

Construction of transgenic watermelons expressing the nucleocapsid protein of Watermelon Silver Mottle Virus or the doub

李青梅、余聰安

E-mail: 9417458@mail.dyu.edu.tw

ABSTRACT

ABSTRACT Watermelon is an economically important crop of the tropic and subtropic regions. Virus disease often causes serious economic loss of watermelon and there is still no chemicals for prevention and therapy of virus damage. Watermelon silver mottle virus (WSMoV), Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV) and Type W stain of Papaya ringspot virus (PRSV-W) are the most hazardous species among all kinds of viruses infected in cucurbit. There is still no paper about transgenic watermelon related to anti-virus. It might be due to the difficulty of watermelon gene transfer. This investigation tried to set up a system that is fit for our local watermelon regeneration and an approach of Agrobacterium-mediated transformation of watermelon carrying with NP gene of WSMoV or double fusion CP gene of ZYMV and PRSV-W. Seed is through pretreatment for different days, and cotyledons are cut into 1.5 mm × 1.5 mm segments as explants. The explants co-cultured with Agrobacterium cell for 4 days and then transferred to the selection medium. The results display the callus of growing explants reaches 96.9 % when the seed through pretreatment for 3 days. The bud-regeneration rate can reach 42.9 % when explants develops in SH basal medium containing 1.5 mg l⁻¹ BA, we also find the bud-regeneration ability near hypocotyls is better and reaches 78.9 %. Eleven putative ZYMV-PRSV-CP transgenic lines and 45 putative WSMoV NP transgenic lines were obtained. PCR and Southern blot analysis confirmed that the foreign gene was incorporated into the genomic DNA of the regenatants. Western blot analysis indicated the WSMoV NP transgenic lines displays N protein in different levels. Three ZYMV-PRSV-CP transgenic lines expressed resistance to infection by both viruses under greenhouse conditions. Key Words: Agrobacterium-mediated transformation, regeneration, transgenic watermelon, resistant assay

Keywords : Agrobacterium-mediated transformation ; regeneration ; transgenic watermelon ; resistant assay

Table of Contents

目錄 封面內頁 簽名頁 授權書	iii 中文摘要	
iv 英文摘要	vi 誌謝	
viii 目錄	ix 圖目錄	
xii 表目錄	xiii 符號說明	
第一章 前言 1.1 西瓜的特性及所面臨的問題 黃化嵌紋病毒之發生及特性 6.1.6 西瓜基因轉殖之研究 12.2.2.1 西瓜叢生苗組織培養方法之建立 條件 13.2.2.2 基因轉殖與再生培養 15.2.2.3.2 聚合酵素鏈鎖反應 2.2.3.4.1 蛋白質電泳 病評估 21 第三章 結果 3.1 西瓜的再生系統與基因轉殖 系的溫室抗病評估 55 附錄二 常用的基因轉殖方法 56 附錄三 基因轉殖作物 60 附錄七 矮南瓜黃化嵌紋病毒及木瓜輪點病毒西瓜系統鞘蛋白轉基專一性引子設計序列 61 附錄八 南方點凜法(Southern blotting)裝置圖 63 圖目錄 圖一、不同前處理對培植體生長的情形 基因西瓜進行聚合?鏈鎖反應 基因为探針，偵測外來基因併入植物基因組之情形 為探針，偵測外來基因併入植物基因組之情形	1.1.2 西瓜銀斑病毒之發生與特色 3.1.4 木瓜輪點病毒西瓜系統之發生及特性 8 第二章 材料和方法 2.1 實驗材料 12.2.2.2 西瓜的基因轉殖與再生培養 13.2.2.3 轉基因株系之分子分析 16.2.2.3.3 南方點凜法 19.2.2.3.4.2 西方點凜法 20.2.2.4 轉基因植物之發根及馴化處理 21.2.2.5 轉基因株系的溫室抗病評估 27 第四章 結論 29 參考文獻 48 附錄一 台灣栽培之西瓜(Citrullus lanatus)種類 57 附錄四 (A)西瓜銀斑病毒核鞘蛋白轉基因之構築 58 附錄五 植物總DNA抽取流程圖 59 附錄六 西瓜銀斑病毒核鞘蛋白轉基因專一性引子設計序列 62 附錄九 西瓜發根及馴化處理流程圖 33 圖二、西瓜轉基因植物轉殖之流程圖 34 圖三、西瓜銀斑病毒核鞘蛋白轉基因之構築 35 圖四、矮南瓜黃化嵌紋病毒及木瓜輪點病毒西瓜系統鞘蛋白轉基專一性引子設計序列 36 圖五、南方點凜法分析，西瓜銀斑病毒核鞘蛋白轉基因西瓜以WSMoV質體DNA 37 圖六、南方點凜法分析，矮南瓜黃化嵌紋病毒及木瓜輪點病毒西瓜系統鞘蛋白轉基專一性引子設計序列 38 圖七、西方點凜法分析，西瓜銀斑病毒核鞘蛋白轉基因西瓜以專一性抗體偵測外來基因轉譯蛋白質之情形 39 圖八、矮南瓜黃化嵌紋病毒及木瓜輪點病毒西瓜系統鞘蛋白轉基專一性引子設計序列 40 圖九、十天後轉基因植物之生長情形	21.3 矮南瓜 5.1.5 交互保護策略對抗病毒之研究 10.2.2 實驗方法 12.2.2.1 農桿菌之培養基配置與 14.2.2.3.1 植物總DNA抽取法 17.2.2.3.4 蛋白質電泳及西方點凜法 21.2.2.5.1 轉基因株系的溫室抗 25.3.3 轉基因株 25.3.4.1 蛋白質電泳 25.3.4.2 西方點凜法 26.2.2.4 轉基因植物之發根及馴化處理 27.3.2 轉基因株系之分子分析 28.3.3 轉基因株 29.3.4.1 蛋白質電泳 30.3.4.2 西方點凜法 31.2.2.4 轉基因植物之發根及馴化處理 32.3.2 轉基因株系之分子分析 33.3.3 轉基因株 34.3.4.1 蛋白質電泳 35.3.4.2 西方點凜法 36.3.5 轉基因植物之發根及馴化處理 37.3.6 轉基因株系之分子分析 38.3.7 轉基因株 39.3.8.1 蛋白質電泳 39.3.8.2 西方點凜法 40.3.9 轉基因植物之發根及馴化處理 41.3.10 轉基因株系之分子分析 42.3.11 轉基因株 43.3.12.1 蛋白質電泳 43.3.12.2 西方點凜法 44.3.13 轉基因植物之發根及馴化處理 45.3.14 轉基因株系之分子分析 46.3.15 轉基因株 47.3.16.1 蛋白質電泳 47.3.16.2 西方點凜法 48.3.17 轉基因植物之發根及馴化處理 49.3.18 轉基因株系之分子分析 50.3.19 轉基因株 51.3.20.1 蛋白質電泳 51.3.20.2 西方點凜法 52.3.21 轉基因植物之發根及馴化處理 53.3.22 轉基因株系之分子分析 54.3.23 轉基因株 55.3.24.1 蛋白質電泳 55.3.24.2 西方點凜法 56.3.25 轉基因植物之發根及馴化處理 57.3.26 轉基因株系之分子分析 58.3.27 轉基因株 59.3.28.1 蛋白質電泳 59.3.28.2 西方點凜法 60.3.29 轉基因植物之發根及馴化處理 61.3.30 轉基因株系之分子分析 62.3.31 轉基因株 63.3.32.1 蛋白質電泳 63.3.32.2 西方點凜法 64.3.33 轉基因植物之發根及馴化處理 65.3.34 轉基因株系之分子分析 66.3.35 轉基因株 67.3.36.1 蛋白質電泳 67.3.36.2 西方點凜法 68.3.37 轉基因植物之發根及馴化處理 69.3.38 轉基因株系之分子分析 70.3.39 轉基因株 71.3.40.1 蛋白質電泳 71.3.40.2 西方點凜法 72.3.41 轉基因植物之發根及馴化處理 73.3.42 轉基因株系之分子分析 74.3.43 轉基因株 75.3.44.1 蛋白質電泳 75.3.44.2 西方點凜法 76.3.45 轉基因植物之發根及馴化處理 77.3.46 轉基因株系之分子分析 78.3.47 轉基因株 79.3.48.1 蛋白質電泳 79.3.48.2 西方點凜法 80.3.49 轉基因植物之發根及馴化處理 81.3.50 轉基因株系之分子分析 82.3.51 轉基因株 83.3.52.1 蛋白質電泳 83.3.52.2 西方點凜法 84.3.53 轉基因植物之發根及馴化處理 85.3.54 轉基因株系之分子分析 86.3.55 轉基因株 87.3.56.1 蛋白質電泳 87.3.56.2 西方點凜法 88.3.57 轉基因植物之發根及馴化處理 89.3.58 轉基因株系之分子分析 90.3.59 轉基因株 91.3.60.1 蛋白質電泳 91.3.60.2 西方點凜法 92.3.61 轉基因植物之發根及馴化處理 93.3.62 轉基因株系之分子分析 94.3.63 轉基因株 95.3.64.1 蛋白質電泳 95.3.64.2 西方點凜法 96.3.65 轉基因植物之發根及馴化處理 97.3.66 轉基因株系之分子分析 98.3.67 轉基因株 99.3.68.1 蛋白質電泳 99.3.68.2 西方點凜法 100.3.69 轉基因植物之發根及馴化處理 101.3.70 轉基因株系之分子分析 102.3.71 轉基因株 103.3.72.1 蛋白質電泳 103.3.72.2 西方點凜法 104.3.73 轉基因植物之發根及馴化處理 105.3.74 轉基因株系之分子分析 106.3.75 轉基因株 107.3.76.1 蛋白質電泳 107.3.76.2 西方點凜法 108.3.77 轉基因植物之發根及馴化處理 109.3.78 轉基因株系之分子分析 110.3.79 轉基因株 111.3.80.1 蛋白質電泳 111.3.80.2 西方點凜法 112.3.81 轉基因植物之發根及馴化處理 113.3.82 轉基因株系之分子分析 114.3.83 轉基因株 115.3.84.1 蛋白質電泳 115.3.84.2 西方點凜法 116.3.85 轉基因植物之發根及馴化處理 117.3.86 轉基因株系之分子分析 118.3.87 轉基因株 119.3.88.1 蛋白質電泳 119.3.88.2 西方點凜法 120.3.89 轉基因植物之發根及馴化處理 121.3.90 轉基因株系之分子分析 122.3.91 轉基因株 123.3.92.1 蛋白質電泳 123.3.92.2 西方點凜法 124.3.93 轉基因植物之發根及馴化處理 125.3.94 轉基因株系之分子分析 126.3.95 轉基因株 127.3.96.1 蛋白質電泳 127.3.96.2 西方點凜法 128.3.97 轉基因植物之發根及馴化處理 129.3.98 轉基因株系之分子分析 130.3.99 轉基因株 131.3.100.1 蛋白質電泳 131.3.100.2 西方點凜法 132.3.101 轉基因植物之發根及馴化處理 133.3.102 轉基因株系之分子分析 134.3.103 轉基因株 135.3.104.1 蛋白質電泳 135.3.104.2 西方點凜法 136.3.105 轉基因植物之發根及馴化處理 137.3.106 轉基因株系之分子分析 138.3.107 轉基因株 139.3.108.1 蛋白質電泳 139.3.108.2 西方點凜法 140.3.109 轉基因植物之發根及馴化處理 141.3.110 轉基因株系之分子分析 142.3.111 轉基因株 143.3.112.1 蛋白質電泳 143.3.112.2 西方點凜法 144.3.113 轉基因植物之發根及馴化處理 145.3.114 轉基因株系之分子分析 146.3.115 轉基因株 147.3.116.1 蛋白質電泳 147.3.116.2 西方點凜法 148.3.117 轉基因植物之發根及馴化處理 149.3.118 轉基因株系之分子分析 150.3.119 轉基因株 151.3.120.1 蛋白質電泳 151.3.120.2 西方點凜法 152.3.121 轉基因植物之發根及馴化處理 153.3.122 轉基因株系之分子分析 154.3.123 轉基因株 155.3.124.1 蛋白質電泳 155.3.124.2 西方點凜法 156.3.125 轉基因植物之發根及馴化處理 157.3.126 轉基因株系之分子分析 158.3.127 轉基因株 159.3.128.1 蛋白質電泳 159.3.128.2 西方點凜法 160.3.129 轉基因植物之發根及馴化處理 161.3.130 轉基因株系之分子分析 162.3.131 轉基因株 163.3.132.1 蛋白質電泳 163.3.132.2 西方點凜法 164.3.133 轉基因植物之發根及馴化處理 165.3.134 轉基因株系之分子分析 166.3.135 轉基因株 167.3.136.1 蛋白質電泳 167.3.136.2 西方點凜法 168.3.137 轉基因植物之發根及馴化處理 169.3.138 轉基因株系之分子分析 170.3.139 轉基因株 171.3.140.1 蛋白質電泳 171.3.140.2 西方點凜法 172.3.141 轉基因植物之發根及馴化處理 173.3.142 轉基因株系之分子分析 174.3.143 轉基因株 175.3.144.1 蛋白質電泳 175.3.144.2 西方點凜法 176.3.145 轉基因植物之發根及馴化處理 177.3.146 轉基因株系之分子分析 178.3.147 轉基因株 179.3.148.1 蛋白質電泳 179.3.148.2 西方點凜法 180.3.149 轉基因植物之發根及馴化處理 181.3.150 轉基因株系之分子分析 182.3.151 轉基因株 183.3.152.1 蛋白質電泳 183.3.152.2 西方點凜法 184.3.153 轉基因植物之發根及馴化處理 185.3.154 轉基因株系之分子分析 186.3.155 轉基因株 187.3.156.1 蛋白質電泳 187.3.156.2 西方點凜法 188.3.157 轉基因植物之發根及馴化處理 189.3.158 轉基因株系之分子分析 190.3.159 轉基因株 191.3.160.1 蛋白質電泳 191.3.160.2 西方點凜法 192.3.161 轉基因植物之發根及馴化處理 193.3.162 轉基因株系之分子分析 194.3.163 轉基因株 195.3.164.1 蛋白質電泳 195.3.164.2 西方點凜法 196.3.165 轉基因植物之發根及馴化處理 197.3.166 轉基因株系之分子分析 198.3.167 轉基因株 199.3.168.1 蛋白質電泳 199.3.168.2 西方點凜法 200.3.169 轉基因植物之發根及馴化處理 201.3.170 轉基因株系之分子分析 202.3.171 轉基因株 203.3.172.1 蛋白質電泳 203.3.172.2 西方點凜法 204.3.173 轉基因植物之發根及馴化處理 205.3.174 轉基因株系之分子分析 206.3.175 轉基因株 207.3.176.1 蛋白質電泳 207.3.176.2 西方點凜法 208.3.177 轉基因植物之發根及馴化處理 209.3.178 轉基因株系之分子分析 210.3.179 轉基因株 211.3.180.1 蛋白質電泳 211.3.180.2 西方點凜法 212.3.181 轉基因植物之發根及馴化處理 213.3.182 轉基因株系之分子分析 214.3.183 轉基因株 215.3.184.1 蛋白質電泳 215.3.184.2 西方點凜法 216.3.185 轉基因植物之發根及馴化處理 217.3.186 轉基因株系之分子分析 218.3.187 轉基因株 219.3.188.1 蛋白質電泳 219.3.188.2 西方點凜法 220.3.189 轉基因植物之發根及馴化處理 221.3.190 轉基因株系之分子分析 222.3.191 轉基因株 223.3.192.1 蛋白質電泳 223.3.192.2 西方點凜法 224.3.193 轉基因植物之發根及馴化處理 225.3.194 轉基因株系之分子分析 226.3.195 轉基因株 227.3.196.1 蛋白質電泳 227.3.196.2 西方點凜法 228.3.197 轉基因植物之發根及馴化處理 229.3.198 轉基因株系之分子分析 230.3.199 轉基因株 231.3.200.1 蛋白質電泳 231.3.200.2 西方點凜法 232.3.201 轉基因植物之發根及馴化處理 233.3.202 轉基因株系之分子分析 234.3.203 轉基因株 235.3.204.1 蛋白質電泳 235.3.204.2 西方點凜法 236.3.205 轉基因植物之發根及馴化處理 237.3.206 轉基因株系之分子分析 238.3.207 轉基因株 239.3.208.1 蛋白質電泳 239.3.208.2 西方點凜法 240.3.209 轉基因植物之發根及馴化處理 241.3.210 轉基因株系之分子分析 242.3.211 轉基因株 243.3.212.1 蛋白質電泳 243.3.212.2 西方點凜法 244.3.213 轉基因植物之發根及馴化處理 245.3.214 轉基因株系之分子分析 246.3.215 轉基因株 247.3.216.1 蛋白質電泳 247.3.216.2 西方點凜法 248.3.217 轉基因植物之發根及馴化處理 249.3.218 轉基因株系之分子分析 250.3.219 轉基因株 251.3.220.1 蛋白質電泳 251.3.220.2 西方點凜法 252.3.221 轉基因植物之發根及馴化處理 253.3.222 轉基因株系之分子分析 254.3.223 轉基因株 255.3.224.1 蛋白質電泳 255.3.224.2 西方點凜法 256.3.225 轉基因植物之發根及馴化處理 257.3.226 轉基因株系之分子分析 258.3.227 轉基因株 259.3.228.1 蛋白質電泳 259.3.228.2 西方點凜法 260.3.229 轉基因植物之發根及馴化處理 261.3.230 轉基因株系之分子分析 262.3.231 轉基因株 263.3.232.1 蛋白質電泳 263.3.232.2 西方點凜法 264.3.233 轉基因植物之發根及馴化處理 265.3.234 轉基因株系之分子分析 266.3.235 轉基因株 267.3.236.1 蛋白質電泳 267.3.236.2 西方點凜法 268.3.237 轉基因植物之發根及馴化處理 269.3.238 轉基因株系之分子分析 270.3.239 轉基因株 271.3.240.1 蛋白質電泳 271.3.240.2 西方點凜法 272.3.241 轉基因植物之發根及馴化處理 273.3.242 轉基因株系之分子分析 274.3.243 轉基因株 275.3.244.1 蛋白質電泳 275.3.244.2 西方點凜法 276.3.245 轉基因植物之發根及馴化處理 277.3.246 轉基因株系之分子分析 278.3.247 轉基因株 279.3.248.1 蛋白質電泳 279.3.248.2 西方點凜法 280.3.249 轉基因植物之發根及馴化處理 281.3.250 轉基因株系之分子分析 282.3.251 轉基因株 283.3.252.1 蛋白質電泳 283.3.252.2 西方點凜法 284.3.253 轉基因植物之發根及馴化處理 285.3.254 轉基因株系之分子分析 286.3.255 轉基因株 287.3.256.1 蛋白質電泳 287.3.256.2 西方點凜法 288.3.257 轉基因植物之發根及馴化處理 289.3.258 轉基因株系之分子分析 290.3.259 轉基因株 291.3.260.1 蛋白質電泳 291.3.260.2 西方點凜法 292.3.261 轉基因植物之發根及馴化處理 293.3.262 轉基因株系之分子分析 294.3.263 轉基因株 295.3.264.1 蛋白質電泳 295.3.264.2 西方點凜法 296.3.265 轉基因植物之發根及馴化處理 297.3.266 轉基因株系之分子分析 298.3.267 轉基因株 299.3.268.1 蛋白質電泳 299.3.268.2 西方點凜法 300.3.269 轉基因植物之發根及馴化處理 301.3.270 轉基因株系之分子分析 302.3.271 轉基因株 303.3.272.1 蛋白質電泳 303.3.272.2 西方點凜法 304.3.273 轉基因植物之發根及馴化處理 305.3.274 轉基因株系之分子分析 306.3.275 轉基因株 307.3.276.1 蛋白質電泳 307.3.276.2 西方點凜法 308.3.277 轉基因植物之發根及馴化處理 309.3.278 轉基因株系之分子分析 310.3.279 轉基因株 311.3.280.1 蛋白質電泳 311.3.280.2 西方點凜法 312.3.281 轉基因植物之發根及馴化處理 313.3.282 轉基因株系之分子分析 314.3.283 轉基因株 315.3.284.1 蛋白質電泳 315.3.284.2 西方點凜法 316.3.285 轉基因植物之發根及馴化處理 317.3.286 轉基因株系之分子分析 318.3.287 轉基因株 319.3.288.1 蛋白質電泳 319.3.288.2 西方點凜法 320.3.289 轉基因植物之發根及馴化處理 321.3.290 轉基因株系之分子分析 322.3.291 轉基因株 323.3.292.1 蛋白質電泳 323.3.292.2 西方點凜法 324.3.293 轉基因植物之發根及馴化處理 325.3.294 轉基因株系之分子分析 326.3.295 轉基因株 327.3.296.1 蛋白質電泳 327.3.296.2 西方點凜法 328.3.297 轉基因植物之發根及馴化處理 329.3.298 轉基因株系之分子分析 330.3.299 轉基因株 331.3.300.1 蛋白質電泳 331.3.300.2 西方點凜法 332.3.301 轉基因植物之發根及馴化處理 333.3.302 轉基因株系之分子分析 334.3.303 轉基因株 335.3.304.1 蛋白質電泳 335.3.304.2 西方點凜法 336.3.305 轉基因植物之發根及馴化處理 337.3.306 轉基因株系之分子分析 338.3.307 轉基因株 339.3.308.1 蛋白質電泳 339.3.308.2 西方點凜法 340.3.309 轉基因植物之發根及馴化處理 341.3.310 轉基因株系之分子分析 342.3.311 轉基因株 343.3.312.1 蛋白質電泳 343.3.312.2 西方點凜法 344.3.313 轉基因植物之發根及馴化處理 345.3.314 轉基因株系之分子分析 346.3.315 轉基因株 347.3.316.1 蛋白質電泳 347.3.316.2 西方點凜法 348.3.317 轉基因植物之發根及馴化處理 349.3.318 轉基因株系之分子分析 350.3.319 轉基因株 351.3.320.1 蛋白質電泳 351.3.320.2 西方點凜法 352.3.321 轉基因植物之發根及馴化處理 353.3.322 轉基因株系之分子分析 354.3.323 轉基因株 355.3.324.1 蛋白質電泳 355.3.324.2 西方點凜法 356.3.325 轉基因植物之發根及馴化處理 357.3.326 轉基因株系之分子分析 358.3.327 轉基因株 359.3.328.1 蛋白質電泳 359.3.328.2 西方點凜法 360.3.329 轉基因植物之發根及馴化處理 361.3.330 轉基因株系之分子分析 362.3.331 轉基因株 363.3.332.1 蛋白質電泳 363.3.332.2 西方點凜法 364.3.333 轉基因植物之發根及馴化處理 365.3.334 轉基因株系之分子分析 366.3.335 轉基因株 367.3.336.1 蛋白質電泳 367.3.336.2 西方點凜法 368.3.337 轉基因植物之發根及馴化處理 369.3.338 轉基因株系之分子分析 370.3.339 轉基因株 371.3.340.1 蛋白質電泳 371.3.340.2 西方點凜法 372.3.341 轉基因植物之發根及馴化處理 373.3.342 轉基因株系之分子分析 374.3.343 轉基因株 375.3.344.1 蛋白質電泳 375.3.344.2 西方點凜法 376.3.345 轉基因植物之發根及馴化處理 377.3.346 轉基因株系之分子分析 378.3.347 轉基因株 379.3.348.1 蛋白質電泳 379.3.348.2 西方點凜法 380.3.349 轉基因植物之發根及馴化處理 381.3.350 轉基因株系之分子分析 382.3.351 轉基因株 383.3.352.1 蛋白質電泳 383.3.352.2 西方點凜法 384.3.353 轉基因植物之發根及馴化處理 385.3.354 轉基因株系之分子分析 386.3.355 轉基因株 387.3.356.1 蛋白質電泳 387.3.356.2 西方點凜法 388.3.357 轉基因植物之發根及馴化處理 389.3.358 轉基因株系之分子分析 390.3.359 轉基因株 391.3.360.1 蛋白質電泳 391.3.360.2 西方點凜法 392.3.361 轉基因植物之發根及馴化處理 393.3.362 轉基因株系之分子分析 394.3.363 轉基因株 395.3.364.1 蛋白質電泳 395.3.364.2 西方點凜法 396.3.365 轉基因植物之發根及馴化處理 397.3.366 轉基因株系之分子分析 398.3.367 轉基因株 399.3.368.1 蛋白質電泳 399.3.368.2 西方點凜法 400.3.369 轉基因植物之發根及馴化處理 401.3.370 轉基因株系之分子分析 402.3.371 轉基因株 403.3.372.1 蛋白質電泳 403.3.372.2 西方點凜法 404.3.373 轉基因植物之發根及馴化處理 405.3.374 轉基因株系之分子分析 406.3.375 轉基因株 407.

矮南瓜黃化嵌紋病毒及木瓜輪點病毒西瓜系統鞘蛋白轉基因西瓜進行溫室抗病接種，四週後轉基因植物之生長情形	
41 表目錄 表一、不同前處理時間對西瓜子葉培植體再生之影響	42 表二、不同共同培養條件與不同濃度的生長調節劑對
西瓜芽體再生之影響	43 表三、不同培植體之位置對西瓜芽體再生之影響
不同轉基因植株	44 表四、不同品種所構築之
不同時間的發病數目	45 表五、轉基因西瓜株系溫室接種矮南瓜黃化嵌紋病毒及木瓜輪點病毒西瓜系統，接種後在不同
46 表六、轉基因西瓜株系在溫室雙重接種矮南瓜黃化嵌紋病毒及木瓜輪點病毒西瓜系統，接種後在	
不同時間的發病數目	
	47

REFERENCES

- 參考文獻 余聰安。2001。木瓜微體繁殖與營養器官基因轉殖。中興大學植物學系博士論文。陳冠君。2001。木瓜輪點病毒西瓜型生體外具感染力載體之構築及感染木瓜寄主專一性基因之分析。國立中興大學植物病理學系碩士論文。陳富永。1993。胡瓜嵌紋病毒鞘蛋白基因及番茄斑萎病毒核鞘蛋白基因轉型植物之構築。國立中興大學植物病理學系碩士論文。陳慶忠。2000。台灣番茄斑萎病之發生與防治。台中區農業技術專刊 155 期。趙佳鴻。2000。西瓜銀斑病毒。植物防疫專欄。第十四期。蔡竹固、陳瑞祥。2000。本省瓜類作物之重要病害及其管理。農業世界雜誌。200 : 12-19。Baulcombe, D. C. 1996. Mechanisms of pathogen-derived resistance to viruses in transgenic plant. *Plant Cell* 8 : 1833-1944. Bald, J. G. and Samuel, G. 1931. Investigations on "spotted wilt" of tomatoes. II. Australian Commonw. Coun. Sci. Ind. Res. Org. Bull. 54. Bollag, D. M. and Edelstein, S. J. 1991. Protein Methods. (WILEYLISS, A John Wiley and Sons, INC), pp. 155. Cabrera - Ponce, J. L., Vegas - Garcia, A. and Herrera - Estrella, L 1995. Herbicide resistant transgenic papaya plants produced by an efficient particle bombardment transformation method. *Plant Cell Rep* 15 : 1-7. Cai, W., Goncalves, C., Tennant, P., Fermin, G., Souza, M., Sarinud, N., Jan F. J., Zhu, H. Y. and Gonsalves, D. 1999. A protocol for efficient transformation and regeneration of *Carica papaya* L. In *Visio Cell. Dev. Biol.* 35 : 61-69. Chang, Y. M., Hsiao, C. H., Yang, W. Z., Hseu, S. H., Chao, Y. J. and Huang, C. H. 1987. The occurrence and distribution of five cucurbit viruses on melon and watermelon in Taiwan. *J. Agri. Res. China* 36 : 389-397. Chen, C. C., Shy, J. F. and Yeh, S. D 1990. Thrips transmission of tomato spotted wilt virus from watermelon. *Plant Prot. Bull.* 32:331-332. Compton, M. E. and Gray D. J. 1993. Shoot organogenesis and plant regeneration from cotyledons of diploid, triploid, and tetraploid watermelon. *J Am Soc Hortic Sci* 118 : 151 – 157. Choi, P. S., Soli, W. Y., Kim, Y. S. Yoo, O. J. and Liu, J. R. 1994. Genetic transformation and plant regeneration of watermelon using *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Cell Rept.* 13 : 344-348. Cooper, B., Lapidots, M., Heick, J. A., Dodds, J. A. and Beachy, R. N. 1995. A defective movement protein of MVT in transgenic plant confer resistance to multiple viruses whereas the function analog increase susceptibility. *Virology* 206 : 307. Davis, R. F. 1986. Partial characterization of zucchini yellow mosaic virus isolated from squash in Turkey. *Plant Dis.* 70 : 735-738. Dong, J. Z. and Jia, S. R. 1991. High efficiency plant regeneration from cotyledons of watermelon (*Citrullus vulgaris* Schrad.). *Plant Cell Rep.* 9 : 559 – 562. Dougherty, W. G., Lindbo , J. A., Parks, T. D., Swaney, S., and Proebsting, W. M. 1994. RNA-mediated virus resistance in transgenic plant : Exploitation of a cellular pathway possibly involved in RNA degradation. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 7 : 544-552. Ellul, P., Rios, G., Atare, A., Roig, L. A., Serrano, R. and Moreno, V. 2003. The expression of *Saccharomyces cerevisiae* HAL1 gene increases salt tolerance in transgenic watermelon [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai]. *Theor Appl Genet.* 107:462-469. Fromm, M. E., Taylor, L. P. and Walbot, V. 1986. Stable transformation of maize after gene transfer by electroporation. *Nature* 319 : 791-793. Fulton, T. M. Chunwongse J, and Tanksley S. D. 1995. Microprep Protocol for Extraction of DNA from Tomato and other Herbaceous Plants. *Plant Molecular Biology Reporter* 13 : 207-209. Gamborg, O.L., Miller, R. A. and Ojima, K. 1968. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Exp. Cell. Res.* 50 : 151-158. Gelvin, S. B. 2000. Agrobacterium and Plant Genes involved in T-DNA transfer and integration. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 51 : 223-256. Grant, S. R. 1999. Dissecting the mechanism of posttranscriptional gene silencing : divide and conquer. *Cell* 96 : 303-306. Griesbach, F. 1995. Protoplast microinjection. *Plant Mol. Bio. Rep.* 1 : 32-37. Grumet, R. 1994. Development of virus resistant plant via genetic engineering. *Plant Breed. Rev.* 12 : 47-79. Hollings, M. and Brunt, A. A. 1981. Potyvirus group. CMI/AAB Descriptions of plant viruses no. 245. Kew, Surrey. Hseu, S. H., Wang, H. L. and Huang, C. H. 1985. Identification of a zucchini yellow mosaic virus from *Cucumis sativus*. *J. Agri. Res. China* 34 : 87-95. Hseu, S. H., Huang, C. H., Chang, C. A., Yang, W. Z., Chang, Y. M. and Hsiao, C. H. 1987. The occurrence of five viruses in six cucurbits in Taiwan. *Plant Prot. Bull. (Taiwan)* 29 : 233-244. Huang, C. H., Chang, L. and Tsai, J. H. 1993. The partial characterization of melon vein-banding mosaic virus, a newly recognized virus infecting cucurbits in Taiwan. *Plant Pathol.* 42 : 100-107. Klein, T. M., Wolf, E. D., Wu, R. and Sanford, J. C. 1987. High velocity microprojectiles for delivery of nucleic acids into living cell. *Nature* 327 : 70-73. Lecoq, H., Lisa, V. and Dellavalle, G. 1983. Serological identity of Muskmelon yellow stunt and Zucchini yellow mosaic viruses. *Plant Dis.* 67 : 824-825. Lisa, V. and Lecoq, H. 1984. Zucchini yellow mosaic virus. CMI/AAB Description of Plant Virus, No. 282. Kew, Surrey. Lisa, V., Boccardo, G., D'Agostino, G., Dellavalle, G. and d'Aquilio, M. 1981. Characterization of a potyvirus that causes Zucchini yellow mosaic. *Phytopathology* 71 : 667-672. Lovisolo, O. 1981. Virus and viroid disease of cucurbits. *Acta Horticulturae.* 88 : 33-82. Luo, Z. and Wu, R. 1989. A simple method for the transformation of rice via the pollen-tube pathway. *Plant Mol. Biol. Rep.* 7: 69-77. Mahgoub, H. A., Desbiez, C., Wipf-Scheibel, C., Dafalla, G. and Lecoq, H. 1997. Characterization and occurrence of zucchini yellow mosaic virus in Sudan. *Plant Pathol.* 46 : 800-805. Milne, K. S., Grogan, R. G. and Kimble, K. A. 1969. Identification of viruses infecting cucurbits in California. *Phytopathology* 59 : 819-828. Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15 : 473-497. Nameth, S. T., Dodds, J. A., Paulus, A. O. and Laemmlein, F. F. 1986. Cucurbit viruses of California : An ever-changing problem. *Plant Dis.* 70 : 8-11. Nameth, S. T., Dodds, J.

A., Paulus, A. O. and Laemmlen, F. F. 1986. Cucurbit viruses of California : An ever-changing problem. Plant Dis. 70 : 8-11. Pirinc, V., Onay, V., Yildirim, H., Adiyaman, C., Isikalan, C. and Basaran, D. 2003. Adventitious Shoot Organogenesis and Plant Regeneration from Cotyledons of Diploid Diyarbakir Watermelon (*Citrullus lanatus* cv. "Surme") Turk J Biol. 27 : 101-105. Powell-Abel, P., Nelson, R. S., De, B., Hoffmann, N., Rogers, S. G., Fraley, R. T. and Beachy, R. N. 1986. Delay of disease development in transgenic plant that express the tobacco mosaic virus coat protein gene. Science 232 : 738-743. Provvidenti, R. 1986. Viral disease of cucurbits and sources of resistance. Food & Tertilizer Technology Center. Technical bulletin. No. 93. Provvidenti, R., Gonsalves, D. and Humaydan, H. S. 1984. Occurrence of zucchini yellow mosaic virus in cucurbits from Connecticut, New-York, Florida, and California. Plant Dis. 68 : 443-446. Purcifull, D. E., Edwardson, J. R., Hiebert, E. and Gonaslves, D. 1984. Papaya ringspot virus. CMI/AAB Description of Plant Virus. No. 292. Reddy, D. V. R. and Wightman, J. A. 1988. Tomato spotted wilt virus: Thrips transmission and control. Adv. Dis. Vector Res. 5:203-220. Sambrook, J., Fritsch, E. F. and Maniatis, T. 1989. Analysis and cloning of eukaryotic genomic DNA.. In Molecular cloning. 2 nd.vol. 2 : 9.34-9.45 Cold Spring Harbor Laboratory Press. Sanford, J. C. and Johnston, S. A. 1985. The concept of parasite-derived resistance genes from the parasite's own genome. J. Theor. Biol. 113 : 395-405. Schenk, R. U. and Hildebrandt, A. C. 1972. Medium and Techniques for Induction and Growth of Monocotyledonous and Dicotyledonous Plant Cell Cultures, Can. J. Bot. 50 : 199-204. Srivastava, D. K., Andrianov, V. M. and Piruzian, E. S. 1991. Regeneration and genetic transformation studies in watermelon (*Citrullus vulgaris* L. cv. melitopolski). In: Prakash J, Pierik RLM (eds) Horticulture – new technologies and applications. Kluwer, Dordrecht, pp 127 – 130. Srivastava, D. K., Andrianov, V. M. and Piruzian, E. S. 1989. Tissue culture and plant regeneration of watermelon. Plant Cell Report. 8 : 300-302. Tabei, Y., Yamanaka, H. and Tsuguo, K. 1993. Adventitious shoot induction and plant regeneration from cotyledons of mature seed in watermelon(*Citrullus lanatus* L.). Plant Tissue Culture Letters. 10(3) : 235-241. Tomlinson, J. A. 1987. Epidemiology and control of virus disease of vegetables. Ann. Appl. Biol. 110 : 661-681. van den Boogaart, T., Lomonssoff, G. P. and Davies, J. W. 1998. Can we explain RNA-mediated virus resistance by Homology-dependent gene silencing? Mol. Plant-Microbe Interact. 11 : 717-723. Vaucheret, H., Christophe, B., Elmayan, T., Feuerbach, F., Godon, C., Morel, J. B., Mourrain, P., Palauqui, J. C. and Vernhettes, S. 1998. Transgene-induced gene silencing in plants. Plant J. 16 : 651-659. Wassenegger, M. and Pelisserier, T. 1998. A model for RNA-mediated gene silencing in higher plant. Plant Mol. Biol. 37 : 349-362. Yashida, K., Goto, T., Nemoto, M. and Tsuchizaki, T. 1980. Rive viruses isolated from melon (*Cucumis melo* L.) in Hokkaido. Ann. Phytopath. Soc. Japan. 46 : 339-343. Yeh, S. D., Jan, F. J., Chiang, C. H., Doong, T. J., Chen, M. C., Chung, P. H. and Bau, H. J. 1992. Complete nucleotide sequence and genetic organization of Papaya ringspot virus RNA. J. Gen. Virol. 73 : 2531-2541. Yeh, S. D, Lin, Y. C., Cheng, Y. H., Jih, C. L., Chen, M. J. and Chen, C. C. 1992. Identification of tomato spotted wilt-like virus on watermelon in Taiwan. Plant Dis. 76:835-840. Yeh, S. D. and Chang, T. F. 1995. Nucleotide sequence of the N Gene of watermelon silver mottle virus, a proposed new member of the genus Tospovirus. Phytopathology 85:58-64. Zupan, J. R. and Zambryski, P. 1995. Transfer of T-DNA Agrobacterium to the plant cell. Plant Physiol. 107 : 1041-1047.