

黄瓜转基因研究进展

邹金美¹, 张国广^{1, 2}, 陈亮^{2*}

(1. 漳州师范学院生物系, 福建 漳州 363000; 2. 厦门大学生命科学学院, 福建 厦门 361005)

摘要: 综述了黄瓜转基因研究所取得的进展, 从黄瓜再生体系的建立、遗传转化方法及其影响因素等方面进行了评述, 并对黄瓜转基因的不足及今后研究的重点进行了讨论。

关键词: 黄瓜; 转基因; 研究进展

中图分类号: S 642.2

文献标识码: A

文章编号: 0438-0479(2008)S2-0236-06

黄瓜 (*Cucumis sativus* L.) 是葫芦科黄瓜属的园艺植物, 在世界范围内栽培面积很大, 长久以来育种学家对黄瓜进行了深入研究与广泛的遗传改良, 但由于具有优良性状的育种材料的缺乏, 通过常规的育种手段来获得理想的黄瓜品种相对比较困难。随着生物技术的发展及其在农业领域的广泛应用, 基因克隆与遗传转化技术的逐渐成熟, 尤其是遗传转化技术的发展与应用, 一定程度上打破了生物间的生殖隔离, 使植物育种更具有目的性和针对性, 同样也为黄瓜育种提供了新的技术, 推动了黄瓜育种的进程。值得指出的是黄瓜具有可以生食的特点, 在转基因植物基因工程疫苗方面展示了其诱人的开发价值, 利用黄瓜作为生物反应器生产植物疫苗、医药成分等研究逐渐成为黄瓜基因工程研究的一个热点。近年来, 黄瓜的遗传转化研究取得了长足的发展 (表 1), 但从相关报道看转化频率均达不到理想水平, 本文就相关因素做一综述, 以加快和推动该技术在黄瓜育种中的应用。

1 再生体系

高效、稳定的再生体系是大部分遗传转化技术的基础 (如农杆菌介导法、基因枪转化法等)。一般认为葫芦科植物组织培养难度较大, 黄瓜组织培养开始得比较早, 但高频再生体系并不成熟。一个适合转化的再生体系应具有外植体来源充足、再生苗遗传稳定、再生能力强、对农杆菌或其它转化方式敏感、具有适中的抗生素敏感性等特点。在黄瓜再生体系的建立中, 研究者们对基因型、激素组合、外植体类型、苗龄等因素做了大量研究。

1.1 基因型对再生的影响

Todd^[29] 等测试了 85 个基因型的子叶外植体在 MS 附加 1.0 mg/L BA + 1.0 mg/L NAA 培养基上的不定芽发生情况, 仅有 28 个基因型的子叶外植体有不定芽发生, 最高的不定芽发生率为 53%。Samento^[21] 等应用 3676 和 3672 两种雌性系黄瓜研究黄瓜的转化, 发现基因型间再生差别很大从而也影响了转化频率。赵秀娟^[30] 用 10 份黄瓜材料为研究对象, 发现基因型间的再生能力差别较大, 低的不定芽再生率只有 10% 的, 高的可达 80%。杜胜利^[31] 用 12 个黄瓜材料做研究也发现基因型间差异显著, 最高的芽再生率可达 73%, 最低的芽诱导率只有 25%。可见黄瓜基因型对再生的影响非常显著, 选择适当的基因型对遗传转化研究的顺利进行相当重要。

1.2 激素组合

MS 基本培养基中添加的外源激素对黄瓜不定芽的诱导和生长起着重要的作用。基因型不同, 对激素种类和相互配比的要求也不尽相同。从相关的报道看, 黄瓜的组织培养中常用的激素是 6-BA 和 NAA。张承妹^[32] 认为 NAA 诱导的愈伤组织比 2,4-D 诱导的易于分化, 认为添加适量的 GA3 有利于芽的分化, 在 MS 附加 BA 2.0 mg/L + NAA 0.3 mg/L + GA3 0.25 mg/L 的培养基中芽分化率可达 64%。梅茜^[33] 认为 BA 与 ABA 组合使用可以明显提高黄瓜不定芽诱导率。赵隽^[34] 利用激素 TDZ (Thidiazuron) 从子叶节上诱导出生芽, 认为它的效果优于 6-BA。范爱丽^[35] 等采用农城 3 号、西农 58 和长春密刺 3 个黄瓜品种的子叶节为外植体, 优化了 TDZ 和 IBA 的配合浓度, 在 0.005 mg/L TDZ + 0.05 mg/L IBA 时不定芽的诱导率达到 93.3%。新型细胞分裂素 TDZ 在木本植物中应用较多, 在研究一些再生频率不高的黄瓜基因型中

收稿日期: 2008-09-20

基金项目: 漳州师范学院内项目 (SK05010) 资助

* 通讯作者: chenlk@xmu.edu.cn

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

表 1 黄瓜的遗传转化研究进展

Tah 1 The development of genetic transformation of the cucumber

转入方法	外源基因	转化结果	参考文献
根癌农杆菌	<i>Npt^{II}</i>	得到抗性植株	Chee等 ^[1]
根癌农杆菌	<i>Npt^{II}</i>	得到转化植株	Samento ^[2] 等
根癌农杆菌	<i>GusNpt^{II}</i>	得到转化植株	Nishibayashi ^[3] 等
根癌农杆菌	<i>GusCMV-0 cp</i>	得到转化植株	Nishibayashi ^[4] 等
根癌农杆菌	<i>chiNpt^{II}</i>	得到转化植株	Raharjo ^[5] 等
根癌农杆菌	thaumatin II	得到转化植株	Szwacka ^[6] 等
根癌农杆菌	<i>chiNpt^{II}</i>	得到转化植株	Tabei ^[7] 等
根癌农杆菌	<i>GusNpt^{II}</i>	得到转化植株	Vasudevan ^[8] 等
根癌农杆菌	<i>SODiv</i>	得到转化植株	Lee ^[9] 等
根癌农杆菌	<i>Npt^{II}CMV-0 p</i>	得到转化植株	王惠中 ^[10] 等
发根农杆菌	<i>Npt^{II}</i>	得到抗性植株	Tnison ^[11] 等
发根农杆菌	<i>Npt^{II}</i>	得到毛状根	施和平 ^[12-13] 等
发根农杆菌	<i>GusNpt^{II}</i>	得到转化植株	冯斌 ^[14] 等
根癌农杆菌	<i>Bar</i>	得到转化植株	陈峥 ^[15] 等、金红 ^[16] 等
根癌农杆菌	<i>ABPiv</i>	得到转化植株	白吉刚 ^[17-18] 等
根癌农杆菌	<i>DREB1A</i>	得到 PCR 检测阳性植株	纪巍 ^[19] 等
根癌农杆菌	<i>EQKAM</i>	得到抗性植株	魏爱民 ^[20] 等
根癌农杆菌	<i>ACS1</i>	得到转化植株	李冷 ^[21] 等
根癌农杆菌	MADS-box	得到转化植株	赖来 ^[22] 等
花粉管通道	黄瓜 DNA	得到变异植株	董伟 ^[23-24] 等
花粉管通道	黄瓜 DNA	选育出新品系	邓立平 ^[25] 等
花粉管通道	菠萝 DNA	T1代有变异植株	陈秀蕙 ^[26] 等
花粉管通道	<i>Gus</i>	<i>Gus</i> 表达	李远新 ^[27] 等
floral dip法	GAD-GLP-1	得到转化植株	王翠艳 ^[28] 等

可以考虑使用具有强大细胞分裂素活性的 TDZ

1.3 外植体类型与苗龄

组织培养中外植体对不定芽的再生影响很大,在黄瓜组织培养中研究人员使用的外植体类型很多.见于报道的有子叶、下胚轴、原生质体、真叶、花药、未受精的子房等.大多数的研究者认为子叶是黄瓜组织培养最好的外植体^[25-31-36],子叶作为外植体的芽再生率高.杜胜利^[31]用真叶、子叶、下胚轴为外植体,在研究中发现不剥种皮的黄瓜播种后 3~4 d 苗龄的子叶芽分化率高,随着天数的增加不定芽分化率下降,下胚轴的芽再生能力明显偏低,在幼嫩的真叶上未见芽分化.何晓明^[37]分别用子叶和下胚轴培养,芽的分化能力差别很大,认为外植体对芽的再生影响很大.梅茜^[33]认为

为用剥去种皮 2 d 苗龄的子叶做外植体,再生芽的分化率高达 51% 以上,随着苗龄的增加芽再生率逐渐下降.最近的一些研究则认为,对于不定芽直接器官发生而言,子叶节是诱导率最高的外植体^[34-35-38-39],子叶节是指带部分下胚轴的子叶,侯爱菊^[38]用黄瓜“长春密刺”5 d 苗龄的子叶节作为外植体,芽诱导率高达 93.2%,利用子叶节作为再生外植体的研究尽管采用的激素种类和激素配比不尽相同,但不定芽的诱导率均达到 93% 以上.对苗龄的选择上,一般认为采用萌发后 3~4 d 左右的外植体有利于不定芽的再生,苗龄过长不利于再生.

原生质体是基因直接导入细胞内的理想受体,利用黄瓜原生质体作为转化受体是很好的选择,但前提

是原生质体要有较高的再生率,前人在黄瓜原生质体的分离和再生中做了相应的研究,分别用黄瓜的子叶^[40-42]、真叶^[43]、下胚轴^[44]酶解得到的原生质体培养,通过各种途径获得再生植株,但再生率都很低.2003年郭德章^[42]等人用翠秀黄瓜子叶酶解后的原生质体培养,在最优培养基中芽再生率只有10%,且发现再生的植株多为多倍体.从上述报道看用黄瓜原生质体作遗传转化受体还需要对原生质体再生体系做深入研究,解决再生率偏低的困难后才可能得到应用.

1.4 AgNO₃对黄瓜再生的影响

在很多作物中都有培养基中添加适量 AgNO₃ 促进再生的报道,组织培养过程中外植体切块产生的乙烯导致离体组织培养芽的畸形生长及抑制芽的再生,一般认为 Ag⁺ 是乙烯合成的抑制剂,Ag⁺ 的添加使乙烯产生的绝对数量减少.也有人认为 Ag⁺ 能竞争性结合于细胞膜的乙烯受体,阻断了乙烯的信号传递通路,从而使乙烯活性降低,并不是减少了乙烯的合成量.曹利仙^[45]在 AgNO₃ 对黄瓜离体子叶芽再生影响实验中发现,在优化培养基中添加适量 AgNO₃ 能显著促进芽的再生,在培养的前3 d 乙烯释放量增加,3 d 后释放量迅速降低.梅茜^[33]等研究认为在培养基中添加 2.0 mg/L AgNO₃ 可以促进黄瓜不定芽的再生,比对照的芽诱导率高出一倍,李泠^[33]和赖来^[33]等的报道也表明黄瓜再生和筛选培养基中合适浓度 AgNO₃ 的添加有效的促进抗性芽再生.可见在黄瓜转化中合适浓度的 AgNO₃ 能够促进抗性芽的发生,但对不同的黄瓜基因型 AgNO₃ 的最适宜浓度不尽相同,需要针对基因型做进一步研究.

2 黄瓜遗传转化技术的研究

现在应用于植物间基因转移的方法主要有农杆菌介导法、基因枪法、显微注射法、花粉管通道法、电击穿孔转化法、病毒介导转化法等.相对众多基因转化技术而言,农杆菌介导法具有简单易行、成本低廉、操作简单、转化效率高、应用植物材料范围广泛等特点,成为植物间遗传转化最常用的工具之一.黄瓜遗传转化的相关报道多以采用农杆菌介导的遗传转化为主,分述如下:

2.1 农杆菌介导的遗传转化

自1983年首次获得转基因烟草以来,至今已经获得近200种转基因作物,其中80%以上是利用农杆菌介导转化获得的.农杆菌对宿主细胞基因转移功能是通过利用 Ti(tumor inducing)质粒(根癌农杆菌中)或

Ri(root inducing)质粒(发根农杆菌中)为基因载体,将外源基因整合到植物染色体 DNA 上的.在农杆菌介导的黄瓜遗传转化中,影响转化的因素很多,植株再生频率、农杆菌的类型、菌株类型、质粒载体的类型、细菌浓度、感染时间、共培养时间及温度、酚类物质的分泌、筛选抗生素类型等均会影响黄瓜的转化再生.

2.1.1 发根农杆菌对黄瓜的转化

发根农杆菌浸染植物后,能使植物转化细胞分化成毛状根,然后通过对毛状根的培养再生转基因植株.由于发根农杆菌侵染后长出的毛状根的再生频率较低,限制了该方法的广泛应用.但它有一个优点,即通常认为一个毛状根是单个转化细胞分化而来,一些研究者应用它对黄瓜遗传转化进行了研究.Trulson^[11]等应用发根农杆菌将 Npt^{II}基因转入黄瓜,并从毛状根中再生卡那霉素抗性植株.施和平^[12-13]等应用发根农杆菌转化黄瓜的研究表明:发根农杆菌菌株 R100 和 R1601 转化黄瓜子叶,子叶毛状根发生有极性现象,都在形态学下端发根,采用子叶预培养 1 d 侵染 20 min 共培养 2 d 并且加入 50 mg/L 的 NAA 能促进毛状根的发生,发根农杆菌培养时添加 20 μmol/L 的乙酰丁香酮提高了发根农杆菌 R1601 对黄瓜子叶的致根能力,在产生的毛状根中都检测到农杆菌碱和甘露碱的合成.冯斌^[14]等报道采用子叶和下胚轴为转化受体,预培养 2 d 浸染 5 min 认为添加适量的生长素有利于转化毛状根的产生,且毛状根在分化培养基即 MS 添加 BA 2.0 mg/L、NAA 0.2 mg/L 中分化出转基因植株,只是分化率很低,只有 1.5%,转基因植株中检测到了 Gus 基因的表达.

2.1.2 根癌农杆菌对黄瓜的转化

根癌农杆菌介导的转化技术在黄瓜的转基因研究应用中最为广泛,Chee^[1]利用子叶为转化受体将 Gus 基因导入黄瓜,获得了卡那霉素抗性植株.Samento^[2]等以黄瓜叶柄和叶片作为转化受体,LBA4404 为转化菌株,将 NPT^{II}基因成功导入黄瓜,并认为农杆菌浸染 5 min 添加 20 μmol/L 的乙酰丁香酮(Acetosyringone, AS),烟草悬浮剂看护共培养 48 h,能显著提高抗性愈伤的比例.1996年 Nishibayashi^[3]等建立了农杆菌介导的黄瓜下胚轴转化再生体系,他们的研究表明使用 AS 共培养 5 d 可提高转化效率,筛选抗生素使用 30 mg/L 潮霉素 B 比用 50 mg/L 卡那霉素效果好,检验结果表明整合入黄瓜基因组的 Gus 基因高效表达.同年他们^[4]利用该转化体系将黄瓜花叶病毒(Cucumber Mosaic Virus, CMV)外壳蛋白基因转入黄瓜,获得的转基因黄瓜增强了对 CMV 的抗性.Raharjo^[5]等使用叶柄作为转化受体比较了3种 Ti 质粒(a su-

pervulgent leucopine type, an octopine type and a nopaline type)对黄瓜转化的影响, 结果表明 leucopine 型转化效率最高, 经 Southern 和 Western 杂交证明装载在 T 质粒上的来源于矮牵牛的酸性几丁质酶基因已整合入黄瓜基因组中并得到表达。Szwacka^[6] 等将 thaumatin 基因转入黄瓜, 且对其后代的遗传分离规律进行研究, 认为该基因的分离符合孟德尔自由分离规律。1998 年 Tabei^[7] 等利用幼嫩子叶作为转化受体, 农杆菌浸染 10 min, 共培养 3 d 后转入 MS 附加 2 mg/L BA、1 mg/L ABA、200 mg/L Claforan、25 mg/L 卡那霉素选择培养基中, 结果表明水稻几丁质酶基因转入了黄瓜, 获得的转基因植株对灰霉病的抗性增强。Vasudevan^[8] 等研究了 EHA 105 和 LBA 4404 两个菌株对黄瓜的转化效率的影响, 结果表明 EHA 105 的效果比 LBA 4404 好, 5 d 苗龄的子叶、3 d 的共培养有利于转化再生, 且添加 20~50 $\mu\text{mol/L}$ 的 AS 能提高转化效率。Lee^[9] 等将木薯的超氧化物歧化酶基因 (Superoxide dismutase, SOD) 转入黄瓜, 期望利用黄瓜作为生物反应器, 产生抗衰老的 SOD, 其 southern 杂交表明外源基因正常转录, SOD 活性检测表明从转基因植株上收获的黄瓜果实中的 SOD 活性是未转基因黄瓜的 3 倍。

国内对黄瓜转基因研究开始的较晚但进展很快。王惠中^[10] 等利用津研 4 号的子叶为外植体, 将 CMV 外壳蛋白基因转入黄瓜, 获得转基因植株, 并研究了预培养有无、加入 AS、共培养天数等对黄瓜转化再生的影响, 认为经过预培养 2 d 加入 AS 和共培养 3 d 能明显提高黄瓜的转化率。陈峥^[15]、金红^[16] 等在实验中用不同的黄瓜材料研究黄瓜转化体系也得到相似的结果。白吉刚^[17, 18] 利用农杆菌介导将生长素受体—生长素结合蛋白 (Auxin-binding protein 1, ABP1) 基因转入黄瓜, 转基因植株经过 Southern 和 Northern 杂交检验, 表明 ABP1 基因整合入黄瓜基因组并正常转录, 转基因黄瓜对生长素的敏感性增强, 单性结实能力提高。纪巍等^[19] 采用该研究组建立的黄瓜子叶节高频再生体系^[38], 利用农杆菌介导法分别将受干旱、高盐、低温等胁迫信号诱导的 rd29A 启动子和组成性表达的 35S 启动子驱动的 DREB1A 基因转入“长春密刺”黄瓜中, 分别获得 PCR 检测阳性株为 33 株和 13 株, 而且观察到对于 DREB 基因用 rd29A 启动子驱动得到的植株性状表现更好。魏爱民^[20] 等利用农杆菌介导法将抗虫基因转入黄瓜高代自交系 M1 中, 探讨了子叶外植体切割块的大小、乙酰丁香酮的加入及筛选方式对抗性芽产生的影响, 他们认为大的子叶块有利于抗性芽再生, 在菌液和共培养培养基中添加 AS 和共培养后延迟 7 d 转入筛选培养基筛选培养均更好的促进抗性

芽的再生。2007 年来自同一个课题组的李冷^[21] 和赖来^[22] 等分别报道了 ACC 合酶 (ACS1) 基因和参与花器官发育调控的 MADS-box 基因对黄瓜的遗传转化获得转基因植株的结果, 他们采用的再生培养基均为 BA 和 ABA 组合, 其中附加 2 mg/L 的 AgNO_3 , 筛选采用草丁膦 (Phosphinothricin), 均得到经过 PCR 检测阳性的转基因植株。

2.2 其它转化方法

一些研究者采用了花粉管通道技术对黄瓜转化进行了研究。董伟^[23-24] 等利用花粉管通道技术将“长春密刺”的绿皮基因 (W) 导入地方品种“大白黄瓜”中。邓立平^[25] 等用花粉管通道将抗霜霉病的野生黄瓜 DNA 转入到感病黄瓜品种中, 从变异植株中选出抗病品系。陈秀慧^[26] 等用该技术将菠萝的 DNA 转入黄瓜, 在 T1 代群体中观察到了与亲本不同的植株。李远新^[27] 等研究了导入方法、菌液浓度、导入时间等因素对外源基因转化率的影响, 成功地将 Gus 基因转入黄瓜。在模式植物拟南芥中使用的 floral dip 法也有在黄瓜中应用的报道, 王翠艳^[28] 等利用该方法将由人工启动子 G10-90 驱动的糖尿病治疗相关融合基因 GAD-GLP-1 转化黄瓜, 种子成熟后用卡那霉素筛选, 得到了 PCR 和 Southern blot 检测阳性的植株, 转化率可以达到 0.6% 左右。但因为黄瓜生产周期较长, 无论花粉管通道技术还是 floral dip 法均要得到黄瓜种子后, 利用抗生素对种子进行筛选或从种子长出的植株性状进行鉴别是否有外源基因的转入, 所需要的时间比较长, 并不适合大规模的黄瓜基因转化。

3 存在问题及展望

黄瓜转基因研究已经取得了很大进展, 显示了该技术在黄瓜品种改良中的广阔前景, 但从上述报道中知道黄瓜转化仍然存在几个亟待解决的问题: 1) 高效遗传转化体系尚不完善, 转化受体的范围较窄, 大多局限在子叶和或子叶节等。基因型间转化频率差别较大, 尤其是一些农艺性状优良的基因型因再生频率较低, 影响了遗传转化工作的开展。2) 基因来源较窄, 尤其有良好经济性状的基因, 如与抗虫、抗病、高产、品质改良有关的性状基因还很少。3) 转入的外源基因表达量低, 转化工作目前关注的重点是基因是否导入和基因能否表达上, 对影响外源基因在转基因黄瓜中高效表达的因素研究还较少。今后应加大对优良性状基因的研究力度, 加强对高效转化体系的研究, 尤其是对一些具有优良性状的黄瓜品种, 充分利用黄瓜可以生食的特点, 将黄瓜当作人类植物疫苗的生物反应器, 利用果

实特异启动子,将一些关系人类健康的抗原蛋白基因导入到黄瓜中去,实现在果实中的特异高效表达,使人通过生食黄瓜而获得相应的免疫.随着转基因技术的深入发展和转基因植物的安全性进一步得到保障(如 Marker-free 技术在植物转化中的应用),黄瓜基因转化技术必将更好的弥补传统育种的不足,加快黄瓜品种改良的进程.

参考文献:

- [1] Chee P P. Transformation of *Cucumis sativus* tissue by *Agrobacterium tumefaciens* and the regeneration of transformed plants [J]. *Plant Cell Rep*, 1990, 9: 245–248
- [2] Samento G G, Alpert K, Tang F A, et al. Factors influencing *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation and expression of kanamycin resistance in pickling cucumber [J]. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 1992, 31: 185–193
- [3] Nishibayashi S, Kaneko H, Hayakawa T. Transformation of cucumber plants using *Agrobacterium tumefaciens* and regeneration from hypocotyl explants [J]. *Plant Cell Rep*, 1996, 15(11): 809–814
- [4] Nishibayashi S, Hayakawa T, Nakajima T, et al. CMV protein in transgenic cucumber plants with an introduced CMV- ω cp gene [J]. *Theor Appl Genet*, 1996, 93: 672–678
- [5] Raharj S H T, Hernandez M O, Zhang Y Y, et al. Transformation of pickling cucumber with chitinase-encoding genes using *Agrobacterium tumefaciens* [J]. *Plant Cell Rep*, 1996, 15(8): 591–596
- [6] Szacka M, Morawski M, Burza W. *Agrobacterium tumefaciens* mediated cucumber transformation with thaumatin II cDNA [J]. *Genet Pol*, 1996, 37A: 126–129
- [7] Tabei Y, Kitade S, Nishizawa Y, et al. Transgenic cucumber plants harboring a rice chitinase gene exhibit enhanced resistance to gray mold (*Botrytis cinerea*) [J]. *Plant Cell Rep*, 1998, 17: 159–164
- [8] Vasudevan A, Ganapathi A, Selvaraj N, et al. Factors influencing GUS expression in cucumber (*Cucumis sativus* L.) [J]. *Indian Journal of Biotechnology*, 2002, 1(4): 344–349
- [9] Lee H S, Kwon E J, Kwon S Y, et al. Transgenic cucumber fruits that produce elevated level of an anti-aging superoxide dismutase [J]. *Molecular Breeding*, 2003, 11(3): 213–220
- [10] 王惠中, 赵培杰, 周晓云. 转 WMV-2cp 基因黄瓜植株的再生 [J]. *植物生理学报*, 2002, 26(3): 267–272
- [11] Tnison A J, Simpson R B, Shahin E A. Transformation of cucumber plants with *Agrobacterium rhizogenes* [J]. *Theor Appl Genet*, 1986, 73: 11–15
- [12] 施和平, 李玲, 潘瑞炽. 乙酰丁香酮对发根农杆菌遗传转化黄瓜的影响 [J]. *云南植物研究*, 1997, 19(4): 445–448
- [13] 施和平, 李玲, 潘瑞炽. 发根农杆菌对黄瓜的遗传转化 [J]. *植物学报*, 1998, 40(5): 470–473
- [14] 冯斌, 赵春晖, 王关林. 发根农杆菌 A4 转化黄瓜获得发状根再生植株 [J]. *辽宁师范大学学报*, 2000, 23(2): 171–174
- [15] 陈峥, 金红, 程奕, 等. 提高黄瓜农杆菌遗传转化体系再生频率的研究 [J]. *天津农业科学*, 2001, 7(4): 47–49
- [16] 金红, 杜胜利, 陈峥. 抗除草剂基因黄瓜的获得及 T1 植株的抗性鉴定 [J]. *华北农学报*, 2003, 18(1): 44–46
- [17] 白吉刚, 宋明, 尹谦逊, 等. 生长素蛋白 cDNA 的克隆及其在黄瓜中的表达 [J]. *植物学通报*, 2002, 19(6): 705–709
- [18] 白吉刚, 王秀娟, 刘佩瑛, 等. 生长素结合蛋白基因转化黄瓜的研究 [J]. *中国农业科学*, 2004, 37(2): 263–267
- [19] 纪巍, 李杰, 朱延明, 等. 不同启动子调控的 DREB1A 基因对黄瓜的遗传转化 [J]. *东北农业大学学报*, 2005, 36(4): 442–447
- [20] 魏爱民, 张文珠, 杜胜利, 等. 影响农杆菌介导的黄瓜抗虫基因遗传转化体系的因素研究 [J]. *天津农业科学*, 2006, 12(3): 1–3
- [21] 李玲, 潘俊松, 何欢乐, 等. 黄瓜离体培养再生技术及农杆菌介导的 ACS1 转化 [J]. *上海交通大学学报: 农业科学版*, 2007, 25(1): 17–23
- [22] 赖来, 潘俊松, 何欢乐, 等. 农杆菌介导的 MADS-box 基因转化黄瓜初步研究 [J]. *上海交通大学学报: 农业科学版*, 2007, 25(4): 374–382
- [23] 董伟, 陈玲. 外源 DNA 注射黄瓜子房后代性状的变异 [J]. *西南农业学报*, 1992, 5(1): 25–29
- [24] 董伟, 陈玲, 吴勇. 黄瓜自花授粉后外源 DNA 导入技术研究 [J]. *园艺学报*, 1993, 20(2): 155–160
- [25] 邓立平, 郭亚华, 杨晓辉. 外源基因导入黄瓜获得突变新品系 [J]. *遗传*, 1995, 17(2): 33
- [26] 陈秀慧, 何焕新, 曾辉. 波罗 DNA 导入黄瓜的初步研究 [J]. *海南大学学报: 自然科学版*, 1998, 16(1): 62–68
- [27] 李远新, 王关林, 葛晓光. 黄瓜授粉后外源基因直接导入技术研究 [J]. *华北农学报*, 2000, 15(2): 89–94
- [28] 王翠艳, 丁东风, 于小菊, 等. 用 floral dip 法对黄瓜遗传转化的初步研究 [J]. *生物学通报*, 2008, 43(2): 9–12
- [29] Todd C W, Robert D L. In Vitro Adventitious shoot and root formation of cultivar and lines of *Cucumis sativus* L. [J]. *Hortscience*, 1981, 16(6): 759–760
- [30] 赵秀娟, 吴定华. 黄瓜的组织培养 [J]. *华南农业大学学报*, 1998, 19(4): 125–126
- [31] 杜胜利, 魏惠军, 魏爱民, 等. 苗龄、基因型和外植体类型对黄瓜离体器官发生的影响 [J]. *天津农业科学*, 2000, 6(4): 1–5

- [32] 张承妹, 陆家安. 黄瓜组织培养与诱导四倍体再生植株 [J]. 上海农业学报, 1995, 11(3): 31–36
- [33] 梅茜, 张兴国. 黄瓜组织培养研究 [J]. 西南农业大学学报, 2002, 24(3): 266–26
- [34] 赵隼, 王华, 潘俊松, 等. 黄瓜子叶节离体再生体系的研究 [J]. 上海交通大学学报: 农业科学版, 2004, 22(1): 43–47.
- [35] 范爱丽, 孙艳, 徐凌飞, 等. 黄瓜子叶节再生体系优化研究 [J]. 西北农林科技大学学报, 2006, 34(9): 69–73
- [36] Trnison A J, Shahin E A. In vitro plant regeneration in the genus Cucumis [J]. Plant Sci 1986, 47: 35–43
- [37] 何晓明, 林敏娥. 黄瓜子叶和下胚轴的离体培养 [J]. 植物生理学通讯, 2001, 37(5): 423
- [38] 候爱菊, 朱延明, 杨爱馥, 等. 诱导黄瓜直接器官发生主要影响因素的研究 [J]. 园艺学报, 2003, 30(1): 101–103
- [39] 冯嘉, 邹志荣, 秦盛华, 等. 黄瓜子叶节高频再生体系建立及再生植株倍性观察 [J]. 西北植物学报, 2008, 28(5): 956–962
- [40] 吕德良, Cocking E C. 黄瓜子叶原生质体苗的再生 [J]. 植物学报, 1984, 12: 916–922
- [41] 徐杏阳, 刘福森, 孙存祯. 黄瓜子叶叶肉原生质体再生植株的研究 [J]. 南开大学学报: 自然科学版, 1989, 4: 47–49.
- [42] 郭德章, 鄢铮, 赖钟雄, 等. ‘翠秀’黄瓜子叶原生质体的高效培养及植株再生 [J]. 园艺学报, 2003, 30(2): 227–228
- [43] 张兴国, 刘佩英. 黄瓜原生质体培养再生胚状体和植株研究 [J]. 西南农业大学学报, 1998, 20(4): 288–292
- [44] Colijn-Hooymans C M, Bouwer R, Dons J J M. Plant regeneration from cucumber protoplasts [J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 1988, 12(2): 147–150
- [45] 曹利仙, 赵鹏等. 硝酸银对黄瓜离体子叶培养芽再生的促进效应 [J]. 甘肃农业大学学报, 2001, 36(2): 168–171.

Progress on Gene Transformation of Cucumber

ZOU Jinmei¹, ZHANG Guo-guang^{1, 2}, CHEN Liang^{2*}

(1. Department of Biology, Zhangzhou Normal University, Zhangzhou 363000, China

2. School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 365000, China)

Abstract Cucumber (*Cucumis sativus* L.) has been extensively investigated for genetic engineering. Cucumber regeneration systems, genetic transformation methods and factors influencing transformation have been reviewed in this paper. Meanwhile, the problems and the research focus of cucumber transformation were discussed.

Key words cucumber; genetic transformation; progress