

李萌晗,王威,邹积鑫,等.油棕病毒诱导的基因沉默体系的建立及优化[J].华中农业大学学报,2023,42(2):259-264.  
DOI:10.13300/j.cnki.hnlkxb.2023.02.032

## 油棕病毒诱导的基因沉默体系的建立及优化

李萌晗<sup>1</sup>,王威<sup>1</sup>,邹积鑫<sup>1</sup>,李东栋<sup>1,2</sup>

1.海南大学热带作物学院,海口570228;2.海南大学三亚南繁研究所,三亚572024

**摘要** 为开展油棕油脂代谢调控相关基因鉴定研究,以油棕八氢番茄红素脱氢酶基因(phytoene desaturase gene,*PDS*)作为报告基因,探索以病毒载体 TRV 为载体在油棕胚状体上应用病毒诱导基因沉默(virus-induced gene silencing, VIGS)的可能性,并对油棕胚状体 VIGS 体系的相关参数进行优化。结果显示:以 EHA105 为菌种、侵染菌液  $OD_{600} = 0.5$ 、侵染时间 5 min、乙酰丁香酮(AS)质量浓度 20 mg/L、共培养 48 h、侵染后培养时间为 12 d 能取得最佳的基因沉默效果。在此基础上,利用优化后的 VIGS 体系对油棕二酰甘油酰基转移酶基因(diacylglycerol acyltransferase gene, *DGAT*)进行沉默,取得了预期的基因沉默效果。

**关键词** 油棕;胚状体;病毒诱导的基因沉默体系;遗传转化;八氢番茄红素脱氢酶

**中图分类号** S565.9 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2023)02-0259-06

油棕(*Elaeis guineensis*)是棕榈科单子叶植物,棕榈油的产量占世界产油量的36%。油棕能产出棕榈油(plam oil, PO)和棕榈仁油(palm kernel oil, PKO)<sup>[1]</sup>。我国是棕榈油消费大国,油棕种植业的滞后致使我国对棕榈油的需求远大于国内供给,且我国棕榈油消耗量逐年增加,全部以进口为主<sup>[2]</sup>。随着棕榈油在食品、油化产品及生物柴油等方面发挥越来越重要的作用,开展对油棕油脂代谢调控相关的分子研究、促进油棕育种改良就显得尤为重要。

油棕传统的育种方法过于依赖育种技术人员的多年经验累积及机遇,油棕转基因的研究不仅周期长还具有很大的不确定性,在需要鉴定大量功能基因时难度很大。油棕愈伤组织是不断增长的无组织植物薄壁细胞,能够分化成整株植物<sup>[3]</sup>,适宜用作遗传转化材料,因为它不仅与栽培品种具有相同的遗传背景,也易于产生大量转化组织<sup>[4]</sup>。由此,在研究油脂代谢等基础代谢途径的过程中,应用油棕胚状体作为遗传转化的外植体,可以无需等待油棕植株的成苗生长及开花结果,迅速鉴定目的基因的功能。

病毒诱导的基因沉默(virus induced gene silencing, VIGS)利用了插入植物靶基因cDNA片段的病毒侵染植物,进入植株的病毒在复制和转录过程中能够特异性识别靶基因的同源基因mRNA,使同源

基因的mRNA降解从而抑制靶基因的表达<sup>[5]</sup>。植物体中*PDS*(phytoene desaturase gene)的表达被抑制后,叶绿素分子随之被光氧化降解,使得植物的绿色部分呈现光漂白的表型<sup>[6]</sup>。由于沉默表型明显,*PDS*基因作为报告基因,在指示双子叶<sup>[7]</sup>和单子叶植物<sup>[8]</sup>是否有效建立VIGS系统的验证试验中得到广泛应用。目前,VIGS技术已经在蝴蝶兰<sup>[9]</sup>、罂粟<sup>[10]</sup>、棉花<sup>[11]</sup>、草莓<sup>[12]</sup>等植物上得到应用,但尚未有油棕VIGS体系建立的报道。

本研究以热带棕榈实验室诱导分化的油棕胚状体为试验材料,以油棕的*EgPDS*作为报告基因,建立并优化油棕胚状体VIGS体系,以为油棕相关基因的功能鉴定奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 植物材料

本研究所使用的油棕(*Elaeis guineensis*)胚性愈伤组织由海南大学热带棕榈实验室诱导,并在26℃恒温、相对湿度65%、光照强度400 mol/(m<sup>2</sup>·s)、16 h光照/8 h黑暗的培养条件下进行20 d 1次的继代培养。

本氏烟烟草(*Nicotiana benthamiana*)种子由热带棕榈实验室保存,用含蛭石:营养土=1:3的土壤

收稿日期:2022-06-15

基金项目:海南省重点研发项目(ZDYF2022XDNY148)

李萌晗,E-mail:1184660256@qq.com

通信作者:李东栋,E-mail:lidd@hainanu.edu.cn

进行培育。

## 1.2 表达载体及菌种

pTRV1、pTRV2载体由山东农业大学李媛媛教授惠赠,均为卡那霉素抗性;大肠杆菌DH5 $\alpha$ 感受态细胞、农杆菌EHA105、农杆菌GV3101购自维地生物公司;农杆菌LBA4404由热带棕榈实验室保存。

## 1.3 重组病毒载体构建

通过生物信息学的比对分析,在油棕基因库中筛选出油棕的PDS基因*EgPDS*,在其开放阅读框中选取300 bp的特异性片段,设计引物(上游引物为5'-CG-GAATTCTCATTGGGTGGTGAAGTCCG-3',下游引物为5'-GGGGTACCACTCAAAGAGGGCTCCTGC-3'),以限制性内切酶*Kpn* I、*Eco*R I分别双酶切PCR克隆产物和病毒链pTRV2,以T4连接酶将2条线性化片段连接为完整的表达载体。将测序结果正确的质粒转入大肠杆菌备用。

## 1.4 油棕胚性愈伤组织的侵染

将构建好的植物表达载体质粒用冻融法分别转化农杆菌(EH105、GV3101、LBA4404)。用LB培养液分别扩大培养pTRV1、pTRV2、pTRV2-*EgPDS*,离心收集农杆菌菌体后,加入农杆菌重悬液调节菌液使 $OD_{600} = 0.5$ 。将等体积的pTRV1、pTRV2与pTRV1、pTRV2-*EgPDS*混合,黑暗静置3~5 h,随后进行侵染转化。以接种pTRV1、pTRV2-*EgPDS*农杆菌组为对照组,以接种pTRV1、pTRV2空载农杆菌组为处理组,每个处理接种8块胚性愈伤组织作为1次重复,共设3次重复。将处理后有伤口的胚性愈伤组织在农杆菌侵染液中浸泡后,转移至共培养植物培养基中(含100  $\mu$ mol/L的乙酰丁香酮(acetosyringone, AS)和100 mg/L的半胱氨酸),19  $^{\circ}$ C暗培养。暗培养后将其转移到继代培养基中,在28  $^{\circ}$ C温度下培养。培养期间淘汰长势不好及死亡的胚性愈伤组织,存活下来的转基因胚性愈伤组织用于后续试验。

为了获得更高的侵染效率,对转化过程中的关键因素进行梯度设置:时间梯度为5、10 min,菌液浓度梯度为 $OD_{600} = 0.5、1.0、1.5$ ,设置共培养时间为48、72、96 h,选用3个根癌农杆菌菌株:LBA4404、EHA105、GV3101;设置AS质量浓度为10、15、20、25 mg/L;侵染后胚性愈伤组织取样时间在第8、10、12、14天;设置有无烟草介导的转化试验。

## 1.5 侵染效率的计算

待侵染完成后,通过表型变化及病毒量检测确

认被转化的胚性愈伤组织数量,转化效率=确认被转化的样品数/总样品数 $\times 100\%$ 。

## 1.6 荧光定量(qRT-PCR)分析

定量获得对照组(WT)和试验组胚性愈伤组织cDNA。以油棕保守基因*Eg $\beta$ -actin*为内参,使用TaKaRa公司TB Green qRT-PCR试剂盒,对油棕胚性愈伤组织中*EgPDS*的表达情况进行实时荧光定量检测。试验中每个样品设置3个平行,采用Excel软件进行数据处理。

## 1.7 统计学分析方法

所有数据利用SPSS软件进行显著性分析。其中2组数据间的差异性检验方法为“独立样本*t*检验”,多组数据间的差异性检验方法为“Duncan's multiple range test”。用GraphPad Prism 5软件作图。

# 2 结果与分析

## 2.1 不同缓冲液对VIGS体系的影响

常规农杆菌介导的转化体系中使用MES重悬缓冲液,本研究基于油棕胚性愈伤组织的敏感性,设置2组试验,一组用MSO液体培养基悬浮农杆菌进行侵染,另一组采用常规农杆菌侵染液。侵染14 d后取样观察,发现MES试验组无明显表型变化(图1A),只有3块样品中的*EgPDS*表达量有所变化但无显著差异(图1C);MSO试验组胚性愈伤组织出现明显白化(图1B),*EgPDS*基因被沉默的胚性愈伤组织达到54%(图1D),*EgPDS*表达量有显著性的下降(图1C)。这表明MSO液体培养基适用于油棕胚性愈伤组织VIGS体系。

## 2.2 油棕胚性愈伤组织VIGS体系的优化

1) 侵染浓度、侵染时间对侵染效率的影响。设置侵染时间梯度为5、10 min,菌液浓度梯度为 $OD_{600} = 0.5、1.0、1.5$ ,分6组处理进行侵染转化。其中 $OD_{600} = 1.5、10$  min组与 $OD_{600} = 1.0、10$  min组无法抑制农杆菌生长,胚性愈伤组织由于与农杆菌共生时间过长缺氧软腐,无法取样分析。对剩余4组进行观察、取样,发现当菌液浓度为 $OD_{600} = 0.5$ 、侵染时间为5 min时,转化效率最高,为54.17%(图2A)。

2) 共培养时间对侵染效率的影响。将共培养时间分别设置为48、72、96 h,除了共培养时间外所有的操作保持一致,14 d后对每组胚性愈伤组织进行取样分析,发现转化效率随着共培养时间增加而降低,共培养48 h组转化效率最高,为86.67%(图2B)。

3) 有无烟草体系介导对侵染效率的影响。以烟

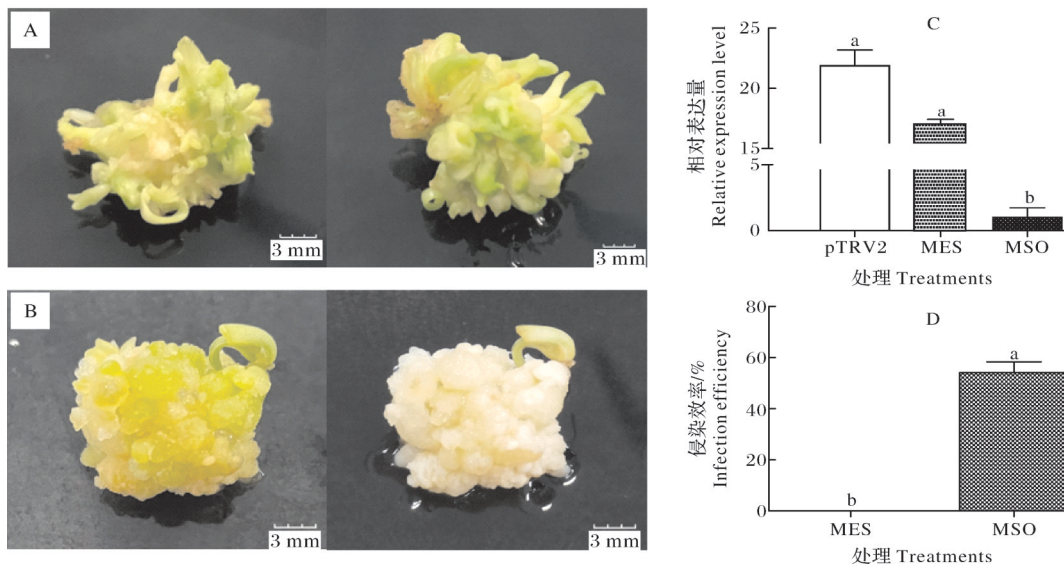


图1 初步建立的油棕VIGS体系结果  
A: MES处理组: 侵染前(左)和侵染14 d后的胚性愈伤组织(右); B: MSO处理组: 侵染前(左)和侵染14 d后的胚性愈伤组织(右); C: 2种处理的胚性愈伤组织中*EgPDS*的表达量; D: 2种处理对胚性愈伤组织转化率的影响。A: Embryoid callus of MES treatment group, before infection (Left) and embryoid callus after 14 days of infection (Right); B: Embryoid callus of MSO treatment group, before infection (Left) and embryoid callus after 14 days of infection (Right); C: Expression of *EgPDS* in embryoid callus treated with two different treatments; D: Effects of two different treatments on embryogenic callus transformation.

Fig.1 Experimental results of preliminary establishment of oil palm VIGS system

草作为扩繁介导,用注射病毒的烟草汁液混合物,侵染接种油棕胚性愈伤组织;同时做1组无烟草介导的侵染试验。观察发现烟草叶片带来的微生物影响无法忽略,常因为霉菌的生长影响到胚性愈伤组织的正常生长进而影响到胚性愈伤组织的存活率,降低胚性愈伤组织的转化率(图2C)。因此,烟草体系介导的双元载体表达不适用于油棕胚性愈伤组织的侵染。

4) 不同农杆菌菌株对侵染效率的影响。由于农杆菌介导的转化体系具有明显的宿主局限性,选取目前实验室应用最广泛的3种根癌农杆菌菌株:LBA4404、EHA105、GV3101作为备选菌种进行油棕胚性愈伤组织的侵染转化筛选。结果(图2D)显示,在其他条件一致且保持最优的情况下,胚性愈伤组织的转化率为LBA4404<GV3101<EHA105。

5) AS质量浓度对侵染效率的影响。在侵染的MSO液体培养基中分别加入10、15、20、25 mg/L的AS,进行转化,发现转化效率随着AS质量浓度的增加而提高,当AS质量浓度为20 mg/L时转化效率最高;但AS质量浓度为25 mg/L时转化效率反而降低(图2E)。

6) 培养时间对侵染效率的影响。研究发现14 d的侵染对胚性愈伤组织损伤严重,导致油棕胚性愈

伤组织存活率及转化率变低。对侵染后的胚性愈伤组织在第8、10、12、14天分别进行取样,分析发现第12天侵染效果最好,且胚性愈伤组织生长状态良好(图2F)。

### 2.3 优化后的VIGS体系验证

在最优条件下,即侵染菌种为EHA105、以MSO作为重悬液、侵染菌液 $OD_{600} = 0.5$ ,侵染时间为5 min、侵染液中AS质量浓度为20 mg/L、共培养48 h、侵染后的培养时间为12 d时,利用油棕基因*EgDGAT1*转化油棕胚性愈伤组织,提取样品RNA进行实时定量PCR检测,发现与对照组相比,试验组的*EgDGAT1*表达量显著下调(图3)。结果表明,以TRV为载体建立起来的油棕胚状体VIGS体系是稳定且高效的。

## 3 讨论

VIGS技术具有无需遗传转化、无品种依赖性、简单高效等优点,对于植物基因的功能研究有着重要参考价值<sup>[13]</sup>。近年来,有研究者利用BSMV载体构建的VIGS技术,进行了小麦六倍体基因沉默<sup>[14]</sup>;用TRV介导的VIGS体系研究罂粟科中花的对称性、花序确定性和其他多样化的性状<sup>[10]</sup>;王蓉等<sup>[15]</sup>在玉米植株上建立了可以高效沉默玉米基因的

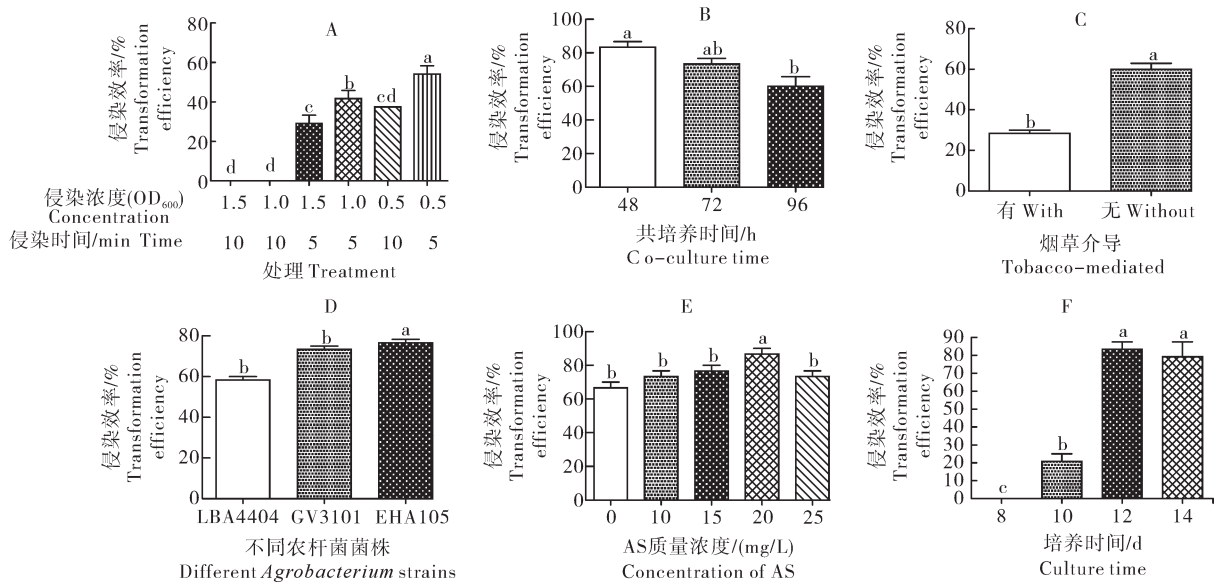


图2 侵染的菌液浓度与时间(A)、共培养时间(B)、烟草介导(C)、不同农杆菌菌株(D)、AS浓度(E)、培养时间(F)对油棕的VIGS体系转化效率的影响

Fig. 2 Effects of concentration and time (A), co-culture time (B), tobacco-mediated (C), different agrobacterium strains (D), concentration of AS (E) and culture time (F) on the transformation efficiency of oil palm VIGS system

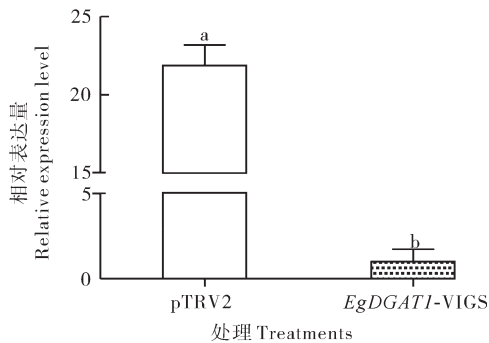


图3 油棕胚性愈伤组织中 *EgDGAT1* 表达量的检测  
Fig. 3 Detection of *EgDGAT1* expression in oil palm embry-type callus of experimental group and control group

CMV-VIGS 体系。开发和利用这些不同的病毒载体,为单子叶植物的侵染与基因研究提供了高效的多样化的途径。TRV是目前应用最广泛的VIGS载体,该病毒株系具有自身感染症状轻、沉默效率高等优点,在多个物种上都得到成功应用<sup>[16]</sup>,因此,本研究选择TRV为该研究的病毒载体,MSO组达到了54.17%的侵染效率,并在该组试验的基础上对转化体系进行优化。此外,对于不同的物种或同一物种的不同植物材料来说,侵染方式的不同对沉默转化率存在一定程度的影响。侯巧明等<sup>[17]</sup>研究发现,侵染农杆菌菌液的浓度也需要控制在合适的范围内,浓度太高病毒本身的毒性对试验材料造成较大的影

响,太低则达不到理想的沉默效果。棕胚性愈伤组织脆弱易坏死,侵染时间不仅影响着目的基因转化的效率,也对试验材料的存活有着较大影响。因此,侵染的浓度及时间是优化转化效率的关键因素。本研究中当菌液浓度为 $OD_{600} = 0.5$ 、侵染时间为5 min时的侵染效果最好。当农杆菌感染单子叶植物时,单子叶植物的受损细胞不仅无法像双子叶植物一样产生乙酰丁香酮等物质诱导农杆菌的转移,还会出现木质化和硬化现象<sup>[18]</sup>。

在单子叶植物的侵染过程中,AS的添加及浓度就显得尤为重要,本研究发现当AS质量浓度为20 mg/L时转化效率最高。共培养时间在农杆菌转化过程中是关键的一环,研究表明,农杆菌在植物体受伤部位附着16 h后才会进行诱导转移,不同植物对共培养的最佳时间要求也不同<sup>[19]</sup>,本体系中最佳共培养时间为48 h。作为沉默小麦基因的关键步骤,吴艳琴等<sup>[20]</sup>以BSMV病毒接种烟草进行2次扩繁介导,使得带有目的片段的BSMV病毒成功侵染小麦,干扰目的基因表达。在本研究中由于烟草叶片带来的微生物影响无法彻底去除及忽略,在烟草介导过程中很难做到油棕胚性愈伤组织一直处于完全无菌的状态,微生物的生长影响到愈伤组织的正常生长进而影响到愈伤组织的存活率,降低愈伤组织的转化率,因此,烟草体系介导的双元载体表达不适用于

油棕愈伤组织的侵染。能够转化植物的农杆菌菌株有很多,本研究选择了实验室常用的3个菌株,发现EHA105的转化率优于其他菌株,对试验材料的损伤也较小,侵染后期菌落相对容易抑制。

与其他含油量丰富的大豆、花生等1年生油料作物相比,作为油料木本作物的油棕的基因功能鉴定研究进展非常缓慢,因此,构建一个可以迅速、高质量鉴定油棕基因功能的体系就显得格外重要。VIGS的显著优点是研究基因功能时周期较短,常规遗传转化验证基因功能时常需要植物生长至F<sub>2</sub>甚至F<sub>3</sub>代时才能开展研究,本氏烟及番茄在20℃的状态下20d左右就可以观察到明显的白化表型<sup>[21]</sup>,而在油棕胚性愈伤组织的VIGS体系中,2周就可以进行基因验证。本研究利用油棕胚性愈伤组织,以TRV为载体,从影响VIGS侵染的因素入手,构建油棕胚性愈伤的VIGS体系,对遗传转化困难的油棕进行基因功能研究。同时,对油棕胚状体VIGS体系的相关参数进行优化,发现以MSO作为侵染菌液、侵染菌种为EHA105、侵染菌液浓度为OD<sub>600</sub> = 0.5,侵染时间为5 min、AS质量浓度为20 mg/L、共培养时间为48 h、侵染后的培养时间为12 d时效果最好。利用该体系可对油棕代谢相关候选基因的功能进行初步的快速鉴定,也为以后创造具有高品质棕榈油的油棕材料奠定基础。

## 参考文献 References

- [1] DUSSERT S, GUERIN C, ANDERSSON M, et al. Comparative transcriptome analysis of three oil palm fruit and seed tissues that differ in oil content and fatty acid composition[J]. *Plant physiology*, 2013, 162(3): 1337-1358.
- [2] 邓卫哲.“热油4号”是油棕优良品种[J]. *食品界*, 2019(6): 28-29. DENG W Z. “Hot Oil No.4” is an excellent oil palm variety [J]. *Food industry*, 2019(6): 28-29 (in Chinese).
- [3] TAN H S, LIDDELL S, ONG ABDULLAH M, et al. Differential proteomic analysis of embryogenic lines in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq)[J]. *Journal of proteomics*, 2016, 143: 334-345.
- [4] LI D D, SHI W, DENG X X. Factors influencing *Agrobacterium*-mediated embryogenic callus transformation of *Valencia* sweet orange (*Citrus sinensis*) containing the pTA29-barnase gene[J]. *Tree physiology*, 2003, 23(17): 1209-1215.
- [5] GODGE M R, PURKAYASTHA A, DASGUPTA I, et al. Virus-induced gene silencing for functional analysis of selected genes[J]. *Plant cell rep*, 2008, 27(2): 209-219.
- [6] KUMAGAI M H, DONSON J, DELLA-CIOPPA G, et al. Cytoplasmic inhibition of carotenoid biosynthesis with virus-derived RNA[J]. *PNAS*, 1995, 92(5): 1679-1683.
- [7] XIAO Z L, XING M M, LIU X, et al. An efficient virus-induced gene silencing (VIGS) system for functional genomics in Brassica using a cabbage leaf curl virus (CaLCuV)-based vector[J/OL]. *Planta*, 2020, 252(3): 42[2022-06-15]. <https://doi.org/10.1007/s00425-020-03454-7>.
- [8] 马猛. 小麦穗部病毒诱导基因沉默体系的建立及籽粒大小相关基因TaCYP78A3和TaCYP78A5的功能研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2015. MA M. Virus-induced gene-silencing in wheat spikes and the functional analysis of seed size-related genes TaCYP78A3 and TaCYP78A5[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2015 (in Chinese with English abstract).
- [9] HSIEH M H, PAN Z J, LAI P H, et al. Virus-induced gene silencing unravels multiple transcription factors involved in floral growth and development in *Phalaenopsis* orchids[J]. *Journal of experimental botany*, 2013, 64(12): 3869-3884.
- [10] HANDS P, VOSNAKIS N, BETTS D, et al. Alternate transcripts of a floral developmental regulator have both distinct and redundant functions in opium poppy[J]. *Annals of botany*, 2011, 107(9): 1557-1566.
- [11] QU J, YE J, GENG Y F, et al. Dissecting functions of KATANIN and WRINKLED1 in cotton fiber development by virus-induced gene silencing [J]. *Plant physiology*, 2012, 160(2): 738-748.
- [12] JIA H F, SHEN Y Y. Virus-induced gene silencing in strawberry fruit[J]. *Methods in molecular biology*, 2013, 975: 211-218.
- [13] 陶小荣, 周雪平, 崔晓峰, 等. 病毒诱导的基因沉默及其在植物基因功能研究中的应用[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2004, 31(9): 777-783. TAO X R, ZHOU X P, CUI X F, et al. Virus induced gene silencing and its application for analysis of genomic function in plants [J]. *Progress in biochemistry and biophysics*, 2004, 31(9): 777-783 (in Chinese with English abstract).
- [14] SCOFIELD S R, BRANDT A S. Virus-induced gene silencing in hexaploid wheat using barley stripe mosaic virus vectors [J]. *Methods in molecular biology*, 2012, 894: 93-112.
- [15] 王蓉, 杨新鑫, 王甘, 等. 黄瓜花叶病毒诱导的基因沉默载体用于玉米基因功能研究. 植物病理学研究进展——中国植物病理学会第十二届青年学术研讨会论文选编[C]. 泰安: [s.n.], 2015: 125. WANG R, YANG X X, WANG L, et al. Gene silencing vector induced by cucumber mosaic virus for the study of gene function in maize. Research progress in plant pathology: the 12th Youth Academic Symposium of the Chinese Society of Plant Pathology Selected Papers of the Conference [C]. Taian: [s.n.], 2015: 125 (in Chinese).
- [16] LIU Y L, SCHIFF M, DINESH-KUMAR S P. Virus-induced gene silencing in tomato [J]. *The plant journal*, 2002, 31(6): 777-786.
- [17] 侯巧明, 张立, 贺新强, 等. 病毒诱导的基因沉默技术实验教学和设计和实践[J]. *实验技术与管理*, 2015, 32(9): 191-193. HOU Q M, ZHANG L, HE X Q, et al. Experimental design and practice for plant gene function analysis by VIGS [J]. *Experimental*

- technology and management, 2015, 32(9): 191-193 (in Chinese with English abstract).
- [18] 杨静. 根癌农杆菌介导单子叶植物遗传转化研究进展[J]. 种子科技, 2019, 37(18): 10-12. YANG J. Advances in genetic transformation of monocotyledons mediated by *Agrobacterium tumefaciens* [J]. Seed science & technology, 2019, 37(18): 10-12 (in Chinese with English abstract).
- [19] 张福丽, 陈龙, 李成伟. 农杆菌介导的植物转基因影响因素[J]. 生物技术通报, 2012(7): 14-19. ZHANG F L, CHEN L, LI C W. Factors influencing *Agrobacterium*-mediated plant genetic transformation [J]. Biotechnology bulletin, 2012(7): 14-19 (in Chinese with English abstract).
- [20] 吴艳琴, 王金鑫, 李雪, 等. 利用BSMV Agro/LIC进行小麦条锈菌耐高温相关基因功能分析的互作体系构建[J]. 植物保护, 2018, 44(1): 45-51. WU Y Q, WANG J X, LI X, et al. Development of an interactive system for functional analysis of high-temperature tolerance-related genes of wheat stripe rust pathogen by using BSMV Agro/LIC [J]. Plant protection, 2018, 44(1): 45-51 (in Chinese with English abstract).
- [21] VELÁSQUEZ A C, CHAKRAVARTHY S, MARTIN G B. Virus-induced gene silencing (VIGS) in *Nicotiana benthamiana* and tomato [J/OL]. Journal of visualized experiments, 2009(28): 1292 [2022-06-15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19516240/>. doi: 10.3791/1292.

## Establishment and optimization of oil palm virus-induced gene silencing system

LI Menghan<sup>1</sup>, WANG Wei<sup>1</sup>, ZOU Jixin<sup>1</sup>, LI Dongdong<sup>1,2</sup>

1. College of Tropical Crops, Hainan University, Haikou 570228, China;

2. Sanya Nanfan Research Institute, Sanya 572024, China

**Abstract** The phytoene desaturase gene (*PDS*) as a reporter gene was used to study the feasibility of applying virus-induced gene silencing (VIGS) on oil palm embryoid using the TRV as a vector, and to optimize the relevant parameters. The results showed that the effect of gene silencing was the best when EHA105 was used as the strain under the condition that the OD<sub>600</sub> of infected bacterial solution was 0.5, with infection time of 5 min, acetosyringone (AS) mass concentration of 20 mg/L, co-cultivation of 48 h, and post-infection incubation time of 12 d. On this basis, the VIGS system optimized was used to silence the diacylglycerol acyltransferase gene (*DGAT*), and the expected gene silencing effect was achieved.

**Keywords** oil palm; embryoids; virus-induced gene silencing (VIGS) system; genetic transformation; phytoene desaturase

(责任编辑: 张志钰)