

DOI:10.11913/PSJ.2095-0837.2021.30316

冯丹丹, 邓蕾, 汪祖鹏, 潘慧, 李文艺, 钟彩虹, 李黎. 寄主诱导的基因沉默在增强植物真菌病害抗性方面的研究进展[J]. 植物科学学报, 2021, 39(3): 316-323

Feng DD, Deng L, Wang ZP, Pan H, Li WY, Zhong CH, Li L. Research progress on host-induced gene silencing to promote plant resistance against fungal disease[J]. *Plant Science Journal*, 2021, 39(3): 316-323

寄主诱导的基因沉默在增强 植物真菌病害抗性方面的研究进展

冯丹丹^{1,2}, 邓蕾¹, 汪祖鹏¹, 潘慧¹, 李文艺¹, 钟彩虹^{1*}, 李黎^{1*}

(1. 中国科学院武汉植物园, 中国科学院植物种质创新与特色农业重点实验室, 中国科学院猕猴桃产业
技术工程实验室, 武汉 430074; 2. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 寄主诱导的基因沉默(host-induced gene silencing, HIGS)技术以 RNAi 技术为基础, 可从反向遗传学角度研究基因功能, 同时可创制具有持久抗性且稳定遗传的抗病品种, 为增强植物抗病性提供了新的视角。本文阐明了 HIGS 技术的原理, 总结了近年来该技术在增强植物真菌病害抗性方面最新的研究进展, 分析了 HIGS 技术的优、缺点, 并对 HIGS 技术的应用前景进行了展望。

关键词: 寄主诱导的基因沉默; 真菌病害; 抗病性

中图分类号: Q943.2

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2021)03-0316-08

Research progress on host-induced gene silencing to promote plant resistance against fungal disease

Feng Dan-Dan^{1,2}, Deng Lei¹, Wang Zu-Peng¹, Pan Hui¹,
Li Wen-Yi¹, Zhong Cai-Hong^{1*}, Li Li^{1*}

(1. Key Laboratory of Plant Germplasm Enhancement and Specialty Agriculture, Engineering Laboratory for
Kiwifruit Industrial Technology, Wuhan Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430074, China;
2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Host-induced gene silencing (HIGS) is a new technology based on RNA interference (RNAi). HIGS can identify gene functions from the view of reverse genetics and create disease resistant varieties with persistent resistance and stable inheritance. Thus, HIGS provides a new perspective for promoting plant disease resistance. In the current paper, we discuss the principles of HIGS technology, summarize the latest research progress in enhancing plant resistance against fungal diseases, and analyze the advantages and disadvantages of HIGS. Future prospects of HIGS technology are also discussed, with a focus on in-depth study of plant resistance.

Key words: Host-induced gene silencing; Fungal diseases; Disease resistance

植物病害的发生严重影响全球作物、水果的生产及粮食安全, 而真菌病害是植物病害最常见的类

型(约占 70%~80%)。增强品种抗性是最有效的病害防控措施, 然而利用传统杂交育种方式选育抗

收稿日期: 2020-12-04, 修回日期: 2020-12-04。

基金项目: 国家自然科学基金项目(31701974, 31901980); 武汉市科技局前资助科技计划(2018020401011307)。

This study was supported by grants from the National Natural Science Foundation of China (31701974, 31901980) and Science and Technology Program Funded by Wuhan Science and Technology Bureau (2018020401011307)。

作者简介: 冯丹丹(1998-), 女, 硕士研究生, 研究方向为猕猴桃真菌病害的致病机理及抗性种质创制(E-mail: 1611397082@qq.com)。

* 通讯作者(Authors for correspondence. E-mail: lilili@wbgcas.cn; zhongch1969@163.com)。

病品种过程漫长, 从正向遗传学角度挖掘定位主效抗病基因难度大, 多数基因也难以被开发为高效的分子标记直接利用于辅助育种中, 且分子转基因抗性育种品种无法得到国家审定。

近年来, 寄主诱导的基因沉默技术 (host-induced gene silencing, HIGS) 在研究寄主植物和真菌的互作模式以及创制新型抗病种质方面得到了广泛的应用, 极大地丰富了抗性基因资源库。研究证实, 从抗病机理的角度出发, 利用 HIGS 技术成功阻断病原菌的致病通路, 反向创制抗性种质这一思路是可行的。HIGS 技术逐渐显现出其未来在植物抗真菌病害方面的巨大应用潜力^[1, 2]。本文概述了该技术在增强植物真菌病害抗性研究中的最新研究进展, 并对 HIGS 技术的应用前景进行了展望。

1 HIGS 技术的原理

HIGS 技术是在 RNAi 及 VIGS 基础上发展起来的一项新技术。该技术的原理主要分为起始、效应及信号放大 3 个阶段。首先利用病毒载体、电击穿孔法、基因枪轰击、农杆菌或 PEG 介导的方法, 将与病原菌靶基因序列互补的双链 RNA (Double-strand RNA, dsRNA) 导入寄主植物中, dsRNA 被识别后经过植物内切核酸酶加工成 21~35 nt 的双链干扰小 RNA 分子 (small interfering RNA, siRNA)。随后, siRNA 在 RNA 解旋酶的作用下解链成单链 siRNA, 反义 siRNA 与 Argonaute 蛋白形成 RNA 诱导沉默复合体 (RNA-induced silencing complex, RISC), 促使内源 mRNA 降解。最后, 从 RISC 中释放出来的 siRNA 在 RNA 依赖的 RNA 聚合酶作用下, 以靶 mRNA 为模板合成新的 dsRNA, 由此循环, 使 RNA 沉默作用放大。

当病原菌侵染寄主时, 寄主体内的 dsRNA 或 siRNA 会通过某种途径进入病原菌中, 特异性地沉默病原菌的靶标基因, 具体表现为病原菌靶标基因功能完全/部分丧失、表达活性下降, 病原菌在寄主上的生长及侵染受到抑制, 由此提高寄主抗病性^[3, 4]。因此, 观察 HIGS 处理后的植株表型可以反向验证病原菌靶标基因的功能, 同时也可根据 HIGS 原理创制稳定遗传的抗病转基因植株。理想、高效的病原菌靶标基因是 HIGS 技术成功应用的关键, 一般选择病菌生长、产孢、侵染或致病过程中的关键/必需基因为靶基因^[5]。

2 HIGS 技术在植物抗真菌病害领域的研究进展

2010 年, Nowara 等^[6]首次将大麦条纹花叶病毒 (barley stripe mosaic virus, BSMV) 介导的基因沉默技术应用于大麦 (*Hordeum vulgare* L.) 和小麦 (*Triticum aestivum* L.) 抗病研究中, 并据此提出了 HIGS 的概念。同年, Tinoco 等^[7]首次发现在烟草 (*Nicotiana tabacum* L.) 中表达的镰刀菌靶标 GUS 基因 RNAi 分子可进入到寄生在烟草组织中的镰刀菌细胞中, 导致镰刀菌的靶标基因表达量显著降低, 证实了该技术的有效性。随后, HIGS 技术迅速应用于多种重要植物真菌病害抗性育种研究中, 并取得了重要研究进展 (表 1)。

小麦叶锈病 (*Puccinia triticina*) 及条锈病 (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) 是世界小麦产业面临的最严重真菌病害。Panwar 等^[8]分别以小麦叶锈病的主要致病基因亲环蛋白基因 *PtCYC1*、丝裂原活化蛋白激酶基因 *PtMAPK1*、钙调磷酸酶 B 基因 *PtCNB* 为靶标, 利用 BSMV-HIGS 技术获得第 3、4 代植株都表现出稳定和持久的高抗株系。近年来, 利用 BSMV-VIGS 瞬间表达体系反向验证了条锈菌大量重要致病基因的功能: 如 MAPK 级联途径激酶基因 *PsFUZ7*、效应蛋白基因 *PstGSRE1*、*Pst03724* 和 *Pst18363*, 蛋白激酶 A 的催化亚基基因 *PstCPK1* 及钙调神经磷酸酶 B 基因 *PsCNB* 等, 筛选得到对应寄主靶蛋白并阐明了两者间的互作机理; 同时, 利用 HIGS 技术, 以上述基因为靶标获得了大量遗传表达稳定的小麦抗性转基因株系^[9-14]。目前, 成熟的 HIGS 技术体系已被国内外众多学者采用, 为 HIGS 技术在植物防控真菌病害的运用中提供了重要的理论依据和技术支撑。

在抗白粉病材料选育方面, Nowara 等^[6]以大麦白粉病菌 (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*) 的葡聚糖转移酶基因效应子 *Avra10* 基因为靶标, 发现与野生型植株相比, 侵染 HIGS 转基因植株的白粉病菌吸器减少、菌丝生长受到明显抑制, 证实 HIGS 转基因大麦植株抗性显著增强。Pliego 等^[15]利用 HIGS 单细胞分析技术, 筛选得到 8 个干扰大麦白粉病菌侵染的效应子。张美惠^[16]首次建立了用于对小麦白粉病菌基因功能研究的 BSMV-HIGS 体系, 并反向证实了 β -tubulin 基因

表 1 HIGS 技术在植物真菌病害抗性育种领域的研究进展
Table 1 Research progress on host-induced gene silencing in plant resistance breeding against fungal disease

寄主植物 Host	病原菌 Pathogen	靶标基因 Target gene	基因功能 Gene function	转基因抗性植株 Transgenic resistant plants	抗性表现 Resistance	参考文献 Reference
小麦 <i>Triticum aestivum</i> L.	<i>Puccinia striiformis</i> f. sp. <i>tritici</i>	<i>PsFUZ7</i>	MAPK 级联途径激酶基因, 生长发育和致病关键基因	基因枪法转化 <i>PsFUZ7</i> 基因, 获得稳定遗传的抗性植株	条锈病菌丝生长受到严格限制, 致病力降低, 寄主抗病性增强	[2]
小麦 <i>Triticum aestivum</i> L.	<i>Puccinia striiformis</i> f. sp. <i>tritici</i>	<i>PsCPK1</i>	PKA 蛋白激酶的催化亚基基因, 重要致病因子	基因枪法转化 <i>PsCPK1</i> 基因, 在 T4 代获得两个抗病性提高的阳性转基因植株(L12 和 L18)	条锈病菌丝分支长度和菌落面积显著降低, 致病力显著降低, 寄主抗病能力提升	[12]
小麦 <i>Triticum aestivum</i> L.	<i>Puccinia striiformis</i> f. sp. <i>tritici</i>	<i>PsCNB</i>	钙调神经磷酸酶 B 基因, 致病因子, 参与下游毒性、有性生殖、菌体生长发育等多种信号途径	基因枪法转化 <i>PsCNB</i> 基因, 获得 T0 代植株	高抗条锈病	[13]
小麦 <i>Triticum aestivum</i> L.	<i>Puccinia striiformis</i> f. sp. <i>tritici</i>	<i>Ps26267</i> <i>Ps23739</i>	NEK 蛋白激酶基因, 与夏孢子活力相关酪蛋白激酶 1 基因, 感染结构分化、产孢致病相关	基因枪法转化 <i>Ps26267</i> 及 <i>Ps23739</i> 基因, 获得 T0 代植株	持久抗条锈病	[9]
小麦 <i>Triticum aestivum</i> L.	<i>Puccinia striiformis</i> f. sp. <i>tritici</i>	<i>CDA</i>	几丁质脱乙酰基酶基因	基因枪法转化 <i>CDA</i> 基因, 获得转基因材料 10 份	抗病性增强	[17]
小麦 <i>Triticum aestivum</i> L.	<i>Fusarium graminearum</i>	<i>FcGls1</i> <i>FcFmk1</i> <i>FcChsV</i>	β -1,3-葡聚糖合成酶基因 MAP 激酶 几丁质合成酶	农杆菌介导法转单基因或 3 基因串联的 RNAi 载体, 获得稳定表达的转基因小麦植株	赤霉病抗性提高	[18]
小麦 <i>Triticum aestivum</i> L.	<i>Fusarium graminearum</i>	<i>Chs3b</i>	几丁质合成酶基因	基因枪法分别构建 <i>Chs3b</i> 基因的 3 个区段的 RNAi 载体, 获得稳定表达的转基因小麦植株	苗期和穗期的赤霉病抗性提高	[19]
大麦 <i>Hordeum vulgare</i> L.	<i>Fusarium graminearum</i>	<i>CYP51</i>	真菌甾醇细胞色素 P450 羊毛甾醇 C-14 α -脱甲基酶	农杆菌介导 <i>CYP51</i> 基因, 获得转基因大麦和拟南芥植株	叶片及麦粒离体接种, 赤霉病菌丝生长受到显著抑制	[20]

续表 1

寄主植物 Host	病原菌 Pathogen	靶标基因 Target gene	基因功能 Gene function	转基因抗性植株 Transgenic resistant plants	抗性表现 Resistance	参考文献 Reference
短柄草 <i>Brachypodium distachyon</i> L.	<i>Fusarium graminearum</i>	FGSG00677 FGSG08731	分泌蛋白激酶基因	农杆菌介导 FGSG00677 及 FGSG08731 基因, 获得转基因烟草植株	对赤霉病的抗病性显著增强	[21]
水稻 <i>Oryza sativa</i> L.	<i>Magnaporthe oryzae</i>	MoABC1 MoMAC1 MoPMK1	ATP 结合外排泵家族基因 膜结合腺苷酸环化酶基因 丝裂原活化蛋白激酶基因	病毒载体介导 MoABC1、MoMAC1、MoPMK1 基因, 获得了转基因水稻	抗病性提高, 稻瘟病发生率受到显著抑制	[11]
水稻 <i>Oryza sativa</i> L.	<i>Magnaporthe oryzae</i>	RHO1	Ras 超家族小 G 蛋白基因 孢子萌发相关	农杆菌介导 RHO1 基因, 获得转基因水稻	稻瘟病抗性提高	[22]
油菜 <i>Brassica campestris</i> L.	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	PG CBH OAH	多聚半乳糖醛酸内切酶 纤维二糖水解酶基因 草酰乙酸水解酶基因	农杆菌介导 PG、CBH 及 OAH 基因, 获得转基因油菜	转基因油菜子叶及叶片对核盘菌侵染的抵抗能力增强, 核盘菌草酸合成受显著抑制	[23]
棉花 <i>Anemone vitifolia</i> Buch.-Ham.	<i>Verticillium dahlia</i>	VdEG1 VdPDF1, VdPDI, VdENG1 VdMAN1	糖代谢相关基因	农杆菌介导 VdEG1 等 5 个基因, 获得 T2 代稳定遗传的转基因烟草植株	植株病情指数降低、大丽轮枝菌的生物量减少	[29]
香蕉 <i>Musa nana</i> Lour.	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i>	Velvet Ftf1	Velvet 家族基因 转录因子 1 基因	农杆菌介导 Velvet 及 Ftf1 基因, 获得稳定表达的转基因香蕉植株	枯萎病抗性提高	[25]
马铃薯 <i>Solanum tuberosum</i> L.	<i>Phytophthora infestans</i>	PiGPB1	G 蛋白 β 亚基基因	农杆菌介导 PiGPB1 基因获得转基因马铃薯植株	马铃薯晚疫病菌在转基因土豆植株上的侵染减弱	[26]
莴苣 <i>Lactuca sativa</i> L.	<i>Bremia lactucae</i>	HAM34 CES1	未知功能基因 纤维素合成酶基因	农杆菌介导 HAM34 及 CES1 基因, 获得稳定的莴苣转基因植株 莴苣株系	霜霉病抗性提高	[27]

BgtTUB 的致病功能。

禾谷镰刀菌 (*Fusarium graminearum*) 是引发小麦及大麦赤霉病的优势种群。Koch 等^[20] 利用 HIGS 技术在大麦中表达了甾醇-14 α -去甲基化酶 *CYP51* 基因 3 个串联片段的 RNAi 载体, 转基因植株抗性显著提高。Cheng 等^[19] 和 Chen 等^[18] 分别以几丁质合酶 Chs、MAP 激酶及葡聚糖合酶基因为 HIGS 靶点, 创制得到了同时抗苗腐、穗腐及赤霉菌毒素的转基因株系。谭成龙等^[21] 以分泌蛋白基因 *FGSG00677* 和激酶基因 *FGSG08731* 作为沉默靶标基因, 通过农杆菌转化的方法将沉默表达载体转入短柄草 (*Brachypodium distachyon* L.) 中, 证实了 HIGS 转基因短柄草植株对赤霉病的抗病性显著增强。

针对大丽轮枝菌 (*Verticillium dahlia*) 导致的棉花 (*Gossypium hirsutum* L.) 黄萎病, 有研究员团队以致病相关的疏水蛋白基因 *VdH1* 为靶基因, 利用 HIGS 技术获得了能稳定表达目标 siRNA 的转基因高抗棉花。相较于野生型, 转基因棉花表现出高效的黄萎病抗性。同时, 从大丽轮枝菌侵染后的 *VdH1i* 转基因棉花分离得到的菌丝中, 检测到 *VdH1* 基因的降解以及 *VdH1*-siRNA 的积累, 进一步证明宿主植物能够传输 siRNA 到真菌细胞中并且诱导目标基因沉默^[28-30]。Wei 等^[31] 利用 HIGS 技术验证了乙酰乳酸合成酶基因 (*VdALS*) 的毒力功能, 并通过构建 *VdILV2* 基因敲除载体, 解析了该基因在黄萎病菌生长发育过程中的功能, 可进一步运用于 HIGS 抗性种质创制研究中。

近年来, HIGS 技术在油菜 (*Brassica campestris* L.)、水稻 (*Oryza sativa* L.)、马铃薯 (*Solanum tuberosum* L.)、莴苣 (*Lactuca sativa* L.)、香蕉 (*Musa nana* Lour.)、辣椒 (*Capsicum annuum* L.) 等植物抗病研究中也逐渐得到应用。陈培培^[23] 及柴亚茹等^[32] 利用 HIGS 技术反向证实了核盘菌 (*Sclerotinia sclerotiorum*) 细胞壁降解酶和草酸合成基因 (*PG*、*CBH* 及 *OAH*) 及铜锌超氧化物歧化酶铜伴侣基因 (*SsCCS*) 的关键致病作用, 并构建相应的 RNAi 表达载体, 转化到拟南芥 (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.) 或油菜中, 获得了稳定表达干扰片段的抗性材料。Zhu 等^[11] 及唐喆等^[22] 以稻瘟病菌 (*Magnaporthe oryzae*) ATP 合成及蛋白激酶基因 (*MoABC1*、*MoMAC1*、

MoPMK1、*RHO1*) 为靶标, 证实 HIGS 转基因水稻抗病显著提高。Jahan 等^[26] 以致病疫霉 (*Phytophthora infestans*) G 蛋白 β 亚基 *PiGPB1* 基因为靶标, 运用 HIGS 技术降低了晚疫病在转基因马铃薯上的侵染率。Govindarajulu 等^[27] 稳定表达了盘梗酶 (*Bremia lactucae*) 纤维素合成酶相关基因 *HAM34* 和 *CES1* 基因的 RNAi 构建载体, HIGS 转基因莴苣 (*Lactuca sativa* L.) 植株上病菌生长及产孢能力明显受到抑制。Ghag 等^[25] 证实尖孢镰刀菌 (*F. oxysporum* f. sp. *cubense*) 的转录因子 *Ftf1* 基因和 *Velvet* 基因家族可作为 HIGS 靶标基因, 创制的转基因香蕉植株抗枯萎病能力显著提高。郭亚路等^[33] 发现利用 HIGS 技术沉默疫霉菌 (*Phytophthora capsici*) G 蛋白偶联受体蛋白基因 *PcGK4* 基因可降低疫霉菌对辣椒寄主的侵染。Thakur 等^[34] 证实 HIGS 诱导链格孢菌 (*Alternaria cyamopsidis*) 几丁质合成酶相关基因 *AcCHS7*, 可有效减少菌丝生长及分生孢子形成, 提高瓜尔豆 (*Cyamopsis tetragonoloba* L.) 的抗病性及胶蛋白产量。上述研究结果为未来 HIGS 技术运用于更多植物的抗真菌病害研究奠定了理论及技术基础。

3 HIGS 技术的优缺点及展望

HIGS 技术具有快速简便、通用性强、靶向性高的特点, 能够沉默多拷贝基因及致死基因, 且具有序列专一性, 当靶基因中有保守区域时, 一个或少数几个 RNA 沉默载体可以诱导整个基因家族的沉默, 同时降低多种病原体的侵染率, 进而实现特定时间及组织的基因沉默, 有效运用于抗性新种质的创制^[34]。

近年来, 在利用常规的病菌生长、致病关键/必需功能基因之外, 非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA) 及 Dicer 同源蛋白 (dicer-like protein, DCL) 基因也被证实可作为 HIGS 靶标基因, 并已在灰霉病菌 (*Botrytis cinerea*) 和黄萎病菌 (*Verticillium dahlia*) 中得以验证^[35-37]。

2012 年, Nunes 和 Dean^[38] 首次提出以单个或多个致病关键基因或生长必需基因为沉默靶标, 在同一寄主上 R 基因和 HIGS 协同作用以提高寄主的抗病性, 维持植株抗病持久性的观点。此外, 鉴于 HIGS 技术的启发, 最近的研究表明, 采用喷雾诱导基因沉默技术 (spray-induced gene silen-

cing, SIGS) 在植物表面喷洒靶向人工合成的必需病原体基因的 dsRNAs 和 siRNAs 被证实可有效提高植物的抗病性^[39]。如 Koch 等^[40] 在大麦叶片上喷洒针对禾谷镰刀菌的 *CYP3-dsRNA* (*CYP51-A*、*CYP51-B* 和 *CYP51-C* 基因片段串联 dsRNA) 分子, 叶片吸收后可以有效抑制禾谷镰刀菌的侵染。孟旭^[41] 通过基因敲除验证了禾谷镰刀菌钙调神经磷酸酶基因 *CNA* 和 *CNB* 为必需基因, 并通过在叶片上喷施两者 dsRNA 证实其具有抑制病菌侵染的作用, 为小麦赤霉病的高效、绿色安全防控奠定了基础。灰霉病菌也被证实可以吸收专门针对其 *DCL1* 和 *DCL2* 基因设计的外源性 dsRNAs 和 siRNAs, 从而使寄主抑制灰霉病菌, 提高寄主抗病性^[42]。Qian 等^[43] 发现 SIGS 对 dsRNA 吸收效率高的病原菌(灰霉病菌、核盘菌、立枯丝核菌、黑曲霉菌和大丽轮枝菌) 具有较好的防治效果, 可以显著抑制病害的发生。相反, SIGS 无法抑制吸收效率低或不能吸收 dsRNA 病原菌(绿木霉菌、胶孢炭疽菌及致病疫霉) 的致病力。田间验证也证实 dsRNA 处理 7 天后仍对灰霉病具有较好的防病作用。因此, SIGS 与 HIGS 技术结合运用可能是植物抵御病原体感染的持久而有效方法, 在防治植物病害中具有巨大应用潜力^[44]。

此外, 目前研究已证实寄主植物自身也存在可诱导病原菌基因沉默的 siRNA/dsRNA, RNA 分子在 2 个互作物种之间的运输和诱导沉默的机制都有待进一步阐明。如研究发现棉花、番茄 (*Solanum lycopersicum* Mill.) 和拟南芥中均能够转运植物自身内源 miRNAs 到致病真菌细胞, 并介导靶标基因的剪切, 降低致病基因拷贝数, 从而降低大丽轮枝病菌的致病性^[30]。利用植物内源 miRNA 的跨界调控增强寄主抗性也将是未来 HIGS 技术发展的一个重要研究方向。

目前, HIGS 技术已经在其他病原物如线虫的防控中得到了广泛应用^[45, 46]。但是 HIGS 技术仍也存在一些不足: (1) 一般情况下靶标基因的 dsRNA 和 siRNA 不会发生非靶效应^[47], 但由于 mRNA 沉默只需要靶基因的一小部分序列, 可能造成同源非靶基因的沉默; (2) 由于 HIGS 载体随机整合到基因组上, 偶尔可能会插入到某个关键基因内, 从而影响抗性植株的表型^[48, 49]; (3) 对于不同的病原菌, 确定有效的靶标基因, 构建良好的

载体十分重要。目前 HIGS 技术不一定能在所有寄主-病原互作体系中达到理想效果^[50, 51]; (4) HIGS 机制可能比目前研究结果更为复杂, 整体受到 RNAi 网络调控, 包括 siRNA 在寄主植物及病原菌之间相互转移的机理, 病原菌的沉默抑制子如何转移至寄主植物中, 还需要进一步阐明^[47, 52, 53]。因此, 未来在植物抗病领域, HIGS 技术的机理及遗传转化体系还有待进一步阐明及完善。

参考文献:

- [1] 赵美, 皮磊, 郑文博, 刘艳潇, 周而勋, 舒灿伟. 寄主诱导的基因沉默在丝状真菌中应用的最新研究进展[J]. 分子植物育种, 2018, 16(23): 7689-7694.
Zhao M, Pi L, Zheng WB, Liu YX, Zhou EX, Shu CW. Latest research progress on the application of host induced gene silencing in filamentous fungi[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2018, 16(23): 7689-7694.
- [2] 朱晓果. 小麦条锈菌 MAPK 信号通路介导的致病机理及其在抗锈育种中的应用[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2017.
- [3] Ghag SB. Host induced gene silencing, an emerging science to engineer crop resistance against harmful plant pathogens[J]. *Mol Plant Pathol*, 2017, 100: 242-254.
- [4] 张河山, 胡亚亚, 张娜, 魏学军, 杨文香, 刘大群. 寄主诱导的基因沉默(HIGS)技术研究进展[J]. 农业生物技术学报, 2013, 21(5): 603-611.
Zhang HS, Hu YY, Zhang N, Wei XJ, Yang WX, Liu DQ. Progress of host-induced gene silencing (HIGS) technology[J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2013, 21(5): 603-611.
- [5] 程伟, 李和平, 何水林, 廖玉才. 寄主诱导的基因沉默提高植物真菌病害抗性研究进展[J]. 作物学报, 2017, 43(8): 1115-1121.
Cheng W, Li HP, He SL, Liao YC. Progress in enhancement of plant resistance against fungal diseases through host-induced gene silencing[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2017, 43(8): 1115-1121.
- [6] Nowara D, Gay A, Lacomme C, Shaw J, Ridout C, et al. HIGS: host-induced gene silencing in the obligate biotrophic fungal pathogen *Blumeria graminis*[J]. *Plant Cell*, 2010, 22(9): 3130-3141.
- [7] Tinoco ML, Dias BB, Dall'Asta RC, Pamphile JA, Aragao FJ. In vivo trans-specific gene silencing in fungal cells by in planta expression of a double-stranded RNA[J]. *BMC Biol*, 2010, 8(1): 27.
- [8] Panwar V, McCallum B, Bakkeren G. Host-induced gene silencing of wheat leaf rust fungus *Puccinia triticina* pathogenicity genes mediated by the *Barley stripe mosaic virus*[J]. *Plant Mol Biol*, 2013, 81(6): 595-608.

- [9] 何付新. 利用 RNAi 技术研究小麦条锈菌候选关键蛋白激酶基因[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2015.
- [10] Tang CL, Wei JP, Han QM, Liu R, Duan XY, *et al.* *PsANT*, the adenine nucleotide translocase of *Puccinia striiformis*, promotes cell death and fungal growth[J]. *Sci Rep*, 2015, 5(1): 11241.
- [11] Zhu L, Zhu J, Liu ZX, Wang ZY, Zhou C, Wang H. Host-induced gene silencing of rice blast fungus *Magnaporthe oryzae* pathogenicity genes mediated by the brome mosaic virus[J]. *Genes*, 2017, 8(10): 241.
- [12] 戚拓. 条锈菌重要致病因子 *PstGSRE1* 和 *PstCPK1* 致病机理研究及利用 HIGS 技术创制小麦持久抗条锈病材料[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2018.
- [13] 温拯. 小麦条锈菌效应蛋白 Pst03724 的功能分析及利用 HIGS 技术创制抗病新材料[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2019.
- [14] Yang Q, Huai BY, Lu YX, Cai KY, Guo J, *et al.* A stripe rust effector *Pst18363* targets and stabilises *TaNUDX23* that promotes stripe rust disease[J]. *New Phytol*, 2020, 225(2): 880–895.
- [15] Pliego C, Nowara D, Bonciani G, Gheorghe DM, Xu R, *et al.* Host-induced gene silencing in barley powdery mildew reveals a class of ribonuclease-like effectors[J]. *Mol Plant Microbe Interact*, 2013, 26(6): 633–642.
- [16] 张美惠. 高温胁迫下小麦白粉病菌 *Hsp* 基因表达研究及 HIGS 体系的建立[D]. 北京: 中国农业科学院, 2019.
- [17] 刘强. 小麦条锈菌细胞壁相关基因的寄主诱导转基因沉默研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2015.
- [18] Chen W, Kastner C, Nowara D, Oliveira-Garcia E, Rutten T, *et al.* Host-induced silencing of *Fusarium culmorum* genes protects wheat from infection[J]. *J Exp Bot*, 2016, 67(17): 4979–4991.
- [19] Cheng W, Song XS, Li HP, Cao LH, Sun K, *et al.* Host-induced gene silencing of an essential chitin synthase gene confers durable resistance to *Fusarium* head blight and seeding blight in wheat[J]. *Plant Biotechnol J*, 2015, 13(9): 1335–1345.
- [20] Koch A, Kumar N, Weber L, Keller H, Imani J, Kogel KH. Host-induced gene silencing of cytochrome P450 lanosterol C14 α -demethylase-encoding genes confers strong resistance to *Fusarium* species[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(48): 19324–19329.
- [21] 谭成龙, 马微, 郭军. 利用 HIGS 技术创制短柄草抗赤霉病材料[C]//中国植物病理学会. 中国植物病理学会 2017 年学术年会论文集. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2017.
- [22] 唐喆, 张强, 项萍. *RHO1* 基因的 HIGS 表达载体构建及转基因水稻的抗病性分析[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2018, 46(8): 39–46.
- Tang Z, Zhang Q, Xiang P. Construction of HIGS expression vector of *RHO1* gene and disease resistance of transgenic rice[J]. *Journal of Northwest A & F University* (Natural Science Edition), 2018, 46(8): 39–46.
- [23] 陈培培. 寄主诱导的基因沉默在油菜抗菌核病改良中的应用[D]. 扬州: 扬州大学, 2020.
- [24] 赵玉兰. 利用基因沉默验证大丽轮枝菌糖代谢相关基因的致病力[D]. 北京: 中国农业科学院, 2015.
- [25] Ghag SB, Shekhawat UK, Ganapathi TR. Host-induced post-transcriptional hairpin RNA-mediated gene silencing of vital fungal genes confers efficient resistance against *Fusarium* wilt in banana[J]. *Plant Biotechnol J*, 2014, 12(5): 541–553.
- [26] Jahan SN, Asman AKM, Corcoran P, Fogelqvist J, Vetukuri RR, Dixelius C. Plant-mediated gene silencing restricts growth of the potato late blight pathogen *Phytophthora infestans*[J]. *J Exp Bot*, 2015, 66(9): 2785–2794.
- [27] Govindarajulu M, Epstein L, Wroblewski T, Micheltore RW. Host-induced gene silencing inhibits the biotrophic pathogen causing downy mildew of lettuce[J]. *Plant Biotechnol J*, 2015, 13(7): 875–883.
- [28] Zhang T, Jin Y, Zhao JH, Gao F, Zhou BJ, *et al.* Host-induced gene silencing of the target gene in fungal cells confers effective resistance to the cotton wilt disease pathogen *Verticillium dahlia*[J]. *Mol Plant*, 2016, 9(6): 939–942.
- [29] Zhang T, Zhao YL, Zhao JH, Wang S, Jin Y, *et al.* Cotton plants export micro-RNAs to inhibit virulence gene expression in a fungal pathogen[J]. *Nat Plants*, 2016, 2(10): 3130–3141.
- [30] 金芸, 张涛, 郭惠珊. 基因沉默技术在抗真菌病害中的应用和展望[J]. 生物工程学报, 2017, 33(2): 161–169.
- Jin Y, Zhang T, Guo HS. Application of host induced gene silencing in crop protection against fungal diseases[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2017, 33(2): 161–169.
- [31] Wei CY, Qin TF, Li YQ, Wang WP, Dong T, Wang QL. Host-induced gene silencing of the acetolactate synthases *VdILV2* and *VdILV6* confers resistance to *Verticillium* wilt in cotton (*Gossypium hirsutum* L.)[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 524(2): 392–397.
- [32] 柴亚茹, 丁一娟, 周思钰, 杨文静, 闫宝琴, 等. HIGS-SsCCS 转基因拟南芥的菌核病抗性鉴定[J]. 中国农业科学, 2020, 53(4): 761–770.
- Chai YR, Ding YJ, Zhou SY, Yang WJ, Yan BQ, *et al.* Identification of the resistance to *Sclerotinia* stem rot in HIGS-SsCCS transgenic *Arabidopsis thaliana*[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2020, 53(4): 761–770.
- [33] 郭亚路, 刘征, 严婷, 杜羽, 单卫星. 寄主诱导的基因沉默对辣椒疫霉菌的影响[J]. 西北农业学报, 2019, 28(12): 2053–2059.
- Guo YL, Liu Z, Yan T, Du Y, Shan WX. Host-induced

- gene silencing is effective against *Phytophthora capsici* in *Nicotiana benthamiana* [J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2019, 28(12): 2053–2059.
- [34] Thakur O, Prasad R. Engineering resistance to *Alternaria cyamopsidis* by RNAi mediated gene silencing of chitin synthase export chaperone *CHS7* in guar [J]. *Physiol Mol Plant P*, 2020, 112(1): 101541.
- [35] Meng Y, Shao C, Wang H, Jin Y. Target mimics: an embedded layer of microRNA-involved gene regulatory networks in plants [J]. *BMC Genomics*, 2012, 13(1): 197.
- [36] Weiberg A, Wang M, Lin FM, Zhao HW, Zhang ZH, et al. Fungal small RNAs suppress plant immunity by hijacking host RNA interference pathways [J]. *Science*, 2013, 342(6154): 118–123.
- [37] Wang M, Weiberg A, Lin FM, Thomma BP, Huang HD, Jin H. Bidirectional cross-kingdom RNAi and fungal uptake of external RNAs confer plant protection [J]. *Nat Plants*, 2016, 2(10): 16151.
- [38] Nunes CC, Dean RA. Host-induced gene silencing: a tool for understanding fungal host interaction and for developing novel disease control strategies [J]. *Mol Plant Pathol*, 2012, 13(5): 519–529.
- [39] Wang M, Jin H. Spray-induced gene silencing: a powerful innovative strategy for crop protection [J]. *Trends Microbiol*, 2017, 25(1): 4–6.
- [40] Koch A, Biedenkopf D, Furch A, Weber L, Rossbach O, et al. An RNAi-based control of *Fusarium graminearum* infections through spraying of long dsRNAs [C]//Deising HB, Fraaije B, Mehl A, Oerke EC, Sierotaki H, Stammli G, eds. *Modern Fungicides and Antifungal Compounds VIII*. Friedrichroda: DPG Sprctrum Phytomedizin Publisher, 2016: 63–66.
- [41] 孟旭. 禾谷镰刀菌 *FgCNA* 和 *FgCNB* 基因沉默载体的构建及其对禾谷镰刀菌生理功能影响的研究 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2020.
- [42] Xu J, Wang XY, Li YG, Zeng JG, Wang GL, et al. Host-induced gene silencing of a regulator of G protein signaling gene (*VdRGS1*) confers resistance to *Verticillium* wilt in cotton [J]. *Plant Biotechnol J*, 2018, 16(9): 1629–1643.
- [43] Qiao LL, Lan C, Capriotti L, Fong-Ah A, Sanchez JN, et al. Spray-induced gene silencing for disease control is dependent on the efficiency of pathogen RNA uptake [J]. *Plant Biotechnol J*, 2021. doi.org/10.1111/pbi.13589.
- [44] Cai Q, He BY, Kogel KH, Jin HL. Cross-kingdom RNA trafficking and environmental RNAi-natures blueprint for modern crop protection strategies [J]. *Curr Opin Microbiol*, 2018, 46: 58–64.
- [45] 肖瑶, 王教瑜, 李玲, 王艳丽, 张传清, 孙国昌. 寄主诱导的基因沉默技术研究和应用进展 [J]. *植物保护学报*, 2020, 47(1): 11–17.
- Xiao Y, Wang JY, Li L, Wang YL, Zhang CQ, Sun GC. Advances in researches and applications of host-induced gene silencing technology [J]. *Journal of Plant Protection*, 2020, 47(1): 11–17.
- [46] 刘友梅, 薛敏峰, 史文琦, 黄薇, 袁斌. 寄主诱导的基因沉默在改良作物抗病虫性方面的应用 [J]. *湖北农业科学*, 2017, 56(23): 4454–4460.
- Liu YM, Xue MF, Shi WQ, Huang W, Yuan B. The application of host-induced gene silencing in improving the resistance of crop to disease and insect [J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2017, 56(23): 4454–4460.
- [47] Baulcombe DC. VIGS, HIGS and FIGS: small RNA silencing in the interactions of viruses or filamentous organisms with their plant hosts [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2015, 26(1): 141–146.
- [48] Nakayashiki H, Nguyen QB. RNA interference: roles in fungal biology [J]. *Curr Opin Microbiol*, 2008, 11(6): 494–502.
- [49] Spiering MJ, Moon CD, Wilkinson HH, Schardl CL. Gene clusters for insecticidal loline alkaloids in the grass-endophytic fungus *Neotyphodium uncinatum* [J]. *Genetics*, 2005, 169(3): 1403–1414.
- [50] Zhang MX, Wang QH, Xu K, Meng YL, Quan JL, Shan WX. Production of dsRNA sequences in the host plant is not sufficient to initiate gene silencing in the colonizing oomycete pathogen *Phytophthora parasitica* [J]. *PLoS One*, 2011, 6(11): e28114.
- [51] Yin CT, Jurgenson JE, Hulbert SH. Development of a host-induced RNAi system in the wheat stripe rust fungus *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* [J]. *Mol Plant Microbe Interact*, 2011, 24(5): 554–561.
- [52] Shahid S, Kim G, Johnson NR, Wafula E, Wang F, et al. MicroRNAs from the parasitic plant *Cuscuta campestris* target host messenger RNAs [J]. *Nature*, 2018, 553(7686): 82–85.
- [53] Hou YN, Ma WB. Natural host-induced gene silencing offers new opportunities to engineer disease resistance [J]. *Trends Microbiol*, 2020, 28(2): 109–117.

(责任编辑: 周媛)