

# 植物抗病毒基因工程育种策略

林美娟<sup>1</sup>, 薛志平<sup>2</sup>, 陈平华<sup>1</sup>, 陈如凯<sup>1\*</sup>

(1. 福建农林大学农业部甘蔗生理生态与遗传改良重点开放实验室, 福建 福州 350002; 2. 厦门大学生命科学学院, 福建 厦门 361005)

**摘要:** 本文简要地介绍了近年来植物抗病毒基因工程育种策略及其机制的研究进展。将植物抗病毒基因工程的策略归纳为 3 个方面进行了综述, 即病毒来源基因、非病毒来源基因和多基因策略。对于各种植物抗病毒基因工程策略介导的抗性主要分为蛋白质和 RNA 介导的抗性。

**关键词:** 植物; 抗病毒; 基因工程; 育种

**中图分类号:** Q943.2; S432.2<sup>+</sup>3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-0925(2005)04-0053-06

## Strategies of genetic engineering breeding for plant viral resistance

L N Mei-juan<sup>1</sup>, XUE Zhi-ping<sup>2</sup>, CHEN Ping-hua<sup>1</sup>, CHEN Ru-kai<sup>1</sup>

(1. Key Lab of Eco-physiology & Genetic Improvement for Sugarcane, Ministry of Agriculture, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China; 2. School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen, Fujian 361005, China)

**Abstract:** This paper briefly reviews recent progresses in the strategies and mechanism of genetic engineering breeding for plant viral resistance. The strategies of genetic engineering of resistance to plant viruses are summed up to three aspects, virus origin genes, non-virus origin genes and multiple genes strategies. All kinds of the resistance were labeled into protein-mediated resistance and RNA mediated resistance.

**Key words:** plant; viral resistance; genetic engineering; breeding

植物病毒是农作物的主要病害之一,许多重要病毒已遍及我国各主要产区,对许多作物造成不同程度的危害,对农业生产构成了严重威胁<sup>[1]</sup>。大量的国内外研究表明,植物病毒病害防治的最经济有效的根本方法是培育抗病毒品种。然而,由于作物的抗性资源有限,育种周期长,并且抗性容易退化等问题,利用常规的育种手段进行抗病育种难度很大。自 1983 年世界上诞生了第 1 例转基因植物以来<sup>[2]</sup>,植物基因工程技术已取得了突飞猛进的发展,为病毒病的防治和抗病育种工作开辟了新的途径,许多具有重要经济价值的转基因作物已经开始陆续进入实际应用阶段。

目前植物抗病毒基因工程的策略主要包括 3 个:第一个策略是利用病毒本身的基因导入受体植物以获得抗性植株,所获得的抗性也称病原起源的抗性;第二、三个策略是分别利用植物中自然存在的抗性基因和植物、微生物的核糖体失活蛋白(RIPs)基因以及多基因策略获得抗病毒植物<sup>[3]</sup>。

## 1 来源于病毒基因介导的抗性

### 1.1 外壳蛋白基因介导的抗性

外壳蛋白(coat protein, CP)基因介导的抗病毒策略是目前研究得最成熟的策略之一。1986 年美国华盛顿大学 R. Beachy 研究小组通过植物基因工程技术,首次将烟草花叶病毒(TMV)的 CP 基因导入烟草,培育出能稳定遗传的抗 TMV 烟草植株<sup>[4]</sup>,开创了植物抗病育种的新领域。转 CP 基因在双子叶植物研究的日趋成熟,促进了禾本科粮食作物的研究进展,如水稻<sup>[5]</sup>、玉米<sup>[6]</sup>和小麦<sup>[7-11]</sup>等。糖料作物的研究也取得突破,姚伟等<sup>[12]</sup>运用基因枪法将甘蔗花叶病毒 CP 基因(SaMV-CP)导入易感花叶病果蔗 Badila 中,获得了 53 株抗性转化幼苗,为进一步的甘蔗转基因研究工作奠定了基础。

收稿日期: 2005 - 09 - 05

基金项目: 国家“863 计划项目(2001AA241191、2002AA241031);“948 引进国际先进技术项目(2003-Q06)。

作者简介: 林美娟(1982 - ),女,研究方向:作物生物技术。

\*通讯作者。

大多数转 CP 基因的植株对同源性较高的同属大多数病毒有一定程度的抗病性,表现为症状减轻或延迟出现,或症状限于接种叶片不扩展到新生叶片,病毒含量低或检测不到。但是该抗性主要表现在病毒侵染早期,一旦提高病毒接种量或重复接种则抗性破坏。这样对可能反复感染的田间作物、多年生的或通过无性繁殖的作物,就不足以有效地控制病毒的侵染。

## 1.2 复制酶基因介导的抗性

由病毒编码在 RNA 依赖性的 RNA 聚合酶 (RdRp) 基因介导的抗性通常即指复制酶基因介导的抗性<sup>[13]</sup>。1990 年, Golemboski et al<sup>[14]</sup> 将烟草花叶病毒 TMVul 株系的非结构基因 (分子质量为 54 ku) 导入烟草, 获得了对 TMV 免疫性抗性的工程植株, 这是首例复制酶基因介导的抗性。自此以后, 国内外陆续报道了此类由病毒非结构蛋白基因介导的植物对病毒的抗性。目前, 已有至少 13 种病毒的复制酶基因导入到植物中<sup>[15-20]</sup>, 包括复制酶的通读序列, 全长的、截短的或突变 (特别在 GDD 基序的突变) 的复制酶基因。但是, 并非所有的复制酶序列构建体转化植物都能获得抗性, 且抗性的程度和有效范围也不尽相同。

从总体上讲, 复制酶基因介导的抗病性比 CP 基因介导的要更为复杂而有效。这不仅表现在抗性表现的复杂化, 在抗性机理上也呈现出多样性, 但同时它们又存在着相似性。

## 1.3 运动蛋白介导的抗性

运动蛋白 (movement protein, MP) 是一类由病毒编码, 与病毒在植物体内运转有关的蛋白。病毒在细胞间的移动, 主要受病毒本身编码的 MP 和寄主因素控制。MP 一方面能够修饰胞间连丝, 增大其有效孔径; 另一方面能结合病毒核酸, 使病毒核酸的三维结构改变成丝状的核酸蛋白质复合体, 这一复合体可使病毒较容易地通过胞间连丝。根据植物病毒 MP 的功能和病毒在细胞间运动的机制, 设计新的分子转入植物体内, 封闭或干扰 MP 的功能, 限制病毒在植物体内的扩散, 以达到抗病的目的。

MP 介导的抗性特点是, 只有当转基因植株表达的是失去功能的 MP 时, 才能显示出抗性。而当转基因表达有功能的 MP 时, 反而提高植物的感病性<sup>[21]</sup>。Cooper et al 将 TMV 编码的分子质量为 30 ku 完整编码区及缺失了 5 端的 RNA 结合区的突变基因导入烟草, 发现转完整 P30 基因植株发病明显快于对照植株, 而转缺失突变型 P30 基因植株对病毒感染具很强的抵抗作用<sup>[22]</sup>。后来的一些研究也表明, 只有缺陷型或异源的 MP 才能介导转基因植株对病毒的抗性; 而有功能的完整 MP 对病毒侵染不起作用, 甚至提高寄主对病毒的敏感性<sup>[23, 24]</sup>。

由于 MP 不干扰病毒的早期侵染, 只影响病毒的扩散和转移, 所以其抗性通常表现在病毒侵染的中晚期, 并且病毒在受侵染植物中运动减缓, 但是 MP 基因介导的抗性是广谱性的。比如, 表达 TMV 缺陷突变的 MP 基因的转基因烟草对一些烟草花叶病毒属的病毒都有抗性, 并且对烟草脆裂病毒、烟草环斑病毒、苜蓿花叶病毒、花生褪绿条纹病毒、黄瓜花叶病毒等都表现抗性<sup>[24]</sup>。Tacke et al<sup>[25]</sup> 报道, 表达 N 末端或 C 末端延长的黄矮病毒属 (*Luteovirus*) 的 PLRV 分子质量为 17 ku 的 MP 突变体马铃薯不仅全部能抗 PLRV, 还能抗马铃薯的另两类主要病毒 PVX (*Potexvirus*) 和 PVY (*Potyvirus*)。但是 MP 基因介导的抗性范围究竟有多大目前仍没有确切的证据。

## 1.4 卫星 RNA 介导的抗性

某些病毒除基因组 RNA 外, 还伴有一些小片段 RNA, 称为卫星 RNA (satellite RNA), 携带卫星 RNA 的病毒称为辅助病毒。卫星 RNA 与辅助病毒的基因组无序列同源性, 其复制需要依靠辅助病毒, 而它本身对辅助病毒的复制并非必需。卫星 RNA 对植物病毒病的影响主要有 3 种: 一是加重症状; 二是无调节作用; 三是减轻症状<sup>[26]</sup>。因此, 根据第 3 种影响, 人们认为可以把卫星 RNA 转入植物从而获得抗病毒的转基因植物。1986 年 Baulcombe et al<sup>[27]</sup> 将 CMV 卫星 RNA 的 cDNA 成功地转入烟草, 获得的转基因植株能产生卫星 RNA 的转录产物, 转基因植物对 CMV 的侵染近于免疫。

卫星 RNA 赋予植物的抗性不会因病毒的接种量而被克服, 并且抗性的获得不需要产生新的异源蛋白, 提高了转基因植物的生物安全性。但只有少数植物病毒具有卫星 RNA, 有些卫星 RNA 能增强病毒的致病力, 并可能和植物卫星 RNA 重组而有潜在的危险性, 以上缺点限制了该策略的应用。

## 1.5 缺陷干扰型 RNA 介导的抗性

缺陷干扰型 RNA (defective interfering RNAs, D I RNAs) 是指那些直接来源于病毒的核酸序列, 其所含

的基因比正常病毒的基因少,但其核酸两端以及复制起点都和正常病毒相同。缺陷干扰型 RNA 自身不能复制,必须依赖病毒才能复制。由于它与病毒核酸同源,所以不同于卫星 RNA。当缺陷干扰型 RNA 和正常病毒感染同一细胞时,缺陷干扰型 RNA 可以迅速增殖,利用有义链 RNA 去竞争病毒复制酶的结合位点,干扰了正常病毒的复制,限制了病毒的扩散。Huntley et al<sup>[28]</sup>用雀麦草花叶病毒不同片段的核酸重组成缺陷型 RNA 导入水稻,转基因植株表现出显著的抗病毒特性。但是这一策略有一定的潜在危险性,因为在转基因植物内易发生 RNA 的重组,有产生新病毒的可能性。

### 1.6 反义 RNA 介导的抗性

用于翻译蛋白质的 RNA 称之为正义 RNA,互补于一般转录所得的 mRNA 的 RNA 分子称为反义 RNA。反义 RNA 与正义 RNA 形成双链分子,从而阻碍翻译的进行,导致基因产物合成减少。从理论上说,把互补于病毒 CP mRNA 的反义 RNA 转入植物,有可能阻碍病毒复制和减轻病毒对植物组织的为害,从而获得抗病毒的转基因植物。Nelson<sup>[29]</sup>用 TMV 作为材料研究发现,只有表达病毒基因组的 3 端非编码区的反义链转基因植株才对 TMV 有较强的抗性。以后又有试验表明,反义 RNA 导入并不能使植物产生抗性。由于大多数的 RNA 病毒复制周期不存在细胞核阶段,且正义 RNA 具有高拷贝数以及在复制的全过程中与蛋白质存在相互作用,简单地使用反义 RNA 抗病毒策略是不大可能成功的<sup>[13]</sup>。因此,采用反义 RNA 来获得具有抗病毒能力的转基因植物还需要作出更大的努力<sup>[30]</sup>。

### 1.7 核酶基因介导的抗性

核酶 (ribozyme) 是一类具有特殊二级结构,能特异性催化切割自身以及其它 RNA 分子的小分子 RNA,它广泛存在于一些类病毒和病毒卫星 RNA 序列中。根据核酶的结构,可以分为锤头型和发夹型两类。锤头型核酶较为普遍,它具有一个高度保守的茎环结构,在其两端各有一段较短的序列与靶 RNA 内的被切割位点两边的序列互补配对,专一切割靶 RNA 内紧邻该切割位点下游的磷酸二酯键。任何生物的 RNA 都可以作为核酶的底物,而且核酶对底物作用位点的碱基序列要求不严格。根据这一特性,人们可以设计成用来切割已知序列的病原性 RNA 的人工核酶<sup>[31]</sup>。

在植物抗病毒方面,已成功地在体外合成了能切割马铃薯纺锤块茎类病毒 (PSTV) 等的基因组 RNA 的核酶,能特异切割苹果锈果类病毒的核酶等,但在转基因植物水平上进展还较慢,体内表达不如体外表达有效。该方法也存在潜在的危险性,即核酶可能将细胞 RNA 作为靶 RNA 切割而破坏细胞的正常功能<sup>[31,32]</sup>。以核酶基因介导的抗性还有待于进一步研究。

## 2 非病毒来源的基因介导抗性

### 2.1 病程相关蛋白基因介导的抗性

病程相关蛋白 (pathogenesis-related protein, PR) 是由植物寄主基因编码,在病程相关情况下诱导生成的一类蛋白质<sup>[33]</sup>。植物受病毒或其它病原体感染时产生的过敏反应所诱发的防御反应主要是以植物编码的病程相关蛋白为物质基础的。它至少包括以下 3 个方面: (1) 直接对病原体进行攻击 (如诱导产生的水解酶类); (2) 宿主的代谢调整以适应过激条件 (如过氧化物歧化酶); (3) 将病原体局限于侵染的位点 (如木质化酶等酶类)。

虽然目前转 PR 基因植物的抗性水平并不理想,但随着植物防御机制的深入研究,这种抗病毒手段应该具有很好的应用前景。

### 2.2 潜在自杀基因 (latent suicide gene) 介导的抗性

该策略是将植物来源的毒素蛋白 (如抗病毒蛋白) 基因克隆到某种病毒的启动子下游,再将这一重组体以反义形式克隆到植物表达载体中并转化植物。植物体内转录出包含病毒启动子与该病毒蛋白在内的复合物,但不会翻译表达有功能的活性毒素蛋白。然而,一旦该种病毒侵染植物,其体内已经转录出的反义 RNA 会利用病毒酶系统转录出正义链的 mRNA, mRNA 再翻译表达产生有功能的活性毒素蛋白,结果被病毒侵染的细胞死亡而邻近的细胞不受影响<sup>[31]</sup>。

使用 PVX 亚基因组 RNA 启动子和白喉毒素 mRNA 的转基因烟草显示,在上层叶片中, PVX 的浓度降至 1/20,而且接种 PVX 的叶片变黄并在接种后 6-7 d 脱落。瞬时的基因表达甚至在没有病毒触发的情

况下也是对原生质体有毒害作用的,可能是由于 35S启动子反向的低水平转录所致<sup>[13]</sup>。因此,目前此策略在大田应用的可能性值得进一步研究。

### 2.3 核糖体失活蛋白基因介导的抗性

核糖体失活蛋白(RIPs)是一类通过 N 糖苷酶或核酸酶的作用使核糖体失活来抑制蛋白质生物合成的蛋白,它在许多植物、细菌、真菌中含量丰富。目前,植物来源的 RIPs 用于植物抗病毒基因工程的研究主要是美洲商陆抗病毒蛋白(pokeweed antiviral protein, PAP),还有来源于石竹属植物的 Diathin 和天花粉蛋白 TCS(tiichothansin)等。PAP 存在于从美洲商陆(*Phytolacca Americana* L.)的细胞壁中,可以使异源植物不受病毒的侵染。Lodge et al<sup>[34]</sup>把 PAP 基因导入到烟草和马铃薯中,转基因烟草和马铃薯都表达出 PAP,并表现出了对多种不同病毒侵染的抗性。有关研究结果表明,PAP 主要存在于细胞间的汁液中,主要在病毒侵染的早期起抗性作用。由于以前使植物获得抗病毒特性的方法都是特异性,因而要使植物获得对多种病毒的抗性,就必须导入多种基因,而现在应用 PAP 基因介导的优点就在于不必导入其它多种基因就能使植物获得广谱的抗病毒特性<sup>[35]</sup>。

### 2.4 植物抗体基因介导的抗性

人们根据免疫学原理,将某一植物病毒的抗体基因转入植物体内,使其充分表达,来抵御相关病毒的入侵,从而达到防治植物病毒病的目的。Tavladoraki et al<sup>[36]</sup>将抗菊芋花斑皱叶病毒(AMCV) CP 单链抗体(SC)的可变区(FV)基因转入烟草后,发现转基因植株表现出抗 AMCV 的功能。表达 TMV 的全抗体基因的转基因植株,用 TMV 攻毒时,与未转基因的对照相比,其坏死病斑的数量下降了 70%,且下降水平与抗体的分泌水平有关<sup>[37]</sup>。研究证明,植物体内能生产从小分子抗体到全抗体等各种工程抗体,因此,这种将某一病毒的抗体基因转入植物体内使其充分表达而抵御相关病毒入侵的策略将会有更大的发展前景<sup>[38]</sup>。

### 2.5 植物抗病基因介导的抗性

植物在受到病毒侵染时,会表现出不同类型的抗性,如免疫性、抗病性、耐病性以及传毒媒介的抗性等等。如果能把编码这些抗性的基因分离出来遗传转化植物,将可以提高或增强植物的抗性,并且对植物体是安全的。但是问题似乎不是具防御作用蛋白单独作用的结果,而是它们协同作用的结果,加上分离可利用的基因非常困难,所以目前这方面的报道较少。

## 3 多基因策略

前面所述的策略都是利用单一的抗性基因,并且大多是针对某一种病毒的某一步侵染过程来设计的,因此其抗性具有较强的专化性和局限性。多基因策略是利用多个抗性基因共同作用或相互作用,从多条途径破坏病毒基因组的功能表达,从而达到有效防治病毒的目的。在抗 CMV 的研究中,CMV-CP 基因与卫星 RNA 中的任何一种单独转化植物都难以达到良好的效果。Yie et al<sup>[39]</sup>将 CMV-CP 基因与卫星 RNA 构建到同一植物表达载体中转化植物,结果获得了高抗的工程植株。Lawson et al<sup>[40]</sup>将 PVX 和 PVY 的 CP 基因构建到同一质粒上构成双基因植物表达载体,遗传转化马铃薯,随后分别用 Northern 杂交和 Western 杂交分别证明这 2 种基因均得到了稳定的转录和稳定的翻译表达,用 PVX 和 PVY 同时接种,转基因植株表现出对这两种病毒的抗性。

## 4 植物抗病毒基因工程的机制

根据目前的研究进展,可将上述各种植物抗病毒基因工程策略介导的抗性分为蛋白质介导的抗性和 RNA 介导的抗性。

### 4.1 蛋白质介导的抗性机制

蛋白质介导的抗性是指由转基因序列表达蛋白质量的多少来决定抗性水平高低的抗性。其主要特征是抗性水平与转基因的蛋白质表达的量成正相关。但是随着研究的深入,人们发现许多与此不符的情况。如在一些高度抗病的转基因植物内,转基因蛋白表达量很低,甚至根本检测不到。当将病毒转基因的起始密码除去后,转基因植物仍可以高度抗病,有的甚至免疫,这是不同于蛋白质介导的另一种抗性。

## 4.2 RNA 介导的抗性机制

1994 年 Lindbo et al<sup>[41]</sup>发现 RNA 沉默与植物病毒有着密切的联系,提出了 RNA 介导抗病性的概念。他们发现,病毒侵染转基因植物后能够诱导与入侵病毒同源的转基因的沉默,并且沉默反应总是与植物对病毒的恢复反应相伴。Dougherty et al<sup>[42]</sup>和 Kalantidis et al<sup>[43]</sup>发现,导入病毒非翻译基因的转基因植株也能提供高度的病毒抗性,转基因病毒 RNA 量积累很低的转基因植株,能表现出很高的病毒抗性,病毒 RNA 量积累很高的转基因植株却表现出很低的病毒抗性。研究表明,造成上述现象的原因是在高抗(或近似免疫)的转基因植株中,转基因 RNA 在病毒入侵前,由于病毒转基因本身诱发了 RNA 沉默机制,序列特定性的行为被降解了;而在部分抗性的转基因植株中,转基因 RNA 在病毒入侵前不完全启动了 RNA 沉默机制<sup>[43]</sup>。转基因沉默根据其作用的部位、发生的细胞器和作用机制的差别,可分为转录水平的基因沉默(transcriptional gene silencing, TGS)和转录后基因沉默(post-transcriptional gene silencing, PTGS),二者都与基因同源性有关,因此统称为同源依赖型基因沉默(homology-dependent gene silencing, HDGS)或重复序列诱导的基因沉默(repeat-induce gene silencing, RIGS)。

### 参考文献:

- [1] 周雪平,李德葆. 抗病毒基因工程与转基因植物释放的环境风险评估 [J]. 生命科学, 2000, 12(1): 4 - 6
- [2] DE BLOCK M, HERRERA-ESTRELLA L, VAN MONTAGU M. Expression of foreign genes in regenerated plants and their progeny [J]. EMBRO J, 1984, 3: 1682 - 1689.
- [3] 张海燕,陈正华. 获得病毒抗性的植物基因工程策略及其抗病机理研究进展 [J]. 武汉植物学研究, 1997, 17(增刊): 15 - 24
- [4] POWELL ABEL P, NELSON R S, DEB, et al Delay of disease development in transgenic plants that express the tobacco mosaic virus coat protein gene [J]. Science, 1986, 232: 738 - 743.
- [5] 燕义唐,王晋芳. 浮细胞再生表达外壳蛋白的转基因 Indica水稻对水稻条纹病毒的抗病性 [J]. 中国病毒学, 1997, 12(3): 260 - 269.
- [6] 刘小红,张红伟,谭振波,等. 利用基因枪法将玉米矮花叶病毒外壳蛋白基因导入玉米优良自交系 [J]. 玉米科学, 2003, 11(2): 16 - 18
- [7] VASL V, CASTILLO A M, FRMM M E, et al Rapid production of transgenic wheat plants by direct bombardment of cultured immature embryos [J]. Biotechnol, 1993, 11(13): 1553 - 1558
- [8] 成卓敏,夏光敏. 应用基因枪法获得抗大麦黄矮病毒转基因小麦 [J]. 植物病理学报, 2000, 30(2): 116 - 121.
- [9] 成卓敏,夏光敏. 应用基因工程创造抗黄矮病毒转基因小麦新种质 [J]. 植物保护, 1996, 22(3): 18 - 20.
- [10] 董瑾,何震天. 抗小麦黄花叶病毒转基因小麦的获得及病毒诱导的基因沉默 [J]. 科学通报, 2002, 47(10): 763 - 767.
- [11] 徐惠君, STEINBERG H H, SOHN A, 等. 用基因枪将欧洲小麦梭条花叶病毒外壳蛋白基因 (WSSMV-CP) 导入小麦 [J]. 云南大学学报, 1999, 21: 26 - 27.
- [12] 姚伟,余爱丽,徐景升,等. 转 SsMV-CP 基因甘蔗的分子生物学分析与鉴定 [J]. 分子植物育种, 2004, 2(1): 13 - 18
- [13] 陈炯,陈剑平. 植物抗病毒基因工程研究进展 [J]. 浙江农业学报, 1999, 11(2): 101 - 108
- [14] GOLEMOBOSKID B, LOMONOSSOFF G P, ZAILL N M, et al Plants transformed with a tobacco mosaic virus nonstructural gene sequence are resistant to the virus [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1990, 87: 6311 - 6315.
- [15] 李大伟,于嘉林. 植物病毒复制酶介导的抗病性研究进展 [J]. 农业生物技术学报, 1995, 3(3): 7 - 14
- [16] 王振东,刘玉乐. 马铃薯 Y 病毒复制酶基因植物表达载体构建及转基因烟草的培育 [J]. 沈阳农业大学学报, 1996, 26(3): 249 - 253.
- [17] 孙启达,赵文明. 马铃薯 Y 病毒复制酶基因的转基因烟草对 PVY 的抗性 [J]. 西北农业学报, 1996, 5(2): 56 - 60.
- [18] 鲁润龙,林国平. 复制酶基因介导的抗病毒烟草植株的研究 [J]. 中国科学技术大学学报, 1996, 26(2): 191 - 194.
- [19] 项瑜,杨兰英. 改造的马铃薯 Y 病毒复制酶基因介导高度抗病性 [J]. 生物工程学报, 1996, 12(3): 258 - 265.
- [20] 鲁瑞芳,吕鹏飞. 马铃薯 Y 病毒 Nb 复制酶基因在转录水平介导的相对广谱抗病性 [J]. 病毒学报, 2000, 16(2): 162 - 166
- [21] 张振臣,李大伟,张力,等. 黄瓜花叶病毒 (CMV) 运动蛋白基因介导的抗病性 [J]. Acta Botanica Sinica, 1999, 41(6): 585 - 590.
- [22] COOPER B, LAFLDOTT M, HEICK J A, et al A defective movement protein of TMV in transgenic plants confers resistance

- to multiple viruses whereas the functional analog increases susceptibility [J]. *Virology*, 1995, 206: 307 - 313.
- [23] MALYSHENKO S I, KONDAKOVA O A, NAZAROVA J V, et al Reduction of bobacco mosaic virus accumulation in transgenic plants producing nonfunctional viral transport proteins [J]. *J Gen Virol*, 1993, 74: 1149 - 1156
- [24] ZIEGLER-GRAFF V, GULFORS P J, BAULCOMBE D C. Tobacco rattle virus RNA-129K gene product potentiates viral movement and also affects symptom induction in tobacco [J]. *Virology*, 1991, 182: 145 - 155.
- [25] TACKE E, SALAM N I F, ROHDE W. Genetic engineering of potato for broad spectrum protection against virus infection [J]. *Nature Biotechnol*, 1996, 14: 1597 - 1601.
- [26] 蒋军喜, 蔡祝南. 卫星 RNA 在调节植物病毒病害症状中的作用 [J]. *江西农业学报*, 1999, 11 (3): 60 - 64.
- [27] BAULCOMBE D C, SAUNDERS G R, BEVAN M W, et al Expression of biologically active viral satellite RNA from the nuclear genome of transformed plants [J]. *Nature*, 1986, 321: 446
- [28] HUNTLEY C C, HALL T C. Interference with brome mosaic virus replication in transgenic rice [J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 1996, 9: 164 - 170.
- [29] NELSON R S. Tobacco mosaic virus infection of transgenic *Nicotiana glauca* plants is inhibited by antisense constructs directed at the 5' region of viral-RNA [J]. *Gene*, 1993, 127: 227 - 232.
- [30] 王文静, 王富荣, 石秀清, 等. 现代分子生物学技术在植物抗病育种中的作用 [J]. *山西农业科学*, 2002, 30 (3): 76 - 79.
- [31] 邹新慧, 何平. 植物抗病毒基因工程研究进展及存在的问题 [J]. *江西农业学报*, 2002, 14 (4): 59 - 65.
- [32] 程英豪, 王继伟. 植物抗病毒基因工程 [J]. *生物学通报*, 1998, 33 (5): 5 - 6.
- [33] 刘利华, 林奇英, 谢华安, 等. 病程相关蛋白与植物抗病性研究 [J]. *福建农业学报*, 1999, 14 (3): 53 - 58.
- [34] LODGE J K, KANIEWSKI K, TUMER N E. Broad spectrum virus resistance in transgenic plants expressing pokeweed antiviral protein [J]. *PNAS*, 1993, 90 (15): 7089 - 7093.
- [35] 张荣意, 刘志昕. 植物抗病毒基因工程的策略和机制 [J]. *热带农业科学*, 2002, 22 (5): 68 - 73.
- [36] TAVLADORA K I P, BENVENUTO S F, DE MARTINIS D, et al Transgenic plants expressing a functional single-chain Fv antibody are specifically protected from virus attack [J]. *Nature*, 1993, 366: 469 - 472.
- [37] VOSS A, NIERSBACH M, HAN R S, et al Reduced virus infectivity in *N. Tabacum* secreting a TMV-specific full size antibody [J]. *Mol Br*, 1995, 1: 39 - 50.
- [38] 郭兴启, 范国强, 尚念科. 植物抗病毒基因工程育种策略及其进展 [J]. *生命科学研究*, 2000, 4 (2): 112 - 117.
- [39] YIE Y, ZHAO F, ZHAO S, et al High resistance to cucumber mosaic virus conferred by satellite RNA and coat protein in transgenic commercial tobacco cultivar G-140 [J]. *Molecular Plant - Microbe Interactions*, 1992, 5 (6): 460 - 465.
- [40] LAWSON C, KANIEWSKI K, ROZMAN L, et al Engineering resistance to mixed virus infection in a commercial potato cultivar: resistance to potato virus X and potato virus Y in transgenic Russet Burbank [J]. *Biotechnology*, 1990, 8 (2): 127 - 134.
- [41] LINDBO J A, SILVA-ROSALES L, PROEBSTING W M, et al Induction of a highly specific antiviral state in transgenic plants: implications for regulation of gene expression and virus resistance [J]. *Plant Cell*, 1993, 5 (12): 1749.
- [42] DOUGHERTY W G, LINDBO J A, SMITH H A, et al RNA-mediated virus resistance in transgenic plants: exploitation of a cellular pathway possibly involved in RNA degradation [J]. *Mol plant Microbe Interact*, 1994, 7 (5): 544 - 552.
- [43] KALANTDARIS K, PSARADAKIS S, TABLER M, et al The occurrence of CMV-specific short RNAs in transgenic tobacco expressing virus-derived double-stranded RNA is indicative of resistance to the virus [J]. *Molecular Plant - Microbe Interactions*, 2002, 15 (8): 826 - 833.