

专题综述

甜瓜组织培养及遗传转化研究进展

侯丽霞¹ 何启伟¹ 卜丽霞² 焦自高¹ 董玉梅¹ 王崇启¹

(1. 山东省农业科学院蔬菜研究所 济南 250100; 2. 济南市槐荫区农业经济发展局 250117)

摘 要: 概述了甜瓜组织培养过程中外植体类型、培养基组成、添加物等主要因素对植株再生的影响,以及甜瓜体细胞胚状体发生途径、单倍体、原生质体培养的研究现状和根癌农杆菌介导甜瓜遗传转化的研究进展。

关键词: 甜瓜; 组织培养; 遗传转化

Advances in melon tissue culture and genetic transformation

HOU Li-xia¹, HE Qi-wei¹, BU Li-xia², JIAO Zi-gao¹, DONG Yu-mei¹, WANG CHong-qi¹

(1. Vegetable Research Institute, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan, Shandong, 250100, China; 2. Development Bureau of Agriculture Economics, District Huaiyin of Jinan, Jinan, Shandong, 250117, China)

Abstract: This article reviews the main factors affecting melon regeneration in vitro. These factors include explants, culture medium composition, and additives for tissue culture in vitro. The article also reviews the status of melon somatic embryogenesis, haploid, protoplast culture, genetic transformation mediated by *Agrobacterium tumefaciens*.

Key words: *Cucumis melo* L.; Tissue culture; Genetic transformation

1 组织培养技术研究

甜瓜(*Cucumis melo* L.)是葫芦科甜瓜属植物中一种重要的瓜类作物,在我国瓜类作物栽培中占有较大种植面积。随着基因工程技术在农作物育种中的研究与应用,甜瓜组织培养技术的开展为分子辅助育种奠定了良好的基础。

1.1 外植体基因型

选择不同甜瓜品种进行组织培养研究,外植体基因型差异对再生率影响明显,繁殖系数差异较大。对古拉巴、蜜翠等4个引进杂交种和七宝甜瓜、小麦瓜等4个农家品种进行的子叶培养结果表明:杂交种的不定芽诱导率高于本地品种^[1]。厚皮甜瓜状元、伊丽莎白和薄皮甜瓜新玉、白玉的子叶再生能力不同,薄皮甜瓜较厚皮甜瓜容易再生^[2]。Galperin等^[3]选用30份材料研究,表明甜瓜器官的再生能力存在着基因型的差异,有2个不完全显性位点决定着器官发生能力。厚皮甜瓜绿宝石和薄皮甜瓜甘甜1号子叶诱导不定芽和愈伤组织分化上存在较大差异^[4]。黄河蜜、绿宝石、黄醉仙等6个厚皮甜瓜品种子叶分化频率差异显著,绿宝石分化率高达100%,而白兰瓜只有6.67%,皇后再生性能各方面都弱于F7-3品种^[5]。国内许多研究结果也表明:薄皮甜瓜较厚皮甜瓜再生能力强,杂交品种再生能力较自交系强。

1.2 外植体部位

甜瓜组织培养研究中,不同基因型品种的幼嫩子叶都可

得到较高频率的再生不定芽^[6-8],而真叶、胚轴、茎尖等部位再生频率很低,甚至不能再生。邓向东等^[9]研究了S-24和网纹香品种不定芽的诱导率为:子叶柄>子叶>茎尖>真叶,而胚轴和根不能诱导出不定芽。状元顶芽和侧芽经初代培养、增殖培养,可得到300%的试管苗^[10]。朱丽亚甜瓜的种子、茎段及弥河银瓜的茎段可在不同培养基中分化形成小植株^[11,12]。甜瓜DG-1顶芽和带侧芽的茎段在适宜培养基中不定芽的增殖系数为1.5~3.2^[13]。

1.3 外植体生理状态

无菌苗子叶的苗龄是其能否分化诱导成功的决定因素之一,对不同甜瓜品种的子叶进行分化诱导时,选择的苗龄不完全一致。苗龄5~10 d的哈密瓜品种网纹香子叶柄愈伤组织诱导率为100%,而不定芽则是5~8 d苗龄的诱导率较高,为38.1%和30.4%,苗龄10 d不定芽诱导率为0^[9]。河套蜜瓜苗龄5 d的无菌苗的子叶经60~70 d的诱导分化培养,再生植株诱导率可达55%^[14]。伊丽莎白种子在25℃暗培养3 d后切取子叶进行培养,芽的诱导率高达90%^[15]。将杂种甜瓜西薄洛托10 d左右苗龄的无菌苗接种在适宜培养基中,15 d后调查不定芽的繁殖系数为1.4~3.8^[16]。将日本厚皮甜瓜春丰1号苗龄7~10 d的无菌苗单节切段培养,试管苗的繁殖系数为10~13^[17]。马国斌等^[18]研究了红心脆、皇后、黄旦子、醉仙4个品种2~10 d苗龄的子叶再生能力,各品种均以2 d苗龄的子叶不定芽分化率最高。取蜜翠F₁代种子5~6 d的无菌苗子

收稿日期:2007-01-22; 修回日期:2007-05-09。

基金项目:山东省农业良种工程项目——蔬菜种质资源创新[鲁科农字(2004)113号]。

作者简介:侯丽霞,女,博士研究生,主要从事蔬菜育种研究。电话:0531-83179184; E-mail:houlx2006@126.com。

通讯作者:何启伟,男,博导,研究员,主要从事蔬菜分子育种及设施园艺研究。

叶顶芽接种诱导,在适宜培养基上的繁殖系数达 3.9~5.1^[19]。美丽娜网纹甜瓜种子在暗、光交替条件下培养 25 d 获得无菌苗,子叶诱导不定芽的增殖系数为 5.4^[20]。黄旦子 5 d 苗龄的幼苗子叶不定芽平均诱导分化率为 44.8%^[21]。

1.4 培养基成分和生长调节剂的种类及比例

基本培养基、生长调节剂种类及其配比是影响植物细胞脱分化和再分化的关键因素之一,特别是细胞分裂素与生长素的比例搭配,直接影响细胞分化方向及成败。由于甜瓜的离体分化存在基因型依赖性,不同品种、不同类型、同一品种不同部位、同一品种不同研究者获得的分化率和适宜培养基不尽相同。

甜瓜组织培养中常用的基本培养基为 MS 培养基,添加的激素是不同比例的 6-BA 和 NAA,部分研究应用了 Miller、B₅、LS 等培养基及 IAA、IBA、ZT、KT、2,4-D 等激素。网纹香和 S-24 2 个品种应用了 6-BA、ZT、KT、2ip、2,4-D 5 种激素进行诱导,其中 6-BA 诱导效果最好,其最适质量浓度为 0.5 mg/L,低于 0.1 mg/L 和高于 1.0 mg/L 时均不能产生不定芽^[9]。将河套蜜瓜子叶在 MS+6-BA 0.1 mg/L+NAA 1.0 mg/L 的培养基中预培养 3 d 后转入 MS+ZT 6.0 mg/L 芽诱导培养基中,在 MS+6-BA 0.5 mg/L 培养基中生根,再生植株诱导率可达 55%^[14]。伊丽莎白子叶诱导培养基为 BM₃+IAA 1.5 mg/L+KT 6.0 mg/L+CuSO₄·5H₂O 1.0 mg/L^[13],而于喜艳等^[22]将伊丽莎白子叶接种在 MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.2 mg/L 培养基中分化率最高。古拉巴等杂交种和七宝甜瓜等地方品种在 MS+6-BA 0.5 mg/L+IAA 0.05 mg/L 培养基中丛生芽诱导率最高,MS+IAA 0.2 mg/L+NAA 0.5 mg/L 培养基生根效果最好^[1]。弥河银瓜在 MS+BA 1.0~1.5 mg/L+IBA 0.2 mg/L 培养基上获得了最高的不定芽再生率,在 1/2 MS+IAA 0.2 mg/L 培养基生根率达 100%^[11]。翠蜜不定芽分化培养基中 6-BA 浓度范围为 0~1.0 mg/L,生长素选用 0~1.0 mg/L 的 NAA,当 6-BA 浓度大于 1.0 mg/L 时幼苗玻璃化现象严重;在 1/2 MS+IAA 0.2 mg/L 培养基上生根率达 100%^[19]。古拉巴等 8 个甜瓜品种的子叶节接种启动培养基为 MS+BA 2.0 mg/L+IAA 1.0 mg/L,诱导培养基为 MS+BA 0.5 mg/L+IAA 0.2 mg/L,伸长和生根培养基为 MS+BA 0.05 mg/L+IAA 0.02 mg/L,1/2 MS+IAA 0.02 mg/L,每个外植体可获得 7.2~15.2 个不定芽,生根率为 91%,驯化成活率在 90% 以上^[1]。将皇后等 4 个品种的未熟子叶块在 MS+6-BA 0~2.5 mg/L 的培养基上培养,其丛生芽诱导率可达 89%,在 MS 基本培养基中附加硝酸银和活性炭有利于根的诱导^[22]。美丽娜网纹甜瓜子叶在 MS+BA 0.4 mg/L+IAA 0.1 mg/L 培养基上,不定芽增殖系数达 5.4,在 MS+NAA 0.1 mg/L 培养基上生根率达 100%^[20]。皇后和 K7-3 的子叶在加入不同浓度 6-BA 的 MS 培养基上继代培养,结果显示 1.0 mg/L 的 6-BA 是诱导不定芽的最佳激素浓度^[3]。厚皮甜瓜黄旦子子叶在 MS+6-BA 2.0 mg/L 培养基上培养,其芽诱导率为 44.8%,在 MS+6-BA 0.05 mg/L 的芽伸长培养基上生长后,移入 1/2 MS+IAA 0.5 mg/L 培养基上生根,生根率为 99%^[21]。厚皮甜瓜绿宝石在 6-BA 2.0 mg/L 的分化培养基上培养,不定芽诱导率达 93.75%;薄皮甜瓜甘甜 1 号在 6-BA 2.0、1.0 mg/L 的分化培养基上培

养,不定芽诱导率均为 100%;随 6-BA 浓度提高,外植体玻璃化、褐化程度加重^[4]。由此看来,6-BA 对甜瓜不定芽的诱导分化具有重要作用,但由于基因型差异的影响,对不同甜瓜品种进行离体诱导分化时,应设置不同的浓度梯度,筛选适宜的浓度范围,与生长素进行配比,提高再生率。

1.5 其他添加物

在培养基中添加一些生长调节剂能够影响外植体的再生。田长恩^[23]研究发现,培养基中附加 BR 会抑制甜瓜子叶离体培养中不定根和不定芽的诱导再生,但对不定根的抑制作用不同于不定芽。邓向东等^[9]研究发现,培养基中附加马铃薯提取液不影响 S-24 的诱导效果;但对网纹香品种有极显著的效果,附加 10 g/L 马铃薯的培养基不定芽的诱导率显著高于含 20 g/L 和不含马铃薯的培养基。在十条筋甜瓜子叶分化培养基中添加肉桂酸、香草酸、苯甲酸、阿魏酸、咖啡酸作为抑制剂,分化过程中抑制了系统内木质素合成,不定芽的发生相应受到明显抑制,它们之间的关系非常密切^[24]。田长恩等^[23]研究测定了十条筋甜瓜不定芽发生过程中腐胺(Put)、亚精胺(Spd)、精胺(Spm)的含量,并研究了外源 Put 合成抑制剂 D-精氨酸(D-Arg)和 Spd、Spm 合成抑制剂对不定芽发生和发生过程中可溶性蛋白含量、过氧化物酶活性的影响,结果表明,Put、Spd、Spm 都与甜瓜子叶不定芽发生有关,三者含量的改变已影响到可溶性蛋白含量、过氧化物酶活性等生理生化指标的变化,最终影响到形态的发生。

总之,甜瓜离体培养过程影响因素很多,培养条件如温度、光照,培养过程中的光、暗交替处理,外植体大小、切取放置方向、继代时间间隔、种子纯度等均可影响到诱导分化率,其影响的程度和机理还有待于继续研究探讨。

2 其他离体培养技术研究

2.1 体细胞胚胎发生途径

体细胞胚胎又称不定胚、胚状体,与不定芽再生相比,通过胚状体形成再生植株具有数量多、速度快和再生植株完整等优点,因此人们尝试通过体细胞胚胎发生的途径获得再生植株^[6,26-28]。尹俊等^[29]将河套蜜瓜子叶在添加了 2,4-D、NAA、6-BA 的 MS 培养基中培养,通过不同阶段的转接培养,获得了较高频率的成熟体胚,建立了较完善的河套蜜瓜胚状体再生体系。徐方秀等^[30]将甜瓜 F₁ 代金辉 4~7 d 苗龄的无菌苗的子叶块接种在 MS 附加 2,4-D、6-BA 的培养基中,胚状体发生率达到 100%。以软 X 射线(总辐射量 650 Gy)照射过 *Cucumis melo* var. *momordica* 植株上的雄花花粉与网纹甜瓜 *Cucumis melo* var. *reticulatus* Naud. 去雄的雌花授粉,经雌核发育诱导形成单倍体胚,适宜培养基培养幼胚和单倍体植株的诱导率为 0.6% 和 0.2%^[31]。

一些研究还发现,甜瓜体细胞胚胎发育过程中存在胚状体畸形现象,如子叶缺失、超大、畸形以及多胚融合等;另外,在不同发育阶段胚状体有提前萌发现象,如只有下胚轴伸长而无叶片、子叶膨大而无根等^[29]。何欢乐等^[32]选用不同甜瓜品种进行不定胚诱导再生植株,再生过程中会发生染色体数目

上的变异,各品种随着继代培养次数的增加,其染色体数目的变异率和变异幅度也随之增加。但不同品种在相同继代次数培养中的变异情况各不相同,在继代培养时间不是很长时,其发生的变异株比较少。甜瓜体细胞再生过程中仍存在一些有待解决的问题,如胚状体发生频率、胚状体质量、胚状体早熟、基因型的依赖等。相信随着研究的深入,这些问题会得到解决。

2.2 单倍体及原生质体培养

与黄瓜、西瓜等葫芦科植物相比较,对甜瓜单倍体培养的研究较少,且进展也较缓慢。最早的甜瓜花药培养尝试研究以失败告终^[3],利用未授粉子房或胚珠进行离体培养,诱导雌核发育产生单倍体在甜瓜上有成功报道。Gemene 等^[34]对甜瓜子房培养条件进行研究,并得到了单倍体植株;Ficcadenti 等^[35]用相似的培养方法获得了甜瓜单倍体植株,胚发生率高达 36.4%,再生植株中单倍体发生率为 15.4%。实践证明,基因型对单倍体的诱导有显著影响。陶正南^[36]对甜瓜花药进行培养,经愈伤组织途径诱导获得了完整再生植株,但却无相关再生植株倍性方面的研究。目前,甜瓜花药培养存在基因型影响较大、花粉愈伤组织诱导率低、绿苗分化率低、染色体加倍技术不过关等问题,通过该途径获得甜瓜单倍体植株离实际应用还有一定距离。

孙勇如等^[37]用 7 个新疆甜瓜品系的无菌苗子叶游离原生质体接种在改良的 Miller 培养基上,得到了再生细胞的高频率分裂,并比较了液体浅层培养、双层培养、琼脂糖看护培养等不同方法,发现由烟草瘤细胞 B₆S₃ 看护的琼脂糖珠培养,最适于新疆甜瓜子叶的原生质体培养。李仁敬等^[38]将新疆甜瓜和西瓜无菌苗子叶叶肉原生质体经 PEG 介导,在高 Ca²⁺ 和高 pH 值条件下融合,得到远缘属间的体细胞杂种,用含 P₃ 的琼脂糖珠培养包埋杂种细胞并培养,获得融合愈伤组织。林伯年^[39]在不同种的西瓜、甜瓜之间应用原生质体电融合技术,获得了重建细胞,形成了克隆愈伤组织,并采用 Southern 分子印迹杂交技术,有效检测出原生质体异源融合克隆愈伤组织,但最终没有获得杂种再生植株,这一技术有待于继续研究和完善。

3 遗传转化研究

有关甜瓜遗传转化研究较西瓜、黄瓜少,国外成功转化的报道是将西瓜花叶病毒 2 号外壳蛋白基因导入甜瓜^[40,41],我国对甜瓜遗传转化的研究多采用根癌农杆菌介导的叶盘法转化,将黄瓜、西瓜病毒病外壳蛋白基因、番茄 ACC 合酶反义基因和 ACC 脱氨酶基因导入甜瓜,并进行了分子方面的检测,取得了一些转化成果(表 1)。而这些研究多选用了哈

表 1 根癌农杆菌介导叶盘法转化甜瓜的研究与应用情况

品种	外源基因	转化结果	检测方法
白兰瓜 85-1	携带 NPT-Ⅱ 的 ACC 脱氨酶基因	抗 Kana 再生植株	NPT-Ⅱ 的 PCR 扩增, Southern 杂交, 生理生化指标检测 ^[42]
河套蜜瓜	番茄 ACC 合酶反义基因	抗 Kana 再生植株	PCR 扩增, PCR-Southern 杂交 ^[43]
黄金瓜	携带 NPT-Ⅱ 的 WMV-1 CP 基因	抗 Kana、抗病植株	PCR 扩增, DNA 分子点杂交 ^[44]
皇后, 红蜜脆, 伽师瓜	携带 NPT-Ⅱ 的 ACC 脱氨酶基因	抗 Kana、抗病植株	PCR 扩增 ^[45]
皇后, 伽师瓜	ACC 脱氨酶基因	抗 Kana 再生植株 ^[46]	
黄河蜜	携带 NPT-Ⅱ 的 CMV-CP 基因	抗 Kana、抗病植株	Southern 杂交, 抗病性鉴定 ^[47]
Hales Best Jumbo	携带 NPT-Ⅱ 和 GUS 的 CMV-CP 基因	抗病工程植株	抗病鉴定, Western blot ^[48]
皇后, 伽师瓜	携带 NPT-Ⅱ 的 NP-1 基因	抗 Kana、抗病植株	PCR 扩增 ^[49]
新红心脆, 赛红等 6 个品种	携带 NPT-Ⅱ 的 TMV-CP 基因	抗 Kana、抗病植株	SDS-PAGE, Dot-Elisa, PCR 特异扩增, Western-blot 检测 ^[30]
皇后, 红蜜脆, 黄醉仙, 8601	携带 NPT-Ⅱ 的几丁质酶基因和 β-1,3-葡聚糖酶基因	抗 Kana 再生植株	PCR 检测, 点杂交, SDA-PAGE ^[22]

密瓜、新疆甜瓜的生产用杂交种,材料范围较窄,外源基因种类少。因此,甜瓜的转化研究应扩大试验材料和优良性状的基因,在品质改良、抗白粉病、霜霉病等方面开展研究,促进甜瓜转基因研究的深入和发展。相信随着研究者的不懈探索和分子生物学的发展,通过植物基因工程技术改良创新甜瓜种质有巨大的潜力,也为遗传育种开辟了一条崭新的途径。

参考文献

- [1] 蔡润,俞虹.甜瓜种苗克隆[J].上海交通大学学报,2000,34(11):1586-1590.
- [2] 于喜艳,何启伟,孔庆国.甜瓜子叶组织培养的研究[J].山东农业科学,2002,(2):22-23.
- [3] Galperin M, Zelcer A, Kenigsbuch D. High competence for adventitious regeneration in the BU-21/3 melon genotype is controlled by a single dominant locus[J]. Hortscience, 2003, 6(1):1167-1168.
- [4] 陶兴林,黄永红,陆璐,等.2个甜瓜品种高效再生体系的建立[J].西北植物学报,2005,25(4):806-811.
- [5] 陶兴林,黄永红,赵长增,等.厚皮甜瓜离体培养再生植株能力的基因型差异研究[J].果树学报,2005,22(3):252-255.
- [6] Homma Y, Sugiyama K, Oosawa K. Improvement in production and regeneration of somatic embryos from mature seed of melon (*Cucumis melo* L.) on solid medium[J]. Japanese J Breeding, 1991, 41: 543-551.
- [7] Card Gonsalves, Xue Baodi. Transformation Cucumber Mosaic Virus-white leaf strain protein gene into *Cucumis melo* L. and evaluation transgenic plants for protection against infection[J]. Amer Soc Hort Sci, 1994, 119(2): 345-355.
- [8] Dirks R, Van Buggenum N. In vitro plant regeneration from leaf and cotyledon explants of *Cucumis melo* L.[J]. Plant Cell Rep, 1989, 7: 626-627.

- [9] 邓向东,耿玉轩,路子显,等.外植体和培养因子对哈密瓜不定芽诱导的影响[J].园艺学报,1996,23(1):57-61.
- [10] 赵月玲,夏海武.甜瓜组织培养和快速繁殖[J].植物生理学通讯,1999,10:377.
- [11] 夏海武,马秀兰,万永霞.甜瓜组织培养与快速繁殖的研究[J].山东农业科学,2001(2):23-24.
- [12] 庄志鸿,刘健,郑伟文.朱丽亚甜瓜的组织培养和快速繁殖[J].植物生理学通讯,2003,39(2):140.
- [13] 顾玉成,葛双桃,付志慧,等.甜瓜组织培养及快速繁殖技术研究[J].中国西瓜甜瓜,2003(2):8-10.
- [14] 张治中,李天然,邓香兰,等.河套蜜瓜子叶的组织培养和再生植株研究[J].内蒙古大学学报(自然科学版),1998,29(2):235-239.
- [15] 王建设,陈杭.甜瓜再生芽高效诱导方法的研究[J].园艺学报,1999,26(5):339-340.
- [16] 殷丽青,张建军,张智奇,等.杂种甜瓜的离体快速繁殖[J].上海农业学报,1999,15(3):28-31.
- [17] 周素平,王广东,王湘军,等.“春丰1号”厚皮甜瓜的组织培养和快速繁殖[J].植物生理学通讯,1999,35(4):301-302.
- [18] 马国斌,王鸣,郑学勤.甜瓜组织培养再生体系的比较研究[J].中国西瓜甜瓜,1999(2):2-6.
- [19] 黄海良,赵国良,高建刚.杂种甜瓜组培快繁技术[J].江苏农业科学,2001(6):57-59.
- [20] 李进,顾绘,刁勇华,等.美丽娜网纹甜瓜离体快繁技术[J].中国西瓜甜瓜,2003(3):17-18.
- [21] 陆璐,赵长曾,陆婷.甜瓜“黄旦子”子叶再生完整植株的研究[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2005,33(8):81-85.
- [22] 葛屹松,赵晓琴,李冠.新疆甜瓜组培体系的优化及抗病转基因研究[J].新疆大学学报(自然科学版),2003,20(1):55-58.
- [23] 田长恩.多胺和油菜素内酯对离体再生甜瓜子叶器官发生的影响[J].中国西瓜甜瓜,1992(2):7-9.
- [24] 林葵,黄祥辉,王隆华,等.甜瓜子叶不定芽分化过程中PAL活性和木质素含量的变化研究[J].华东师范大学学报(自然科学版),1996(2):92-97.
- [25] 田长恩,叶蕙,李人圭,等.多胺、可溶性蛋白含量及过氧化物酶与甜瓜子叶不定芽发生的关系[J].园艺学报,1997,24(2):199-200.
- [26] Gray DJ, Mccolley DW, Compton ME. High-frequency somatic embryogenesis from quiescent seed cotyledons of *cucumis melo* cultivars[J]. Amer Soc Hort Sci, 1993, 118(3): 425-432.
- [27] Oridate T, Oosawa K. Somatic embryogenesis and plant regeneration from suspension calls culture in melon (*cucumis melo* L.)[J]. Japanese J Breeding, 1986, 36: 424-428.
- [28] Trulson AJ, Shahin EA. In vitro plant regeneration in the genus *cucumis*[J]. Plant Sci, 1986, 47: 35-43.
- [29] 尹俊,徐妙云,贾小平,等.河套蜜瓜胚发生及植株再生的研究[J].园艺学报,2000,27(6):455-457.
- [30] 徐方秀,贾士荣.甜瓜子叶体细胞胚胎发生及其细胞学观察[J].农业生物技术学报,1994,2(1):70-77.
- [31] Zha D Sh. Haploid plant production and ploidy level determination in netted melon (*Cucumis melo* L.)[J]. Acta Agriculture Shanghai, 2002, 18(1): 43-45.
- [32] 何欢乐,蔡润,潘俊松.甜瓜不定胚再生植株的染色体数目变异[J].遗传,2002,24(2):166-170.
- [33] Dryanovska OA, Iijeva IN. In vitro anther and ovule culture in muskmelon (*cucumis melo* L.)[J]. C R Acad Bulgare Sci, 1983, 36: 1107-1110.
- [34] Gemesne JA, Vencze IG, Balogh P. Haploid plant induction in zucchini and in cucurbit lines through in vitro gynogenesis[J]. Acta Hort, 1997, 447: 623-624.
- [35] Ficcadenti N, Sestuli S, Annibali S, et al. In vitro gynogenesis to induce haploid plant in melon *cucumis melo* L. [J]. Genet & Breed, 1999, 53: 255-257.
- [36] 陶正南.甜瓜花药培养诱导成植株[J].植物生理学通讯,1987(5):43-47.
- [37] 孙勇如,李向辉,孙宝林,等.新疆甜瓜子叶原生质体的培养和植株再生[J].植物学报,1989,31(12):916-922.
- [38] 李仁敬,孙严,孟庆玉,等.新疆甜瓜、西瓜原生质体融合及融合愈伤的获得[J].新疆农业科学,1994(3):101-104.
- [39] 林伯年.甜瓜、西瓜原生质体电融合及其杂种分子生物学鉴定[J].园艺学报,1994,21(3):302-304.
- [40] Fuchs M, McFerson JR, Tricoli DM, et al. Cantaloupe line CZW-30 containing coat protein genes of cucumber mosaic virus, and watermelon mosaic virus-2 is resistant to these virus in the field [J]. Molecular Breeding, 1997, 3(4): 279-290.
- [41] Clough GH, Hamm PB. Coat protein transgenic resistance to watermelon mosaic and zucchini yellow mosaic virus in squash and cantaloupe[J]. Plant disease, 1995, 79(11): 1107-1109.
- [42] 杨甲定,钟文海. ACC 脱氢酶基因转化白兰瓜的初步研究[J].西北植物学报,2002,22(5):1044-1049.
- [43] 李天然,张治中,张鹤龄,等.番茄 ACC 合酶反义基因对河套蜜瓜的转化[J].植物学报,1999,41(2):142-145.
- [44] 王慧中,李亚南,赵胚洁.根癌农杆菌介导的甜瓜基因转化及其转基因植株的再生 [J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版),2000,26(3):287-290.
- [45] 张智俊,罗淑萍,廖康,等.哈密瓜转 ACC 脱氢酶基因再生植株的获得[J].上海农业学报,2002,18(2):10-14.
- [46] 李晓荣,廖康,王惠,等.哈密瓜转化植株的获得及移栽研究[J].新疆农业大学学报,2003,26(2):29-33.
- [47] 徐秉良,师桂英,薛应玉.黄河蜜甜瓜 CMV-CP 基因转化及其抗病性鉴定[J].果树学报,2005,22(6):734-736.
- [48] 薛宝娣,陈永萱,Consalves D,等.转 CP 基因的番茄、南瓜和甜瓜植株的抗病性研究[J].农业生物技术学报,1995,3(2):58-60.
- [49] 张勇,周小云,何江,等.影响根癌农杆菌介导甜瓜转化 NP-1 基因的外部因子研究[J].生物技术,2004,14(4):9-11.

欢迎购存《中国瓜菜》合订本

《中国瓜菜》(原《中国西瓜甜瓜》)杂志 2006 年合订本定价 30.00 元,挂号费 3.00,需要的朋友请与本刊编辑部联系,汇款单上请注明购 2006 年合订本。本刊尚有少量 2001、2003、2004、2005 各年的合订本,欢迎购存。

另外,漏订 2007 年杂志的朋友也可从邮局汇款至编辑部办理补订手续,每期 4.50 元,全年 6 期 27.00 元,如需挂号,请加付全年挂号费 18.00 元。电话:0371-65330982。