.  
 [13] 王文天,彭少麟,李冬梅,等. 薇甘菊水杨酸羧甲基转移酶基因的分离鉴定及表达分析[J]. 热带亚热带植物学报, 2009, 17(5): 445-450.  
 [14] KANT M R, AMENT K, SABELIS M W, et al. Differential timing of spider mite-induced direct and indirect defenses in tomato plants [J]. *Plant Physiology*, 2004, 135(1): 483-495.  
 [15] ZHAO N, GUAN J, FERRER J L, et al. Biosynthesis and emission of insect-induced methyl salicylate and methyl benzoate from rice [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2010, 48(4): 279-287.  
 [16] LÜCKER J, BOUWMEESTER H J, SCHWAB W, et al. Expression of clarkia S-linalool synthase in transgenic petunia plants results in the accumulation of S-linalyl-beta-D-glucopyranoside [J]. *Plant J*, 2001, 27(4): 315-324.  
 [17] ARANOVICH D, LEWINSOHN E, ZACCAI M. Post-harvest enhancement of aroma in transgenic lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) using the *Clarkia breweri* benzyl alcohol acetyltransferase (*BEAT*) gene [J]. *Postharvest Biology Technology*, 2007, 43(2): 255-260.  
 [18] KOO Y J, KIM M A, KIM E H, et al. Overexpression of salicylic acid carboxyl methyltransferase reduces salicylic acid-mediated pathogen resistance in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Mol Biol*, 2007, 64(1-2): 1-15.  
 [19] AMENT K, KRASIKOV V, ALLMANN S, et al. Methyl salicylate production in tomato affects biotic interactions [J]. *Plant J*, 2010, 62(1): 124-134.

(责任编辑 董晓燕 李 雯)