

## NGHIÊN CỨU MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP LÂY NHIỄM VIRUS GÂY BỆNH XOĂN VÀNG LÁ CÀ CHUA

Nguyễn Thị Hải Yến<sup>1\*</sup>, Nguyễn Văn Quang<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Khoa học – ĐH Thái Nguyên

<sup>2</sup>Trường Trung học phổ thông Lương Ngọc Quyến

### TÓM TẮT

Bệnh xoăn vàng lá do virus TYLCV (Tomato yellow leaf curl virus) là một trong những nguyên nhân chính gây thiệt hại nghiêm trọng đến năng suất, chất lượng cây trồng đặc biệt là các cây họ cà. Biện pháp hiệu quả nhất để phòng chống TYLCV là sử dụng các giống kháng. Để đánh giá khả năng kháng bệnh của các giống lai tạo được thì phương pháp lây nhiễm virus là rất quan trọng bởi TYLCV không lan truyền cơ học mà lây lan thông qua môi giới. Trong bài báo này, chúng tôi công bố kết quả đánh giá lây nhiễm TYLCV cho 3 giống cà chua (PT18; DV2962 và GM2008) sử dụng ba phương pháp khác nhau đó là lây nhiễm thông qua bọ phấn, thông qua ghép áp và lây nhiễm thông qua vi khuẩn *Agrobacterium tumefaciens* mang genome virus (Agroinoculation). Trong đó, chúng tôi nhận thấy lây nhiễm thông qua ghép áp cho kết quả tốt nhất, tỷ lệ nhiễm bệnh cao, dễ thực hiện và chủ động được thời gian.

**Từ khóa:** Cà chua, lây nhiễm, Agroinoculation virus xoăn vàng lá cà chua.

### MỞ ĐẦU

Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) gây bệnh xoăn vàng lá cà chua thuộc chi *Begomovirus*. Đây là chi lớn nhất trong họ Geminiviridae, chúng là nguyên nhân gây bệnh xoăn vàng lá trên nhiều đối tượng cây trồng họ cà như cà chua, bông, thuốc lá... TYLCV được lan truyền nhờ loài bọ phấn *Bemisia tabaci*, đây là loài côn trùng có sức sinh sản nhanh và mạnh vì vậy sử dụng các biện pháp cơ học và hóa học để kiểm soát thường không có tác dụng. Do sự đa dạng về chủng loại và cơ chế lây lan phức tạp dẫn đến việc phòng trừ những TYLCV trở nên khó khăn. Vì vậy, việc nghiên cứu tạo cây trồng có khả năng kháng virus là rất có ý nghĩa đối với việc cải thiện năng suất và chất lượng giống cây.

Trong nghiên cứu tạo cây kháng virus, việc đánh giá khả năng kháng virus của các dòng cây được tạo ra rất quan trọng vì nó liên quan trực tiếp đến độ chính xác của các kết quả thu được. Công việc đánh giá khả năng kháng virus trở nên khó khăn đối với những virus lây lan nhờ trung gian môi giới. Trong đánh

giá khả năng kháng TYLCV của các dòng cà chua kháng sau lai tạo, nhiều phương pháp lây nhiễm virus đã được thử nghiệm như thông qua bọ phấn hoặc sử dụng *Agrobacterium* (Agro-inoculation).

Trong các nghiên cứu chuyên gen tạo cây kháng TYLCV, phương pháp lây nhiễm virus để kiểm tra khả năng kháng của cây chuyên gen thông qua bọ phấn thường được các nhóm nghiên cứu trên thế giới sử dụng vì hiệu quả lây nhiễm cao (Abhary et al., 2007; Fuentes et al., 2006; Nguyễn Thị Hải Yến & ĐTg, 2011) [2], [3], [5]. Tuy nhiên, để có thể chủ động nguồn bọ phấn phục vụ việc lây nhiễm cho cây chuyên gen thì các nhóm tác giả thường phải thực hiện nuôi bọ phấn hoặc sử dụng nguồn bọ phấn tự nhiên theo mùa vụ. Đây là công việc phức tạp, tốn kém và mất nhiều thời gian đồng thời gặp nhiều khó khăn, do bọ phấn là loại côn trùng nhỏ và có sức sống yếu nên rất dễ chết nếu môi trường nuôi dưỡng không phù hợp với điều kiện sinh thái của chúng. Phương pháp lây nhiễm TYLCV thông qua *Agrobacterium* (Agro-inoculation) cũng được sử dụng thành công trong đánh giá cây chuyên gen của nhiều nhóm tác giả (Johansen & Carrington, 2001) [6]. Trong

\* Tel: 0982982291; Email: nguyenhaiyen@gmail.com

phương pháp này, cấu trúc gen của virus hoàn chỉnh được gắn vào vector tái tổ hợp và đưa vào vi khuẩn *A. tumefaciens* sau đó lây nhiễm cho thực vật thông qua tiêm hoặc hút châm không. Trong tế bào thực vật, các virus sẽ được nhân lên và biểu hiện triệu chứng bệnh. Tuy nhiên, để có cấu trúc virus đưa vào *A. tumefaciens* phục vụ thí nghiệm lây nhiễm là một công việc phức tạp và khó khăn. Bên cạnh đó, triệu chứng biểu hiện bệnh không rõ rệt nên khó nhận biết và phân loại.

Với mục tiêu nghiên cứu, tìm hiểu so sánh các biện pháp lây nhiễm virus nhằm tìm ra phương pháp tối ưu nhất để thực hiện đánh giá khả năng kháng virus TYLCV cho cà chua, chúng tôi đã tiến hành lây nhiễm TYLCV bằng 3 phương pháp: (1) Lây nhiễm thông quan thể bọ phấn đã sinh sống trong nhiều năm và qua nhiều vụ cà chua trong vườn thí nghiệm. (2) Lây nhiễm thông qua vi khuẩn *Agrobacterium tumefaciens* mang genome virus hoàn chỉnh và (3) thông qua phương pháp ghép áp giữa cây bệnh và cây lành. Bài báo này trình bày kết quả các phương pháp đã thử nghiệm và đề xuất phương pháp phù hợp nhất trong nghiên cứu phương pháp lây nhiễm TYLCV cho cà chua.

#### VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

##### Vật liệu

##### Vật liệu thực vật

- Các giống cà chua PT18, F1 GM2008, DV 2962 có độ mẫn cảm khác nhau với TYLCV.
- Dòng cà chua chuyên gen kháng TYLCV do Viện Công nghệ Sinh học cung cấp

##### Chủng vi khuẩn

- Chủng vi khuẩn *Agrobacterium tumefaciens* LBA404 mang vector PCAMBIA 2300 chứa genome TYLCV do Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội cung cấp gồm: *A. tumefaciens* LBA404/2300/TY (chứa đầy đủ vòng DNA - A của TYLCV) và *A. tumefaciens* LBA404/2300/β (chứa đầy đủ vòng DNA véc tinh β của TYLCV).

## Phương pháp nghiên cứu

### Lây nhiễm TYLCV thông qua bọ phấn

Gieo hạt và cách li cây sau này mầm bằng lười chổng côn trùng. Khi cây cao 20cm, khỏe mạnh thì tiến hành thả 10 - 20 cá thể bọ phấn cùng với cây bệnh trong lồng cách li. Nuôi cộng sinh trong 48 giờ, tiến hành phun thuốc diệt bọ phấn. Theo dõi biểu hiện bệnh sau 50 ngày nuôi thả bọ phấn.

### Lây nhiễm TYLCV thông qua ghép áp

Trồng các cây cà chua bình thường vào chậu thí nghiệm trong lồng cách li. Sau khi cây đạt chiều cao khoảng 30 - 35 cm thì tiến hành ghép với cây bệnh đã được chuẩn bị trước. Dùng dao lam sắc cắt vát 1 miếng nhỏ (dài 1,5 - 2 cm rộng 0,4- 0,5cm) vừa chạm vào lớp gỗ của cây ở vị trí gần ngọn chồi cảnh non của cây. Sau đó, dùng băng dính buộc chặt hai mặt cắt của 2 cây sao cho hai mặt cắt của thân cây áp vào nhau là được. Khi ghép xong phun sương lên toàn bộ cây và chụp lồng cách li. Theo dõi biểu hiện bệnh sau 50 ngày ghép.

### Lây nhiễm TYLCV thông qua vi khuẩn *Agrobacterium tumefaciens* mang genome virus

Chuẩn bị vi khuẩn lây nhiễm: nuôi lác các dòng khuỷu lây nhiễm riêng biệt trên môi trường LB lỏng bổ sung kháng sinh kanamycin và rifamycin trong 24h, sau đó ly tâm thu cặn tế bào vi khuẩn và hòa cặn khuỷu vào dung dịch lây nhiễm ( $MgCl_2$  10 mM, MES 10 mM, AS 100  $\mu M$ ,  $H_2O$ ), để ở nhiệt độ phòng 1 - 2 h sau đó tiến hành tiêm cho các cây cà chua thí nghiệm.

Tiến hành lây nhiễm: Sau khi cây con cao khoảng 10 cm khỏe mạnh, tiến hành tiêm dịch khuỷu bằng xi lanh không kim vào mặt dưới lá (khoảng 5 ml/cây, OD dịch khuỷu 0,5 - 1). Lặp lại thí nghiệm 3 lần, mỗi lần cách nhau 10 ngày.

### Các chỉ tiêu đánh giá mức độ biểu hiện bệnh

Để xác định các mức độ biểu hiện bệnh chúng tôi căn cứ theo tiêu chí Lapidot và Friedman đưa ra năm 2002. Theo tác giả, biểu hiện bệnh xoắn vàng lá do TYLCV được chia thành 5 mức độ từ 0 đến 4 (Hình 1).

0. Cây không nhiễm bệnh, sinh trưởng và phát triển bình thường.	1: Những lá trên đỉnh ngon có biểu hiện vàng nhẹ ở mép lá.	2. Lá vàng và xoăn nhẹ ở mép lá.	3: Lá vàng, xoăn và cup xuống đồng thời kích thước lá bị thu nhỏ lại.	4 Lá xoăn, kích thước lá thu nhỏ nhiều, cây cầm cỗi và ngừng sinh trưởng.

Hình 1. Các mức độ biểu hiện bệnh xoăn vàng lá do TYLCV trên cà chua

### Phương pháp PCR nhân gen CP kiểm tra sự có mặt của virus

Thu lá các dòng cà chua sau khi lây nhiễm ở các giai đoạn khác nhau. Tách chiết DNA tổng số theo phương pháp dùng CTAB có cải tiến (Collins, Symons, 1992) [4]. Mẫu lá cà chua được nghiền nhanh trong nitrogen lỏng, bỗ sung đậm đặc và ủ 65°C trong 2 giờ. Dùng chloroform: isoamylalcohol (24 : 1) để loại bỏ tạp chất và dùng isopropanol để tủa DNA. Gen đặc hiệu được khuếch đại với cặp mồi pRV224N/pRC889N nhân gen CP [1]. Thành phần phản ứng PCR bao gồm 12 µl H<sub>2</sub>O; 2 µl đậm 10x; 2 µl MgCl<sub>2</sub> 25 mM, 1,6 µl dNTPs 2,5 mM; 0,8 µl mỗi 10 pmol mỗi loại; 3 µl DNA tổng số và 0,4 µl *Taq* DNA polymerase. Phản ứng được tiến hành trong máy PCR với chu trình nhiệt bao gồm các bước: 94°C/5 phút; 30 chu kỳ (94°C/1 phút; 52°C/1 phút; 72°C/1 phút); kết thúc ở 72°C/10 phút.

### KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### Lây nhiễm TYLCV thông qua bộ phần mang virus ở vườn thí nghiệm có áp lực bệnh

Bảng 1 trình bày kết quả tổng hợp về mức độ biểu hiện bệnh và thời gian chuyển bệnh trung bình của các giống cà chua PT18, GM2008, DV2962, sau lây nhiễm qua bộ phần. So sánh mức độ biểu hiện bệnh và thời gian chuyển bệnh trên các giống cà chua lây nhiễm virus TYLCV bằng bộ phần trong vườn thí nghiệm cho thấy mức độ biểu hiện bệnh và thời gian chuyển bệnh ở các giống cà

chu không đồng đều, ở giống PT 18 là giống mẫn cảm thì có mức độ biểu hiện bệnh cao hơn và thời gian chuyển bệnh cũng nhanh hơn so với các giống kháng virus TYLCV.

PT18 là giống cà chua do Viện nghiên cứu rau quả chọn tạo, khá mẫn cảm với TYLCV. Sau 50 ngày theo dõi, thí nghiệm lây nhiễm ở giống PT18 có 12/15 cây nhiễm virus chiếm tỉ lệ 80%. Bệnh biểu hiện chủ yếu ở mức độ yếu, một số cây biểu hiện không rõ hoặc không biểu hiện bị bệnh. Bên cạnh đó, thời gian chuyển bệnh chậm, sau khoảng 20 đến 25 ngày lây nhiễm bệnh mới biểu hiện. Mức bệnh trung bình là của PT18 là  $1,93 \pm 0,28$ .

Thí nghiệm trên giống GM 2008 thu được tỉ lệ là 73,3% cây bị bệnh sau 50 ngày lây nhiễm bộ phần. Mức độ biểu hiện bệnh thấp ( $1,40 \pm 0,27$ ) và thời gian chuyển bệnh rất chậm (sau 30 - 35 lây nhiễm). Đối với cà chua DV2962, đây là giống được lai tạo và chọn lọc theo hướng kháng với virus TYLCV. Sau 50 ngày lây nhiễm TYLCV bằng bộ phần chỉ có 60% cây có biểu hiện bệnh do TYLCV. Cũng như thí nghiệm trên 2 giống PT18 và GM2008, thời gian chuyển bệnh trên giống DV2962 chậm, trung bình sau lây nhiễm 25 - 30 ngày.

Như vậy, sử dụng bộ phần có thể lây nhiễm TYLCV cho cà chua, hiệu quả lây nhiễm trong bảng bộ phần chưa cao, bệnh biểu hiện chưa rõ. Điều này có thể giải thích do nguồn bộ phần trong vườn thí nghiệm chưa đủ áp lực để lây bệnh nhanh chóng cho các cây thí nghiệm.

**Bảng 1. Kết quả theo dõi mức độ biểu hiện bệnh của các giống cà chua sau lây nhiễm qua bo phẩn**

Giống	Mức độ biểu hiện bệnh của các giống cà chua sau lây nhiễm TYLCV (Ngày theo dõi)							
	20	25	30	35	40	45	50	
PT18	0.0	0.33 ± 0.12	0.66 ± 0.12	0.80 ± 0.14	1.20 ± 0.20	1.60 ± 0.20	1.93 ± 0.28	
GM2008	0.0	0.00	0.50 ± 0.14	0.50 ± 0.14	0.90 ± 0.17	1.10 ± 0.22	1.40 ± 0.27	
DV2962	0.0	0.10 ± 0.09	0.40 ± 0.13	0.50 ± 0.14	0.70 ± 0.17	0.90 ± 0.21	1.20 ± 0.27	
Trung Bình	0.0	0.10 ± 0.05	0.50 ± 0.05	0.60 ± 0.20	0.90 ± 0.14	1.20 ± 0.20	1.50 ± 0.20	

**Bảng 2. Kết quả theo dõi mức độ biểu hiện bệnh của các giống cà chua sau lây nhiễm qua ghép áp**

Giống	Mức độ biểu hiện bệnh (TB) của các giống cà chua sau lây nhiễm TYLCV (Ngày theo dõi)								
	10	15	20	25	30	35	40	45	50
PT18	0.0	0.33 ± 0.12	0.73 ± 0.15	1.13 ± 0.13	1.60 ± 0.13	2.13 ± 0.13	2.60 ± 0.13	3.00 ± 0.13	3.53 ± 0.13
GM2008	0.0	0.0 ± 0.09	0.13 ± 0.09	0.53 ± 0.13	0.87 ± 0.16	1.00 ± 0.19	1.53 ± 0.21	1.93 ± 0.20	2.27 ± 0.24
DV2962	0.0	0.0 ± 0.10	0.20 ± 0.13	0.53 ± 0.10	0.80 ± 0.15	0.93 ± 0.19	1.40 ± 0.19	1.80 ± 0.26	2.13 ± 0.27
Trung Bình	0.0	0.0 ± 0.18	0.35 ± 0.19	0.73 ± 0.25	1.08 ± 0.38	1.35 ± 0.37	1.84 ± 0.37	2.24 ± 0.37	2.64 ± 0.44

*Ghi chú* Mỗi dòng thí nghiệm tiến hành ghép 5 cây, lặp lại thí nghiệm 3 lần biểu hiện bệnh được đánh giá theo mức độ từ 0 đến 4. Kết quả lấy giá trị trung bình của các lần theo dõi TB: Trung bình

#### Lây nhiễm TYLCV thông qua ghép áp với cây bệnh

Tiến hành 3 lô thí nghiệm khác nhau trên 3 giống cà chua PT18; GM2008; DV2962, sau 50 ngày ghép chúng tôi thu được kết quả thể hiện trên bảng 2.

Kết quả cho thấy, ở giống PT18 thời gian chuyển bệnh nhanh, trung bình sau lây nhiễm 15 đến 20 ngày đã có biểu hiện bệnh trên cây, mức độ biểu hiện bệnh trên các cây rõ, trung bình ở mức độ 3 sau ghép 50 ngày ( $3,53 \pm 0,13$ ). Tỷ lệ cây bị bệnh sau 50 ngày lây nhiễm rất cao đạt tỷ lệ 100% cây thí nghiệm đều có biểu hiện bệnh. Đối với giống GM 2008, có thể thấy thời gian chuyển bệnh trung bình sau lây nhiễm 20 đến 25 ngày đã thấy có biểu hiện bệnh trên cây, mức độ biểu hiện bệnh trên các cây tương đối rõ, đạt trung bình  $2,27 \pm 0,24$  sau ghép 50 ngày, tỷ lây nhiễm cao đạt 93,3%.

Cũng tương tự PT18 và GM2008, kết quả thí nghiệm trên cà chua DV 2962 cho thấy mức độ biểu hiện bệnh nhanh sau lây ghép (20 đến 25 ngày) mức độ biểu hiện tương đối rõ, trung bình ở mức độ 2, một số biểu hiện ở mức 3 (Trung bình  $2,13 \pm 0,17$ ) sau 50 ngày ghép. Tỷ lệ cây nhiễm bệnh đạt 86,7% sau 50 ngày ghép.

Như vậy, có thể thấy rằng việc lây nhiễm TYLCV thông qua ghép áp đạt kết quả. Phương pháp này hoàn toàn có thể sử dụng để kiểm tra khả năng kháng TYLCV cho cà chua vì đơn giản, dễ thực hiện, hiệu quả lây nhiễm cao và có thể chủ động, ít phụ thuộc mâu vụ và điều kiện tự nhiên.

#### Lây nhiễm TYLCV thông qua vi khuẩn *Agrobacterium tumefaciens* mang genome virus

Tiến hành tiêm cho mỗi cây khoảng 0,5 ml dịch lây nhiễm chứa vi khuẩn *Agrobacterium*

*tumefaciens* mang cấu trúc PCAMBIA 2300 chứa genome của vi khuẩn bằng xi lanh y tế, thông qua áp lực đẩy xilanh vào mặt dưới các lá thứ 2 hoặc thứ 3 của cây cà chua. Thực hiện lây nhiễm lần 1 khi cây cà chua đạt chiều cao từ 10 – 15 cm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần cách nhau 10 ngày. Theo dõi và đánh giá biểu hiện bệnh do TYLCV gây ra sau 50 ngày lây nhiễm. Kết quả thu được được trình bày ở bảng 3.

Kết quả bảng 3 cho thấy, sau 3 lần lây nhiễm chúng khuân mang vector tái tổ hợp chứa genome TYLCV thu được một số dòng biểu hiện bệnh xoắn vàng lá. Tuy nhiên, sự chuyển biến các mức độ biểu hiện bệnh rất chậm.

Bảng 3. Kết quả theo dõi biểu hiện bệnh của thí nghiệm lây nhiễm TYLCV vào cây cà chua PT8 bằng vi khuẩn Agrobacterium *tumefaciens*

Giống	Mức độ biểu hiện bệnh (TB) của các giống cà chua sau lây nhiễm TYLCV (Ngày theo dõi)					
	25	30	35	40	45	50
PT18	0.0	0.20± 0.11	0.60± 0.13	0.73± 0.12	0.80± 0.14	1.07± 0.21
GM2008	0.0	0.07± 0.07	0.33± 0.13	0.53± 0.13	0.60± 0.13	0.73± 0.18
DV2962	0.0	0.07± 0.07	0.20± 0.11	0.40± 0.13	0.53± 0.13	0.67± 0.16
Trung Bình	0.0	0.11± 0.04	0.38± 0.12	0.55± 0.10	0.64± 0.08	0.82± 0.12

Ghi chú. Mỗi dòng thí nghiệm tiến hành ghép 5 cây, lặp lại thí nghiệm 3 lần biểu hiện bệnh được đánh giá theo mức độ từ 0 đến 4. Kết quả lấy giá trị trung bình của các lần theo dõi TB. Trung bình



Hình 1. Ảnh điện di sản phẩm PCR kiểm tra sự có mặt của TYLCV trong cây cà chua sau lây nhiễm thông qua Agrobacterium *tumefaciens*

(M: marker 1kb; 1-16: sản phẩm nhân gen CP của TYLCV từ các dòng cà chua lây nhiễm)

## KẾT LUẬN

Đã sử dụng ba phương pháp khác nhau để lấy nhiễm TYLCV cho 3 giống cà chua là PT18; GM2008 và DV2962. Kết quả cho thấy phương pháp lấy nhiễm virus thông qua ghép áp giữa cây cần đánh giá và cây mang bệnh cho hiệu quả cao nhất. Tất cả các cây được đánh giá đều biểu hiện bệnh sau 20 – 25 ngày lấy nhiễm. Bệnh biểu hiện rõ ràng và dễ dàng quan sát bằng mắt thường.

## LỜI CẢM ƠN

Bài báo này là sản phẩm khoa học và sử dụng kinh phí từ đề tài cấp đại học “Nghiên cứu các phương pháp nhân tạo để lấy nhiễm virus gây bệnh xoắn vàng lá cà chua” Mã số DH2013-TN06-08.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Thị Hồng Ngọc, Chu Hoàng Hà, Hà Thị Thanh Bình, Nguyễn Thị Loan, Nguyễn Quốc Thông, Lê Trần Bình (2005), “Giải mã đoạn gen protein vỏ của virus gây bệnh xoắn lá ở vùng

chuyên canh cà chua thuộc tỉnh Hưng Yên”. *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 3: 223-230.

2. Nguyễn Thị Hải Yến, Phạm Thị Vân, Chu Hoàng Hà, Chu Hoàng Mậu, Lê Trần Bình (2011) So sánh tính kháng bệnh xoắn vàng lá của các dòng cà chua chuyên gen mang cấu trúc RNAi đơn gen và đồng thời hai gen của Tomato yellow leaf curl virus. Hội thảo quốc gia Bệnh hại thực vật Việt Nam: 290 – 299.

3. Abhary MK Anfoka GH Nakhla MK Maxwell DP (2006) Post-transcriptional gene silencing in controlling viruses of the tomato yellow leaf curl virus complex. *Arch Virol* 151: 2349-2363.

4. Collins GG and Symons RH (1992) Extraction of nuclear DNA from grape vine leaves by a modified procedure. *Plant Mol Biol Rept* 10: 233-235.

5. Fuentes A, Ramos PL, Fiallo E, Callard D, Sánchez Y, Peral R, Rodríguez R, Pujol M (2006) Intron-hairpin RNA derived from replication associated protein C1 gene confers immunity to Tomato yellow leaf curl virus infection in transgenic tomato plants. *Trans Res* 15: 291-304.

6. Johansen LK, Carrington JC (2001), Silencing on the spot. Induction and suppression of RNA silencing in the Agrobacterium-mediated transient expression system.

## SUMMARY

### A NUMBER OF METHOD RESEARCH TO INFECT TOMATO YELLOW LEAF CURL VIRUS

Nguyễn Thị Hải Yến<sup>1\*</sup>, Nguyễn Văn Quang<sup>2</sup>

<sup>1</sup>College of Science – TNU

<sup>2</sup>Luong Ngoc Quyen Senior Secondary School

Tomato Yellow Leaf Curl Virus (TYLCV) is one of the main causes to decrease productivity and quality of growth plant, especially solanaceae. The most effective method to prevent TYLCV is the using of resistant varieties. Infectious method is very important to estimate disease-resistant capability of tomatoes because TYLCV is not widen by brokerage mechanics but by infected vector. In this article, we announced the results of estimates three infectious TYLCV methods for three tomato species (PT18; DV2962 and GM2008), such as infection via *Bemisia tabaci*; infection via approach graftage and via *Agrobacterium tumefaciens* carrying virus genome. Among them, we found that infectious via approach graftage show the best result, high infectious proportion, easy to performance and easy to time control.

**Key words:** Tomato, infection, Agroinoculation, tomato yellow leaf curl virus

Ngày nhận bài: 16/02/2016; Ngày phản biện: 08/3/2016, Ngày duyệt đăng: 29/4/2016

**Phản biện khoa học:** PGS.TS. Nguyễn Vũ Thành Thành – Trường Đại học Khoa học - ĐHTN

\* Tel: 0982982291; Email: nguyenhaiyensh@gmail.com