

杨玛丽, 赵统敏, 余文贵, 等. 转基因 RNAi 技术在番茄研究中的应用[J]. 江苏农业学报, 2015, 31(1): 217-221.
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2015.01.034

转基因 RNAi 技术在番茄研究中的应用

杨玛丽¹, 赵统敏¹, 余文贵¹, 张保龙², 陈天子², 赵丽萍¹, 王银磊¹

(1. 江苏省农业科学院蔬菜研究所, 江苏 南京 210014; 2. 江苏省农业科学院农业生物技术研究所, 江苏 南京 210014)

摘要: RNAi(RNA interference)技术是一项基因沉默技术,能够阻断特定基因的表达,从而为探索未知基因的功能提供了一个很好的反向遗传学研究平台。番茄作为一种重要的蔬菜作物和模式作物, RNAi 技术在其遗传改良进程中已得到了广泛应用。本文对 RNAi 技术在番茄基因功能、品质性状的遗传改良、抗病研究中的应用进展及其应用前景进行了综述。

关键词: RNAi; 基因沉默; 番茄; 遗传改良

中图分类号: S641.2

文献标识码: A

文章编号: 1000-4440(2015)01-0217-05

Progress in RNA interference technique applied in tomato

YANG Ma-li¹, ZHAO Tong-min¹, YU Wen-gui¹, ZHANG Bao-long², CHEN Tian-zi², ZHAO Li-ping¹, WANG Yin-lei¹

(1. Institute of Vegetable Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; 2. Institute of Agro-biotechnology, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: RNA interference is a gene-silencing technology, which can suppress the expression of corresponding gene. It has been a reverse genetic platform for the gene function research. The RNAi technology is widely used in tomato, an important vegetable crop and a model plant in molecular biology field. This review summarized the application of RNAi in tomato gene function research, quality improvement, resistance to diseases, and analyzed its application prospects in tomato research.

Key words: RNA interference; gene silencing; tomato; genetic improvement

RNAi(RNA interference)是在 20 世纪 90 年代被发现的一种由双链 RNA(Double stranded RNA, dsRNA)诱发的基因沉默现象,其机制是通过阻碍特定基因的翻译或转录来抑制基因表达,在进化过程中是高度保守的^[1]。RNAi 具有 4 个重要特征:高特

异性、抑制基因表达的高效性、RNAi 的可扩散性和可遗传性以及沉默信号的高稳定性^[2-4]。因此, RNA 干扰现象自从被发现以后,迅速成为当今生物学研究的一大热点。利用 RNAi 技术,能够扩大可操作基因的范围和突变的种类,对目的基因的表达具有可控性,为 RNAi 在植物功能基因组学研究以及植物性状改良方面提供了一个强有力的手段^[5]。而番茄是世界范围内的重要经济作物,同时在植物生物学研究领域也占有重要地位,因此 RNAi 技术在番茄应用中的研究比其他蔬菜作物更广泛、更深入,并率先在品质及抗病性改良方面取得了成功。为此,本研究对 RNAi 在番茄基因功能、品质改良、抗病研究中的应用进行了综述。

收稿日期:2014-04-24

基金项目:江苏省自然科学基金项目(BK2011676);江苏省农业科技自主创新基金项目[CX(12)1004]

作者简介:杨玛丽(1980-),女,山西运城人,硕士,助理研究员,主要从事番茄分子育种研究。(Tel)025-84390663;(E-mail)maryyang0314@163.com

通讯作者:赵统敏,(Tel)025-84391750;(E-mail)tmzhaomail@163.com

1 RNAi 在番茄基因功能分析方面的应用

随着后基因组时代的到来,植物功能基因组学已成为生物学研究的热点。高通量测序技术的成熟使得植物核酸序列信息与日剧增,针对目的基因构建 siRNA,利用 RNAi 技术关闭该基因的表达,根据表型的改变可以分析基因的功能,因此 RNAi 为大规模功能基因组学的研究提供了切实可行的方法,在番茄发育相关基因功能研究中也得到了广泛的应用。

1.1 番茄营养器官发育

张建苓^[6]构建了 *SIDEAHI* 基因的沉默表达载体,发现转基因番茄叶片长度明显短于野生型番茄叶片,叶片大小也明显小于野生型番茄叶片,表明该基因在番茄叶片发育过程中发挥重要作用。Xiao 等^[7]利用 RNA 干扰技术分别调控了 GA 20-氧化酶的 3 个家族成员的表达,结果发现, *GA20ox1* 和 *GA20ox2* RNAi 转基因植株表现半矮化,叶片变小增厚,叶色加深,而 *GA20ox3* RNAi 转基因植株侧根数量减少,长度增加,3 个 *GA20ox* 的 RNAi 转基因植株均能正常开花结果,形成正常的种子,说明抑制 *GA20oxd* 表达对植物营养器官的生长发育产生影响,而对生殖器官的发育影响不大。

1.2 番茄生殖器官发育

王翔等^[8]利用 RNAi 技术显著降低了转基因植株中 *TAG1* 的转录水平,发现该基因不仅严重影响番茄雄蕊和雌蕊的形态,还影响果实的育性。Vrebalov 等^[9]利用 RNAi 技术,证明了番茄 *TAGL1* 基因能够调控番茄肉质果实膨大及成熟。Dong 等^[10]以 MADS-box 转录因子 *SIMADS1* 为靶基因构建了 RNAi 载体,转基因植株的番茄果实成熟时间缩短,乙烯产量相比对照植株的果实也增长了 2~4 倍,由此证明 *SIMADS1* 作为负调控因子参与番茄果实成熟。De 等^[11]针对生长素响应因子 *ARF7* 构建 RNAi 载体抑制其表达,转基因植株获得了无籽果实,为生长素调控植物的单性结实提供了直接证据。

近年来番茄基因组测序的完成,人们获得了众多的候选基因, RNAi 为注释和认识这些基因作用提供了一种快速、高效的鉴定方法,今后越来越多的基因功能将得以确定。

2 RNAi 在番茄品质遗传改良方面的应用

番茄因其丰富的营养、独特的风味和多样的食用

方式而深受人们喜爱。随着人民生活水平和生活质量的提高,番茄品质受到越来越多的关注。RNAi 技术对目的基因的操作具有可控性,不仅可以缩短育种周期,而且可以特定的改变农产品的某些品质。因此,利用 RNAi 技术提升番茄品质已成为番茄品质育种的主要研究方向之一,主要用于提高番茄红素和维生素 C 含量及提高番茄耐贮性等方面的研究。

2.1 RNAi 与番茄红素积累

番茄红素的抗氧化性能是天然类胡萝卜素中最强的,而且在保护人类健康方面起着非常重要的作用^[12-14]。随着番茄红素生物合成途径的阐明以及 RNAi 技术的不断发展,在提高番茄果实中番茄红素含量方面的研究不仅仅局限于促进番茄红素生物合成酶 (*PSY*、*PDS*、*ZDS*) 的超量表达,应用 RNAi 技术可介导抑制植物基因的表达,从而达到调控基因的目的。

研究结果表明,番茄果实中的光敏色素对果实成熟过程中番茄红素积累具有调节作用^[15]。Liu 等^[16]利用 RNAi 技术,对光信号传导基因 *LeHY5* 和 *LeCOPILIKE* 进行调控,可以大幅度改变番茄果实的色素积累和营养品质。Davuluri 等^[17]利用 RNAi 技术,结合使用果实特异性启动子,选择性抑制了果实中的 *DET1* 基因的活性,得到的转基因番茄果实中番茄红素的含量提高了 4 倍,且对产量及品质未产生不良影响。万群等^[18]通过 RNAi 抑制编码番茄红素转化酶基因 *Lcy* 的表达,并结合果实特异性启动子 *Pds*,得到的转基因番茄果实中番茄红素的平均含量是对照的 2.1 倍,最高可增长 3.2 倍。马超等^[19]通过 RNAi 阻断番茄红素 β 环化酶基因 *Lyc- β* 来达到调控番茄红素大量积累的结果,转基因植株中番茄红素的含量最高可达 13.84 $\mu\text{g/g}$, FW, 是对照的 4.26 倍。最近, Sun 等^[20]利用 RNAi 技术将编码 9-顺式-环氧类胡萝卜素加双氧酶蛋白质基因 *SINCE1* 进行了沉默,转基因植株果实的番茄红素和 β -胡萝卜素均得到了显著增加。

2.2 RNAi 与番茄耐贮性改良

番茄是呼吸跃变型的果实,不耐贮藏和运输,果实成熟后极易变质腐烂。利用 RNAi 技术提高果实耐贮性时,主要是通过两种途径延长番茄的存贮期。

第 1 种途径是通过抑制乙烯的产生,主要选择与乙烯合成有关的 SAM (S-adenosine ammonium sulfate acid) 水解酶基因、ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid) 合成酶基因、ACC 氧化酶基因、ACC

脱氢氨酶基因,从而达到果实耐贮的目的。Xiong 等^[21]根据 ACC 氧化酶基因的序列构建 RNAi 载体,农杆菌介导法进行遗传转化,结果发现 13% 的植株没有表现出 RNA 干扰效果,18% 的植株表现出 50% 的 RNA 干扰效果,果实从破色期到成熟期需要 30 d,69% 的转化植株表现出 100% 的 RNA 干扰效果,果实从破色期到成熟期需要 120 d,而对照果实只需 5 d。Chen 等^[22]用 BP 克隆的方法构建了番茄 ACO (1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid oxidase) 基因的 RNAi 载体,获得转基因植株 27 株,内源 ACO 基因的表达均得到了抑制,所有转基因植株的乙烯生产量明显低于对照植株。Gupta 等^[23]利用 RNAi 技术,并结合果实特异性启动子 2A11 抑制了 3 个 ACS (1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase) 基因 (ACS6、ACS1A、ACS2) 的表达,转基因植株果实从破色期到成熟期延长至 45 d,而对照果实收货后 8 ~ 10 d 即开始腐烂。

第 2 种途径是通过抑制细胞壁果胶的降解,主要是选择与细胞壁水解有关基因作为靶基因使其沉默。甘露聚糖酶通过参与细胞壁降解在番茄成熟过程中发挥重要作用,Wang 等^[24]利用 mRNAi 技术抑制了 *LeMan4a* 基因的表达,从而抑制了甘露聚糖酶的活性,转基因植株果实的硬度明显比对照要高。Meli 等^[25]选择了与果实成熟过程中特有的 N 糖蛋白质修饰酶中 α -Man 和 β -Hex 基因,分别构建了 RNAi 载体,结果发现,含有 α -Man-RNAi 的转基因植株的果实硬度是对照的 2.5 倍,含有 β -Hex-RNAi 的转基因植株的果实硬度是对照的 2 倍,二者的货架期均延长了大约 30 d,而且未对包括产量在内的其他表型性状产生负面影响。

由此可见,RNAi 技术能非常有效地抑制靶基因的表达,是改良番茄耐贮性的有效手段。

2.3 RNAi 与番茄维生素 C 改良

番茄中含有丰富的抗坏血酸(即维生素 C),通过基因工程手段调控植物抗坏血酸合成和代谢,能够增加其产品的营养品质,并增强植物本身对逆境的抗性。抗坏血酸过氧化酶 (APX) 和抗坏血酸氧化酶 (AAO) 是植物抗坏血酸的氧化代谢途径中的关键酶。

Zhang 等^[26]利用 RNAi 技术减少了线粒体抗坏血酸过氧化物酶 *mitAPX* 基因的表达,相比对照植株,转基因植株中 *mitAPX* 活性减少了 29% ~ 45%,而抗坏血酸的含量增加了 1.4 ~ 2.2 倍,从而为提高

植物抗坏血酸含量提供了一种切实可行的方法。

3 RNAi 在番茄抗病方面的应用

3.1 抗病毒病

植物病毒病是重要的植物病害,应用 RNAi 技术可以实现对病毒的有效防治。把源自病毒的基因构建成反向重复结构导入植物体,植物会通过 RNAi 机制对病毒转录的 mRNA 进行切割降解,从而阻止病毒的复制扩张,进而保护植物体不受病毒危害^[27]。

番茄黄化曲叶病毒病是一种在世界范围内暴发的毁灭性病害,危害严重的地区可导致番茄的全面绝产,已经成为世界许多地区番茄生产上的重要限制因素^[28-29]。引起该病害的番茄黄化曲叶病毒 (TYLCV) 为单链 DNA 病毒,具有 6 个开放性阅读框,分别编码外壳蛋白质 (CP)、移动蛋白质 (V2)、复制相关蛋白质 (Rep)、转录激活蛋白质 (TrAP) 和复制加强蛋白质 (REn)^[30]。以 *V1* 基因为靶基因构建 siRNAs,利用 GFP 作为报告基因,转入 micro-tom 番茄中干扰了 CP 积累,经过烟粉虱接种鉴定,转基因植株 49 d 后没有表现出症状,而对照植株接种 14 d 后就表现出症状^[31]。以 *C1* 基因的 3' 端的 726 个核苷酸序列形成的发夹结构转入到感病番茄材料 Campbell-28 中,用来诱导转录后的基因沉默以抑制 TYLCV 的复制,得到的转基因番茄植株对 TYLCV 表现出了较好的抗性^[32]。将 Rep 蛋白质基因的 5' 端部分序列与 IR 序列相连导入番茄,转基因番茄植株在被 TYLCV 感染后无病症产生,而且通过 PCR 也未检测到病毒 DNA^[33]。同时,有研究选用了 TYLCV 中开放阅读框之间的 3 个重叠片段 C1C2、C2C3、V1V2 分别构建了 RNAi 载体,获得的转基因番茄利用 TYLCV-Eg 侵染性克隆过量接种 10 d,结果发现含有 C1C2 载体的转基因植株抑制病毒的复制的效果最为理想^[34]。可见通过 RNAi 技术可以干扰 TYLCV 的功能基因,阻止病毒功能基因的合成,从而阻碍病毒的合成、组装和复制,达到抗病毒的作用。

番茄花叶病毒 (ToMV) 是一类世界性分布的植物病毒,侵染番茄后,会使叶片出现黄绿相间、浓淡不均,对番茄的品质和产量影响较大。苏建辉等^[35]利用 ToMV 的 CP/复制酶区基因片段,构建 RNAi 载体,结果发现当野生型加工番茄出现系统侵染并严重矮化或植株枯死时,转基因植株一直没有发病现象,RT-PCR 也没有检测到 ToMV 病毒。

马铃薯 Y 病毒 (PVY) 主要感染马铃薯、番茄、辣椒等作物,感染该病毒一般减产 50% 左右。有研究结果表明 *elF4E* 参与植物病毒互作,影响病毒在寄主中复制和侵染过程。张余洋等^[36]通过 RNA 干涉调控番茄 *elF4E* 表达,结果发现转化番茄对 PVY 表现较好的抗性,因此通过 RNAi 技术抑制 *elF4E* 表达可提高植物对 PVY 的抗性。

3.2 抗真菌病

番茄容易受到真菌性病害的侵染。有研究结果表明,在病原菌与植物的互作过程中,植物体内的双链干涉序列是可以进入到病原菌体内,尽管进入的机制还不十分清楚^[37]。针对病原菌的致病关键基因构建干扰载体,并转化到寄主细胞中,通过病原菌与寄主的互作,RNAi 产物能够进入到病原菌体内,从而抑制了致病关键基因的表达,使病原菌缺乏致病力^[38]。目前利用该方法在番茄抗真菌病害研究中还没有报道。

3.3 抗根结线虫

在全世界范围内,根结线虫 (*Meloidogyne* spp.) 对很多的作物造成了巨大的经济损失,严重阻碍农业的持续发展。利用 RNA 干涉技术在植物组织内产生 dsRNA,线虫在取食植物细胞质的同时也摄入了 dsRNA,从而诱导相应基因的沉默,为运用转基因技术防治根结线虫提供了新的策略。

番茄是多种根结线虫的高感病的寄主,利用 RNAi 技术提高番茄对线虫抗性的报道也逐渐增多。张余洋等^[39]选取根结线虫寄生相关的 3 个基因作为靶基因分别构建 RNAi 载体,通过农杆菌介导的遗传转化得到番茄转基因植株,结果发现分别干涉 *Mi-crt* 和 *16D10* 的转基因植株均获得了明显的根结线虫抗性,从而证实利用 RNAi 技术使番茄获得对线虫抗性的方法是可行的。Matsuraga 等^[40]将南方根结线虫 *POS-1* 基因的 dsRNA 接种到番茄根部,接着用根结线虫侵染根部发现,根结线虫的孵化率与对照组相比明显降低。可见在植物表达与昆虫同源的双链 RNA,可以触发取食体内发生 RNA 干扰,进而影响昆虫生长甚至杀死昆虫,而且利用 RNAi 技术防治害虫具有很高的特异性,不会对其他有益昆虫产生影响。

需要注意的是线虫的取食管对分子的大小具有筛选的作用,如果选择的 dsRNA 片段过长,可能会超过线虫取食管所限制的大小,而无法进入线虫体内。

4 展望

RNAi 已成为研究基因功能不可或缺的工具。但在利用 RNAi 技术研究基因功能时,最好同步构建超表达载体进行转化,通过正向和反向遗传学方法来观察某个基因在植物中的表型,相互验证,从而确定其功能。另外,解析基因的功能必须同时考虑基因及其表达产物之间的广泛联系和相互作用网络,仅仅依靠 RNAi 是难于胜任的,还需要与其他技术的结合,如 RNAi 与基因芯片技术的结合,以便了解被沉默基因与其他基因的关系。

RNAi 技术作为一种下调表达技术,广泛应用于作物的遗传改良进程中。利用 RNAi 技术获得的转基因植株,既不存在有功能的基因或蛋白质,也不存在转基因 mRNA 的积累,较为符合人们对生物安全性的要求。因此,随着人们对 RNAi 技术研究的不断深入,该技术可以创制更多类型的新种质,在番茄抗病性、品质遗传改良方面将具有更为广泛的应用前景。

参考文献:

- [1] ELBASHIR S M, HARBORTH J, LENDECKEL W, et al. Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells[J]. *Nature*, 2001, 411(6836):494-498.
- [2] BRUMMELKAMP T R, BERNARDS R, AGAMI R, et al. A system for stable expression of short interfering RNAs in mammalian cells [J]. *Science*, 2002, 296(5567):550-553.
- [3] BRANTL S. Antisense-RNA regulation and RNA interference [J]. *Bilchim Biophys Acta*, 2002, 157(1-3):15-25.
- [4] MELNYK C W, MOLNAR A, BAULCOMBE D C. Intercellular and systemic movement of RNA silencing signals [J]. *EMBO J*, 2011, 30(17):3553-3563.
- [5] 朱龙付,张献龙. RNAi 及其在植物遗传改良中的应用[J]. *华中农业大学学报*, 2004, 23(4):472-477.
- [6] 张建琴. 番茄 *DEAD-box* RNA 解旋酶基因 *SIDEAHI* 的克隆及功能研究[D]. 重庆:重庆大学, 2013.
- [7] XIAO J H, LI H X, ZHANG J H, et al. Dissection of *GA 20-oxidase* members affecting tomato morphology by RNAi-mediated silencing [J]. *Plant Growth Regulation*, 2006, 50(2): 179-189.
- [8] 王翔,尹钧. 番茄花柄离区发育基因 *JOINTLESS* 及互作蛋白基因的功能研究[J]. *园艺学报*, 2011, 38(4): 701-708.
- [9] VREBALOV J, PAN I L, ARROYO A J M, et al. Fleshly fruit expansion and ripening are regulated by the tomato SHATTER-PROOF gene *TAGL1* [J]. *Plant Cell*, 2009, 21:3041-3062.
- [10] DONG T T, HU Z L, DENG L, et al. A tomato MADS-box transcription factor, *SIMADS1*, acts as a negative regulator of fruit ripening [J]. *Plant Physiol*, 2013, 163(2):1026-1036.

- [11] DE J M, WOLTERS-ARTS M, FERON R, et al. The *Solanum lycopersicum* AUXIN RESPONSE FACTOR 7 (SlARF7) mediates signalling during tomato fruit set and development [J]. *The Plant Journal*, 2009, 57(1):160-170.
- [12] 赵秋月,张广臣. 番茄对碱性盐胁迫的响应机理[J]. *江苏农业科学*, 2014, 42(8):139-142.
- [13] 赵丽萍,赵统敏,杨玛丽,等. 樱桃番茄新品种金陵佳玉的选育及栽培技术[J]. *江苏农业科学*, 2014, 42(8):145-146.
- [14] 汪海燕,王 辉. 不同施肥处理对番茄根际土壤铜形态变化及生物有效性的影响[J]. *江苏农业科学*, 2014, 42(5):245-249.
- [15] ALBA R, CORDONNIER-PRATT M M, PRATT L H. Fruit-localized phytochromes regulate lycopene accumulation independently of ethylene production tomato [J]. *Plant Physiology*, 2000, 123:363-370.
- [16] LIU Y S, ROOF S, YE Z B, et al. Manipulation of light signal transduction as a means of modifying fruit nutritional quality in tomato [J]. *PNAS*, 2004, 101:9897-9902.
- [17] DAVULURI G R, VAN T A, FRASER P D, et al. Fruit-specific RNAi-mediated suppression of DET1 enhances carotenoid and flavonoid content in tomatoes [J]. *Nature Biotechnology*, 2005, 23:890-895.
- [18] 万 群,张兴国,宋 明. 果实特异性 RNAi 介导的 *Lcy* 基因沉默来增加番茄果实中番茄红素的含量[J]. *生物工程学报*, 2007, 23(3):429-433.
- [19] 马 超,马兵钢,郝青南,等. 番茄红素 β 环化酶基因(*Lyc- β*) RNAi 载体构建及表达鉴定[J]. *农业生物技术学报*, 2010, 18(1):10-17.
- [20] SUN L, YUAN B, ZHANG M, et al. Fruit-specific RNAi-mediated suppression of *SINCE1* increases both lycopene and β -carotene contents in tomato fruit[J]. *J Exp Bot May*, 2012, 63(8):3097-3108.
- [21] XIONG A S, YAO Q H, PENG R H, et al. Different effects on ACC oxidase gene silencing triggered by RNA interference in transgenic tomato [J]. *Plant Cell Rep*, 2005, 23:639-646.
- [22] CHEN Y H, OUYANG B, LI H X, et al. Cloning of *ACO* gene and inhibition of ethylene evolution in tomatoes with RNA interference [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2007, 15(3):464-468.
- [23] GUPTA A, PAL R K, RAJAM M V. Delayed ripening and improved fruit processing quality in tomato by RNAi-mediated silencing of three homologs of 1-aminopropane-1-carboxylate synthase gene [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2013, 170(11):987-995.
- [24] WANG A X, LI J F, ZHANG B X, et al. Expression and location of endo-beta-mannanase during the ripening of tomato fruit, and the relationship between its activities and softening [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2009, 166(15):1672-1684.
- [25] MELI V S, GHOSH S, PRABHA T N, et al. Enhancement of fruit shelf life by suppressing N-glycan processing enzymes [J]. *PNAS*, 2010, 107(6):2413-2418.
- [26] ZHANG Y Y, LI H X, SHU W B, et al. RNA interference of a mitochondrial *APX* gene improves vitamin C accumulation in tomato fruit [J]. *Scientia Horticulturae*, 2011, 129:220-226.
- [27] WATERHOUSE P M, WANG M B, LOUGH T. Gene silencing as an adaptive defence against viruses [J]. *Nature*, 2004, 411:834-842.
- [28] VARMA A, MALATHI V G. Emerging geminivirus problems. A serious threat to crop production [J]. *Annals of Applied Biology*, 142(2):145-164.
- [29] BOULTON M I. Geminiviruses; major threats to world agriculture [J]. *Annals of Applied Biology*, 2003, 142(2):143.
- [30] DÍAZ-PENDÓN J, CAÑIZARES M, MORIONES E, et al. Tomato yellow leaf curl viruses: manage a trois between the virus complex, the plant and the whitefly vector [J]. *Molecular Plant Pathology*, 2010, 11(4):441-450.
- [31] ZRACHYA A, KUMAR P P, RAMAKRISHNAN U, et al. Production of siRNA targeted against TYLCV coat protein transcripts leads to silencing of its expression and resistance to the virus [J]. *Transgenic Res*, 2007, 16(3):385-398.
- [32] FUENTES A, RAMOS P L, FIALLO E, et al. Intron-hairpin RNA derived from replication associated protein C1 gene confers immunity to tomato yellow leaf curl virus infection in transgenic tomato plants [J]. *Transgenic Research*, 2006, 15(3):291-304.
- [33] YANG Y, SHERWOOD T, PATTE C, et al. Use of tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) rep gene sequences to engineer TYLCV resistance in tomato [J]. *Phytopathology*, 2004, 94(5):490-496.
- [34] REZK A A S, ABDALLAH N A, ABDEL A M, et al. Transgene-mediated RNA silencing of TYLCV genes affecting the accumulation of viral DNA in plants [J]. *Arab J Biotech*, 2006, 9(1):143-158.
- [35] 苏建辉,向本春,郑银英,等. 抗番茄花叶病毒 RNAi 载体转化加工番茄[J]. *江苏农业学报*, 2011, 27(6):1416-1418.
- [36] 张余洋,漆梅芳,叶志彪,等. 番茄真核翻译起始子 4E 基因 RNA 干涉及其抗病毒特性研究[J]. *自然科学进展*, 2008, 18(5):514-522.
- [37] NIU J H, JIAN H, XU J M, et al. RNAi technology extends its reach: Engineering plant resistance against harmful eukaryotes [J]. *African Journal of Biotechnology*, 2010, 9(45):7573-7582.
- [38] SALEH M C, VAN R R P, HEKELE A, et al. The endocytic pathway mediates cell entry of dsRNA to induce RNAi silencing [J]. *Nature Cell Biology*, 2006, 8(8):793-802.
- [39] 张余洋,张俊红,张环宇,等. RNAi 抑制根结线虫基因表达增强番茄的寄主抗性[EB/OL]. (2012-12-24) [2014-02-10]. <http://www.paper.edu.cn/releasepaper/content/201212-706>.
- [40] MATSURAGA Y, KAWANO K, IWASAKI T, et al. RNA interference-mediated growth control of the southern root-knot nematode *Meloidogyne incognita* [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2012, 76(2):378-380.

(责任编辑:袁 伟)