

中图分类号: S532 文献标识码: A 文章编号: 1672-3635 (2013) 03-0181-06

综 述

病毒诱导的基因沉默在植物抗病基因功能研究中的应用

张晓梦, 赵 君*

(内蒙古农业大学, 内蒙古 呼和浩特 010018)

摘 要: 病毒诱导的基因沉默(Virus induced gene silencing, VIGS)是一种植物抵抗病毒侵入的自然机制, 现在已被开发成通过插入目的基因片段的重组病毒来抑制植物内源基因表达的遗传技术, 主要用于研究目标基因的功能。作为一种新型的基因鉴定和功能研究的技术工具, VIGS 具有无需事先知道目的基因全长序列、快速获取表型、无需获得转基因植株等诸多优点, 已越来越广泛地被应用于植物基因功能研究领域。本文从 VIGS 的作用机制、VIGS 体系的优点及局限性以及 VIGS 在植物抗病机制方面的研究进展等几个方面对病毒诱导的基因沉默进行了综述。

关键词: 病毒诱导的基因沉默(VIGS); 抗病机制; 基因功能

Progress in Study of Plant Resistance Gene Function Using Virus Induced Gene Silence System

ZHANG Xiaoluo, ZHAO Jun*

(College of Agronomy, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot, Inner Mongolia 010018, China)

Abstract: Virus induced gene silence (VIGS) is a natural mechanism, which was used by plants to resist the virus invasion. Now, it has been developed into a popular genetic technique to suppress the endogenous gene expression by recombinant viruses which contain the fragment of target genes. As a novel tool to unravel the candidate gene's function, VIGS has many advantages such as unnecessarily knowing the full-length sequence of the target gene in advance, quick acquisition of phenotype, and unnecessarily obtaining the transgenic plant. Now, it has been widely used in the field of plant gene function studies. In this review, we summarized the research progress in VIGS mechanism, the advantages and limitations of VIGS system and its application to studying the plant resistance gene's function.

Key Words: VIGS; plant resistance; gene function

1 基因沉默现象的发现

基因沉默现象最早发现在 1990 年, Napoli 等^[1]在矮牵牛中超量表达与粉红色色素合成有关的查耳酮合成酶基因(Chalcone synthase, CHS), 结果发现许多原来开紫花的牵牛花的颜色不但没有加深, 反而变浅甚至白化, 他们称这种现象为共抑制(Co-suppressing), 并推断共抑制可能是由 RNA 介导的。1995 年, Kumagai 等^[2]将人工构建的植物内源基因(PDS)的片段插入烟草花叶病毒基因组中使其产生包含正向或反向 PDS 序列片段的 RNA 时产生了光

褪色现象, 揭示内源的 PDS 基因被沉默。1998 年, Fire 等^[3]第一次证明了 RNA 沉默(RNA silencing)是由双链 RNA 引起的, 并第一次提出 RNA 干扰的概念(RNA-interference, RNAi)。RNA 介导的基因沉默(RNA-mediated gene silencing)发生在 RNA 水平, 是一种广泛存在于各种生物中保守的基于核酸序列的特异性降解机制, 不同领域的研究者给它作了不同的命名: 在动物和线虫中称为 RNA 干扰(RNA-interference, RNAi), 在真菌中称为基因消除(Gene quelling), 而在植物中称为转录后基因沉默(Post-transcriptional gene silencing, PTGS)^[4]。自然界中, 有

收稿日期: 2013-04-17

基金项目: 国家自然科学基金项目, 水杨酸在马铃薯小 G 蛋白 StRac 介导的防卫反应体系建立过程中的功能初探(31260429)。

作者简介: 张晓梦(1987), 女, 硕士研究生, 研究方向为分子植物病理。

*通信作者(Corresponding author): 赵君, 教授, 主要从事马铃薯、向日葵病害研究, E-mail: zhaojun02@hotmail.com。

些植物在受到某种病毒侵染后会出现症状的“恢复”现象, 比如, 在线虫传播的多面体病毒属病毒 (Nepovirus) 侵染烟草属寄主植株后, 接种叶和下部非接种叶表现严重的病毒病症状, 但病毒系统侵染后新形成的上部叶片则不表现症状, 只积累少量的病毒^[5], 即这些叶片已从发病状态中“恢复”到正常生长状态。后来在转基因植株中也发现类似现象, 即在接种病毒的初期, 病毒正常增殖, 转基因植株表现出病毒病的典型症状; 但当病毒进行系统扩散后, 植株上部新生叶片中转基因的表达式降低, 并且检测不到病毒粒子, 但却对随后新接种的同种病毒表现出一定的抗性水平^[6], 后来研究者发现这些现象都是由于基因沉默导致的。

基因沉默 (Gene silencing) 是指在 mRNA 的表达水平抑制生物体内的特定基因的表达, 从而导致这些特定基因的沉默。在转基因的研究中, 常常出现转基因沉默, 又被称为转基因失活的现象。基因沉默现象大都与带有同源序列的编码区或启动子的多拷贝有关, 称为同源依赖性的基因沉默 (Homology-dependent gene silencing)。转基因沉默往往发生在转基因与同源的內源基因之间。转基因与內源基因之间经重组分离或减数分裂分离后, 沉默的转基因的表型才能够得以恢复^[7]。

病毒诱导的基因沉默 (Virus induced gene silencing, VIGS) 是指携带植物功能基因 cDNA 的病毒在侵染植物体后, 可诱导植物发生基因沉默而出现一定的表型变异。VIGS 属于转录后的基因沉默即 PTGS, 这是细胞核内转录的 mRNA 进入细胞质后, 由于转入的基因编码区与宿主细胞基因序列间存在着同源性, 导致转入基因与內源基因的表达同时受到抑制, 这种共抑制是 PTGS 的主要机制。具有与病毒携带的基因同源序列的转基因植物, 在受到病毒侵染后, 可在转录后水平将此病毒的 mRNA 降解掉, 从而使得植株对病毒的侵染呈现出一定的抗性水平^[8]。目前认为, 植物基因沉默是植物长期进化形成的用来防止外来遗传物质干扰自身基因组功能并保持自身遗传物质稳定性的重要机制, 是生物体中一种不完全的原始的生物免疫系统。植物中, 常常利用报告基因即葡聚糖酶 GUS (Glucanase) 基因和绿色荧光蛋白 GFP (Green fluorescent protein) 基因来研究转录后基因沉默的传导性^[9]。

VIGS 系统首先在本氏烟和番茄等茄科植物, 拟

南芥 (十字花科) 和大麦 (禾本科) 等植物中得到了验证。如 Kumagai 等^[2]利用烟草花叶病毒 (Tobacco mosaic virus, TMV) 构建了沉默载体。重组后的 TMV 病毒转录区含有一个体外合成的八氢番茄红素合成酶基因 (Phytoene synthase, PSY) 序列片段, 在注射到本氏烟草叶片后成功的沉默了本氏烟草 PSY 基因。随后, 研究者又发现马铃薯 X 病毒 (Potato virus X, PVX) 和马铃薯 Y 病毒 (Potato virus Y, PVY) 也可以作为基因沉默的载体, 如 1998 年, Ruiz 等^[10]在 PVX 基因组上插入了一段 PDS cDNA, 重组病毒侵染植物后出现了光漂白现象, 因此他们认为 PVX 介导的 VIGS 可以有效地抑制植物內源基因的表达。2004 年, 研究者们又发现了可以应用于木薯 (大戟科) 和豌豆 (豆科) 等全新的 VIGS 载体, 即 TRV 载体^[11]。随后, TRV 载体系统的应用范围不断被拓宽, 并成功地应用于茄科作物马铃薯中^[12]。随后, 采用农杆菌灌根法, 研究者又将该载体系统拓宽到辣椒、烟草等茄科植物上^[13-18]。2006 年, TRV 系统成功的被开发并应用于玉米、大豆等重要的经济作物中^[19]。最近, 又有了基于 PEBV (Pea early-browning virus, PEBV) 和大麦条花叶病毒 (Barley stripe mosaic virus, BSMV) 为 VIGS 载体来沉默目的基因的报道。此外, 也有 VIGS 成功地应用于罂粟科的花菱草以及毛茛科耬斗菜中的相关报道^[20]。因此, VIGS 技术体系的建立, 为研究目的基因在不同作物中的功能提供了一个高效的技术平台。

2 病毒诱导基因沉默 (VIGS) 的作用机制

2000 年, Baulcombe^[21]推断 VIGS 机制中存在一种类似 PTGS 过程中的基因沉默信号, 这种信号可能是 dsRNA (Double-stranded RNA)。dsRNA 是病毒复制过程中的中间体, 也是诱导基因沉默的关键起始因子, 它可以通过病毒的复制、RNA 自我复制等机制而产生^[22]。VIGS 启动时一般先形成双链 RNA, 即 dsRNA; 当 dsRNA 积累到一定程度后会被类似动物 Dicer, 也称为 Dicer-like (DCI) 的 RNase-III 酶切割形成大小约为 21~24 nt 的小干扰 siRNA (Short interfering RNA)。siRNA 作为 VIGS 机制启动的促发因子以单链形式与 Argonaute (AGO) 蛋白、RNA 结合蛋白以及其他 RNase 结合形成 RNA 诱导的沉默复合体 (RNA induced silencing complex, RISC)。RISC 是一种蛋白-RNA 效应核酸酶, 由核酸内切酶、核

酸外切酶、解旋酶等组成,对靶mRNA具有识别和切割作用,具有外源和内源核酸酶活性,能够特异地与同源的靶标 mRNA 结合,并最终导致这些靶标 mRNA 降解^[23]。还有另外一种可能的情况是带有 siRNA 的 RISC 特异地识别与 siRNA 高度同源的 mRNA 序列,并以 mRNA 为模版,以 siRNA 为引物在 RNA 聚合酶的作用下合成 dsRNA,此双链 RNA 在下一个循环中被降解掉^[24]。为了抵抗植物中存在的 VIGS 系统对病毒侵入的抑制,许多植物病毒会产生 VIGS 抑制因子 (Suppressor)。这些抑制因子通过与 siRNA 结合使植物体内不能积累有效的 siRNA^[25,26],或通过抑制 AGO 切割活性^[27]等机制来抑制植物中 VIGS。因此,siRNA 的积累和 AGO 具有的酶切的功能在 VIGS 作用机制中起着关键性的作用。

3 病毒诱导基因沉默 (VIGS) 的优点及局限性

要确定一个基因的功能,最直接有效的办法就是抑制该基因的表达或构建功能性基因的突变体,然后观察其表型的变化。目前已有的用于功能丧失 (Loss-of-function) 研究的方法主要包括化学突变分析,转座子或农杆菌 T-DNA 插入突变分析。这些方法在拟南芥的基因功能研究中非常有效,但在其他植物中尚未能大规模的应用^[28]。传统的研究植物基因功能的方法是利用转基因的方法将目的基因进行插入突变,观察突变体和野生型的表型的差异。这种方法涉及到植物的遗传转化和转基因后代的鉴定筛选,周期比较长。VIGS 克服了传统的遗传转化过程中的困难,可在未知目的基因全序列的情况下进行基因的沉默。它不仅可以用 EST 序列或者以某一个基因的片段为对象进行功能鉴定,也可以以 cDNA 文库为对象进行目的基因筛选分析。其次,VIGS 的整个操作过程简便,能够在沉默植株的当代获取目的基因功能丧失的表型,而无需大规模筛选突变体。一般从构建重组载体到农杆菌侵染植物进行功能鉴定仅需几个星期,因此既节省时间又节省人力和物力,可以较大规模的进行基因组序列的功能鉴定,适用于高通量基因文库的筛选。

但是 VIGS 在基因功能研究的过程中也存在一些局限性。VIGS 所用的病毒载体大部分集中在模式植物普通烟、本生烟和拟南芥上,许多适用于粮食作物和经济作物的目的基因沉默的病毒载体还没有开发出来。此外,有些病毒侵染植物后引起的病毒

症状比较严重,从而干扰沉默植株的表型,给鉴定工作带来一定的困难。与传统基因敲除的方法不同,VIGS 是将目的基因的表达量下调,而当目的基因下调量不能达到一定的比例时,仍然余留的目的基因表达有可能干扰最终的实验结果。其次,VIGS 系统对环境条件的要求极为严格,如有低温和高湿的条件下才可以在番茄中明显的观察到目标基因沉默的效果。再者,病毒诱导的内源基因沉默一般在 2~4 周是观察表型的最佳时期,随着时间的推移,病毒载体上的植物基因片段会逐渐的丢失,沉默表型逐渐减弱或消失。因此,在有的植物上研究者能够观察到的 VIGS 导致的异常表型的时间相对较短,从而给后续的研究带来一定的困难。

4 病毒诱导基因沉默 (VIGS) 的应用

4.1 VIGS 在植物基因功能研究中的应用

VIGS 技术应用的领域越来越广泛,目前,应用最多的是鉴定植物中的功能基因。有研究表明,VIGS 在植物体的各种组织和器官中可诱导目标基因沉默,如 TRV 载体能够在番茄植株的多个部位产生沉默效果,如叶片、花^[29]、果实^[17]。宋杰等^[30]利用一种基于 PEBV 的 VIGS 载体研究一个豌豆 *Pi* 同源基因的功能,发现豌豆在其 *P_sPi* 基因沉默后出现了类似拟南芥 *pi* 突变体、金鱼草 *glo* 突变体的表型即导致其花瓣向萼片以及雄蕊向心皮转变。Holzberg 等^[31]以大麦条花叶病毒为载体,成功的诱导了大麦叶片中 PDS 基因沉默。这是目前唯一的将 VIGS 应用于单子叶植物的报道。众多的研究表明 VIGS 技术是研究植物基因功能快速有效的方法,尤其是对于一些转化困难的非模式植物的基因功能的研究更为重要。

4.2 VIGS 在植物抗病机制领域的应用

植物抗病相关基因的鉴定和分离是 VIGS 目前应用比较活跃的领域之一,尤其是在研究符合基因对基因学说的抗性相关基因的功能方面已有很多报道,这主要是得益于多数符合基因对基因学说的抗性基因编码产物,能够与其对应的无毒基因编码的产物互作并表现出明显的过敏性坏死反应 (Hypersensitive response, HR)。由于不同寄主植物种类间 R/Avr 互作后引起的下游信号传导途径相对保守,将互补的 R/Avr 基因对分别克隆到双元表达载体后,转化农杆菌并导入植物叶片,或将表达 Avr 的农杆菌或病原菌本身导入含互补 R 基因的寄

主植物, 均可导致 R/Avr 诱发的 HR 坏死反应。通过比较野生型 VIGS 和 VIGS 植株的 HR 坏死病斑大小和数量, 即可确定被沉默基因在 R/Avr 诱发产生 HR 中的作用。根据该思路, 大量抗性基因在多个 R/Avr 互作中, 包括 Pto/AvrPto、Rx/PVX、N/TMV、Cf/Avr 等诱导的 HR 反应的功能已得到鉴定^[20]。如 Slamaker 等^[32]利用 PVX 载体制烟草叶绿体中一个碳酸酐酶 (CA) 基因的表达, 结果表明寄主烟草中 Pto:avrPto 介导的免疫抗性被抑制。崔艳红等^[33]利用 VIGS 技术在烟草中沉默已知的抗病信号传导路径中的关键基因如 SIPK、NDR1、SGT1、HSP90、NPR1、Rar1、EDS1、WRKY1, 同时瞬时表达马铃薯抗病基因 RB 和 R3a 与其相应的无毒基因 RB-Avrblb1 和 R3a-AvR3a, 根据 HR 反应是否被阻断来研究 RB 和 R3a 所介导的抗病机制, 结果发现 SGT1 和 HSP90 基因沉默阻断了 RB 和 R3a 介导的 HR 反应, 表明 SGT1 和 HSP90 是 RB 和 R3a 抗病信号传导途径中的关键基因。拟南芥中, 研究者利用 TRV 沉默体系研究植物防御反应通路相关基因的功能, 发现这些基因与植物中抗丁香假单胞菌基因 R 的产物 RPS2 转导的信号途径相关^[34]。在大麦中, 利用 BSMV 介导的 VIGS 转化系统, 证明了 Rar1、Sgt1 和 Hsp90 等抗病基因在小麦抗叶锈病基因 Lr21 以及大麦抗白粉病基因 Mla13 介导的抗性途径中均起着非常重要的作用^[23-24]。

VIGS 除了应用于符合基因对基因学说的抗性相关基因功能的鉴定和筛选外, 还被用于鉴定其他类型和抗病性以及防卫反应相关基因的功能^[20]。如植物中 Ca 依赖蛋白激酶 (CDPK) 被认为在植物抗病反应中起重要作用, Romeis 等^[34]从烟草中分离了两个 CDPK 的 cDNA 并利用 VIGS 对其中一个在烟草中的功能进行了验证。结果表明 CDPK 被抑制的植物表现出超敏反应滞后的症状, 且没有萎蔫表型。李亚军等^[35]利用 VIGS 技术, 在本氏烟草 (*Nicotina benthamiana*) 中成功沉默了两个马铃薯晚疫病水平抗性相关的基因片段 EL732276 和 EL732318, 并证明了这两个基因在马铃薯广谱抗性建立过程中的作用。总之, VIGS 系统在研究某些抗病基因的功能, 解析植物抗病信号路径过程中发挥着越来越重要的作用。

4.3 VIGS 在其它研究领域中的应用

VIGS 除了应用于植物功能基因组和植物抗病机制研究领域外, 还被应用于作物品种的改良。如果

作物中存在有人们不希望表达的内源基因, 就可以通过转基因技术和病毒载体, 将人工构建的具有反向重复的核内源基因的片段导入宿主细胞中, 从而使该基因沉默, 这一技术多用于作物品种性状的改良等领域。此外, 将植物易感的病毒基因片段整合到宿主染色体上, 这样当该病毒或与该病毒有亲缘关系的其它病毒侵染植物后, 植物可通过 PTGS 防卫机制降解病毒 RNA, 从而增加植物的抗病性^[36]。另外, VIGS 还被应用于抗虫信号传导途径中, 植物为保护自己免受食草动物攻击而产生化学物质或有毒物质来防御昆虫的危害。烟草中的尼古丁可直接杀死不适应于尼古丁的食草动物或抑制适应于尼古丁的食草动物的生长。利用 VIGS 技术沉默烟草中由茉莉酸介导的尼古丁防御系统中的关键基因, 外源茉莉酸处理后引起尼古丁升高^[37], 从而达到抵抗食草动物取食的作用; 抗旱信号传导途径中, 研究者利用 VIGS 方法, 沉默与乙醇脱氢酶具有同源性的黄酮醇 3-O-葡萄糖基转移酶 (F3OGT), 与对照相比沉默植物表现明显的萎蔫症状^[38]。此外, VIGS 技术还在植物细胞中的合成和代谢途径如甾醇合成途径^[32]、光合作用途径^[33]、以及纤维素合成途径^[34]的研究得到广泛的应用。

5 VIGS 技术的前景展望

21 世纪的分子生物学已经进入后基因组时代, 植物功能基因研究已成为植物分子生物学研究的热点。但是由于植物的生长周期长, 传统的植物基因功能研究方法越来越不能满足植物功能基因组研究。而病毒诱导的基因沉默技术具有简单、快速、高通量等优点, 可望解决植物基因功能研究周期长的瓶颈问题。近年来, 由于技术的优越性, VIGS 越来越多地被用于植物生物学许多领域分子机理的研究, 显示出作为基因鉴定和功能分析工具的巨大潜力。今后几年有关 VIGS 的研究和应用至少包括以下几个方面: 首先, 拓宽更广泛的植物寄主范围、大规模基因筛选和鉴定分析、建立更高效的 VIGS 体系等。主要是在原有载体基础上进行的改进或者通过改进载体导入方法、植物培育条件等措施拓宽现有载体系统的适用植物寄主范围。其次, 如何获得目标基因的系统性沉默仍然是 VIGS 技术目前需要解决的问题。目前的研究发现, VIGS 虽然可以引发目标基因的系统性沉默, 但植株各个部位的沉默效率

往往表现出不一致性,即有些部位沉默效率很高,但有些部位只有轻微的沉默表型。第三,目的基因沉默持续的时间长短的问题。目前的研究发现,VIGS 持续的时间可达到 2~3 个月,这对于生长周期较长的植物显然还不够,因此需要通过病毒载体的选择或改造来增强病毒的活性,从而延长VIGS 的作用时间和增强目标基因的沉默效果,可能是今后值得尝试的工作。综上所述我们认为今后VIGS 技术必将在更多的植物物种中得到应用,并将成为植物功能基因组研究中广泛应用的技术。

[参 考 文 献]

- [1] Napoli C, Lemieux C, Jorgensen R, *et al*. Introduction of a chimeric chalcone synthase gene into petunia results in reversible co-suppression of homologous gene intrans [J]. *Plant Cell*, 1990, 2: 279-289.
- [2] Kumagai M H, Donson J, della-Choppa G, *et al*. Cytoplasmic inhibition of carotenoid biosynthesis with virus-derived RNA [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92: 1679-1683.
- [3] Fire A, Xu S, Montgomery M K, *et al*. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Nature*, 1998, 391(6669): 806-811.
- [4] Voinnet O. RNA silencing as a plant immune system against viruses [J]. *Trends Genet*, 2001, 17(8): 449-459.
- [5] Wingard S A. Hosts and symptoms of rings pot, a virus disease of plants [J]. *Journal of Agricultural Research*, 1928, 37: 127-153.
- [6] Lindbo J A, Silvas-Rosales L, Proebsting W M, *et al*. Induction of highly specific antiviral state in transgenic plants: implications for regulation of gene expression and virus resistance [J]. *The Plant Cell*, 1993, 5: 1749-1759.
- [7] Stam M, De Bruin R, Kenter S, *et al*. Posttranscriptional silencing of chalcone synthase in *Petunia* by inverted transgene repeats [J]. *Plant J*, 1997, 12: 63-82.
- [8] Lu R, Martin-Hernandez A M, Peart J R, *et al*. Virus induced gene silencing in plants [J]. *Methods*, 2003, 30(4): 296-303.
- [9] Palauqui J C, Vaucheret H. Transgenes are dispensable for the RNA degradation step of cosuppression [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 9675-9680.
- [10] Ruiz M T, Voinnet O, Baulcombe D C. Initiation and maintenance of virus-induced gene silencing [J]. *Plant Cell*, 1998, 10: 937-946.
- [11] Constantin G D, Krath B N, MacFarlane S A, *et al*. Virus-induced gene silencing as a tool for functional genomics in a legume species [J]. *The Plant Journal*, 2004, 40: 622-631.
- [12] Faivre-Rampant O, Gilroy E M, Hrubikova K, *et al*. Potato virus X-induced gene silencing in leaves and tubers of potato [J]. *Plant Physiology*, 2004, 134: 1308-1316.
- [13] Liu Y, Schiff M, Czymmek K, *et al*. Autophagy regulates programmed cell death during the plant innate immune response [J]. *Cell*, 2005, 121: 567-577.
- [14] Ekengren S K, Liu Y L, Schiff M, *et al*. Two MAPK cascades, NPR1, and TGA transcription factors play a role in Pto-mediated disease resistance in tomato [J]. *The Plant Journal*, 2003, 36: 905-917.
- [15] Liu Y L, Schiff M, Dinesh-Kumar S P. Virus-induced gene silencing in tomato [J]. *The Plant Journal*, 2002, 31: 777-786.
- [16] Ryu C M, Anand A, Kang L, *et al*. Agrodrench: a novel and effective agroinoculation method for virus induced gene silencing in roots and diverse Solanaceous species [J]. *The Plant Journal*, 2004, 40: 322-331.
- [17] Fu D Q, Zhu B Z, Zhu H L, *et al*. Virus-induced gene silencing in tomato fruit [J]. *The Plant Journal*, 2005, 43: 299-308.
- [18] Bhattarai K K, Li Q, Liu Y, *et al*. The Mi-1-mediated pest resistance requires *Hsp90* and *Sgt1* [J]. *Plant Physiology*, 2007, 144: 312-323.
- [19] Ding X S, Schneider W L, Chaluvadi S R, *et al*. Characterization of a Brome mosaic virus strain and its use as a vector for gene silencing in monocotyledonous hosts [J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2006, 19: 1229-1239.
- [20] Hileman L C, Drea S, Martino G, *et al*. Virus-induced gene silencing is an effective tool for assaying gene function in the basal eudicot species *Papaver somniferum* (opium poppy) [J]. *The Plant Journal*, 2005, 44: 334-341.
- [21] Baulcombe D. Unwinding RNA silencing [J]. *Science*, 2000, 290: 1108-1109.
- [22] Benedito V A, Visser P B, Angenent G C, *et al*. The potential of virus-induced gene silencing for speeding up functional characterization of plant genes [J]. *Genet Mol Res*, 2004, 3(3): 323-341.
- [23] Voinnet O. Induction and suppression of RNA silencing: insights from viral infections [J]. *Nature Reviews Genetics*, 2005, 6: 206-220.
- [24] Waterhouse P M, Helliwell C A. Exploring plant genomes by RNA-induced gene silencing [J]. *Nat Rev Genet*, 2003, 4(1): 29-38.
- [25] Lakatos L, Csorba T, Pantaleo V, *et al*. Small RNA binding is a common strategy to suppress RNA silencing by several viral suppressors [J]. *The EMBO Journal*, 2006, 25(12): 2768-2780.
- [26] Merai Z, Kerenyi Z, Kertesz S, *et al*. Double-stranded RNA binding may be a general plant RNA viral strategy to suppress RNA silencing [J]. *Journal of Virology*, 2006, 80(12): 5747-5756.
- [27] Zhang X R, Yuan Y R, Pei Y, *et al*. Cucumber mosaic virus-encoded 2b suppressor inhibits Arabidopsis Argonaute1 cleavage activity to counter plant defense [J]. *Genes and Development*, 2006, 20(23): 3255-3268.
- [28] 徐幼平, 徐秋芳, 宋小易, 等. 病毒诱导的基因沉默[J]. *浙江大学学报*, 2008, 34(2): 119-131.
- [29] Fu D, Zhu B, Zhu H, *et al*. Enhancement of virus-induced gene silencing in tomato by low temperature and humidity [J]. *Mol Cells*, 2006, 21: 153-160.
- [30] 宋伟杰, 王铮, 王利琳. 利用病毒诱导的基因沉默技术研究一个豌豆 PI 同源基因的功能[J]. *科学通报*, 2007, 52 (14): 1644-1648.
- [31] Holzberg S, Brosio P, Gross C, *et al*. Barley stripe mosaic virus

2012 年国外马铃薯栽培领域研究概况

(1. 湖南农业大学园艺园林学院, 湖南 长沙 410128; 2. 湖南省马铃薯工程技术研究中心, 湖南 长沙 410128; 3. 中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100088)

关键词：马铃薯；水分；肥料；产量；品质

Overseas Research on Potato Cultivation in 2012

(1. College of Horticulture and Landscape, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China; 2. Hunan Provincial Engineering and Technology Research Center for Potatoes, Changsha, Hunan 410128, China; 3. Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Key Words: potato; water; fertilizer; yield; quality

* 通信作者 (Corresponding author) : 熊兴耀, 主要从事马铃薯栽培研究, Email: xiongxy@hunau.net

- (C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>