

郭广君, 王述彬, 刘金兵, 等. 植物抗黄瓜花叶病毒基因研究进展[J]. 江苏农业学报, 2018, 34(6): 1430-1436.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2018.06.032

植物抗黄瓜花叶病毒基因研究进展

郭广君, 王述彬, 刘金兵, 潘宝贵, 刁卫平, 戈伟, 高长洲
(江苏省农业科学院蔬菜研究所, 江苏省高效园艺作物遗传改良重点实验室, 江苏 南京 210014)

摘要: 黄瓜花叶病毒(Cucumber mosaic virus, CMV)作为世界十大植物病毒之一, 严重危害多种作物的生产。相对于药剂防治和使用转基因品种, 利用植物自身的抗性基因培育抗病品种是最为经济有效的CMV防治方法。本文就相关内容从3个方面进行综述: (1) *R*基因介导的植物抗病毒机制及已克隆的*R*基因; (2) 植物抗CMV的*R*基因及分子机制; (3) 植物中其他抗CMV相关基因的研究。

关键词: 植物; 黄瓜花叶病毒; 抗性基因

中图分类号: S432.2⁺3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2018)06-1430-07

Advances in related resistance genes of plant to cucumber mosaic virus

GUO Guang-jun, WANG Shu-bin, LIU Jin-bing, PAN Bao-gui, DIAO Wei-ping, GE Wei, GAO Chang-zhou
(Institute of Vegetable Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Jiangsu Key Laboratory for Horticultural Crop Genetic Improvement, Nanjing 210014, China)

Abstract: As one of the world's top 10 plant viruses, cucumber mosaic virus (CMV) is seriously harmful to the production of a variety of crops. As compared to the chemical control and application of transgenic varieties, the approach of developing CMV-resistant varieties through the typical genetics using the plant resistance genes (*R* gene) is more economical and effective. This review summarized the research progress from the following three aspects: (1) *R* gene-mediated plant antiviral mechanisms and successfully cloned *R* genes; (2) the *R* gene and its molecular mechanism in plant resistant to CMV; (3) other genes in plant resistant to CMV.

Key words: plant; cucumber mosaic virus; resistance gene

黄瓜花叶病毒(CMV)是雀麦花叶病毒科(Bromoviridae)黄瓜花叶病毒属(*Cucumovirus*)的典型成员, 被列为世界十大植物病毒之一。黄瓜花叶病毒的寄主范围广, 可侵染包括果树、蔬菜和观赏植物等100多个科的1 000多种植物^[1-2]。由于世界范围内有些地区存在多种病毒混合侵染等情况, CMV对作物生

产的危害程度很难进行总体量化。根据科研人员的统计, 在中国CMV的侵染可导致番茄减产25%~50%^[3]; 在西班牙CMV的侵染可导致甜瓜减产60%, 辣椒减产达80%^[4-5]; 在西班牙一旦番茄上出现CMV侵染引发的坏死, 产量损失达到80%以上, 甚至绝收^[6-7]。

蚜虫和种子带毒是CMV传播的主要途径, 而药剂对病毒病的防治效果十分有限。利用基因工程技术进行抗CMV育种, 具有周期短, 不污染环境, 抗性稳定等优点, 但是转基因作物的安全问题仍受到多方质疑^[8]。利用植物自身的抗性基因对植物进行遗传改良是最为经济和有效的遏制CMV危害的途径^[9]。近几十年来, 国内外学者对植物抗黄瓜花叶病毒基因进行了广泛和深入研究, 并取得了一定的

收稿日期: 2018-01-23

基金项目: 国家重点研发计划项目(2016YFD0101704); 现代农业产业技术体系建设专项资金项目(CARS-23-G42); 江苏省农业重大新品种创制项目(PZCZ201714)

作者简介: 郭广君(1986-), 女, 山东聊城人, 博士, 副研究员, 主要从事辣椒遗传育种及分子生物学研究, (Tel) 025-84390805; (E-mail) ggj-198@163.com

通讯作者: 王述彬, (Tel) 025-84390265; (E-mail) wangsbpep@163.com

进展。本文就 *R* 基因介导的植物抗病毒病分子机制及已克隆的 *R* 基因植物抗 CMV 的机制和其他相关抗 CMV 基因的研究进展进行综述,以期为植物抗 CMV 基因的深入分析和应用研究提供参考。

1 植物的天然免疫系统

一般认为植物免疫系统由 2 个层面的免疫反应组成:(1)植物通过细胞表面的跨膜识别受体识别病原物相关分子(Pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)所产生的免疫,称为病原物相关分子激发的免疫(PAMP-triggered immunity, PTI);(2)植物体内的抗性基因(*R* gene)通过特异地识别病原物效应因子所产生的细胞内免疫反应,称为效应因子激发的免疫(Effector-triggered immunity, ETI)^[10-11]。

1.1 *R* 基因介导的植物抗病毒机制

R 基因介导的抗性是指 *R* 基因直接或间接识别特定病原物的无毒基因,激活植物防御反应。*R* 基因介导的抗性可分为 2 种,一种称为系统获得性抗性(System acquired resistance, SAR),主要表现为在病毒侵染点及周边组织引起程序性细胞死亡,活性氧爆发,细胞壁加厚,蛋白质磷酸化和去磷酸化以及大量

防御基因的激活,随后整株植物出现非专一性的、抗多种与起始侵染病毒相关或不相关的植物病原的抗性。在 SAR 过程中,病程相关(PR)基因等防卫基因大量表达,信号转导因子水杨酸、茉莉酸、乙烯、一氧化氮等在植物抗病中起重要作用^[11]。*R* 基因介导的第 2 种抗性称之为极端抗性(Extreme resistance, ER)或细胞水平抗性(Cellular resistance),主要表现为有些 *R* 基因能够快速响应病毒的侵入,抑制病毒的积累,将病毒的侵染限制在单细胞水平,植物表型症状为侵染部位仅有极小的坏死点^[12]。典型代表为马铃薯 *Rx1* 基因介导的对马铃薯 X 病毒的抗性以及番茄 *Tm-2*² 基因介导的对烟草花叶病毒抗性,侵染部位不出现肉眼可见的超敏反应^[13-14]。

1.2 植物中克隆的抗病毒 *R* 基因

目前已有多种植物病毒的抗性基因被克隆^[15-16],包括十几个典型的 NBS-LRR 类病毒抗性基因,其中 *N* 基因和抗马铃薯 Y 病毒(Potato virus Y, PVY)基因 *Y-1* 为 TIR-NBS-LRR 类病毒抗性基因,其余均为 CC-NBS-LRR 类病毒抗性基因(表 1)。此外,还克隆了几个不属于 NBS-LRR 类病毒抗性基因

表 1 植物中克隆的 NBS-LRR 类病毒抗性基因(*R* gene)及其互作的毒性基因

Table 1 Cloned NBS-LRR *R* genes resistant to virus and interaction of avr-gene

病毒	寄主植物	抗病基因(<i>R</i> gene)	毒性基因(Avr-gene)	参考文献
马铃薯 X 病毒	马铃薯	<i>Rx1</i> 、 <i>Rx2</i>	<i>Coat protein</i>	[13]、[17]
马铃薯 Y 病毒	马铃薯	<i>Y-1</i>	—	[18]
	辣椒	<i>pvr1</i>	<i>VPg</i>	[19]~[21]
		<i>pvr12</i>		
烟草花叶病毒	番茄	<i>N</i>	—	[22]、[23]
		<i>Tm1</i>	<i>Replicase</i>	[24]
		<i>Tm-22</i>	30 kd movement	
		<i>Tm-2</i>	protein	
菜豆矮化花叶病毒	菜豆	<i>BV1</i>	<i>Bdm</i>	[25]
黄瓜花叶病毒	拟南芥	<i>RCY1</i>	<i>Coat protein</i>	[26]
		<i>cum1</i>	<i>Vpg</i>	[27]、[28]
		<i>cum2</i>		
豌豆种传花叶病毒	豌豆	<i>Sbm1</i>	<i>Vpg</i>	[29]
		<i>Sbm2</i>	<i>P3</i> and <i>6K1</i> cistron	[30]
芜菁花叶病毒	拟南芥	<i>At-Eif(iso) 4E</i>	<i>VPg</i>	[31]
	甘蓝型油菜	<i>CI</i>	<i>TuRBO1</i> , <i>TuRBO1b</i> , <i>TuRBO3</i> , <i>TuMV P3</i>	[32]~[34]
		<i>P3</i>	<i>TuRBO4</i> , <i>TuRBO5</i>	
番茄斑点枯萎病毒	番茄	<i>Sue5</i>	—	[35]
大豆花叶病毒	大豆	<i>Rsv1</i>	—	[36]

家族的病毒抗性基因,包括拟南芥抗烟草蚀纹病毒(Tobacco etch virus, TEV)基因 *RTM1*、*RTM2* 和 *RTM3* [37-38],番茄黄化曲叶病毒(Tomato yellow leaf curl virus, TYLCV)抗性基因 *Ty-1* 和 *Ty-3*,番茄抗番茄花叶病毒(Tomato mosaic virus, ToMV)基因 *Tm-1* [39]。

2 植物中 *R* 基因介导的对 CMV 的抗性

2.1 拟南芥中克隆的抗 CMV 的 *R* 基因及其抗性机制

拟南芥作为典型的模式植物,其 CMV 抗性基因克隆和机理研究最为广泛和深入,典型代表是抗 CMV 的单显性基因 *RCY1* 的研究。*RCY1* 基因定位在 5 号染色体,可编码一个相对分子量为 1.04×10^5 的 CC-NBS-LRR 蛋白质,与抗霜霉病的 *RPP8* 基因和抗芜菁皱缩病毒的 *HRT* 基因为等位基因,抗性的发挥依赖于水杨酸(SA)和乙烯(ET)信号转导通路,不依赖于茉莉酸(JA)信号转导通路[26]。进一步研究发现 SA 和 JA 在调控 *RCY1* 功能方面存在拮抗作用,*EDS5* 基因的表达和 SA 的积累在 *RCY1* 基因介导的抗性中发挥着重要作用[40-41]。*RCY1* 基因表达量上调可显著增强植株对 CMV 的抗性,抗性方式表现为“基因对基因”模式[42]。*RCY1* 通过 LRR 区域与 CMV 的致病因子 CP 蛋白互作诱导抗性[43]。拟南芥中 WARKY70 通过与 *RCY1* 基因编码的 CC-NBS 结构域互作,抑制 CMV 病毒的复制,减轻 CMV 的危害[44]。

拟南芥中除典型的显性抗 CMV 的 *R* 基因 *RCY1*,还克隆了 2 个典型的隐性抗 CMV 的 *R* 基因 *cum1* 和 *cum2*,对应的 CMV 病毒致病因子为 Vpg 蛋白质。*cum1* 和 *cum2* 可编码翻译起始因子 4E (eIF4E)和 4G (eIF4G)蛋白质, eIF4E 蛋白质可与真核 mRNA 5' 帽子结构结合, eIF4G 属于支架蛋白质,能将 eIF4E 和起始因子结合形成 eIF4F 复合体,进而起始蛋白质合成。突变后的 eIF4E 不能和病毒移动蛋白质的 mRNA 结合,从而影响移动蛋白质的生成,限制病毒的移动[28]。

2.2 其他植物中抗 CMV 的 *R* 基因及抗性机制

除拟南芥外,在其他植物主要是经济作物的抗 CMV 基因定位和克隆方面也取得了较多进展。菜豆中同源克隆的 *RT4-4* 基因编码一个 TIR-NBS-LRR 蛋白质,与 CMV 的 2a 蛋白质互作,引发过敏性坏死。该基因对番茄和辣椒上分离出的 7 个 CMV 株

系具有抗性,但是对菜豆上分离的 CMV 株系无效[45]。2009 年西班牙农业研究中心在甜瓜 PI161375 中鉴定出一个抗 CMV 基因 *cmv1* [46],2017 年该研究中心克隆了 *cmv1* 基因,该基因可以编码液泡分拣蛋白 41,抗感材料间仅存在一个氨基酸差异(L348R),是目前唯一与 CMV 在韧皮部运输密切相关的隐性基因[47]。韩国科研人员在 *C. annuum* cv. bukung 中鉴定的抗 CMV 单显性基因 *Cmr1* 位于 2 号染色体的着丝粒位置,与番茄抗番茄花叶病毒的 *Tm-1* 基因和番茄抗 CMV 的 QTL (*QRCMV2*) 具有同位性,亚细胞定位结果显示 *Cmr1* 基因抑制了 CMV 病毒由叶表细胞到叶肉细胞的运动[48]。中国科研人员在 *C. frutescens* cv. PBC688 的 2 号染色体上定位到 1 个抗 CMV 主效 QTL (*qCmr2.1*),预测的候选基因与拟南芥中抗 CMV 基因 *RCY1* 同属 NBS-LRR 家族基因,同时与烟草和番茄抗烟草花叶病毒基因 *N* 的同源性高达 80% 以上[49]。番茄抗 CMV 的 QTL 定位中发现 2 号染色体上的 QTL *QRCMV2* 与番茄抗番茄花叶病毒的 *Tm-1* 基因,辣椒抗 CMV 的 *Cmr1* 基因具有同位性[48,50-51];8 号染色体上的 QTL (*QRCMV8*) 与马铃薯抗马铃薯 S 病毒的 *Ns* 基因具有同位性[51-52]。

3 植物中其他相关基因介导的对 CMV 的抗性

植物通过多种基因协同作用形成的复杂调控网络抵御病毒侵害。*R* 基因与致病因子的互作触发防御反应,多种基因的共同作用使植物获得系统抗性。所以多方位研究相关基因的抗性机制,是对植物抗 CMV 分子机制研究的深入和完善。

3.1 拟南芥中其他相关基因介导的对 CMV 的抗性

拟南芥中除抗 CMV 的 *R* 基因外,防卫基因、转录因子、信号因子、光受体等也参与对 CMV 的抗性防御。① 防卫基因:AGO1 蛋白是拟南芥中 RNA 诱导沉默复合体中的核心组件,是抵抗 CMV 侵染的关键因子。CMV 中 2b 蛋白可以阻断 AGO1 的酶切活性,限制 miRNA 途径,减弱 RNA 沉默效应,从而达到侵染的目的[53],拟南芥中过氧化氢酶基因 *CAT3* 与 CMV 的 2b 蛋白互作导致坏死斑的出现,*CAT3* 基因的表达可增强拟南芥对 CMV 的抗性[54]。CMV 的 Fny 株系的 2b 蛋白可以调控拟南芥中 MicroRNA159 的表达水平诱发病症[55]。② 转录因子:拟南

芥中转录因子 HAT1 在抵抗 CMV 防御反应中起负调控作用,其表达依赖于 SA 的积累^[56]。③信号因子:拟南芥中 NbbZIP28 为 CMV 病毒侵染应激的 UPR 信号调控因子,但不是唯一调控因子,在病毒侵染早期,可提高寄主基础防卫反应,延缓病毒的侵染^[57]。一氧化氮(NO)作为信号分子参与油菜素内脂介导的拟南芥对 CMV 的抗性反应^[58]。④光受体:拟南芥光敏色素 PHYB、向光素 PHOT2 基因显著影响抗性相关基因的表达和抗氧化剂的活性,在抵抗 CMV 侵染中起着重要作用^[59]。

3.2 其他植物抗 CMV 的相关基因

在烟草、油菜和苋色藜等植物中发现多种防卫基因参与植物对 CMV 的抗性。烟草锌指结构蛋白 Tsip1 与 CMV1a 和 CMV2a 蛋白结合形成复合体,抑制 CMV 的增殖^[60]。烟草光敏色素信号通路通过调控内源 SA 信号通路发挥对 CMV 的抗性^[61]。本氏烟热激蛋白 NbHsp70 与 CMV 病毒复制酶 1a 相互作用,促进 CMV 的复制而有利于病毒的侵染^[62]。油菜中 *BnSGS3* 基因超表达可以抑制 CMV 的病毒积累,减轻 CMV 危害^[63]。苋色藜 *CaNDR1a* 和 *CaNDR1b* 的转基因烟草对 CMV 的抗性增强,说明该基因参与了植物对病毒的内源免疫反应^[64]。苋色藜 *CaNHO1* 基因可编码一种甘油激酶,其基因表达量在接种 CMV 后显著上调;转 *CaNHO1* 基因烟草可显著延缓 CMV 的晚期侵染,说明该基因参与了 CMV 诱导的防御抗性^[65]。矮牵牛中转录因子 PhERF2 的表达可显著抑制 CMV 外壳蛋白基因的表达水平,水杨酸和乙烯可显著诱导该基因的表达,说明该基因可能是通过水杨酸和乙烯信号途径发挥作用^[66]。

4 讨论

综上所述,植物中已克隆了多个病毒抗性的 R 基因,为植物抗病毒病的深入分析和应用研究奠定了良好的基础。拟南芥抗 CMV 基因 *RCY1* 的研究为其他作物抗 CMV 基因的研究提供了较好的思路。但是由于技术局限性,从 *RCY1* 基因定位到分子机理的明确,整个研究历程超过 10 年。此外,由于植物对 CMV 的抗性大多是数量性状,其抗性机理更加复杂,研究历程更加漫长。例如茄果类蔬菜(主要是辣椒和番茄),自 1997 年 Caranta 等^[67]在 *C. annuum* cv. Perennial 中首次定位到 3 个抑制病毒入侵

的 QTL 以来,辣椒和番茄上仍未有抗 CMV 相关基因的克隆,其抗性机理更是模糊不清^[68-69]。因此目前植物中克隆到的抗 CMV 的 R 基因仍然十分有限,抗 CMV 的分子机理仍需深入研究。克隆新的抗 CMV 的 R 基因并阐明其分子机理仍然是植物抗 CMV 研究的重点,也是作物抗 CMV 育种的技术和理论基础。

随着科技的发展,技术的不断革新,植物生物学研究方面的技术更加多样化,效率也在不断提高。首先,随着测序技术的发展,多种作物的基因组数据陆续公布。基于基因组数据产生的新基因定位技术(例如 QTL-Seq、SLAF-Seq 等)明显提高了基因定位效率,基于基因组数据开发出的新一代高密度分子标记(例如 SNP 和 Indel 等)使基因定位更为准确,这些为深入研究基因功能和抗性机理奠定了很好的基础^[70-72]。在植物抗 CMV 基因定位方面,新技术的应用极为广泛,仅从受 CMV 危害最为严重的茄科作物辣椒来看,自 2014 年辣椒基因组数据公布以来,利用高通量测序的方法,新定位到 10 个抗 CMV 相关 QTL,相对于之前的定位研究,耗时间更短,定位区间更为准确^[73-76]。其次,CRISPR/Cas9 技术引领了分子生物学研究领域颠覆性的技术革新。2013 年 5 个独立的研究团队证明 CRISPR/Cas9 系统在真核生物中具有功能^[77-81],最为重要的是研究证明该系统可以在多个位点同时实现高效的基因编辑^[80-81]。由于 CRISPR/Cas9 技术具有简单、高效和易操作等优点,CRISPR/Cas9 在基因功能研究和种质创制上具有巨大优势,在多种作物上已成功应用。例如在番茄上成功运用该技术编辑番茄早花基因 *SP5G*,创制出可提早 2 周开花和果实成熟的番茄材料^[82];美国冷泉港实验室的科研人员利用该技术编辑 *SICLV3* 基因启动子序列创制出系列番茄产量相关性状的突变体材料,实现了对数量性状更加微小的调控^[83]。虽然目前还未有利用 CRISPR/Cas9 技术研究植物抗 CMV 分子机理的报道,但是利用该技术进行抗 CMV 分子机理研究是一种可行的思路,也是目前创制突变体材料及抗性种质材料最为高效的途径。所以充分利用多种高效的生物技术实现植物抗 CMV 基因研究的突破,将是科研人员进一步研究和探索的重点。

参考文献:

- [1] PALUKAITIS P, ROOSSINCK M J, DIETZGEN R G, et al. Cu-

- cucumber mosaic virus [J]. Annals of the Phytopathological Society of Japan, 2012, 31(1):281-348.
- [2] 毛晓红,于毅,张秀霞,等.春季西葫芦日光温室黄瓜花叶病毒病发生规律与防虫网的防控效果[J].江苏农业科学,2017,45(16):96-98.
 - [3] TIEN P, WU G. Satellite RNA for the biocontrol of plant disease [J]. Advances in Virus Research, 1991, 39(1):321-339.
 - [4] LUISARTEAGA M, ALVAREZ J M, ALONSOPRADOS J L, et al. Occurrence, distribution, and relative incidence of mosaic viruses infecting field-grown melon in Spain [J]. Plant Disease, 1998, 82(9):979-982.
 - [5] AVILLA C, COLLAR J L, DUQUE M, et al. Yield of bell pepper (*Capsicum annuum*) inoculated with CMV and/or PVY at different time intervals [J]. Journal of Plant Diseases and Protection, 1997, 104(1):1-8.
 - [6] GALLITELLI D. The ecology of cucumber mosaic virus and sustainable agriculture [J]. Virus Research, 2000, 71(2):9-21.
 - [7] JORDA C, ALFARO A, ARANDA A, et al. Epidemic of cucumber mosaic virus plus satellite RNA in tomatoes of eastern Spain [J]. Plant Disease, 1992, 76(4):363-366.
 - [8] SCHOLTHOF K B G, ADKINS S, CZOSNEK H, et al. Top 10 plant viruses in molecular plant pathology [J]. Molecular Plant Pathology, 2011, 12(9):938-954.
 - [9] 郭广君,王述彬,刁卫平,等.辣椒抗黄瓜花叶病毒病研究进展[J].华北农学报,2015,29(S1):77-84.
 - [10] JONES J D, DANGL J L. The plant immune system [J]. Nature, 2006, 444(7117):323-329.
 - [11] SCHWESSINGER B, RONALD P C. Plant innate immunity: perception of conserved microbial signatures [J]. Plant Biology, 2012, 63(63):451-482.
 - [12] KANG B C, YEAM I, JAHN M M. Genetics of plant virus resistance [J]. Annu Rev Phytopathol, 2005, 43:581-621.
 - [13] BENDAHDANE A, KANYUKA K, BAULCOMBE D C. The Rx gene from potato controls separate virus resistance and cell death responses [J]. Plant Cell, 1999, 11(5):781-792.
 - [14] LI B, HU F, ZHANG Q, et al. A cellular gene as a double surveillance agent for plant to combat pathogen [J]. Plant Signaling & Behavior, 2013, 8(11):1-2.
 - [15] GURURANI M A, VENKATESH J, UPADHYAYA C P, et al. Plant disease resistance genes: current status and future directions [J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2012, 78:51-65.
 - [16] ZVEREVA A S, POOGGIN M M. Silencing and innate immunity in plant defense against viral and non-viral pathogens [J]. Viruses, 2012, 4(11):2578-2597.
 - [17] BENDAHDANE A, KÖHM B A, DEDI C, et al. The coat protein of potato virus X is a strain specific elicitor of Rx1 mediated virus resistance in potato [J]. The Plant Journal, 1995, 8(6):933-941.
 - [18] VIDAL S, CABRERA H, ANDERSSON R A, et al. Potato gene Y-1 is an N gene homolog that confers cell death upon infection with potato virus Y [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2002, 15(7):717-727.
 - [19] KANG B C, YEAM I, FRANTZ J D, et al. The pvr1 locus in capsicum encodes a translation initiation factor eIF4E that interacts with tobacco etch virus VPg [J]. The Plant Journal, 2005, 42(3):392-405.
 - [20] MOURY B, MOREL C, JOHANSEN E, et al. Mutations in potato virus Y genome-linked protein determine virulence toward recessive resistances in *Capsicum annuum* and *Lycopersicon hirsutum* [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2004, 17(3):322-329.
 - [21] RUFFEL S, DUSSAULT M H, PALLOIX A, et al. A natural recessive resistance gene against potato virus Y in pepper corresponds to the eukaryotic initiation factor 4E (eIF4E) [J]. The Plant Journal, 2002, 32(6):1067-1075.
 - [22] WHITHAM S, DINESH-KUMAR S, CHOI D, et al. The product of the tobacco mosaic virus resistance gene N: similarity to toll and the interleukin-1 receptor [J]. Cell, 1994, 78(6):1101-1115.
 - [23] WHITHAM S, MCCORMICK S, BAKER B. The N gene of tobacco confers resistance to tobacco mosaic virus in transgenic tomato [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1996, 93(16):8776-8781.
 - [24] LANFERMEIJER F C, DIJKHUIS J, STURRE M J, et al. Cloning and characterization of the durable tomato mosaic virus resistance gene Tm-22 from *Lycopersicon esculentum* [J]. Plant Molecular Biology, 2003, 52(5):1039-1051.
 - [25] GARRIDO-RAMIREZ E R, WJ S M L, GILBERTSON R L. Bean dwarf mosaic virus BV1 protein is a determinant of the hypersensitive response and avirulence in *Phaseolus vulgaris* [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2000, 13(11):1184-1194.
 - [26] TAKAHASHI H, MILLER J, NOZAKI Y, et al. RCY1, an *Arabidopsis thaliana* RPP8/HRT family resistance gene, conferring resistance to cucumber mosaic virus requires salicylic acid, ethylene and a novel signal transduction mechanism [J]. The Plant Journal, 2002, 32(5):655-667.
 - [27] GALLOIS J L, CHARRON C, SÁNCHEZ F, et al. Single amino acid changes in the turnip mosaic virus viral genome-linked protein (VPg) confer virulence towards *Arabidopsis thaliana* mutants knocked out for eukaryotic initiation factors eIF (iso) 4E and eIF (iso) 4G [J]. Journal of General Virology, 2010, 91(1):288-293.
 - [28] YOSHII M, NISHIKIORI M, TOMITA K, et al. The *Arabidopsis cucumovirus* multiplication 1 and 2 loci encode translation initiation factors 4E and 4G [J]. Journal of Virology, 2004, 78(12):6102-6111.
 - [29] GAO Z, JOHANSEN E, EYERS S, et al. The potyvirus recessive resistance gene, sbm1, identifies a novel role for translation initiation factor eIF4E in cell-to-cell trafficking [J]. The Plant Journal, 2004, 40(3):376-385.
 - [30] JOHANSEN I E, LUND O S, HJULSAGER C K, et al. Recessive

- resistance in *Pisum sativum* and potyvirus pathotype resolved in a gene-for-cistron correspondence between host and virus [J]. Journal of Virology, 2001, 75(14):6609-6614.
- [31] WITTMANN S, CHATEL H, FORTIN M G, et al. Interaction of the viral protein genome linked of turnip mosaic potyvirus with the translational eukaryotic initiation factor (iso) 4E of *Arabidopsis thaliana* using the yeast two-hybrid system [J]. Virology, 1997, 234(1):84-92.
- [32] JENNER C, SANCHEZ F, NETTLESHIP S, et al. The cylindrical inclusion gene of turnip mosaic virus encodes a pathogenic determinant to the *Brassica* resistance gene *TuRB01* [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2000, 13(10):1102-1108.
- [33] JENNER C E, TOMIMURA K, OHSHIMA K, et al. Mutations in turnip mosaic virus P3 and cylindrical inclusion proteins are separately required to overcome two *Brassica napus* resistance genes [J]. Virology, 2002, 300(1):50-59.
- [34] JENNER C E, WANG X, TOMIMURA K, et al. The dual role of the potyvirus P3 protein of turnip mosaic virus as a symptom and avirulence determinant in brassicas [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2003, 16(9):777-784.
- [35] SPASSOVA M I, PRINS T W, FOLKERTSMA R T, et al. The tomato gene Sw5 is a member of the coiled coil, nucleotide binding, leucine-rich repeat class of plant resistance genes and confers resistance to TSWV in tobacco [J]. Molecular Breeding, 2001, 7(2):151-161.
- [36] HAJIMORAD M R, HILL J H. Rsv1-mediated resistance against soybean mosaic virus-N is hypersensitive response-independent at inoculation site, but has the potential to initiate a hypersensitive response-like mechanism [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2001, 14(5):587-598.
- [37] CHISHOLM S T, MAHAJAN S K, WHITHAM S A, et al. Cloning of the *Arabidopsis RTM1* gene, which controls restriction of long-distance movement of tobacco etch virus [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2000, 97(1):489-494.
- [38] WHITHAM S A, ANDERBERG R J, CHISHOLM S T, et al. *Arabidopsis RTM2* gene is necessary for specific restriction of tobacco etch virus and encodes an unusual small heat shock-like protein [J]. The Plant Cell, 2000, 12(4):569-582.
- [39] 钱礼超, 刘玉乐. 植物抗病毒分子机制 [J]. 中国科学:生命科学, 2014, 44(10):999-1009.
- [40] TAKAHASHI H, KANAYAMA Y, ZHENG M S, et al. Antagonistic interactions between the SA and JA signaling pathways in *Arabidopsis* modulate expression of defense genes and gene-for-gene resistance to cucumber mosaic virus [J]. Plant and Cell Physiology, 2004, 45(6):803-809.
- [41] ISHIIHARA T, SEKINE K, HASE S, et al. Overexpression of the *Arabidopsis thaliana EDS5* gene enhances resistance to viruses [J]. Plant Biology, 2008, 10(4):451-461.
- [42] SEKINE K T, KAWAKAMI S, HASE S, et al. High level expression of a virus resistance gene, RCY1, confers extreme resistance to cucumber mosaic virus in *Arabidopsis thaliana* [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2008, 21(11):1398-1407.
- [43] TAKAHASHI H, SHOJI H, ANDO S, et al. RCY1-mediated resistance to cucumber mosaic virus is regulated by LRR domain-mediated interaction with CMV (Y) following degradation of RCY1 [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2012, 25(9):1171-1185.
- [44] ANDO S, OBINATA A, TAKAHASHI H. WRKY70 interacting with RCY1 disease resistance protein is required for resistance to cucumber mosaic virus in *Arabidopsis thaliana* [J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2014, 85:8-14.
- [45] SEO Y S, ROJAS M R, LEE J Y, et al. A viral resistance gene from common bean functions across plant families and is up-regulated in a non-virus-specific manner [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2006, 103(32):11856-11861.
- [46] ESSAFI A, DÍAZ-PENDÓN J A, MORIONES E, et al. Dissection of the oligogenic resistance to cucumber mosaic virus in the melon accession PI 161375 [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2009, 118(2):275-284.
- [47] GINER A, PASCUAL L, BOURGEOIS M, et al. A mutation in the melon vacuolar protein sorting 41 prevents systemic infection of cucumber mosaic virus [J]. Scientific Reports, 2017, 7(1):10471-10483.
- [48] KANG W H, HOANG N H, YANG H B, et al. Molecular mapping and characterization of a single dominant gene controlling CMV resistance in peppers (*Capsicum annuum* L.) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2010, 120(8):1587-1596.
- [49] GUO G, WANG S, LIU J, et al. Rapid identification of QTLs underlying resistance to cucumber mosaic virus in pepper (*Capsicum frutescens*) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2016, 130(1):41-52.
- [50] OHMORI T, MURATA M, MOTOYOSHI F. Molecular characterization of RAPD and SCAR markers linked to the Tm-1 locus in tomato [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1996, 92(2):151-156.
- [51] 周龙溪, 刘磊, 孙玉燕, 等. 类番茄茄 LA2951 抗黄瓜花叶病毒 QTL 的定位 [J]. 园艺学报, 2013, 40(10):1905-1915.
- [52] MARCZEWSKI W, HENNIG J, GEBHARDT C. The Potato virus S resistance gene *Ns* maps to potato chromosome VIII [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2002, 105(4):564-567.
- [53] ZHANG X, YUAN Y R, PEI Y, et al. Cucumber mosaic virus-encoded 2b suppressor inhibits *Arabidopsis* argonaute1 cleavage activity to counter plant defense [J]. Genes and Development, 2006, 20(23):3255-3268.
- [54] DU Z, CHEN A, CHEN W, et al. Using a viral vector to reveal the role of microRNA159 in disease symptom induction by a severe strain of cucumber mosaic virus [J]. Plant Physiology, 2014, 164(3):1378-1388.
- [55] MUROTA K, SHIMURA H, TAKESHITA M, et al. Interaction

- between cucumber mosaic virus 2b protein and plant catalase induces a specific necrosis in association with proteasome activity [J]. *Plant Cell Reports*, 2017, 36(1):37-47.
- [56] 邹利娟, 邓星光, 韩雪莹, 等. 拟南芥转录因子 HAT1 对黄瓜花叶病毒的响应 [C]//武维华, 种康, 葛颂, 等, 2016 年全国植物生物学大会摘要集. 武汉: 中国植物学会, 2016:74.
- [57] 申莉莉. CMV 诱导烟草内质网应激及调控因子 NbbZIP28 的研究 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2017.
- [58] ZOU L J, DENG X G, ZHANG L E, et al. Nitric oxide as a signaling molecule in brassinosteroid-mediated virus resistance to cucumber mosaic virus in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Physiologia Plantarum*, 2017. DOI:10.1111/ppl.12677.
- [59] ZHOU X, ZHU T, ZHU L S, et al. The role of photoreceptors in response to cucumber mosaic virus in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2017, 36(2):257-270.
- [60] HUH S U, MIN J K, HAM B K, et al. A zinc finger protein Tsip1 controls cucumber mosaic virus infection by interacting with the replication complex on vacuolar membranes of the tobacco plant [J]. *New Phytologist*, 2011, 191(3):746-762.
- [61] CHEN L J, FEI C Y, XU Z P, et al. Positive role of phytochromes in *Nicotiana tabacum* against cucumber mosaic virus via a salicylic acid-dependent pathway [J]. *Plant Pathology*, 2017, 67(2):488-498.
- [62] 卢冉. 热激蛋白 Hsp70 在 CMV 侵染过程中的作用 [D]. 杭州: 浙江理工大学, 2016.
- [63] 陈泉. *BnSGS3* 基因遗传转化油菜和拟南芥及转基因植株对不同病毒抗性研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2015.
- [64] 龚前园, 张超, 吴华年, 等. 苜蓿 *NDR1* 基因抗病毒特性初步研究 [J]. *中国农业科技导报*, 2014, 16(6):36-43.
- [65] 严文. 苜蓿 *CaNHO1* 基因的克隆与抗病毒功能研究 [D]. 成都: 四川农业大学, 2016.
- [66] 孙道阳. 矮牵牛转录因子 PhOBF1 和 PhERF2 影响病毒诱导基因沉默效率的机理研究 [D]. 西安: 西北农林科技大学, 2016.
- [67] CARANTA C, PALLOIX A, LEFEBVRE V, et al. QTLs for a component of partial resistance to cucumber mosaic virus in pepper: restriction of virus installation in host-cells [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1997, 94(3/4):431-438.
- [68] 郭广君, 刁卫平, 王述彬, 等. 辣椒抗黄瓜花叶病毒病研究进展 [J]. *华北农学报*, 2014, 29(增刊):77-84.
- [69] 王兴兴, 张正海, 王立浩, 等. 辣椒抗黄瓜花叶病毒病研究进展 [J]. *辣椒杂志*, 2015, 13(3):13-17.
- [70] ABE A, KOSUGI S, YOSHIDA K, et al. Genome sequencing reveals agronomically important loci in rice using MutMap [J]. *Nature Biotechnology*, 2012, 30(2):174-178.
- [71] TAKAGI H, ABE A, YOSHIDA K, et al. QTL-seq: rapid mapping of quantitative trait loci in rice by whole genome resequencing of DNA from two bulked populations [J]. *The Plant Journal*, 2013, 74:174-183.
- [72] KIM S, PARK M, YEOM S I, et al. Genome sequence of the hot pepper provides insights into the evolution of pungency in *Capsicum* species [J]. *Nature Genetics*, 2014, 46(3):270-278.
- [73] GUO G, WANG S, LIU J, et al. Rapid identification of QTLs underlying resistance to cucumber mosaic virus in pepper (*Capsicum frutescens*) [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2016, 130(1):41-52.
- [74] MIN H E, HAN J H, YOON J B, et al. QTL mapping of CMV_{PI} resistance in pepper with a genotyping-by-sequencing approach [J]. *Korean Society For Horticultural Science*, 2016, 5:109-110.
- [75] 孙茜. 利用 SLAF-seq 技术定位辣椒抗黄瓜花叶病毒病基因 [D]. 南京: 南京农业大学, 2016.
- [76] 王兴兴. 辣椒抗 CMV 相关 QTL 定位 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2016.
- [77] CHO S W, KIM S, KIM J M, et al. Targeted genome engineering in human cells with the Cas9 RNA-guided endonuclease [J]. *Nature Biotechnology*, 2013, 31(3):230-232.
- [78] HWANG W Y, FU Y, REYON D, et al. Efficient genome editing in zebrafish using a CRISPR-Cas system [J]. *Nature Biotechnology*, 2013, 31(3):227-229.
- [79] JINEK M, EAST A, CHENG A, et al. RNA-programmed genome editing in human cells [J]. *Elife*, 2013, 2(2):1-9.
- [80] MALI P, AACH J, STRANGES P B, et al. CAS9 transcriptional activators for target specificity screening and paired nickases for cooperative genome engineering [J]. *Nature Biotechnology*, 2013, 31(9):833-838.
- [81] SCOTT D A, RAN F A, ZHANG F, et al. Genome engineering using the CRISPR-Cas9 system [J]. *Nature Protocols*, 2013, 32(12):2281-2308.
- [82] SOYK S, MÜLLER N A, PARK S J, et al. Variation in the flowering gene SELF PRUNING 5G promotes day-neutrality and early yield in tomato [J]. *Nature Genetics*, 2017, 49(1):162-168.
- [83] RODRÍGUEZLEAL D, LEMMON Z H, MAN J, et al. Engineering quantitative trait variation for crop improvement by genome editing [J]. *Cell*, 2017, 171(2):470-480.

(责任编辑: 张震林)