

# 番茄抗黄化曲叶病基因与基因工程研究最新进展

杨晓慧<sup>1,2</sup>, 国艳梅<sup>1</sup>, 王孝宣<sup>1</sup>, 高建昌<sup>1</sup>, 杜永臣<sup>1,\*</sup>

(<sup>1</sup>中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081; <sup>2</sup>山东省农业科学院蔬菜花卉研究所, 济南 250100)

**摘要:** 对近年来番茄黄化曲叶病抗病基因挖掘与利用, 以及抗病基因工程方面的国内外研究进展进行了综述。

**关键词:** 番茄; 番茄黄化曲叶病毒; 育种

**中图分类号:** S 641.2

**文献标志码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2012) 11-2283-08

## The Advance in Research of Resistant Genes and Engineering for Tomato Breeding to Tomato Yellow Leaf Curl Disease

YANG Xiao-hui<sup>1,2</sup>, GUO Yan-mei<sup>1</sup>, WANG Xiao-xuan<sup>1</sup>, GAO Jian-chang<sup>1</sup>, and DU Yong-chen<sup>1,\*</sup>

(<sup>1</sup>Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; <sup>2</sup>Institute of Vegetables and Flowers, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Ji'nan 250100, China)

**Abstract:** In this paper, the latest advance in research of utilization and mechanism of resistant genes and engineering for tomato breeding to tomato yellow leaf curl disease has been reviewed.

**Key words:** tomato; *Tomato yellow leaf curl virus*; breeding

番茄黄化曲叶病是造成世界范围内番茄品质和产量降低的重要病害之一, 造成该病的病原是番茄黄化曲叶病毒 (*Tomato yellow leaf curl virus*, TYLCV)。关于 TYLCV 病毒分类、传播介体、抗病性鉴定、抗源材料筛选、抗病育种等方面已有多篇文献综述 (褚云霞和朱为民, 2009; 国艳梅 等, 2009; 叶青静 等, 2009), 本文中就最近国内外针对番茄抗 TYLCV 育种在抗病基因利用、抗病机制以及抗病基因工程方面的研究进展做一简要综述。

## 1 抗病基因及其作用机制

### 1.1 抗病基因

目前已报道的番茄抗 TYLCV 的近缘野生种主要有醋栗番茄 (*Solanum pimpinellifolium*)、秘鲁番茄 (*Solanum peruvianum*)、多毛番茄 (*Solanum habrochaites*)、智利番茄 (*Solanum chilense*) 和契斯曼尼番茄 (*Solanum cheesmanii*), 利用这些野生材料定位到的质量抗性基因包括 *Ty-1*、*Ty-2*、*Ty-3*、

**收稿日期:** 2012-06-30; **修回日期:** 2012-08-02

**基金项目:** 国家‘948’项目 (2011-Z3); 北京市自然科学基金项目 (6102020)

\* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: yongchen.du@mail.caas.net.cn)

*Ty-3a*、*Ty-4* 和 *Ty-5*，并获得了与这些抗病基因紧密连锁的分子标记，利用这些连锁标记可以将抗病基因转入番茄骨干亲本中获得抗病育种材料。

*Ty-1* 来自野生智利番茄 LA1969，位于第 6 号染色体 RFLP 标记 TG297 (4.0 cM) 和 TG97 (8.6 cM) 之间，与共显性 SCAR 标记 P6-6 紧密连锁 (Garcia et al., 2007)，微卫星分子标记 SSR-47 可鉴定 *Ty-1* 的等位基因 (Nogueira et al., 2011)。Verlaan 等 (2011) 运用染色体荧光原位杂交 (fluorescence in situ hybridization, FISH) 技术，发现在 *Ty-1* 基因渗透区段，栽培番茄和智利番茄 LA1969 的染色体发生了两次重排，分别位于染色体短臂和长臂，结合 F<sub>2</sub> 代重组单株筛选及其后代抗性鉴定结果，将 *Ty-1* 定位到染色体长臂标记 MSc05732-4 和 MSc05732-14 之间约 600 kb 范围内。

*Ty-2* 来自多毛番茄 B6013，位于第 11 号染色体上 C2\_At1g07960 (82.5 cM) 和 T0302 (89 cM) 标记间，与 TG36 紧密连锁 (Ji et al., 2009b)。*Ty-3* 来自于智利番茄 LA2779，位于第 6 号染色体上标记 T0774 (18 cM) 和 cLEG-31-P16 (22.1 cM) 之间 (Hutton et al., 2010) 约 900 kb 范围内；标记 cLEG-31-P16 在 *Ty-1* 上游侧翼标记 MSc05732-4 的下方，表明 *Ty-1* 抗性渗透片段与 *Ty-3* 部分重叠，推测 *Ty-1* 和 *Ty-3* 很可能为等位基因 (Verlaan et al., 2011)。

*Ty-3a* 是 *Ty-3* 的等位基因，来自于智利番茄 LA1932，位于第 6 号染色体上标记 cLEG-31-P16 和 C2\_At5g41480 间 (Ji et al., 2007a)。SCAR 标记 FLUW25 能鉴定 *ty-3* 和 *Ty-3*，但是不能鉴定等位基因 *Ty-3a*；共显性的 SCAR 标记 P6-25 可以鉴定等位基因 *ty-3*、*Ty-3* 和 *Ty-3a*，CAPS 标记 FER-G8 可以鉴定等位基因 *ty-1*、*Ty-3* 和 *Ty-3a* (Ji et al., 2007a)。

*Ty-4* 来自于智利番茄 LA1932，位于第 3 号染色体上 C2\_At4g17300 和 C2\_At5g60160 标记间 (Ji et al., 2009a)，与共显性 CAPS 标记 P137A 紧密连锁。

*Ty-5* 基因来自于秘鲁番茄转育材料 TY172，位于第 4 号染色体上标记 J04-1 和 TG182 间，与 CAPS 标记 SINAC1 紧密连锁 (Anbinder et al., 2009)。

除了上述基因，在更多抗源材料的筛选过程中定位到一些新的抗 TYLCV 的位点。Tomás 等 (2011) 通过田间自然鉴定，从多毛番茄中筛选得到两个抗 TYLCV 的材料 EELM-388 和 EELM-889，后经农杆菌侵染、带毒烟粉虱接种和嫁接接种后均没有感病症状；EELM-889 × Moneymaker 杂交后代 F<sub>2</sub> 群体抗、感分离为 4.7 : 1，感病单株的 F<sub>3</sub> 代群体中仍然发现抗病单株，表明 EELM-889 对 TYLCV 的抗性由一个显性位点和一个隐性位点控制，但是每个位点在染色体上的位置和对抗性的贡献率仍需要进一步的研究。利用杂交种 Tyking 培育出的高代自交系材料 Fla.8753 和 Fla.344 高抗 TYLCV，Hutton 等 (2012) 对 Fla.8753 和 Fla.344 的分离群体进行已知抗性基因连锁分子标记检测发现，这些材料不含有 *Ty-1*、*Ty-2*、*Ty-3*、*Ty-4* 和 *Ty-5* 任何一个基因，但是 *Ty-5* 连锁标记 SINAC1 与第 4 号染色体上的一个隐性位点共分离，该隐性基因被命名为 *ty-5*，可能是 *Ty-5* 的等位基因，标记 SINAC1 与 *ty-5* 基因的连锁距离仍不清楚。同时，番茄抗 TYLCV 的一些近缘野生种也受数量抗性位点 (QTL) 控制。宗园园等 (2012) 发现类番茄茄 (*Solanum lycopersicoides*) LA2951 对 TYLCV 的抗性受多个位点控制，共鉴定出 7 个 QTL，分别位于染色体 1、3、4、5、6、7 和 12 上。其中 QRTY4、QRTY5 和 QRTY12，尤其是 QRTY12 (bin12-C，侧翼标记 CT219 和 CT156) 抗性稳定，含有该位点的多个 IL 均表现明显的抗性。

## 1.2 抗病基因的抗性表现

目前生产上利用较多的抗 TYLCV 基因是 *Ty-1*、*Ty-2*、*Ty-3* 和 *Ty-3a*。*Ty-1* 是最早发现的抗性基因，属于不完全显性单基因，通常表现为耐病，大多数耐 TYLCV 的栽培品种含有该基因。*Ty-2* 属于显性基因，抗性表现出地区差异，在美国、中国台湾、越南北部、印度南部和以色列表现出抗性，

是亚洲蔬菜中心抗 TYLCV 品种选育的主要来源; 在印度北部、泰国、菲律宾和危地马拉表现感病。Ty-3 和 Ty-3a 在抗性遗传中呈加性显性效应, 对不同的 TYLCV 种均具有较高的抗性, 与 Ty-1 和 Ty-2 相比, 除了抗 TYLCV 还抗 ToMoV (Ji et al., 2007b), 逐渐成为目前抗 TYLCV 品种选育的主要来源。

研究发现, 不同的抗性基因之间具有累加效应 (Vidavski et al., 2008)。Mejia 等 (2010) 报道, 在单组份和双组份双生病毒复合侵染的危地马拉, 只含有 Ty-2 基因的纯合基因型材料感病, 而同时含有 Ty-2 和 Ty-3a 杂合基因型的材料表现抗病, 抗性水平显著高于只含有 Ty-3a 杂合基因型的材料。在有其他抗性基因存在的情况下, Ty-4 基因的抗性也明显增强 (Mejia et al., 2005)。

国内外多家种子公司如海泽拉、瑞克斯旺、先正达、德澳特、圣尼斯和安莎等已经育成了抗(耐)番茄黄化曲叶病毒病的番茄品种。我国科研育种单位利用引进的抗源材料, 将抗性基因导入到番茄骨干亲本中开展抗 TYLCV 品种选育工作, 也取得了一些进展 (赵统敏 等, 2011; 郑积荣 等, 2012)。

河北科技大学选育的‘科大 204’ (宋建军 等, 2011)、西北农林科技大学选育的‘西农 2011’ (李继纲 等, 2012) 和北京蔬菜研究中心培育的‘09 秋 179’ 含有 Ty-1 基因; 浙江省农业科学院育成的‘浙粉 701’ (杨悦俭 等, 2011)、‘浙杂 301’ 和江苏省农业科学院育成的‘苏红 9 号’ (赵统敏 等, 2009) 含有 Ty-2 基因; 浙江省农业科学院育成的‘浙粉 702’ 和‘浙杂 502’ (杨悦俭 等, 2011) 含有 Ty-3a 基因; 上海农业科学院园艺研究所育成的‘申粉 V-86’ (杨悦俭 等, 2011) 和北京蔬菜研究中心选育的‘红贝贝’、‘红曼’、‘10 秋展 47’、‘红 4’、‘红 6’ 等同时含有 Ty-1 和 Ty-3a 基因。中国农业科学院蔬菜花卉研究所培育的‘3156’ 含有 Ty-1 和 Ty-3 基因。

### 1.3 抗性机制

迄今为止, 关于植物抗 TYLCV 机制的研究和报道很少。有的研究报道野生番茄的抗性与叶片被覆的腺毛密度和分泌物有关, 通过趋避烟粉虱达到抗 TYLCV 的目的。Delatte 等 (2006) 报道, 烟粉虱接种后, 同样来源于醋栗番茄的 WVA106 和 INRA-Hirsute 叶片背面被覆的烟粉虱数量无差异, 植株抗性与接种密度有关; 烟粉虱数量少时, INRA-Hirsute 表现出耐病, WVA106 表现感病, 增加烟粉虱数量后 INRA-Hirsute 感病。

Michelson 等 (1994) 报道, Ty-1 的抗性与植物体内病毒积累量和病毒长距离运输有关, 该研究中对来自智利番茄的抗、感近等基因系材料 TY52 和 TY50 进行烟粉虱接种, 每株接种 3 头烟粉虱时, 病毒 DNA 含量与症状严重度呈正相关, 感病植株 TY50 体内的病毒含量显著高于 TY52; 每株接种 50 头烟粉虱时, 28 d 后抗、感病植株体内病毒 DNA 含量相同, 但是抗性植株比感病植株病毒 DNA 含量积累慢, 而且病毒 DNA 含量被限制在第 2 片叶和茎尖部分, 而感病植株体内的病毒 DNA 从被接种叶片迅速扩展到上部叶片和根部。

Segev 等 (2004) 通过烟粉虱定位接种, 对来自秘鲁番茄品系 TY-172 的抗性机制进行了初步研究, 发现 TY172 的抗性也与病毒 DNA 含量有关, 抗性植株 TY-172 体内 ssDNA 含量明显低于感病植株, 但是不干扰病毒的长距离运输。

Moshe 等 (2012) 对多毛番茄抗、感 TYLCV 自交系进行烟粉虱接种鉴定, 发现感病植株体内活性氧 (reactive oxygen species, ROS)、抗氧化物质、病程相关蛋白 (pathogenesis-related, PR) 和伤口诱导蛋白含量明显升高, 显著高于抗病植株, 抗病植株体内分子伴侣蛋白 HSPs 含量显著高于感病植株, 说明 TYLCV 侵染启动了植物细胞自身防御反应, 分子伴侣蛋白有效维持了抗病植株细胞膜的动态平衡, 使其免受病毒侵染。

Tomás 等 (2011) 从多毛番茄中筛选出的抗性材料 EELM-889 抗 TYLCV-IL、TYLCV-Mld、TYLCSV-ES、TYLCMaIV 和 TYLCAxV 等 5 种病毒, TYLCV-Mld、TYLCSV-ES 和 TYLCMaIV 感染后 EELM-889 体内病毒积累, 但是不表现感病症状, 而 TYLCV-IL 和 TYLCAxV 感染后植株体内没有检测到病毒 DNA 的存在, 进一步对 TYLCV-IL 和 TYLCV-Mld 基因组结构分析发现, 两者编码 C4 蛋白的序列存在碱基差异, TYLCV-Mld 的 C4 蛋白的表达是病毒在植株体内积累所必需的, 但是具体的作用机制还需进一步研究。

## 2 基因工程研究

与传统育种相比, 基因工程育种周期短, 在育种过程中不会带入其他不良农艺性状的基因等, 在番茄抗病毒病育种中的应用日益受到人们的重视。通过克隆与抗 TYLCV 有关的基因导入植物体内, 可提高植物的抗病性。

### 2.1 利用病毒蛋白基因的抗病基因工程

随着病毒基因全序列的获得和克隆, 植物病毒基因介导的转基因抗性在番茄抗黄化曲叶病育种中已有多例成功的报道。在番茄转基因抗病毒育种中, 主要利用病毒的外壳蛋白 (coat protein, CP) 基因和复制相关蛋白 (replication-associated protein, Rep) 基因。

病毒外壳蛋白 (CP) 在转基因植物中的积累可以抑制病毒在植物体中的复制、转运和积累, 从而使转基因植株获得对病毒的抗性。用 35SCaMV 启动子驱动 TYLCV 的 CP 基因在转基因番茄植株中表达, 植株对该病具有较高抗性, 且抗性依赖于 CP 蛋白的表达水平 (Kunik et al., 1994)。Rep 蛋白是复制必需蛋白, 导入全长 Rep 基因很少产生对病毒的抗性, 但是导入 Rep 部分序列可以获得转基因抗 TYLCV 番茄。表达 TYLCV 部分 Rep 及 IR 区序列的番茄对 TYLCV 表现抗性, 但与 Rep 蛋白的表达无关, 与 IR 区反向重复序列表达的双链 RNA 引发的转录后基因沉默相关 (Polston & Hiebert, 2007)。

表达病毒蛋白的突变体也可以获得对病毒的抗性, 将 CP 蛋白保守的 NLS 区域的第 19 位点突变后 (Arg-Leu), 由于影响了 CP-CP 的同质互作及其与核受体 karyopherin $\alpha$ 1 以及与 GroEL 蛋白相互结合的能力, 从而可以降低病毒侵染能力 (Yaakov et al., 2011)。

RNA 干扰技术的迅速发展, 为防治 TYLCV 提供了一种新的抗病毒基因工程策略。将病毒基因序列设计成反向重复结构, 使其形成双链结构的“发夹 RNA” (hairpin RNA, hpRNA), 即茎环结构, 可强烈诱导寄主的 RNA 沉默并显著增强植物抵抗同源病毒的能力。TYLCV 和 TYLCSV 的 Rep 基因片段、TYLCV 和 TYLCCNV 的 CP 基因片段均可以被用来构建发夹结构转入番茄, 从而获得转基因抗性植株 (Fuentes et al., 2006; Zrachya et al., 2007; Tamarzizt et al., 2009; 唐前君 等, 2010)。

### 2.2 利用非病毒蛋白基因的抗病基因工程

其它一些源于植物、昆虫体内或人工设计的蛋白的表达, 可以干扰 TYLCV 在番茄内的复制和转移, 从而获得抗性 (Edelbaum et al., 2009)。

#### 2.2.1 GroEL 蛋白

昆虫内共生菌产生的 GroEL 蛋白属于分子伴侣, 是一类保守性相当高的蛋白, 能使进入昆虫体腔的病毒免遭降解, 维持其在昆虫体内的稳定性。

用抗血清在烟粉虱携毒之前中和其体内的 GroEL 蛋白, 发现烟粉虱传播 TYLCV-IL 的概率下降 80% 以上, 病毒在烟粉虱血体腔内的数量大大减少, 但是并没有消失。这就是说, 由于烟粉虱中的 GroEL 蛋白减少, 导致了其携毒量减少, 并不是因为病毒的 DNA 或 CP (外壳蛋白) 在体内遭到了降解。利用拟南芥韧皮部特异启动子驱动 *GroEL* 基因在转化番茄植株的韧皮部特异表达, 体内合成 GroEL-TYLCV 复合物, 从而抑制 TYLCV 病毒的移动与表达, 使转基因番茄获得抗性 (Akad et al., 2007; Gottlieb et al., 2010)。利用 CaMV 35S 启动子、棉花韧皮部特异启动子 PGHNBS、拟南芥韧皮部特异启动子均可以驱动 *GroEL* 基因在转基因烟草中表达而获得抗性, 证明利用 *GroEL* 基因抗番茄黄化曲叶病毒具有可行性, 而且 PGHNBS 和 SUC2 启动子诱导的 *GroEL* 抗性更加理想 (吴丹 等, 2010; 彭宏 等, 2011)。

### 2.2.2 人工合成锌指蛋白

锌指蛋白是一种具有锌指结构的 DNA 蛋白, 通过与目的基因的 DNA 或 RNA 结合, 或锌指之间的相互作用来调控基因表达。近年来国内外学者在体外细胞研究中成功设计了不同的锌指蛋白来特异地调节与抗病相关基因的表达。如人工合成锌指蛋白 (antiviral zinc-finger protein, AZP) 可以阻止甜菜曲顶病毒 (*Beet severe curly top virus*, BSCTV) Rep 蛋白与复制起始位点的结合, 从而抵制病毒的复制, 使获得 AZP 表达的转基因拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 获得完全的病毒抗性 (Sera, 2005), 这一方法近年来也被用于 TYLCV 的防治中。

复制相关蛋白 Rep 是 TYLCV-DNA 在寄主体内复制和起始病毒链 DNA 合成的唯一编码蛋白, 阻止其与复制起始位点的结合, 可以有效抵制 TYLCV 的复制和侵染 (Koshino-Kimura et al., 2009)。TYLCV 基因组保守的间隔区 (intergenic region, IR) 或共同区 (common region, CR) 含有复制和转录所必需的元件。Mori 等 (2012) 通过凝胶阻滞分析发现, TYLCV-IL 株系 IR 区保守的正向重复序列 5'-ATCGGTGT ATCGGTGT-3' 是复制起始位点, 将 AZP 基因通过农杆菌导入番茄植株, 发现 AZP 与复制起点的亲和性是 Rep 蛋白的 1 000 倍, 有效阻止了 TYLCV 的 Rep 蛋白与病毒复制起点的有效结合, 进而阻止了病毒侵染, 并获得了转基因抗性植株。不同 TYLCV 病毒株系或分离物复制起始位点的保守序列具有相似性, 但也存在碱基差异, 如 TYLCV-IR 的 5'-CTTGGTCA ATCGGTGT-3' (GenBank 登录号 AJ132711), TYLCV-Mld 西班牙分离物的 5'-ATCCCTGGTGT ATCGGTAC-3' (GenBank 登录号 AF071228), 因此, 确定不同病毒株系或分离物确切的复制起始位点是设计合适的 AZP 蛋白的关键。

### 2.2.3 产生抗性优先表达的蛋白

在植物对病毒产生抗性的过程中, 可能涉及到一系列基因的表达, 有些膜上基因的优先表达在植物的防御机制中起到非常重要的作用。Eybishtz 等 (2009, 2010) 利用反向遗传学初步研究了植物体内类通透酶 *Permease I-like* 蛋白基因和蔗糖转运蛋白 *LeHT1* 基因的抗性分子机制。利用 VIGS 将植物体内的类通透酶 *Permease I-like* 基因沉默掉, 发现病毒接种后原本抗病的植株体内病毒含量呈指数增加, 植株抗性丧失, 推测 *Permease I-like* 蛋白基因可能与病毒直接入侵有关。而 *LeHT1* 基因沉默后, 植株体内虽然病毒含量增加, 但是抗性没有丧失, 其原因可能与植株茎和叶柄处出现的细胞程序化坏死反应有关。推测 *LeHT1* 的表达与抑制病毒复制和传输有关。如何利用这些与抗性表达有关的关键基因来介导转基因抗性, 将是未来基因工程抗病育种的研究领域之一。

## 4 问题与展望

在抗源材料的筛选过程中, 虽然目前已经定位到 *Ty-1*、*Ty-2*、*Ty-3*、*Ty-3a*、*Ty-4* 和 *Ty-5* 等抗 TYLCV

的基因, 但是每个基因的抗性表现都有各自的局限, 仍然需要挖掘新的更好的抗病基因。为了获得高抗 TYLCV 的育种材料和延长单个抗性基因的使用寿命, 聚合育种成为一种趋势, 但是不同抗病基因组合的抗病效果研究仍然不够深入, 仍需要加强不同基因之间互作的研究。

基因工程大大缩短了抗 TYLCV 育种进程, 但是获得的转基因植株距离实际应用尚远, 仍需要进一步研究。

## References

- Akad F, Eybishtz A, Edelbaum D, Gorovits R, Dar-Issa O, Iraki N, Czosnek H. 2007. Making a friend from a foe: Expressing a *GroEL* gene from the whitefly *Bemisia tabaci* in the phloem of tomato plants confers resistance to tomato yellow leaf curl virus. *Archives of Virology*, 152 (7): 1323 - 1339.
- Anbinder I, Reuveni M, Azari R, Paran I, Nahon S, Shlomo H, Chen L, Lapidot M, Levin I. 2009. Molecular dissection of *Tomato leaf curl virus resistance* in tomato line TY172 derived from *Solanum peruvianum*. *Theoretical and Applied Genetics*, 119: 519 - 530.
- Chu Yun-xia, Zhu Wei-min. 2009. Progress of breeding for the control of *Tomato yellow leaf curl virus* in tomato. *Genomics and Applied Biology*, 28 (3): 563 - 568. (in Chinese)
- 褚云霞, 朱为民. 2009. 番茄抗黄化曲叶病毒育种研究进展. *基因组学与应用生物学*, 28 (3): 563 - 568.
- Delatte H, Holota H, Reynaud B, Dintinger J. 2006. Characterisation of a quantitative resistance to vector transmission of *Tomato yellow leaf curl virus* in *Lycopersicon pimpinellifolium*. *European Journal of Plant Pathology*, 114 (3): 245 - 253.
- Edelbaum D, Gorovits R, Sasaki S, Ikegami M, Czosnek H. 2009. Expressing a whitefly GroEL protein in *Nicotiana benthamiana* plants confers tolerance to *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) and *Cucumber mosaic virus* (CMV), but not to *Grapevine virus A* (GVA) and *Tobacco mosaic virus* (TMV). *Archives of Virology*, 154: 399 - 407.
- Eybishtz A, Peretz Y, Sade D, Akad F, Czosnek H. 2009. Silencing of a single gene in tomato plants resistant to *Tomato yellow leaf curl virus* renders them susceptible to the virus. *Plant Molecular Biology*, 71: 157 - 171.
- Eybishtz A, Peretz Y, Sade D, Gorovits R, Czosnek H. 2010. *Tomato yellow leaf curl virus* infection of a resistant tomatoline with a silenced sucrose transporter gene *LeHT1* results in inhibition of growth, enhanced virus spread, and necrosis. *Planta*, 231: 537 - 548.
- Fuentes A, Ramos P L, Fiallo E, Callard D, Sánchez Y, Peral R, Rodríguez R, Pujol M. 2006. Intron-hairpin RNA derived from replication associated protein *C1* gene confer immunity to *Tomato yellow leaf curl virus* infection in transgenic tomato plants. *Transgenic Research*, 15 (3): 291 - 304.
- Garcia B E, Martin C T, Maxwell D P. 2007. Detection methods for the *Ty-1* gene for resistance to begomoviruses on chromosome 6 of tomato. [http://www.plantpath.wisc.edu/Geminivirus Resistant tomatoes/Markers/MASProtocols/Intro Ty1. pdf](http://www.plantpath.wisc.edu/Geminivirus%20Resistant%20tomatoes/Markers/MASProtocols/Intro%20Ty1.pdf).
- Gottlieb Y, Zchori-Fein E, Mozes-Daube N, Kontsedalov S, Skaljajc M, Brumin M, Sobol I, Czosnek H, Vavre F, Fleury F, Ghanim M. 2010. The transmission efficiency of *Tomato yellow leaf curl virus* by the whitefly *Bemisia tabaci* is correlated with the presence of a specific symbiotic bacterium species. *Journal of Virology*, 84 (18): 9310 - 9317.
- Guo Yan-mei, Du Yong-chen, Wang Xiao-xuan, Gao Jian-chang. 2009. Research progress in *Tomato yellow leaf curl virus*. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 11 (5): 30 - 35. (in Chinese)
- 国艳梅, 杜永臣, 王孝宣, 高建昌. 2009. 番茄黄化卷叶病毒病 (TYLCV) 的研究进展. *中国农业科技导报*, 11 (5): 30 - 35.
- Hutton S F, Scott J W, Schuster D J. 2010. Fine mapping of a begomovirus resistance gene in tomato // *Proceedings of the Plant & Animal Genomes XVIII Conference*. CA, USA: San Diego, 204.
- Hutton S F, Scott J W, Schuster D J. 2012. Recessive resistance to *Tomato yellow leaf curl virus* from the tomato cultivar Tyking is located in the same region as *Ty-5* on chromosome 4. *HortScience*, 47 (3): 324 - 327.
- Ji Y, Salus M S, van Betteray B, Smeets J, Jensen K S, Martin C T, Mejía L, Scott J W, Havey M J, Maxwell D P. 2007a. Co-dominant SCAR markers for detection of the *Ty-3* and *Ty-3a* loci from *Solanum chilense* at 25 cM of chromosome 6 of tomato. *Report of the Tomato Genetics Cooperative*, 57: 25 - 28.
- Ji Y, Schuster D J, Scott J W. 2007b. *Ty-3*, a begomovirus resistance locus near the *Tomato yellow leaf curl virus* resistance locus *Ty-1* on

- chromosome 6 of tomato. *Molecular Breeding*, 20: 271 - 284.
- Ji Y F, Scott J W, Schuster D J. 2009a. Molecular mapping of *Ty-4*, a new *Tomato yellow leaf curl virus* resistance locus on chromosome 3 of tomato. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 134 (2): 281 - 288.
- Ji Y, Scott J W, Schuster D J. 2009b. Toward fine mapping of the *Tomato yellow leaf curl virus* resistance gene *Ty-2* on chromosome 11 of tomato. *HortScience*, 44 (3): 614 - 618.
- Koshino-Kimura Y, Takenaka K, Domoto F, Ohashi M, Miyazaki T, Aoyama Y, Sera T. 2009. Construction of plants resistant to TYLCV by using artificial zinc-finger proteins. *Nucleic Acids Symposium Series*, 53 (1): 281 - 282.
- Kunik T, Salomon R, Zamir D, Navot N, Zeidan M, Michelson I, Gafni Y, Czosnek H. 1994. Transgenic tomato plants expressing the tomato yellow leaf curl virus capsid protein are resistant to the virus. *Biotechnology*, 12: 500 - 504.
- Li Ji-gang, Liang Yan, Yan Jian-min, Zheng Xu-xiang, Sun Ya-dong. 2012. A new tomato F<sub>1</sub> hybrid with resistance to TYLCV - 'Xinong 2011' *China Vegetables*, (2): 100 - 103. (in Chinese)
- 李继纲, 梁燕, 闫见敏, 郑戌翔, 孙亚东. 2012. 抗TYLCV番茄新品种西农2011的选育. *中国蔬菜*, (2): 100 - 103.
- Mejía L, Teni R E, Vidavski F, Czosnek H, Lapidot M, Nakhla M K, Maxwell D P. 2005. Evaluation of tomato germplasm and selection of breeding lines for resistance to begomoviruses in Guatemala. *Acta Horticulture*, 695, 251 - 255.
- Mejía L, Teni R E, García B E, Fulladolsa A C, Méndez L. 2010. Preliminary observations on the effectiveness of five introgressions for resistance to begomoviruses in tomatoes. *Report of the Tomato Genetics Cooperative*, 60: 41 - 53.
- Michelson I, Zamir D, Czosnek H. 1994. Accumulation and translocation of *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) in a *Lycopersicon esculentum* breeding line containing the *L. chilense* TYLCV tolerance gene *Ty-1*. *Phytopathology*, 84: 928 - 933.
- Mori T, Takenaka K, Domoto F, Aoyama Y, Sera T. 2012. Inhibition of binding of *Tomato yellow leaf curl virus* Rep to its replication origin by artificial zinc-finger protein. *Molecular Biotechnology*, (12): 9552 - 9557.
- Moshe A, Pfannstiel J, Yariv B, Kolot M, Sobol I, Czosnek H, Gorovits R. 2012. Stress responses to *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) infection of resistant and susceptible tomato plants are different. *Metabolomics*, S (1): 769 - 781.
- Nogueira D G, Maluf W R, Nogueira D W, Maciel G M, Paiva L V, dos Reis Figueira A. 2011. Microsatellite marker associated with the *Ty-1* allele for resistance to begomovirus in tomato. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 46 (4): 412 - 419.
- Peng Hong, Yu Wen-gui, Zhao Tong-min, Zhang Bao-long, Ni Wan-chao, Wu Dan, Yang Ma-li, Zhao Li-ping. 2011. Studies on tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) resistance by *GroEL* gene transformation. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 27 (2): 371 - 377. (in Chinese)
- 彭宏, 余文贵, 赵统敏, 张保龙, 倪万潮, 吴丹, 杨玛丽, 赵丽萍. 2011. *GroEL* 基因抗番茄黄化曲叶病毒 (TYLCV) 的研究. *江苏农业学报*, 27 (2): 371 - 377.
- Polston J E, Hiebert E. 2007. Transgenic approaches for the control of *Tomato yellow leaf curl virus* //Czosnek H. *Tomato Yellow Leaf Curl Disease*. Springer: 373 - 390.
- Segev L, Cohen L, Lapidot L. 2004. A tomato yellow leaf curl virus-resistant tomato line, TY-172, inhibits viral replication but not viral translocation. 4th Intern. Geminivirus Symp. ABSTRACT W1. Cape Town, South Africa.
- Sera T. 2005. Inhibition of virus DNA replication by artificial zinc-finger proteins. *Journal of Virology*, 79: 2614 - 2619.
- Song Jian-jun, Ai Peng-fei, Li Zhen-xia, Qiu Yan, Li Min. 2011. A new tomato hybrid 'Keda 204' with resistance to *Tomato yellow leaf curl virus*. *Acta Horticulturae Sinica*, 38 (2): 339 - 400. (in Chinese)
- 宋建军, 艾鹏飞, 李振侠, 仇燕, 李敏. 2011. 抗番茄黄化卷叶病毒番茄新品种 '科大204'. *园艺学报*, 38 (2): 339 - 400.
- Tamarzizt H B, Chouchane S G, Lengliz R, Maxwell D P, Marrakchi M, Fakhfakh H, Gorsane F. 2009. Use of *Tomato leaf curl virus* (TYLCV) truncated *Rep* gene sequence to engineer TYLCV resistance in tomato plants. *Acta Virologica*, 53 (2): 99 - 104.
- Tang Qian-jun, Xiao Qi-ming, Liu Yong, Li Ji-guang, Xie Bing-yan, Tan Xin-qiu, Zhang De-yong. 2010. Construction and expression of dsRNA vector in coat protein gene of *Tomato yellow leaf curl virus*. *Hunan Agricultural Sciences*, (13): 99 - 101. (in Chinese)
- 唐前君, 肖启明, 刘勇, 李基光, 谢丙炎, 谭新球, 张德咏. 2010. 番茄黄化曲叶病毒外壳蛋白基因 dsRNA 载体的构建及其表达. *湖南农业科学*, (13): 99 - 101.
- Tomás D M, Carmen Cañizares M, Abad J, Fernández-Muñoz R, Moriones E. 2011. Resistance to *Tomato yellow leaf curl virus* accumulation

- in the tomato wild relative *Solanum habrochaites* associated with the C4 viral protein. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 24 (7): 849 - 861.
- Verlaan M G, Szinay D, Hutton S F, de Jong H, Kormelink R, Visser R G F, Scott J W, Bai Y L. 2011. Chromosomal rearrangements between tomato and *Solanum chilense* hamper mapping and breeding of the TYLCV resistance gene *Ty-1*. *The Plant Journal*, 68 (6): 1 - 11.
- Vidavski F, Czosnek H, Gazit S, Levy D, Lapidot M. 2008. Pyramiding of genes conferring resistance to *Tomato yellow leaf curl virus* from different wild tomato species. *Plant Breeding*, 127 (6): 1 - 7.
- Wu Dan, Zhang Bao-long, Yang Yu-wen, Ni Wan-chao, Zhao Tong-min, Zhang Yun-hua, Wang Rong-fu. 2010. Expressing a *GroEL* gene in the different promoters of tobacco plants conferring resistance to *Tomato yellow leaf curl virus*. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 26 (1): 55 - 60. (in Chinese)
- 吴丹, 张保龙, 杨郁文, 倪万潮, 赵统敏, 张云华, 王荣富. 2010. 不同启动子在转基因烟草中抗番茄黄化曲叶病毒的研究. *江苏农业学报*, 26 (1): 55 - 60.
- Yaakov N, Levy Y, Belausov E, Gaba V, Lapidot M, Gafni Y. 2011. Effect of a single amino acid substitution in the NLS domain of *Tomato yellow leaf curl virus-Israel* (TYLCV-IL) capsid protein (CP) on its activity and on the virus life cycle. *Virus Research*, 158 (1 - 2): 8 - 11.
- Yang Yue-jian, Zhou Guo-zhi, Wang Rong-qing, Ye Qing-jing. 2011. The issues and strategies concerning planting of varieties with resistance to tomato yellow leaf curl virus disease. *China Vegetables*, (21): 1 - 4. (in Chinese)
- 杨悦俭, 周国治, 王荣青, 叶青静. 2011. 抗番茄黄化曲叶病毒品种种植中的问题与对策. *中国蔬菜*, (21): 1 - 4.
- Ye Qing-jing, Yang Yue-jian, Wang Rong-qing, Li Zhi-miao, Ruan Mei-ying, Zhou Guo-zhi, Yao Zhu-ping. 2009. Progress in research on TYLCD-resistant breeding of tomato. *Scientia Agricultura Sinica*, 42 (4): 1230 - 1242. (in Chinese)
- 叶青静, 杨悦俭, 王荣青, 李志邈, 阮美颖, 周国治, 姚祝平. 2009. 番茄抗黄化曲叶病毒育种研究进展. *中国农业科学*, 42 (4): 1230 - 1242.
- 赵统敏, 余文贵, 赵丽萍, 杨玛丽. 2009. 抗番茄黄化曲叶病毒病优质高产杂交番茄新品种——苏红9号. *江苏农业学报*, (2): 259.
- Zhao Tong-min, Yu Wen-gui, Yang Ma-li, Zhao Li-ping. 2011. A new cherry tomato 'Jinling Tianyu' with resistance to *Tomato yellow leaf curl virus*. *Acta Horticulturae Sinica*, 38 (9): 1825 - 1826. (in Chinese)
- 赵统敏, 余文贵, 杨玛丽, 赵丽萍. 2011. 抗番茄黄化曲叶病毒病樱桃番茄新品种 '金陵甜玉'. *园艺学报*, 38 (9): 1825 - 1826.
- Zheng Ji-rong, Wang Hui-li, Wang Shi-heng. 2012. A new tomato hybrid 'Hangza 3' resistant to *Tomato yellow leaf curl virus*. *Acta Horticulturae Sinica*, 39 (3): 601 - 602. (in Chinese)
- 郑积荣, 王慧俐, 王世恒. 2012. 抗番茄黄化曲叶病毒番茄新品种 '航杂3号'. *园艺学报*, 39 (3): 601 - 602.
- Zong Yuan-yuan, Liu Lei, Li Tao, Sayed Rashid Ali Shah, Zhou Long-xi, Sun Yu-yan, Zheng Zheng, Zheng Qi-gong, Fan Shu-ying, Li Jun-ming. 2012. Mapping of QTLs conferring the resistance to *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) in *Solanum lycopersicoides*. *Acta Horticulturae Sinica*, 39 (5): 915 - 922. (in Chinese)
- 宗园园, 刘磊, 李涛, Sayed Rashid Ali Shah, 周龙溪, 孙玉燕, 郑峥, 郑启功, 范淑英, 李君明. 2012. 类番茄抗番茄黄化曲叶病毒 QTL 的定位. *园艺学报*, 39 (5): 915 - 922.
- Zrachya A, Kumar P P, Ramakrishnan U, Levy Y, Loyter A, Arazi T, Lapidot M, Gafni Y. 2007. Production of siRNA targeted against TYLCV coat protein transcripts leads to silencing of its expression and resistance to the virus. *Transgenic Research*, 16 (3): 385 - 398.