

植物抗病机制及果树抗病育种研究进展

张丽丽, 师校欣, 杜国强, 王惠英

(河北农业大学 园艺学院, 河北 保定 071001)

摘要:果树病害对果品生产危害严重, 长期以来科技工作者们致力于植物抗病机制研究并利用育种方法进行品种改良, 以提高果树抗病能力。本文综述了近年来国内外学者在植物物理结构特征与抗病性的关系以及化学抗菌物质与抗病性的关系等方面研究, 回顾了果树在抗病育种方面所取得的研究成果, 论述了转基因技术在果树抗病育种中的应用, 以期为今后果树抗病育种研究提供参考。

关键词: 果树; 抗病性; 育种

中图分类号: S332.2 文献标识码: A 文章编号: 1000- 7091(2006) 增刊- 0175- 05

Research Advances on Mechanism of Disease Resistance in Plants and the Breeding in Fruit Trees

ZHANG Li_li, SHI Xiao_xin, DU Guo_qiang, WANG Hui_ying

(College of Horticulture, Agriculture University of Hebei, Baoding 071001, China)

Abstract: The affection of diseases is a seriously problem in the fruit production. In order to increase the ability of the disease resistance in fruit trees, the scientists have been working on the understanding of the mechanism of disease resistance and the breeding program for a long time. This paper reviewed the relationships between physical structure characteristics and disease resistance as well as the relationships between chemic antibacterial matter and disease resistance, and the achievements of breeding and the application of gene transformation in fruit trees, which could be a reference to the further study of the breeding of disease resistance in fruit trees.

Key words: Fruit tree; Disease resistance; Breeding

在果品生产中, 病虫害严重影响产量和品质, 给生产带来巨大损失。果树病害中真菌病害占90%以上, 如苹果腐烂病、干腐病、轮纹病在我国各苹果产区发生非常普遍, 危害严重, 轻者树体病斑累累, 树势衰弱、产量低、果实品质差或没有商品价值, 重者枝干残缺不全, 甚至整株枯死、全园毁灭^[1]。如何有效地防治果树病害, 实现果树生产的优质、高效、低耗, 是果树生产上的当务之急。传统的药剂防治容易使病原真菌产生抗药性, 而且会造成果实的农药残留和环境污染, 因此防治果树病害的根本途径依赖于培育抗病品种。

虽然我国在果树的抗病育种方面取得了一些成就, 但由于果树童期长、自交不亲和、杂合程度高等

原因, 通过常规杂交育种对其改良相当困难^[2], 而采用遗传转化的手段则可克服上述缺点, 在向现有品种引进期望性状的同时, 不会出现基因的大量重组, 也避开了童期的干扰。该项技术已为作物的抗病育种带来革命性的变化, 许多作物已获得了抗病、抗虫的基因工程植株^[3]。本文对植物抗病机制的研究以及果树抗病育种的成就作一回顾, 并对转基因技术在果树抗病育种中的应用前景进行了讨论。

1 植物抗病机制的研究

植物抗病因子一般分为结构因子和生化因子两类, 前者主要指植物表面角质层和细胞壁的组成和厚度, 还包括胼胝质、栓质、木质素等, 它们限制和阻

收稿日期: 2006- 07- 21

基金项目: 河北省自然科学基金(C2006000451); 河北农业大学博士、引进人才启动基金资助项目

作者简介: 张丽丽(1980-), 女, 河北丰润人, 在读硕士, 主要从事果树生物技术研究; 师校欣为通讯作者。

碍病原物的侵入;后者主要指抑制病原物对寄主植物结构物质和代谢能力起直接杀伤作用的物质,包括病原物降解酶的抑制剂、植保素、酚类化合物和降解病原物细胞壁的酶(如几丁质酶 Chitinase、葡聚糖酶 β -1,3-glucanase 等)^[4-8]。

1.1 物理结构特征与抗病性的关系

植物的许多结构特征都与抗病性有关:

1.1.1 角质层或腊质 一些研究^[9,10]表明,角质层的某些特征,如叶面防水特性,使得那些由水滴携带的真菌的湿润孢子不能停留在叶面上,从而起着抵抗病菌侵入的作用。有的植物的角质层含有能够抑制某些真菌生长的物质。有的研究也发现,腊质层有减缓或延缓发病的作用。

1.1.2 气孔、皮孔或绒毛 气孔或皮孔的形状、大小、密度、行为和发育程度已被证明与病原菌必须通过气孔或(和)皮孔侵入的一些病害有关。

1.1.3 叶面刺毛 叶面刺毛的多少对病原菌的侵入并非有直接关系,而是通过刺毛来抗传染介体(如蚜虫等),从而减少病毒的传播而表现抗病^[11]。

1.2 化学抗菌物质与抗病性的关系

许多预先形成的具有抗菌性的化学物质都与植物的抗病性有关,这些物质通常在健康的植物体中含量较高,在植物受到侵染后,这些物质便转化为更加有效的病菌毒素。例如核果类果树中有些品种含有多酚氧化酶氧化产物,能抑制褐腐病菌的水解酶活性,故可抗褐腐病。此外,结构蛋白与木质素也与植物的抗病性有关^[11]。

1.3 几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶在植物抗病中的作用

几丁质是一种广泛分布于多数真菌细胞壁上的主要成分,它是 N-乙酰-D 葡萄糖胺以 β -1,4 糖苷键连接的多聚物。植物中的 N-乙酰葡萄糖胺以糖酯键形式存在,而非线性同聚物,即植物中缺少该酶的有效底物。所以几丁质酶可以降解病原真菌细胞壁中的几丁质破坏细胞新物质的沉积致使病原体死亡,而且产生的细胞壁碎片具有诱导作用,从而刺激寄主植物的抗病反应。几丁质酶的定位研究表明,几丁质酶总在侵入植物体内的菌丝周围积累,位于细胞间隙的几丁质酶在被病原真菌侵染后首先诱导表达,而位于液泡中的几丁质酶只有在细胞裂解破裂后才能起到抗菌的作用。多数病原真菌对植物的侵染从细胞间隙开始,为了使植株能抵抗真菌侵染,抗真菌蛋白最好在胞间表达。对于在液泡中表达的

几丁质酶基因,可以通过修饰,使其在细胞间隙中表达而且保持其抑菌活性。植物几丁质酶在体内表达定位的不同还导致其抗菌性的特异性,由于成熟的真菌菌丝顶端的几丁质酶层的外层还有 β -1,3-葡聚糖、类脂层等,因此,几丁质酶还需要与其他 β -1,3-葡聚糖酶等防卫蛋白协同作用才可以充分发挥抑菌活性,体外抑菌试验也证明了这一点^[12]。

几丁质酶抗病性机制的研究已为病原真菌防治提供了新的线索,它的利用策略主要有 3 种:①直接应用,即将酶直接施用于灌溉水或与种衣剂混合以保护幼苗不受土壤真菌的侵染;②将几丁质酶基因引入根围细菌,使该工程菌表达分泌几丁质酶;③将基因导入植物,转基因植物可表达几丁质酶活性。对于第 3 条途径,近年研究已取得显著进展^[13]。目前已从近 100 种植物中检测出几丁质酶活性,许多植物几丁质酶基因被克隆,这使通过转几丁质酶基因来增强作物抗病性越来越成为现实,这将是几丁质酶应用研究的一个重要方向^[14]。已有 10 多种植物用几丁质酶基因进行了转化,如烟草、黄瓜、番茄、马铃薯、苹果、玫瑰、小麦、水稻、胡萝卜、芸苔、花生、甜菜、大豆等,这些转基因植物不仅对真菌病害具有一定的抗性,而且还对植物线虫、昆虫和其他一些病原物具有抗性^[12]。

与几丁质相似, β -1,3-葡聚糖酶能催化水解真菌细胞壁的主要成分 β -1,3-葡聚糖和 β -1,6-葡聚糖,水解的寡聚产物也可以称为植物防卫反应的重要激发子。由于 β -1,3-葡聚糖和几丁质是真菌细胞壁的主要成分,许多真菌的菌丝顶端 β -1,3-葡聚糖和几丁质暴露在表面,能够直接受到 β -1,3-葡聚糖酶和几丁质酶的攻击。体外抑菌试验表明, β -1,3-葡聚糖酶对真菌菌丝的生长具有明显的抑制作用,不过只有液泡定位的碱性葡聚糖酶能够降解菌丝壁,从而抑制其生长;而胞间定位的 β -1,3-葡聚糖酶则无抑菌活性。更重要的是,在水解过程中由真菌释放出来的寡糖同样能够作为植物多种抗病反应的激发因子,诱导植物的抗病防卫反应^[12]。

研究证明,几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶协同作用比单种酶抑菌能力更强。Mariame 等报道,通过从烟草中提取的几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶各自的同工酶进行抑菌效果分析,结果发现 Class I 几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶(胞内蛋白)对 *Fusarium solani* 幼菌体生长具有最高的抑菌活性,可明显导致菌丝顶端的裂解并进而抑制该菌的生长,证明这 2 种酶具

有良好的协同抑菌作用。

植物中不含几丁质,在某些植物的初生细胞壁中含有 β -1,3-葡聚糖^[15]。几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶存在于植物和微生物中,为单基因编码,正常情况下,植物体内这两种酶只是低水平组成型表达,对植物没有伤害作用。两种酶各具一系列不同类型及同工酶,其中一些抑菌活性较强^[16]。目前转入外源几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶在植物抗真菌病基因工程中显示出良好的应用前景,并证明2个基因的抑菌效果远高于单个基因。同时编码几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶的双价基因构建和转化,将有助于获得更加有效、广谱和持久的抗病性,此方面研究在番茄^[17]、小麦^[18]、水稻^[19]、棉花^[20]上已取得一定进展。

2 果树抗病育种研究进展

2.1 实生选种

我国原产果树的栽培品种,绝大多数起源于自然实生(其中可能有少数起源不明芽变),通过生产实践,逐步选择形成地方品种。实生选种是育种中最原始的方法,方法简单;不足之处是要求保持原有的优良特性,变异范围小,变异类型少。沂水仲秋苹果是沂水县诸葛镇果树站科技人员1997年在红石崖村8年生富士果园中发现的一实生优良异株。该品种结果性状稳定,果大,丰产,成熟早,叶片特别抗红蜘蛛、潜叶蛾、叶斑病、白粉病等病虫害^[21]。

2.2 芽变选种

芽变选种是通过自然界芽分生组织细胞的变异,即体细胞的突变来选择新的变异类型,进而培育成为新品种的一种育种方法。生产中常有某些品种植株或枝芽受到外界某因子影响发生新的突变体,通过该途径人们选择出很多新品种。早醒艳是辽宁农业职业技术学院从1992年嫁接、1993年定植的冠春桃选育的芽变新品种,该品种早熟、外观美丽、耐贮藏、丰产性好、抗逆性强而且对细菌穿孔病、蚜虫等病虫害有较强的抗性^[22]。

2.3 杂交育种

杂交育种是针对期望的育种目标,获得具有双亲优良特性的新品种的一种最有效的育种方法。利用这一方法湖北省农科院果茶所培育出了丰产、优质、抗病性强的中、晚熟梨金水1号(长十郎×江岛)^[23];青岛农科所用富士作母本,秋红为父本,杂交育成了苹果新品种——富红。经过品种比较试

验、区域试验和生产试栽,该品种果个大,品质优良,色泽鲜艳,外观美丽,抗逆性、抗病虫性、早果丰产性皆优于对照品种首红^[24];甘肃省农科院果树所于1985年采用巨峰×卡氏玫瑰杂交后用杂种幼胚培养获得的试管苗选育成葡萄品种醉人香,除果实经济性状和生长结果习性优良以外,植株抗白粉病,叶片抗早衰,抗寒性比较强^[25]。

2.4 诱变育种

自然变异特别是优变毕竟较少,为获得大量变异类型,采用理、化人工诱变方法,如利用⁶⁰Co γ 射线或热中子等进行枝条、种子或花粉照射处理,从变异中选择新变异类型。我国果树辐射诱变育种始于60年代,树种有苹果、梨、山楂、板栗等。内蒙古园艺所李志英等从1981年起对梨进行辐射育种,用苹果梨、朝鲜洋梨、早酥和锦丰威材料,用⁶⁰Co γ 射线照射休眠枝和生长枝,然后嫁接在5年生山梨砧木上,对初生枝强度短截和连续摘心。从中选出了“朝辐1号”等优良新品系。这些性状包括树体矮化、抗寒、抗腐烂病、早果、高产、丰产和品质佳等^[23]。

2.5 生物技术育种

传统育种方法包括实生选种、芽变选种、杂交育种、诱变育种中有关抗病育种的报道很少,育种的目标性状也大多是在果实风味、果个大小、果实着色、果实成熟期等经济性状方面,选育成功的部分新品种中有些具有抗病性状,但并不是作为主要的目标性状来进行选育的。自20世纪80年代末起,人们已开始探索新的转基因的途径,即通过细胞工程和基因工程手段,将理想的基因转到优良的栽培品种中去,以达到定向改良品种或砧木的目的,这一技术为果树育种提供了新的途径^[26]也成为果树抗病育种的主要手段。

生物技术是20世纪中叶兴起的一项高新技术,它包括胚胎培养育种、胚乳培养育种、花培养种、离体诱变育种、原生质体培养育种与细胞融合育种、基因工程育种等。生物技术育种弥补传统育种的不足,带动了农业科学全方位的技术革命,也给果树育种开辟了全新的道路,突破了长期得不到解决的技术难点,展示了广阔的发展前景。在生物技术抗病育种中,基因工程育种发展的最为迅速与广泛。果树转基因研究始于20世纪80年代末期,McGranahan等^[27]于1988年获得转基因核桃,是世界首例成功的转基因果树。到目前为止,已有多多个果树树种和品种得到成功转化,并表现了良好的抗病性。

自 1989 年 James 等^[28] 最早实现苹果转基因以来,已有 20 多个品种的苹果得到成功转化。在诸多转基因苹果中,研究得最多的是抗火疫病,通过导入抗菌肽基因^[29, 30] 或与抗病相关的信号肽 *attacin E* 基因^[31] 均可有效地增强苹果对火疫病的抗性,尤以 *attacin E* 基因的效果最明显。此外,几丁质酶基因的应用也引起了研究者的注意, Norelli 等^[32] 将该基因导入嘎拉苹果,结果表明几丁质酶基因的表达水平与抗疮痂病的能力成正相关,但同时内源几丁质酶基因的表达对植株生长有抑制作用,转化植株的高度和叶片的数量都显著低于未转化的植株^[33]。

草莓也是转基因研究较常采用、成果较为丰硕的果树树种之一。在提高植株抗性方面, Finslad 等^[34] 获得了抗草莓黄叶病毒的转基因植株。

美国康奈尔大学 Kikkert 等成功获得了表达有几丁质酶基因活性的葡萄接穗品种,这些转基因植株正被用来测定对白粉病、霜霉病和 *Botrytis* 等真菌病害的防治效果^[35]。

Reyniord 等^[36] 和 Mourgues 等^[37] 分别向梨中导入 *attacin E* 基因以及抗菌肽 *cecropins* 基因,均增强了梨对火疫病的抗性。几年来 Pulerka 等^[38] 在梨中导入抗菌肽 D5C1 基因,不仅提高了植株抗火疫病的能力,还能显著降低梨木虱蛹、幼虫和成虫在梨树上的为害。

比利时科学家 Moffal 等^[39] 将抗真菌蛋白导入香蕉,所得转基因植株可抗香蕉最严重的真菌病害香蕉叶斑病。

我国科学家方宏筠等^[40] 于 1999 年成功地将抗菌肽基因导入樱桃。

1990 年美国研究者率先建立了番木瓜遗传转化体系^[41],随后进行了抗番木瓜环斑病毒病的转基因研究以及转基因品种的推广工作^[42],成为世界上最早实现转基因植株商品化的多年生果树^[43]。赵志英等^[44] 将核酶基因导入番木瓜获得转基因植株,对番木瓜环斑病毒病也有一定的抗性。

汤浩茹等^[45] 将哈兹木酶基因导入核桃获得转基因苗以提高抗真菌病的能力。

虽然各国学者在抗病基因工程的研究上取得了许多可喜的成绩,但我们也必须认识到采用基因操作获得的只是一种人工种质新材料,而不是生产上可以立即应用的新品种,运用基因工程技术进行的抗病育种,解决农业生产上真菌危害的难题,并不是一个单一的技术,而是靠分子生物学、植物病理学、

遗传育种等多学科的深入研究和紧密合作。随着对病原真菌致病分子机理和基因表达调控机理研究的深入,果树抗病基因工程将在生产上得到广泛的应用。

综上所述,果树抗病育种已经取得了一定的成绩,但任重道远。组织培养和遗传操作技术的迅速发展与逐步深入和完善,将促进育种效率的提高,加快品种改良的步伐。今后我们应该从以下方面努力:①生物技术育种与常规育种并举,生物技术要以常规育种为基础,常规育种要靠生物技术不断的改进、提高和更新,做到优势互补、密切结合。②不断完善细胞工程和基因工程育种技术,重视育种实践应用^[46]。

参考文献:

- [1] 冯 斌. 异戊烯基转移酶基因转化苹果的研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 1998
- [2] Brown A G. Apples[A]. In: Janick J. More JN. Advances in Fruit Breeding[M]. West LaFayette: Purdue Univ. Press. 1975: 3- 37.
- [3] 刘庆忠, 赵红军, Hammerschlag F A. 培育苹果转基因植株的研究[J]. 落叶果树, 2000, (1): 5- 9
- [4] 王金生. 植物抗病性分子机制[J]. 植物学报, 1995, 25(4): 289- 295
- [5] Bartley D J, Kjellbom P, Lamb C J. Elicitor and wounded induced oxidative cross-linking of a proline-rich plant cell wall protein: A novel rapid defense response[J]. Cell. 1992, 70: 20- 30
- [6] Hildmann T, Ehnert M, Pena-Cortes H, et al. General roles of abscisic and jasmonic acids in gene activation as a result of mechanical wounding[J]. Plant Cell. 1992, 4: 1157- 1170
- [7] Brokaert W F, Terras F R G, Cammue B P A, et al. Plant defensins: Novel antimicrobial peptides as components of the host defense system[J]. Plant Physiol. 1995, 108: 1353- 1358
- [8] 杜道林, 郑学勤. 植物基因工程抗病育种现状及发展[J]. 海南师范学院学报, 1999, 12(1): 87- 93
- [9] 汪隆植. 蔬菜抗病育种学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998, 10
- [10] 许 勇, 王新建, 葛秀春, 等. 枯萎病菌诱导的结构抗性和相关酶活性的变化与西瓜枯萎病抗性的关系[J]. 果树科学, 2000, 17(2): 123- 127
- [11] 刘会宁, 曹国先. 园艺植物的抗病机制[J]. 特产研究, 2004, 3: 61- 66
- [12] 李春娟, 单世华, 许婷婷, 等. 几丁质酶和 β -1,3- 葡聚糖酶基因研究进展[J]. 生物技术通讯, 2004, 15(5): 502- 505

- [13] 王关林, 方宏筠. 植物基因工程[M](第二版). 北京: 科学出版社, 2002, 33.
- [14] 欧阳石文, 赵开军, 冯兰香, 等. 植物几丁质酶的研究进展[J]. 生物工程进展, 2001, 21(4): 30–34.
- [15] 舒群芳, 孙勇如. 抗真菌植物基因工程的策略和进展[J]. 植物学报, 1997, 39(1): 91–96.
- [16] 郝转芳, 毛雪, 李润植. 转基因改良植物抗真菌病害的策略及其进展[J]. 生物技术通报, 2001, 6: 5–11.
- [17] 李继红, 邵寒霜, 郑楷, 等. 烟草类几丁质酶和 β -1,3葡聚糖酶 cDNA 植物双价表达载体的构建及转化番茄的研究[J]. 热带作物学报, 1999, 20(1): 29–33.
- [18] 叶兴国, 程红梅, 徐惠君, 等. 转几丁质酶和 β -1,3葡聚糖酶双价基因小麦的获得和鉴定[J]. 作物学报, 2005, 31(5): 583–586.
- [19] 袁红旭, 张建中, 郭建夫, 等. 种植转双价抗真菌基因水稻对根际微生物群落及酶活性的影响[J]. 土壤学报, 2005, 42(1): 122–126.
- [20] Wu Jiahe, Zhang Xianlong, Luo Xiaoli, et al. Transgenic Cotton Plants of Chitinase and Glucanase Genes and Their Performance of Resistance to *Verticillium dahliae*[J]. Acta Genetica Sinica, 2004, 31(2): 183–188.
- [21] 王成贵, 焦自香, 田宝江. 苹果新品种——沂水仲秋苹果[J]. 烟台果树, 2001, (3), 56.
- [22] 刘恩璞, 蒋锦标, 刘广平. 保护地桃新品种——早醒艳[J]. 落叶果树, 2000, 3: 36–37.
- [23] 柴明良, 沈德绪. 中国梨育种的回顾和展望[J]. 果树学报, 2003, 20(6): 379–383.
- [24] 韩明三, 王宝昌, 刘学才, 等. “富红”苹果的选育研究[J]. 落叶果树, 2000, 6: 25–26.
- [25] 高彦仪, 侯伯平, 王发林, 等. 葡萄品种醉人香的选育研究报告[J]. 甘肃农业科技, 2001, 1: 27–29.
- [26] 杨莉, 徐昌杰, 陈昆松. 果树转基因研究进展与产业化展望[J]. 果树学报, 2003, 20(5): 331–337.
- [27] McGranahan G H, Leslie C A, Uratsu S, et al. Agrobacterium-mediated transformation of walnut somatic embryos and regeneration of transgenic plants[J]. Bio/Technology, 1988, 6: 800–804.
- [28] James D J, Passey A E, Barbara D J, et al. Genetic transformation of apple (*Malus pumila* mill.) using a disarmed Ti-binary vector[J]. Plant Cell Rep, 1989, 7: 658–661.
- [29] Liu Q, Ingersall J, Owens L, et al. Response of transgenic Royal Gala apple (*Malus domestica* Bartha) clones carrying a modified cecropin MB39 gene, to *Erwinia amylovora*[J]. Plant Cell Rep, 2001, 20: 306–312.
- [30] 刘庆忠, 赵红军, 刘鹏, 等. 抗菌肽 MB39 基因导入皇家嘎拉苹果及其四倍体植株的培育[J]. 园艺学报, 2001, 28(5): 392–398.
- [31] Norelli J L, Barejsza-Wysacha E, Reynard J P, et al. Transgenic Royal Gala apple expressing allacin E has increased field resistance to *Erwinia amylovora* (fire blight)[J]. Acta Hort, 2000, 538: 631–633.
- [32] Norelli J L, Bolar J P, Haman C E, et al. Transgenic apple plants expressing chitinases from *Trichoderma* have increased resistance to *Erwinia amylovora* (fire blight)[J]. Acta Hort, 2000, 538: 617–618.
- [33] Bolar J P, Norelli J L, Wang K W, et al. Expression of endoglucanase from *Trichoderma harzianum* in transgenic apple increases resistance to apple scab and reduces vigor[J]. Phytopathology, 2000, 90: 72–77.
- [34] Finsland K, Marlin R R. Transformation of strawberry for virus resistance[J]. Acta Hort, 1995, 385: 86–90.
- [35] Kikkert J R, Hebert Sorle D. Transgenic plantlets of 'Chancellor' grapevine (*Vitis* sp.) from ballistic transformation of embryogenic cell suspensions[J]. Plant Cell Rep, 1996, 15: 311–316.
- [36] Reynard J P, Mougues F, Norelli J, et al. First evidence for difference in fire blight resistance among transgenic pear clones expressing attacin E gene from *Hyalophora cecropia*[J]. Plant Sci, 1999, 149: 23–31.
- [37] Mougues F, Brisset M N, Chevreau E, et al. Activity of different antibacterial peptides on *Erwinia amylovora* growth, and evaluation of the phytotoxicity and stability of cecropins[J]. Plant Sci, 1998, 139: 83–91.
- [38] Pulerka C J, Bocchetti C, Dang P, et al. Pear transformed with a lytic peptide gene for disease control affects nontarget organism, pear psylla (Homoptera, Psyllidae)[J]. J Entomol, 2002, 95: 797–802.
- [39] Moffat A S. Crop engineering goes south[J]. Science, 1999, 285: 370–371.
- [40] 方宏筠, 王关林, 王火旭, 等. 抗菌肽基因转化樱桃矮化砧木获得抗根瘤病的转基因植株[J]. 植物学报, 1999, 41(11): 1192–1198.
- [41] Fitch M M, Manshardt R M, Consalves D, et al. STAB transformation of papaya via microprojectile bombardment[J]. Plant Cell Rep, 1990, 9: 189–194.
- [42] Fitch M M, Manshardt R M, Consalves D, et al. Virus resistant papaya plants derived from tissues bombarded with the coat protein gene of papaya ringspot virus[J]. Bio/Technology, 1992, 10: 1466–1472.
- [43] 李亚新. 首例商品化的转基因果树——番木瓜[J]. 园艺学报, 2000, 28(1): 51.
- [44] 赵志英, 周鹏, 曾宪松, 等. 核酶基因转化番木瓜的研究[J]. 热带作物学报, 1998, 19(2): 20–25.
- [45] 汤浩茹, Wallbraun M, 任正隆, 等. 通过农杆菌介导法将哈兹木酶几丁质酶 ThEn-42 基因导入核桃[J]. 园艺学报, 2001, 28(1): 12–18.
- [46] 杜学海, 李登科. 落叶果树生物技术育种研究进展[J]. 果树学报, 2002, 19(5): 286–291.