

荣文娟,朱迎春,孙德玺,等. 葫芦科作物未受精子房和胚珠离体培养研究进展[J]. 江苏农业科学,2015,43(2):4-7.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.02.002

葫芦科作物未受精子房和胚珠离体培养研究进展

荣文娟, 朱迎春, 孙德玺, 邓 云, 刘君璞
(中国农业科学院郑州果树研究所,河南郑州 450009)

摘要:综述了影响葫芦科作物未受精子房和胚珠离体培养的因素,总结了培养获得植株的倍性鉴定和再生二倍体植株的纯合性鉴定方法,同时对单倍体植株的加倍方法进行简要概述,并提出葫芦科作物未受精子房和胚珠离体培养中存在的问题,为下步工作研究提供参考。

关键词:单倍体;加倍方法;葫芦科;未受精子房;胚珠;离体培养;倍性鉴定;纯合性鉴定

中图分类号:S336;S642.03 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)02-0004-03

葫芦科作物包括多种瓜类蔬菜,广为人们喜爱且具有巨大的经济价值。西瓜、甜瓜(*Cucumis melo*)、黄瓜(*C. sativus*)、南瓜(*C. moschata*)等作物栽培面积逐年增大,但连作障碍和土传病害等影响了它们的产量和品质。而葫芦科作物遗传背景狭窄,常规育种周期长,不易获得目标性状,已很难满足育种要求。单倍体育种可以快速直接地筛选目标性状,拓宽种质资源,从而成为加快育种进程获得新品种的一种高效方法。植物离体雄核和雌核发育可以获得单倍体,但对葫芦科作物而言,通过花药和小孢子培养(雄核发育)获得单倍体的效率很低,诱导未受精的子房和胚珠(雌核发育)是目前流行的方法^[1]。1921年,Blakesly首次在曼陀罗中发现了单倍体植株,此后单倍体就成为研究热点。葫芦科家族通过未受精子房和胚珠离体培养获得单倍体的研究也取得了很大进展(表1)^[2-11]。目前,黄瓜的未受精子房培养已经建立了一套再生体系,单倍体培养获得的材料已经和育种实践相结合,并获得了20多个优良的育种材料^[12-13],但诱导频率却较低(20%)^[14]。裴晓利通过离体诱导黄瓜雌核发育获得单倍体并构建了其DH群体的SSR标记图谱构建^[15];2013年孙守如等通过未受精胚珠培养使胚状体诱导率达到了31.1%,并对其胚胎发育途径进行了观察^[11]。植物的离体雌核发育有愈伤组织和胚状体2条途径,陈学军等通过愈伤组织途径获得西葫芦再生植株^[4],谢冰等通过诱导胚状体途径产生再生植株^[10,16]。周林等近年来对西瓜未受精子房或胚珠离体培养进行了初步研究,但是均未成功获得再生植株^[17-18]。王建设等研究西瓜未授粉子房离体培养得到了单倍体植株并公开发明了其使用的专用培养基^[19]。葫芦科作物未受精子房和胚珠离体培养获得的单倍体已经应用于实践,创造了生产价值,但是培养体中的影响因子众多,每个作物的培养体系还需要探索优化,提高诱导效率。

表1 葫芦科作物未受精子房或胚珠离体培养的研究结果

作物	外植体	结果	参考文献
西葫芦	子房	愈伤组织	[20]
	胚珠	胚囊再生植株	[5,10]
	子房	单倍体	[21-22]
	胚珠	单倍体	[4]
	胚珠	单倍体,二倍体	[23-24]
南瓜	子房	异倍体,二倍体,混倍体	[25]
	子房或胚珠	胚状体	[26]
黄瓜	胚珠	再生植株	[11]
	子房	胚状体	[21]
	子房	再生植株	[13,27]
	子房和胚珠	单倍体,双单倍体	[8]
甜瓜	子房	单倍体,双单倍体,混倍体	[28]
	子房	二倍体,单倍体,其他倍性	[29]
	子房	再生植株	[30]
西瓜	子房	单倍体,二倍体,混倍体	[7]
	子房	单倍体	[19,31]

1 葫芦科未受精子房和胚珠离体培养的主要影响因素

葫芦科作物未受精子房或胚珠离体培养受供体植株的基因型、生长季节和胚囊发育状态、培养基、预处理方式、培养条件等因素影响。

1.1 植株的基因型

植株基因型在培养过程中的差异已经在很多种作物中得到证实,不同基因型对作物产生的影响因作物不同而有差异^[1,32]。Caglar等对27种不同的黄瓜母本进行了研究,结果证明,不同的基因型在辐射花粉诱导孤雌生殖产生单倍体的诱导率没有很大差异^[33]。此后,Faris等用8种不同基因型的黄瓜进行试验,证明同一辐射剂量下的单倍体发生频率同基因型没有关系^[34]。谢冰等研究西葫芦未受精胚珠离体培养结果表明,基因型较接种的胚胎发育时期和培养基组成对胚状体诱导率的影响较小^[10]。裴晓利等研究了9种黄瓜子房切片对诱导培养基的反应,诱导率变化范围为65.52%~93.33%^[15]。同一品种的不同外植体需要的培养基也不一样,Shalaby等发现南瓜的子房和花药在同一培养基中的培养效果完全不一样^[23]。在未受精子房和胚珠培养技术体系中,

收稿日期:2014-04-09
基金项目:国家西甜瓜产业技术体系项目(编号:CARS-26-14)。
作者简介:荣文娟(1990—),女,河南周口人,硕士研究生,主要从事西瓜遗传育种研究。E-mail:rong90921@163.com。
通信作者:刘君璞,男,研究员,硕士生导师,主要从事西瓜遗传育种及栽培技术研究。E-mail:liujunpu@caas.cn。

基因型的反应因不同的培养技术而不同,针对不同的基因型改良培养体系或许可以提高胚状体诱导率。

1.2 生长季节和胚囊发育状态

适当的生长季节可给植株提供优良生长发育环境,植株可达到良好生理状态,胚囊也可有较好的发育状态。魏爱民等研究了植株栽培季节对黄瓜未受精子房离体培养的影响,结果表明,胚状体发生率和植株再生率在温度相对较高的 6 月下旬、7 月上旬及 9 月明显高于其他季节,植株生长发育前期好于后期^[35]。谢冰等在研究西葫芦未受精胚珠离体培养过程中发现不同品种秋播材料的诱导频率最高,且认为这可能与西葫芦是短日性植株有关^[10]。很多研究者认为,成熟期或接近成熟的胚囊的细胞容易诱导孤雌生殖^[36]。牛明明在未受精子房离体培养的试验中发现,外植体最佳取材时间是 16:00—17:00,采取开花前一天的子房诱导率最高^[37]。王朝阳认为,西葫芦植株开花当天和花前一天取胚囊的诱导率差异不明显^[16]。孙守如等认为,雌花开放当天的胚囊已经发育成熟或接近成熟,出胚率最高^[11,38]。Gemes - Juhász 等发现,黄瓜雌花开放前 6 h 的胚囊刚好成熟,胚的诱导率最高^[28]。目前,成功诱导离体雌核发育的植物多数是接种胚囊单核期至接近成熟期的子房或胚珠,而接种大孢子发生时期的子房或过于幼嫩的子房则难以诱导雌核离体发育^[5-6,11]。

在不同的季节,不同的葫芦科作物植株生理状态不一样,开花时间和胚囊发育也会不同,用开花时间来判断胚囊发育达到成熟状态进行观察验证^[39]。

1.3 培养基

通常未受精子房或胚珠培养技术研究中的培养基是研究者注重的部分。从子房或胚珠获得再生植株的程序一般是胚珠或子房在诱导培养基中诱导出胚状体,转接到再生培养基中使之成为植株;若在诱导培养基上长出愈伤组织,则还须在分化培养基上进一步分化出芽,再进一步诱导成为完整植株。研究者通常根据自己的需要调整培养基配方,以达到目的。培养基中除了基本培养基成分可调整外,往往还会通过添加激素、AgNO₃、活性炭等进行组合分析。

有研究发现,基本培养基 H 和 MS 没有明显区别,大多数用的基本培养基为 MS 培养基或其改良型^[40]。基本培养基中的蔗糖可以给外植体提供能量和维持一定的渗透压,一般认为 3% ~ 4% 的蔗糖浓度适合未授精子房的诱导^[41]。在添加了 40 g/L 蔗糖的培养基中,西瓜未受精子房培养中愈伤组织诱导率最高^[18]。陈学军等认为,培养基中不加任何外源激素不能诱导子房的膨大和雌核发育^[4]。陈劲枫等研究了黄瓜子房培养在诱导培养基中添加 0.04 mg/L 2,4-D 使胚状体诱导率达 72.7%^[29]。李建欣等认为,不同浓度的 6-BA 和 NAA 对植株再生率的影响不同^[42]。Malik 等研究的甜瓜未受精子房^[43]、刁卫平等研究的黄瓜未受精胚珠离体培养^[44]结果都表明,适宜浓度的 TDZ 对胚胎形成有促进作用。孙守如等调整南瓜未受精胚珠培养诱导培养基并筛选了最佳组合,为 MS+1.0 mg/L 2,4-D+0.25 mg/L NAA+0.5 mg/L 6-BA,使用 AgNO₃ 对胚状体的形成有明显的抑制作用^[11]。

1.4 预处理方式

在接种作物的子房或胚珠时,一般要先进行预处理以提高出胚率。对预处理方式的研究主要集中在温度上^[2]。

Gemes - Juhász 等在黄瓜未受精子房试验中发现,低温预处理使诱导率降低,而经过 28 ℃ 或者 35 ℃ 高温预处理的黄瓜出胚率和植株再生率比较高^[28]。周林在进行西瓜子房培养时发现,4 ℃ 预处理 72 h 的诱导效果最好^[17]。在南瓜、西葫芦未受精胚珠培养的研究中,很多研究者发现经过适宜时间的黑暗 35 ℃ 热激有利于胚状体的形成^[10,15,42]。在水稻、小麦、辣椒和萝卜等作物的单倍体培养中,用甘露醇、秋水仙素和不同浓度蔗糖等进行预处理方式较多,可以进行尝试。

1.5 培养条件

极大多数未受精子房或胚珠离体培养的研究中采用固体培养基^[12-16],Lofí 等在诱导甜瓜雌核发育时采用液体 E20 培养基培养,在培养黄瓜单倍体胚时也采用液体培养,这样便于检测单倍体胚^[30]。一般胚状体和愈伤组织诱导和分化温度在 24 ~ 30 ℃ 之间,相对湿度为 60% ~ 80%,培养基的 pH 值以 5.8 ~ 6.0 为宜,在葫芦科作物中,前期暗培养约 1 周,后期采用恒温恒光的培养方式效果最佳^[39]。对黄瓜未受精子房诱导的研究结果表明,25 ℃ 下黑暗预培养 1 d 能提高雌核发育的反应率^[45]。在植物的组织培养中,有大量研究光质对组织培养中愈伤组织生长分化有影响;光质也影响大蒜、萝卜、辣椒、葡萄等愈伤组织诱导、增殖和分化^[46];在葫芦科作物未受精子房和胚珠的离体培养中,光质对胚状体的发生和植株再生的影响未见研究报道。

2 植株的倍性鉴定和纯合性鉴定

通常通过未受精子房或胚珠离体培养得到植株的倍性不确定,根尖染色体观察、流式细胞仪测定、分子手段测定、细胞学观察及田间观察等方法可以鉴定再生植株的倍性^[47]。根尖染色体计数是确定植株倍性最精确的一种方法,但对培养过程中自然加倍的植株无法鉴定其纯合性。流式细胞仪鉴定相对比较昂贵,对于二倍体和多倍体植株的纯合性依然无法鉴定。王璐等得到的再生植株经流式细胞仪鉴定为二倍体,之后通过田间性状观察比较初步鉴定为双单倍体植株^[45]。对再生植株利用分子标记手段进行的鉴定迅速可靠。Diao 等用 SSR 分子标记手段鉴定黄瓜子房培养获得的二倍体植株的纯合性,再生的二倍体植株中有 51.5% 鉴定为双单倍体植株^[29]。苏敏等用 EST-SSR 鉴定西葫芦再生植株的倍性水平,并通过保卫细胞叶绿体计数法及流式细胞仪证实 SSR 标记分析的结果是可靠的^[48]。研究者可以在可能的情况下,利用多种手段快速准确地确定再生植株的倍性水平。

3 单倍体植株加倍

获得的再生单倍体植株加倍方法有自然加倍和人工加倍,其中自然加倍的频率受植株基因型影响^[49]。葫芦科染色体人工加倍主要用秋水仙素处理^[2,50-51]。Caglar 等分析黄瓜单倍体染色体加倍,表明植株浸入 0.5% 秋水仙碱处理 4 h,达到 60% 的最高平均加倍效率^[52]。Niemirowicz - Szezytt 等的早期试验显示,须在试管中用 0.1% 秋水仙碱多次(3 ~ 5 次)处理植株的分生组织尖才可获得比较好的加倍结果^[50]。有研究以黄瓜单倍体再生植株的叶子作为外植体接种加倍,比用秋水仙碱处理更有效^[53]。Faris 等用单倍体植株的第 1、第 2 张叶片为外植体直接再生出黄瓜的双单倍体系(DHs),因此再生组织的

发展年龄可能是染色体加倍效率的重要影响因素^[54]。

4 存在问题及展望

葫芦科作物中的黄瓜、南瓜、甜瓜和西瓜种植范围广且有很高经济价值,人们对其品质和产量的需求也不断提高。传统育种方法培育新品种周期长且难以选到目标性状,单倍体育种和传统育种方法结合则能很快获得大量种质资源,直接选育新品种。雌核发育是通过诱导获得单倍体的一条途径,葫芦科作物黄瓜、南瓜、西葫芦、甜瓜通过未受精子房和胚珠离体培养也获得了单倍体植株。但是,目前的研究中还有两方面值得深入:第一,通过未受精子房和胚珠诱导单倍体成功获得再生植株的诱导率还不高,没有建立获得高胚状体发生率和植株再生率的完整培养体系;第二,关于雌核发育诱导机制的研究还处于空白状态,缺乏基因调控层面的研究,培养过程中引起细胞学变化和生理生化变化的研究也较少。未受精子房和胚珠离体培养的研究还处于初步阶段,随着以后研究的深入探索,能获得更多利用单倍体及其双单倍体系育种的信息,真正和育种工作相结合,提高育种效率,缩短育种年限。

参考文献:

- [1]雷春,陈劲枫. 葫芦科蔬菜作物单倍体材料创制的研究进展[J]. 中国蔬菜,2006(1):33-36.
- [2]Gałazka J, Niemirówic - Szczytt K. Review of research on haploid production in cucumber and other cucurbits[J]. Folia Hort,2013,25(1):67-78.
- [3]Sauton A, de Vaulx R D. Doubled haploid production in melon (*Cucumis melo* L.) [C]// Avignon: Proc Eucarpia Meeting on Cucurbitaceae. 1988;119-128
- [4]陈学军,邢国明,陈竹君,等. 西葫芦未授粉胚珠离体培养和植株再生[J]. 浙江农业学报,2000,12(3):165-167.
- [5]郭永强,王建设,张慧玲,等. 西葫芦胚囊再生植株倍性鉴定方法研究[J]. 华北农学报,2004,19(3):80-83.
- [6]王文和,未授粉子房和胚珠离体培养诱导植物雌核发育研究进展[J]. 植物学通报,2005,22(增刊):108-117.
- [7]Ficcadenti N, Sestili S, Annibali S, et al. *In vitro* gynogenesis to induce haploid plants in melon (*Cucumis melo* L.) [J]. Journal of Genetics and Breeding,1999,53:255-257.
- [8]Dirks R. Method for the production of double-haploid cucumbers: USA,5492827[P]. 1996-02-20.
- [9]伍成厚,梁承邨,叶秀麟. 被子植物未受精胚珠与子房离体培养的研究进展[J]. 热带亚热带植物学报,2004,12(6):580-586.
- [10]谢冰,王秀峰,樊治成. 西葫芦未受精胚珠离体培养条件的优化及胚囊植株的产生[J]. 中国农业科学,2006,39(1):132-138.
- [11]孙守如,章鹏,胡建斌,等. 南瓜未受精胚珠的离体培养及植株再生[J]. 植物学报,2013,48(1):79-86.
- [12]程俊跃,梁芳芳,胡建斌,等. 通过未授粉子房培育黄瓜单倍体研究进展[J]. 长江蔬菜,2008(6):35-37.
- [13]杜胜利,马德华. 生物技术与常规育种相结合培育优良蔬菜品种[J]. 农业与技术,2002,22(2):59-63.
- [14]苏华,金宝燕,任华中. 黄瓜单倍体育种的研究进展[J]. 农业工程学报,2005,21(增刊):13-15.
- [15]裴晓利. 黄瓜离体雌核发育诱导单倍体及其DH群体SSR标记图谱构建[D]. 兰州:甘肃农业大学,2011.
- [16]王朝阳. 西葫芦 (*Cucurbita pepo* L.) 胚珠培养技术及雄花花粉发育研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2012.
- [17]周林. 西瓜花药,子房和子叶离体培养影响因素的研究[D]. 南宁:广西大学,2009.
- [18]李玲,唐炎英,闵子扬,等. 葫芦科蔬菜未受精子房离体培养的研究进展[J]. 长江蔬菜,2013(10):7-10.
- [19]北京市农林科学院. 西瓜单倍体的生产方法及其专用培养基:中国,CN201010178184.2[P]. 2011-11-16.
- [20]Shail J W, Robinson R W. Anther and ovule culture of *Cucurbita* [J]. Cucurbit Genetics Coop,1987,10:92.
- [21]Gémes - Juhász A, Venczel G, Balogh P. Haploid plant induction in zucchini (*Cucurbita pepo* L. convar. *giromontina* Duch) and in cucumber (*Cucumis sativus* L.) lines through *in vitro* gynogenesis [J]. Acta Hort,1997,447:623-625.
- [22]Chambonnet D, de Vaulx R D. Obtention of embryos and plants from *in vitro* culture of unfertilized ovules of *Cucurbita pepo* [J]. Genetic Manipulation in Plant Breeding,1986,8:295-297.
- [23]Shalaby T A. Factors affecting haploid induction through *in vitro* gynogenesis in summer squash (*Cucurbita pepo* L.) [J]. Scientia Horticulturae,2007,115(1):1-6.
- [24]Metwally E, Moustafa S A, Shalaby T A. Haploid plantlets derived by anther culture of *Cucurbita pepo* [J]. Plant Cell Tiss Org Cult,1998,52(3):171-176.
- [25]Chambonnet D, de Vaulx D. Obtention of embryos and plants from *in vitro* culture of unfertilized ovules of *Cucurbita pepo* [J]. Cucurbit Genetics Coop,1985,8:66.
- [26]Kwack S N, Fujieda K. Somatic embryogenesis in cultured unfertilized ovules of *Cucurbita moschata* [J]. J Jpn Soc Hort Sci,1988,57:34-42.
- [27]Suprunova T, Shmykova N. *In vitro* induction of haploid plants in unpollinated ovules, anther and microspore culture of *Cucumis sativus* [C]//Proceedings of the IXth EUCARPIA meeting on genetics and breeding of Cucurbitaceae. Avignon,2008:371-384.
- [28]Gémes - Juhász A, Balogh P, Ferenczy A, et al. Effect of optimal stage of female gametophyte and heat treatment on *in vitro* gynogenesis induction in cucumber (*Cucumis sativus* L.) [J]. Plant Cell Rep,2002,21,105-111.
- [29]Diao W P, Jia Y Y, Song H, et al. Efficient embryo induction in cucumber ovary culture and homozygous identification of the regenerants using SSR markers [J]. Scientia Horticulturae,2009,119(3):246-251.
- [30]Lotfi M, Alan A R, Henning M J, et al. Production of haploid and doubled haploid plants of melon (*Cucumis melo* L.) for use in breeding for multiple virus resistance [J]. Plant Cell Reports,2003,21(11):1121-1128.
- [31]李玲,闵子扬,孙小武,等. 西瓜未授粉子房的离体培养[J]. 中国瓜菜,2014,27(6):6-10.
- [32]Chen J F, Cui L, Malik A A, et al. *In vitro* haploid and dihaploid production via unfertilized ovule culture [J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture,2011,104(3):311-319.
- [33]Caglar G, Abak K. Progress in the production of haploid embryos, plants and doubled haploids in cucumber (*C. sativus* L.) by gamma irradiated pollen [J]. Acta Horticulturae,1999,492:317-322.
- [34]Faris N M, Niemirówic - Szczytt K. Cucumber (*Cucumis sativus* L.) embryo development *in situ* after pollination with irradiated pollen [J]. Acta Biologica Cracoviensia/Botanica,1999,41:111-118.
- [35]魏爱民,韩毅科,杜胜利,等. 供体植株栽培季节和栽培方式对黄瓜未受精子房离体培养的影响[J]. 西北农业学报,2007,16(5):141-144.

张 兵, 韩 霞, 庄 斌, 等. 介电特性在作物需水诊断中的应用研究进展[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(2): 7-9.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.02.003

介电特性在作物需水诊断中的应用研究进展

张 兵^{1,2}, 韩 霞², 庄 斌², 左承鹏²

(1. 农业部旱作节水农业重点实验室, 北京 100081; 2. 常州工学院电子信息与电气工程学院, 江苏常州 213002)

摘要: 为了能及时可靠地提供农作物旱情信息, 建立完善的节水灌溉系统, 本文综述了介电特性与作物需水的关系以及国内外学者对作物生理电特性在生理水分信息提取方面的研究现状, 指出了作物介电特性在作物需水诊断中的潜在价值以及目前存在的不足, 并对作物介电特性在农业灌溉领域中的应用前景进行了展望。

关键词: 介电特性; 作物; 需水诊断

中图分类号: S274 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)02-0007-03

生物电特性在医学工程领域的应用早已普及, 但农作物生理电特性的应用却一直没有得到发展。我国水资源短缺, 人均水资源只有约 2 000 m³, 绝大部分水资源都用于农业灌溉, 传统的灌溉技术根据土壤含水量诊断旱情, 虽然方法较为成熟, 但作物叶片的生理水分状况更能敏感地反映植株的干旱程度, 所以以作物自身水分状况为灌溉依据比以土壤水分状况为依据更可靠, 更能精确诊断作物需水问题。研究介电特性与作物需水的关系, 能给农作物旱情提供及时可靠的信息, 提高农业灌溉水的利用率, 对改变我国传统灌溉方式, 建

立完善的节水灌溉系统有着重要意义。本文通过查阅国内外大量相关文献, 综合目前国内外对于植物电特性的变化规律以及电特性与作物需水之间关系的研究, 预测介电特性在作物需水诊断中的发展趋势。基于目前在作物介电特性方面取得的成果, 总结作物含水率与介电特性之间的关系, 为今后作物需水的快速无损测量提供基础, 促进精细农业发展。

1 介电特性的概念及应用

1.1 介电特性与介电常数

物质的电特性分为导电特性和介电特性。介电特性是生物分子中的束缚电荷对外加电场的响应特性, 它的参数主要包括相对介电常数, 相对介质损耗因数, 介质损耗角正切和介质等效阻抗。介电常数 ϵ_r , 也称相对电容率, 是电介质固有的一种物理属性, 它表示电介质存储电场能量的能力, 也反映该电介质提高电容器容量的能力。一般电介质都有着自己

收稿日期: 2014-04-04

基金项目: 农业部旱作节水农业重点实验室基金(编号: BSRF201404)。

作者简介: 张 兵(1976—), 男, 山西大同人, 博士, 副教授, 研究方向为节水灌溉智能决策、作物生理电特性的研究。E-mail: zhangb@czu.cn。

[36] 张伶俐, 崔崇士, 屈淑平. 植物离体雌核发育的研究进展[J]. 东北农业大学学报, 2009, 40(11): 133-136.

[37] 牛明明. 甜瓜离体雌核发育诱导单倍体研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2012.

[38] 葛志东. 西葫芦未授粉子房离体培养研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2009.

[39] 孙守如, 翟庆慧, 胡建斌, 等. 几种生理因素对子房未授粉南瓜胚形成的影响[J]. 植物生理学通讯, 2009, 45(10): 977-980.

[40] Kantartzi S K, Roupakias D G. *In vitro* gynogenesis in cotton (*Gossypium* sp.) [J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 2009, 96(1): 53-57.

[41] 徐 静. 西葫芦雌核离体高效培养体系的建立[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2007.

[42] 李建欣, 葛桂民, 庞淑敏, 等. 三个基因型黄瓜品种未授粉子房胚状体诱导及植株再生研究[J]. 北方园艺, 2012(23): 131-134.

[43] 杨明贵, 王毓洪, 李林章, 等. 葫芦科植物未授粉子房培育单倍体研究进展[J]. 长江蔬菜, 2013(2): 9-12.

[44] 刁卫平, 陈劲枫, 雷 春, 等. 影响黄瓜未授粉子房培养胚发生因素的研究[J]. 南京农业大学学报, 2008, 31(1): 137-140.

[45] 王 璐, 陈小燕, 张 力, 等. 不同因素对黄瓜未授粉子房胚状体诱导的影响[J]. 西北农业学报, 2008, 17(4): 267-270.

[46] 廖祯妮, 于晓英, 符红艳. 光质影响植物离体再生培养的研究进展[J]. 湖南农业科学, 2012(23): 96-99.

[47] 韩毅科, 杜胜利, 王 鸣, 等. 瓜类遗传育种中的染色体倍性操作[J]. 天津农业科学, 2002, 8(3): 30-34.

[48] 苏 敏, 张国裕, 赵尊练, 等. 西葫芦单倍体诱导及分子检测鉴定[J]. 西北农业学报, 2011, 20(10): 79-84.

[49] 郭凤领, 戴照义, 李金泉, 等. 通过雌核发育获得葫芦科蔬菜作物单倍体的研究进展[J]. 北方园艺, 2008(1): 59-60.

[50] Niemirówicz - Szczytł N. Diploidization of cucumber (*Cucumis sativus* L.) haploids by colchicines treatment [J]. Acta Societatis Botanicorum Poloniae, 1996, 65: 311-317.

[51] Yetisir H, Sair N. A new method for haploid muskmelon (*Cucumis melo* L.) dihaploidization [J]. Sci Hort, 2003, 98: 277-283.

[52] Caglar G, Abak K. *In vitro* colchicine application of haploid cucumber plants [J]. Cucurbit Genetics Coop, 1997, 20: 21-23.

[53] Sztangret - Wiśniewska J, Galecka T, Kiorzeniewska A, et al. Characteristics of double-haploid cucumber (*Cucumis sativus* L.) lines resistant to downy mildew (*Pseudoperonospora cubensis* Rostovtzev) [J]. Cucurbitaceae, 2006: 515-526.

[54] Faris N M, Rakoczy - Trojanowska M, Malepszy S, et al. Diploidization of cucumber (*Cucumis sativus* L.) haploids by *in vitro* culture of leaf explant [J]. Food Biotechnology, 2000, 17: 49-54.