

转基因烟草的研究进展

陈永涛, 金吉林, 张兴无, 李兴忠, 罗 会
(贵州省果树科学研究所, 贵州 贵阳 550006)

摘要: 对近30 a来转基因工程技术在抗病、抗虫转基因烟草中的应用进行了综述, 并对转基因技术在烟草中的应用前景进行了展望。

关键词: 转基因工程技术; 抗植物病毒病; 抗虫性; 研究进展

中图分类号: S572 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-1463(2015)10-0062-05

[doi:10.3969/j.issn.1001-1463.2015.10.023](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1463.2015.10.023)

Research Progress of Transgenic Tobacco

CHEN Yongtao, JIN Jilin, ZHANG Xingwu, LI Xingzhong, LUO Hui
(Guizhou Fruit Institute, Guiyang Guizhou 550006, China)

Abstract: In this paper, the application of transgenic engineering technology in disease-resistant and insect-resistant transgenic tobacco are reviewed in almost 30 years. And the application prospect of transgenic technology in tobacco is also forecasted.

Key words: Transgenic engineering technology; Resistance to plant virus disease; Insect resistance; Research progress

烟草在整个生育过程中遭受多种病害及虫害的危害, 使其产量与品质受到严重影响, 造成了

巨大的经济损失^[1]。目前防治烟草病虫害的方法主要是种植抗病虫品种和药剂防治蚜虫。由于农

收稿日期: 2015-09-12

作者简介: 陈永涛(1980—), 女, 贵州兴义人, 助理农艺师, 主要从事农业生态旅游相关工作。联系电话:(0)13809468045。

通讯作者: 罗 会(1974—), 女(彝族), 副教授, 博士, 主要从事植物调控化学与生物学方面的研究工作。E-mail: luohui8732@163.com

市场风险, 促进外销。尤其是要通过市场体系建设, 以市场来拉动、调节和优化马铃薯产业结构, 扩大生产面积, 增加投入和提高产出, 逐步增强农民的积极性。同时, 要学习和借鉴定西市的做法与成功经验, 通过举办不同级别的马铃薯大会、产品推介会, 新闻发布会、媒体专题报导和开启鲜薯运输专列等一系列活动, 进一步扩大“庄浪马铃薯”、“庄薯3号”、“红眼窝”商品薯与种薯的宣传与推广力度, 提升品牌效应, 增加知名度, 做大做强马铃薯产业, 拓展全国市场。

参考文献:

- [1] 张富塞. 浅谈庄浪县马铃薯产业发展思路[J]. 甘肃农业, 2011(4): 66-67.
- [2] 马旭升. 浅析庄浪县马铃薯加工业发展之对策[J]. 甘肃农业, 2013(1): 35-48.
- [3] 汤文慧. 发展庄浪县马铃薯产业的建议[J]. 甘肃农业, 2014(1): 7-8.
- [4] 石玉章, 卢玉霞. 马铃薯黑色地膜覆盖效果试验初报[J]. 甘肃农业科技, 2013(3): 26-27.

- [5] 齐万福, 聂战声, 马其彪, 等. 马铃薯专用氧化-生物双降膜的应用效果观察[J]. 甘肃农业科技, 2013(4): 15-19.
- [6] 陈花桃. 12个马铃薯品种(系)在临洮县山旱区品比试验初报[J]. 甘肃农业科技, 2013(5): 30-31.
- [7] 马俊文. 5个马铃薯品种在秦安县引种结果初报[J]. 甘肃农业科技, 2013(8): 16-17.
- [8] 鲁天文, 张忠福, 马金占, 等. 山丹县马铃薯“3414”田间肥效试验初报[J]. 甘肃农业科技, 2013(6): 40-42.
- [9] 董学文. 临洮县东北部旱地马铃薯配方施肥试验初报[J]. 甘肃农业科技, 2013(7): 39-41.
- [10] 柴武高, 巴兰清, 王得孝. 民乐县推广马铃薯垄膜沟灌节水技术的成效及做法[J]. 甘肃农业科技, 2013(3): 35-36.
- [11] 张英莺, 张俊莲, 邢 国. 甘肃省马铃薯产业发展调查[J]. 甘肃农业科技, 2013(4): 38-40.
- [12] 赵维涛, 李继明. 旱作区黑色地膜全膜双垄侧播马铃薯套种豌豆栽培技术[J]. 甘肃农业科技, 2013(1): 59-60.

(本文责编: 郑立龙)

药在烟草上会有残留以及会对环境产生污染,所以选育和种植抗性品种在综合防治烟草病虫害方面就成为最经济有效的方法^[2]。随着植物基因工程技术的发展,将来源于动植物和微生物等的抗病虫基因导入植物以获得抗病虫植株,进行作物抗病虫品种的培育逐渐成为植物病虫害防治的发展趋势之一^[3-4]。应用转基因技术将介导病毒抗性的基因导入烟草,获得抗病毒病及抗虫的转基因烟草,能够有效抵御烟草病虫害危害。我们对近 30 a 来基因工程技术在烟草中的应用进行综述。

1 抗病毒病转基因烟草

近年来,利用基因工程防治烟草病毒病的主要策略,包括导入衣壳蛋白基因、利用病毒的复制酶基因、利用反义 RNA、卫星 RNA、植物编码的抗病毒基因及移动蛋白等^[5]。

1990 年, Golemboski 等将 TMV U1 株系的一段核酸序列转入烟草,结果转基因植株在用 TMV U1 株系病毒粒子或病毒 RNA 接种时都表现出高度抗性^[6]。1994 年, Carr 和 Gal-on 认为转基因植物表达的复制酶蛋白在病毒的侵染过程中作为一种调节蛋白发挥其正常功能,从而打破了病毒正链和负链复制的平衡,或是干扰了控制复制酶活性的反馈抑制途径^[7]。1994 年,刘玉乐等将普通烟草 G140 和表达黄瓜花叶病毒(CMV)的卫星 RNA 的转基因烟草 Sat-G140 进行抗烟草花叶病毒(TMV)的侵染试验,结果表明转基因烟草 Sat-G140 表现的感染 TMV 的症状较轻,说明卫星 RNA 可减弱 TMV 引起的症状^[8]。1995 年, Lomonosoff 等认为,在 RNA 水平上,是转录出的 mRNA 与病毒的复制酶进行了无效结合从而抑制病毒复制酶的正常功能,或是 mRNA 诱导了植物的自然抗病性等^[9]。1999 年,张振臣等发现,将黄瓜花叶病毒 FNY-CMV 株系的 RNA3 CDNA 克隆,构建运动蛋白(MP)基因,再用土壤农杆菌根癌农杆菌(LBA 4404)介导将该基因转入烟草 NC89,经抗性鉴定发现转基因烟草对 CMV 有一定的抗性^[10]。2001 年,黄晓躁等将番茄花叶病毒移动蛋白基因转入烟草中,并用卡那霉素筛选获得了一系列的抗性苗,活性测试证明 25% 的抗性苗有较好的抗番茄花叶病毒的特性^[11]。2002 年,唐嘉义等报道,将番茄斑萎病毒(TSWV)的外壳蛋白基因转入烟草后,就获得了抗 TSWV 的转基因烟草,同时发现该转基因烟草对 TMV 也有一定的抗

性^[12]。2003 年,郭兴启等报道,通过 LBA 4404 介导的方法将非翻译的马铃薯 YN 病毒(PVYN) PVYNCP 基因转入烟草 NC89 后,获得了高度抗 PVYN 的转基因植株。并初步证明,对 PVYN 的侵染也具有高度抗病性^[13]。2005 年,张凯等将 TMV 的部分运动蛋白基因(ΔMP)构建成反向重复结构,插入植物表达载体 pBin438 上,通过三亲交配法导入根癌农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*)菌株 EH105 后,应用农杆菌介导法转化烟草品种云烟 87,获得了 50 株转基因烟草。用 TMV 对转基因烟草进行挑战接种,症状观察和病毒浓度的 TAS-ELISA 检测表明,转基因烟草对 TMV 的抗性包括 3 种类型:免疫型占 10%,抗病型占 4%,感病型占 86%^[14]。2007 年,孟凡宏等将水稻黄单胞菌白叶枯致病变种(*Xanthomonas oryzae v. oryzae*)编码的 HarpinX100 的 hrfA 基因及其 N-末端缺失突变基因 AB 分别连接到二元载体 pBI121 上,构建成转基因载体 i,并经冻融法转化土壤杆菌 EHA105,采用叶盘法转化烟草,用卡那霉素抗性筛选再生植株。通过 PCR 扩增检测了转化烟草中的靶基因序列即 35S 启动子序列,对 T1 代 PCR 阳性植株进行了 PCR-Southern 杂交和 RT-PCR 分析。结果显示,外源基因已整合到转基因烟草基因组中,并在转录水平正常表达。用从转 hrfA 基因和 AB 片段的烟草中提取可溶性蛋白注射烟草都能引起过敏反应,说明目的基因在转基因烟草中能表达出有活性的蛋白。抗病性鉴定结果表明,转 N-末端 AB 片段的烟草和转 hrfA 全长基因的烟草一样表现出对 TMV 的抗性^[15]。2008 年,李黎等将来自粟酒裂殖酵母的 *pac1* 基因导入原核表达载体 pET-5a 中,并转入大肠杆菌 BL21(DE3) pLysS,经 IPTG 诱导,其表达产物能够降解 4 种植物病毒 CMV、TMV、Rice black-streaked dwarf (RBSDV)、Rice dwarf virus (RDV) 和 3 种类病毒 Apple scar skin viroid (ASSVd)、*Coleus blumei viroid* (CBVd) 和 *Hopstunt viroid* (HSVd) 的 dsRNA。将 *pac1* 导入二元载体 pBI121,并转入根癌农杆菌 LBA4404,以烟草(品种 NC89)组培苗的叶片为受体材料进行转化,经过诱导愈伤、分化、再生和筛选培养,获得了 50 株 Kana 抗性植株,收获 T1 种子分别播种,对这些转基因植株进行 PCR、PCR-Southern 和 RT-PCR 检测,结果表明 *pac1* 基因已整合到受体基因组中^[16]。同年,朱常香等分

别以马铃薯 Y 病毒(PVY)、TMV 和 CMV 全长衣壳蛋白(CP)基因为模板,通过设计 PCR 引物和亚克隆获得 PVY CP 3' 端长度 100 bp、TMV CP 3' 端长度 100 bp 和 CMV CP 3' 端长度 200 bp 的 cDNA 片段并拼接成嵌合基因,并以此为模板构建反向重复结构嵌合基因的植物表达载体 pRHPTC。将 pRHPTC 通过冻融法导入农杆菌 LBA4404,采用叶盘法转化烟草 NC89。通过该方法可获得抗多种植物病毒的转基因烟草^[17]。2010 年,宋莉等通过农杆菌介导法将 35S 驱动的干扰素基因 *ChIFN- α* 转化烟草, Southern 杂交和 Western 杂交进行目的基因的转化、表达检测,重组蛋白的数量通过 ELISA 测定,对获得的转基因烟草植株进行 TMV 接种试验,结果表明 *ChIFN- α* 基因的转化赋予了转基因烟草对 TMV 的抗性,进一步的荧光定量 PCR 差异表达检测结果表明,该抗性可能与转基因烟草体内防卫基因 *PR-1a*、抗病 N 基因和信号转导 *MAPK* 基因受到上调表达有关^[18]。2013 年,江彤等为了获得抗 PVY 转基因烟草,分别扩增 PVY *HC-Pro* 基因 3' 端正、反向片段,构建反向重复植物表达载体,利用农杆菌介导法转化普通烟草品种云烟 85,经抗性筛选及抗病性鉴定,获得 T0 代转基因抗病烟草株系。繁殖 T0 代抗病株系,抗病性鉴定发现,部分抗病株系的 T1 代烟株发生了一定比例的抗感分离。Real-time PCR 检测发生抗感分离的 T1 代烟株发现,抗病烟株中 PVY *HC-Pro* 基因 RNA 积累水平显著低于感病烟株,说明抗病烟株中 *HC-Pro* 基因发生了 RNA 沉默。利用 dsRNA 技术沉默 *HC-Pro* 基因,获得了烟草品种云烟 85 的 T1 代转基因抗 PVY 株系^[19]。同年,孙书娥等应用 RNA 沉默防治病毒病原理构建中国番茄黄化曲叶病毒(TYLCCNV)外壳蛋白部分基因片段 dsRNA(double-strand RNA)导入本氏烟(*Nicotiana benthamiana*)获得了抗 TYLCCNV 的转基因烟草,结果表明,目的基因已整合到转基因烟草植株的基因组中^[20]。

2 抗虫转基因烟草

2.1 利用苏云金杆菌杀虫晶体蛋白基因

提高烟草抗虫性的第一种策略是利用苏云金杆菌杀虫晶体蛋白基因, *Bt-toxin* 基因是目前世界上应用最为广泛的抗虫基因,其表达产物可与昆虫中肠道刷状缘表皮细胞表面的特异受体结合,干扰钾 ATP 酶活性,造成离子渗漏,破坏细胞的

渗透平衡,进而引起细胞肿胀和裂解,并最终导致昆虫死亡。

1987 年, Vaeck 等获得了世界上首例转 Bt 基因的工程植株。方法是使用全长的和 3' 缺失的 *CryIa(b)* 基因,在甘露碱合成酶基因启动子的下游转化烟草,试验证明在 3' 端有缺失的 *CryIa(b)* 杀虫基因的转基因烟草具有一定的抗虫性^[21]。1991 年,田颖川等利用定点突变改造苏云金杆菌(*Bacillus thuringiensis*)HD-1 的 δ -内毒素基因 5' 端,酶切对 3' 端进行缺失后,在大肠杆菌中仍能表达出有杀虫活性的被修饰的毒蛋白。将上述加工过的基因插入到双元载体 pBin437 (pBin19 的派生质粒)中,借助辅助 Ti 质粒 pAL4404 转入烟草,获得了抗卡那霉素的再生植株。经 Southern 印迹和狭槽印迹(Slot blot)杂交证明有 1~5 个拷贝的毒素基因整合至烟草染色体中。Northern 印迹法分析结果表明,这 2 类基因都在转基因植株中得到表达,有 4 株 5.3 kb 类型,3 株 6.6 kb 类型的转基因植株对烟青虫有高抗性,与对照相比,这 7 株转基因烟草植株的杀虫率可达 40%~50%,并能显著抑制昆虫蜕皮和生长发育,表现明显的抗虫作用。结果表明,这 2 类毒蛋白基因都可在植物中表达并赋予转基因植株以抗虫性^[22]。

2003 年,谢龙旭等构建了含草甘膦抗性突变基因(*aroAM12*)和人工合成重组 Bt 抗虫基因(*BtIm*)的植物表达载体 pCm12-slm。Northern blot、Immunodot blot 分析进一步证明整合的 2 个基因在转录、翻译水平上均进行了表达,不同植株之间表达存在着差异。草甘膦抗性和虫试试验证明,获得的转基因烟草对草甘膦和烟青虫具有很强的抗性^[23]。2012 年,高川等从苏云金芽胞杆菌中克隆到的 2 个杀虫基因 *Cry2Ab4* 和 *vip3Aall*,分别构建了 pCS2Ab 和 pCScip3A 植物表达载体,利用农杆菌介导法转化烟草品种 NC89,并得到 32 株和 35 株阳性转基因植株。通过对其进行 RT-PCR 分析、Western 杂交分子检测证实 2 种外源基因在烟草植株中可正常表达。人工饲喂初龄小地老虎幼虫,对 2 种转基因植株进行生物活性检测,结果显示饲喂转基因叶片的小地老虎幼虫死亡率在 82%以上,抗虫能力比对照显著提高^[24]。

2.2 利用蛋白酶抑制基因组

另一种抗虫转基因烟草的获得的方法是利用蛋白酶抑制基因组。蛋白酶抑制剂(Proteinase in-

hibitor, PI) 是一类存在于某些植物中的蛋白质, 可与昆虫消化道内的蛋白消化酶相互作用, 形成酶-抑制剂复合物 (EI), 由此抑制蛋白消化酶的活性。此外, 蛋白酶抑制剂还可进入昆虫淋巴系统, 干扰昆虫免疫功能和蜕皮过程。

1987 年, Hilder 用土壤农杆菌的 Ti 质粒介导, 将花椰菜叶病毒 CaMv 35S 启动子与豇豆胰蛋白酶抑制基因组装后转化烟草, 转基因烟草植株具有较强的抗虫特性^[25]。2010 年, 宋洪元等将置于 2 个同向 lox 位点之间的 Bar 基因表达盒与大豆胰蛋白酶抑制剂 SKTI 基因表达盒融合后获得相应植物表达载体, 转化烟草 Wisconsin 38 后获得对棉铃虫具有明显抗性的 SKTI 转基因植株。此外, 作物育种专家还利用其他抗虫基因及转双价抗虫基因, 获得了具有较好抗虫性的烟草^[26]。2012 年, 齐洪华等根据已克隆的 CABYV P0 蛋白基因序列, 设计带酶切位点的特异性引物, PCR 扩增用于构建 RNAi 表达载体的 P0 蛋白基因正反义片段。将正反义片段分别插入含有内含子的中间载体 pBSint 上, 得到重组的中间载体 pBSint-P0-F-R。用 Sal I 和 Sac I 双酶切 pBSint-P0-F-R, 将切下的包括内含子和正反义 P0 蛋白基因在内的片段定向克隆到植物表达载体 pCambial 300 上, 得到含有发卡结构的 RNAi 表达载体 pCambia-P0-F-R。通过农杆菌介导的方法将该表达载体转化本生烟, 经 PCR 检测, 得到 4 株阳性转基因植株^[27]。

3 展望

虽然烟草抗病虫转基因技术的发展已有 20 多年的历史, 但转基因技术仍有许多不足。目前, 人们对转基因植物的安全性存在疑虑, 并且转基因技术本身还存在一些缺陷, 主要表现在转基因沉默, 基因漂移, 转基因抗病植株抗性的丧失以及抗病性转基因的生态威胁方面, 但任何事物都有两面性, 随着生物技术的发展, 转基因技术将会在植物抗病育种中得到很好的应用。

通过 20 多年的研究, 烟草抗病虫转基因技术取得了较大的进展, 特别是近年来发展了一些新的介导抗病性方法。但仍存在许多缺陷, 如基因沉默现象使转入抗病基因的植株抗病性不能正常表达; PTGS 效应对整个生物体的影响不明确, 对不同的作用靶位, 其效应存在差异, 通过 PTGS 途径获得的抗病性在植物内是否可以遗传目前仍不清楚。另外, 一些介导病毒抗性的方法对导入基

因的作用机制及其与植物体互作方面的研究没有确定的理论, 并且在实际应用中未取得太大的进展。以后的研究工作中, 应对各种介导病毒抗病性的机制和作用机理以及互做体系进行更准确、深入的研究, 以便从根本上解决问题, 进而促进抗病毒转基因烟草更快、更有效的发展。

参考文献:

- [1] 李秋潼, 蔡利. 抗病毒病转基因烟草的培育方法及展望[J]. 种子, 2010, 29(1): 57-60.
- [2] COVEY S N, AI-KAF N S, LANGAR A. Plants combat infection by gene silencing[J]. Nature, 1997, 385: 781-782.
- [3] RATCLIF F, HARRISON B D, BAULCOMBE D C. A similarity between viral defense and gene silencing in plants[J]. Science, 1997, 276: 1558-1560.
- [4] LIN S S, WU H W, JAN F J. Modifications of the HC-Pro of zucchini yellow mosaic potyvirus for generation of attenuated mutants for cross protection against severe infection[J]. Phytopathology, 2007, 97: 287-296.
- [5] 刁毅. 抗病毒病转基因烟草的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(20): 5274-5275.
- [6] GOLEMBOSKI D B. 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.
- [7] CARR J P, GAL-ON A, PALUKAITIS P, et al. Replicase-mediated resistance to cucumber mosaic virus in transgenic plants involves suppression of both virus replication in the inoculated leaves and long-distance movement[J]. Virology, 1994, 199: 439-447.
- [8] 刘玉乐, 王振东, 朱锋, 等. 表达黄瓜花叶病毒卫星 RNA 的转基因烟草耐烟草花叶病毒[J]. 微生物学报, 1994, 34(5): 403-405.
- [9] LOMONOSOFF. Pathogen-derived resistance to plant viruses[J]. Ann Rev Phytopathol, 1995, 33: 323-343.
- [10] 张振臣, 李大伟. 黄瓜花叶病毒(CMV)运动蛋白基因介导的抗病性[J]. 植物学报, 1999, 41(6): 585-590.
- [11] 黄晓躁, 陈青, 薛朝阳, 等. 番茄花叶病毒移动蛋白基因转化烟草及在转基因烟草中的表达[J]. 南京农业大学学报, 2001, 24(4): 5-8.
- [12] 唐嘉义, 张泽. 抗 TSWV 转基因烟草植株的初步研究[J]. 植物病理学报, 2002, 32(3): 285-286.
- [13] 郭兴启, 韩宏岩, 张杰道. 转不可翻译 PVYN CP 基因烟草的抗病性分析[J]. 试验生物学报, 2003, 36(3): 176-184.
- [14] 张凯, 牛颜冰, 周雪平. 表达 dsRNA 的转基因烟草能阻止烟草花叶病毒的侵染[J]. 农业生物技术学报, 2005, 13(2): 226-229.

河西走廊琉璃苣产业发展前景与对策

李海波¹, 侯志刚², 陈学红¹, 李 鹏¹, 张国森³

(1. 甘肃省酒泉职业技术学院生物工程系, 甘肃 酒泉 735000; 2. 甘肃省酒泉市肃州区金佛寺镇农技推广站, 甘肃 酒泉 735000; 3. 甘肃省酒泉市肃州区蔬菜技术服务中心, 甘肃 酒泉 735000)

摘要: 介绍了甘肃河西走廊发展琉璃苣产业的优势、经济和生态效益、存在的问题, 提出了加强试验研究和示范推广, 提高抗旱栽培技术; 提升灌溉系统的功能; 建立沿祁连山北麓高寒高旱地区优质琉璃苣生产基地; 加大资金投入力度以确保产业链有序延伸和转型升级等发展对策。

关键词: 琉璃苣; 制约因素; 发展对策; 河西走廊

中图分类号: S565.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-1463(2015)10-0066-04

[doi:10.3969/j.issn.1001-1463.2015.10.024](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1463.2015.10.024)

琉璃苣(*Borago officinalis*)又名紫花草、星星花, 原产于地中海沿岸和小亚细亚, 在美国、加拿大、日本、台湾均有种植。研究表明, 琉璃苣籽油富含 γ -亚麻酸^[1], 是目前已知的 γ -亚麻酸含量最高的植物油^[2]。 γ -亚麻酸是人体无法合成的一种重要脂肪酸, 有很好的生理活性, 具有降血脂、杀菌、抗炎、抗高血压、抗动脉粥样硬化、

抗肿瘤、抗糖尿病及减肥、美容等一系列生物学功能, 是医药品、高级营养食品、化妆品等领域的重要原料, 备受国内外营养及临床医学界的广泛关注, 在国内外有广阔的市场需求^[3]。国内已有厦门、杭州、济南等地的多家公司生产琉璃苣油, 主要用作原料药或医药中间体。

目前, 制约琉璃苣籽油生产的主要因素是种

收稿日期: 2015-04-21

基金项目: 甘肃省酒泉职业技术学院重点项目[xyky(2012)z-1]

作者简介: 李海波(1974—), 女, 甘肃玉门人, 副教授, 主要从事作物栽培及病虫害防治技术的教学科研工作。E-mail: 869316109@qq.com

通讯作者: 张国森(1966—), 男, 甘肃酒泉人, 推广研究员, 主要从事作物栽培技术、日光温室产业研究与推广工作。E-mail: jqnyzgs@163.com

- [15] 孟凡宏, 宋从凤, 纪兆林, 等. 表达全长与截短 HarpinX100 对转基因烟草抗病性的影响[J]. 南京农业大学学报, 2007, 30(3): 47-52.
- [16] 李 黎, 李世访, 郭立华, 等. DsRNA 分解酶 PAC1 对 4 种植物病毒、3 种病毒 dsRNA 的降解活性检测及转 pac1 基因烟草的获得[J]. 植物病理学报, 2008, 38(5): 489-495.
- [17] 朱常香, 宋云枝, 温学江. 多抗 PVY、TMV 和 CMV 转基因烟草的培育[J]. 中国农业科学, 2008, 41(4): 1 040-1 047.
- [18] 宋 莉, 赵德刚, 田晓娥, 等. ChIFN- α 基因在烟草中的表达及转基因烟草对 TMV 的抗性[J]. 中国农业科技导报, 2010, 12(1): 118-122.
- [19] 江 彤, 邓竹根, 宋培培, 等. 利用 dsRNA 介导的抗病性获得抗马铃薯 Y 病毒(PVY)的转基因烟草[J]. 热带作物学报, 2013, 34(4): 648-653.
- [20] 孙书娥, 唐前君, 刘 勇, 等. RNA 沉默 5 的转基因烟草抗中国番茄黄化曲叶病毒研究[J]. 农业生物技术学报, 2013, 21(5): 530-536.
- [21] VAECK M, REYNAERTS A, HOFTE H, et al. Transgenic plants protected from insect attack[J]. Nature, 1987, 328: 33-37.
- [22] 田颖川, 秦晓峰, 许丙寅, 等. 表达苏云金杆菌 δ -内毒素基因的转基因烟草的抗性[J]. 生物工程学报, 1991, 7(1): 1-10.
- [23] 谢龙旭, 徐培林, 聂燕芳, 等. 抗草甘膦抗虫植物表达载体的构建及其转基因烟草的分析[J]. 生物工程学报, 2003, 19(5): 545-551.
- [24] 高 川, 郎志宏, 朱 莉, 等. 转 Cry2Ab4 和 vip3Aall 基因烟草对小地老虎杀虫效果研究[J]. 中国农业科技导报, 2012(5): 42-48.
- [25] HILDER V A. A novel mechanism of insect resistance engineered into tobacco[J]. Nature, 1987, 330: 160-163.
- [26] 宋洪元, 任雪松, 司 军, 等. 利用 Cre/lox 重组系统获得无选择标记的 SKTI 抗虫转基因烟草[J]. 西北植物学报, 2010, 30(1): 21-29.
- [27] 齐洪华, 李 捷, 马 萱, 等. 南瓜蚜传黄化病毒 PO 蛋白基因 ihpRNA 载体构建及烟草转化[J]. 北京农学院学报, 2012, 27(3): 21-23.

(本文责编: 金 苹)