

كفاءة استخدام التطعيم بالورقة الواحدة في نقل فيروس تجعد الأوراق الأصفر للبندورة

اوس علي حسن¹، أ.د. أحمد محمد مهنا^{2,3}

¹ الهيئة العامة للتقانة الحيوية - دمشق - سورية.

² أستاذ - قسم وقاية النبات - كلية الزراعة - جامعة دمشق

³ الجامعة السورية الخاصة SPU - سورية.

المخلص:

اختُبرت في هذا البحث طريقة التطعيم باستخدام الورقة الواحدة لنبات مصاب لنقل العدوى بفيروس تجعد الأوراق الأصفر للبندورة (*Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) إلى نبات أصل بندورة *Solanum lycopersicum* الصنف أرجوان (ARGWAN) سليم، وأظهرت النتائج نجاح التطعيم بنسبة 85%، وظهرت الأعراض النموذجية للإصابة بالسلالة الشرسة TYLCV-IL عند 27 شتلة من بين 34 شتلة بندورة نجحت فيها عملية التطعيم وبنسبة وصلت 79.4%. بينما تم الكشف عن السلالة الشرسة عند 28 عينة من أصل 34 عينة مطعمة بنسبة 82.35% وذلك باختبار تفاعل البلمرة المتسلسل PCR، وبينت نتائج اختبار PCR إصابة 12 من أصل 32 عينة مطعمة بنسبة 37.5% بالسلالة المعتدلة TYLCV-Mld ولم تظهر الأعراض الظاهرية لفيروس TYLCV عند ثلاث عينات مصابة بالسلالة المعتدلة. أكدت نتائج الدراسة بوضوح أن التطعيم باستخدام الورقة الواحدة يمكن أن يؤمن كمية كافية من اللقاح لنقل فيروس TYLCV إلى الشتول المطعمة.

الكلمات المفتاحية: فيروس تجعد الأوراق الأصفر للبندورة، التطعيم بالورقة الواحدة، اختبار تفاعل البلمرة المتسلسل، TYLCV-IL، TYLCV-Mld.

تاريخ الإيداع: 2021/9/22

تاريخ القبول: 2022/1/8



حقوق النشر: جامعة دمشق -
سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق
النشر بموجب الترخيص
CC BY-NC-SA 04

Efficiency of transmission of Tomato yellow leaf curl virus using single leaflet grafting

Aus A. Hasan¹ and Ahmad M. Mouhanna^{2,3}

¹ National Commission for Biotechnology- Damascus- Syria.

² Prof.. Department of plant protection - Faculty of Agriculture - Damascus University.

³ Syrian Private University (SPU)- Syria.

Abstract:

Grafting using single *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) infected tomato leaflet for transmitting TYLCV infection to healthy rootstock were conducted in this research. The grafting was succeeded with a percentage of 85%, while typical symptoms of infection with TYLCV-IL appeared on 27 seedlings out of 34 tomato seedlings in which the grafting process succeeded, with a percentage of 79.4%. PCR results using TYSF/TYSR primer for grafted seedling samples showed amplification in 28 out of 34 grafted samples with a percentage of 82.35%. whereas 12 of 32 grafted seedling samples were infected with TYLCV-Mld due to PCR results, while typical TYLCV symptoms didn't appear on three TYLCV-Mld infected samples. The results of this study clearly showed that grafting using a single leaflet can provide a sufficient amount of inocula for transmitting TYLCV to grafted seedlings.

Keywords: Tomato Yellow Leaf Curl Virus, Single leaflet grafting, PCR, TYLCV-IL, TYLCV-Mld.

Accepted: 8/1/2022

Published:



Copyright: Damascus University- Syria, The authors retain the copyright under a CC BY- NC-SA

المقدمة:

يعدّ فيروس تجعد الأوراق الأصفر للبندورة (TYLCV, *Begomovirus*, *Geminiviridae*) *Tomato yellow leaf curl virus* أحد أهم الفيروسات التي تسبب أضراراً اقتصادية هامة (Glick *et al.*, 2009, 81)، حيث اكتشف للمرة الأولى في فلسطين المحتلة عام 1930 وسُجّلت إصابات موثقة في كل مناطق زراعة البندورة في مختلف قارات العالم (Mabvakure *et al.*, 2016, 258). إنّ الحفاظ على السلالات والعزلات الفيروسية مع القدرة على نقلها من نباتات مصابة إلى أخرى سليمة هو خطوة أساسية لدراساتها من الناحية البيولوجية والوراثية والتطورية (Lee *et al.*, 2017, 345). تستخدم ضمن هذا الإطار الطريقة الميكانيكية كأفضل الطرائق وأكثرها شيوعاً في نقل العدوى الفيروسية، ولكن لا يمكن اعتمادها في نقل بعض أنواع الفيروسات التي تنتقل حصراً باستخدام النواقل الحويوية (Whitfield *et al.*, 2015, 287)، كما هو الحال مع فيروس TYLCV الذي ينتقل حصراً بواسطة ذبابة التبغ البيضاء *Bemisia tabaci* بالطريقة المثابرة الدوارة ولا ينتقل بالطريقة الميكانيكية (Zhao *et al.*, 2019, 1)، وتختلف كفاءة ذبابة التبغ البيضاء في نقله باختلاف الطرز الحويوية (يوسف، 2017، 1)، وبالرغم من ذلك تعتمد غالبية تجارب العدوى الاصطناعية بهذا الفيروس على نقله بواسطة ذبابة التبغ البيضاء (Wei *et al.*, 2014, 13460).

تعد عملية نقل والحفاظ على السلالة الفيروسية من خلال تربية الذبابة البيضاء في المخبر عملية معقدة وتحتاج لجهد كبير للحفاظ على مستعمرات الذبابة البيضاء، إضافة لضرورة تطبيق قواعد حجر صارمة في المخبر منعاً لحدوث عدوى أو تلوث للمجتمعات المختلفة من الذباب الأبيض الحامل لعزلات وسلالات مختلفة من فيروس TYLCV (Guo *et al.*, 2019, 241)، لذا فقد استُخدم التطعيم بالأجزاء الخضرية لنقل العدوى عند العديد من ممرضات النبات ذات الانتشار الجهازي كالفيروسات والبكتيريا (Hilf and Lewis, 2016, 452).

تتمثل إحدى أهم ميزات استخدام التطعيم لنقل العدوى في التعرض المستمر للنبات الأصل لتركيز عالٍ من اللقاح بالعامل الممرض. إذ أنه بمجرد التحام الأوعية الناقلة للطعم بالأصل يمكن للعامل الممرض أن يبدأ بالانتقال ويشكل مستمر من أنسجة الطعم إلى أنسجة الأصل السليم، لذا فقد استخدم التطعيم كوسيلة لنقل العدوى عند عدد كبير من الفيروسات الممرضة للنبات والتي لا يمكن إجراء العدوى الميكانيكية فيها بسهولة، حيث اعتمدت كطريقة بسيطة وفعالة لإحداث العدوى الاصطناعية ومنها طريقة التطعيم باستخدام ورقة واحدة من نبات مصاب بفيروس TYLCV كمصدر للقاح (Lee *et al.*, 2017, 345)، وقد تبين في اختبار مقارنة قام به Azizi وآخرون (2008, 199) ظهور مقاومة للإصابة الفيروسية عند إجراء العدوى الاصطناعية بواسطة ذبابة التبغ البيضاء على الأصل البري للبندورة *Solanum peruvianum*، بينما ظهرت أجزاء من الحمض النووي الفيروسي DNA لفيروس TYLCV عند نباتات النوع ذاته عند إجراء العدوى الاصطناعية بواسطة عملية التطعيم، ما يدل على كفاءة أعلى لعملية نقل العدوى الفيروسية بالتطعيم، لذا هدف هذا البحث لاختبار طريقة التطعيم بالورقة الواحدة لنقل العدوى بفيروس TYLCV عند نبات البندورة *Solanum lycopersicum* الصنف أرجوان (ARGWAN).

مواد البحث وطرائقه:



الشكل (1): أعراض الإصابة بفيروس TYLCV في بعض العينات التي جمعت من البيوت المحمية.

أجري مسح حقلي شمل 43 بيتاً محمياً في محافظة اللاذقية، خلال الفترة من كانون أول 2018 لغاية تشرين الثاني 2019، جُمع خلالها 19 عينة لنبات البندورة والتي أظهرت أعراضاً شبيهة بالأعراض التي يسببها فيروس TYLCV، والتي تتمثل باصفرار عام على النبات وتقرم وقصر السلاميات، وتغير لون الأوراق وتشوهها والتفاف حواف هذه الأوراق باتجاه الأعلى، فشل في عقد الأزهار وانخفاض حجم ونوعية الثمار في النباتات المصابة (شكل 1).

زُرعت مباشرة عُنق من هذه النباتات المصابة ضمن أصص بلاستيكية تحوي خلطة (تورب، تربة، رمل) (1:1:1) حجم، ومغطاة بشاش لمنع انتقال ذبابة التبغ البيضاء المرافقة بين العينات المختلفة، ونُقلت الأصص إلى المختبر لحين إجراء الاختبارات عليها (شكل 2).



الشكل (2): بعض العينات التي ظهرت عليها أعراض الإصابة الفيروسية ضمن أصص بلاستيكية معزولة.

فُحصت النباتات باختبار PCR حيث استخلص الحمض النووي حسب طريقة دوديسيل كبريتات صوديوم (SDS) Sodium Dodecyl Sulfate الموصوفة من قبل Gilbertson وآخرون (1991, 2845) مع بعض التعديلات المعتمدة من قبل حسن ومهنا (2016, 178) بإضافة بروتيناز K لمحلول الاستخلاص ورفع سرعة التثقيب لترسيب أفضل للحمض النووي (SDS: 50 mM، Tris-HCL: 100 mM (pH=8)، EDTA: 50 mM، NaCl: 500 mM، β -mercaptoethanol: 10 mM، Potassium Acetate: 10 mM (pH=4.5)، Proteinase K: 0.1 mg/ml).

أُجريَ تفاعل PCR باستخدام مجموعة من البادئات الخاصة بالكشف عن فيروس TYLCV وسلالاته الأكثر انتشاراً في دول الجوار (TYLCV-Mid، TYLCV-IL، TYLCV-ES، TYLCSV-Sic). أنجز تفاعل الـ PCR ضمن مخبر التقانات الحيوية بكلية الزراعة في جامعة دمشق بحجم كلي 25 µl باستخدام PromegaGoTaq® Green Master Mix 2X، وباستخدام البادئات الموضحة في الجدول (1)، وباستخدام جهاز (TC-5000 Thermocyclertechnique Ltd. (UK) كالتالي: 5 دقائق عند حرارة 94°س للفصل الأولي Initial Denaturation، متبوعاً بـ 40 دورة وفق ما يلي (30 ثانية عند حرارة 94°س لفصل سلسلتي الحمض النووي DNA Denaturation، 45 ثانية لارتباط البادئة Annealing والتي اختلفت تبعاً للبادئ (جدول 2)، دقيقة واحدة عند حرارة 72°س للاستطالة Extension) 10 دقائق عند حرارة 72°س للاستطالة النهائية Final Extension. رُحلت نواتج تضخيم الـ PCR على هلام من الأغاروز تركيز 1.5%.

الجدول (1): تسلسل نكليوتيدات البادئات المستخدمة للكشف عن أهم سلالات فيروس TYLCV

المرجع	درجة الارتباط C°	التسلسل النكليوتيدي 5'→3'	رمز البادئ	الفيروس
(Wyatt and Brown, 1996, 1289)	53	ACGCCCCGYCTCGAAGGTTTCG	TycpV369	TYLCV
		GTACAWGCCATATAACAATAACAAGGC	TycpC1023	
(Al-Abdallat et al., 2011, 276)	47	AAGCGCTCCAAAATAAATTG	TYMF	TYLCV-Mid
		TACTAATTCCTTAATGATC	TYMR	
(Al-Abdallat et al., 2011, 276)	47	CGTTTATTTAAAATATATGCC	TYSF	TYLCV-IL
		GGAAACTCCAAAATCAATGA	TYSR	
(Anfoka et al., 2005, 66)	62	TTTTATTTGTTGGTGTGGTAGTTGAAG	TYAlmv2516	TYLCSV-ES
		ATATTGATGGTTTTTCAAACCTTAGAAG	TYAlmc115	
(Anfoka et al., 2008, 313)	52	TGGAAAGTACCCCATCAAGAACATC	Sa2267	TYLCSV-Sic
		TGCCTTGGACAATGGGGACAGCAG	RVC427	

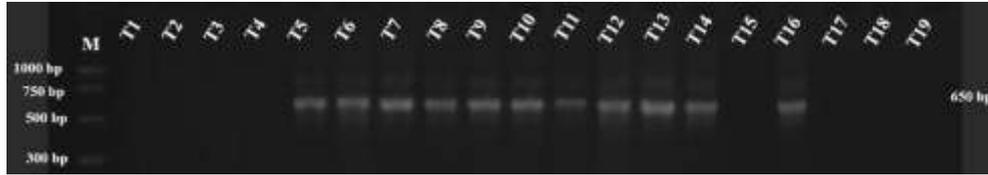
المادة النباتية: استُخدمت شتول البندورة (صنف أرجوان الحساس للإصابة بفيروس TYLCV) بعمر ستة أسابيع كنباتات أصل لتطعيم الورقة الواحدة عليها، والتي زُرعت ضمن أصص محكمة العزل بواسطة أقفاص من الشباك الناعمة لمنع إصابتها بأي نوع من الحشرات أو الممرضات وعدم نقل أي عدوى فيروسية، حيث تم التأكد من غياب الإصابة الفيروسية عند نباتات الأصل بطريقة PCR باستخدام زوج البادئات (TycpV369/TycpC1023) وأثبتت النتائج خلو هذه النباتات من الإصابة بمختلف سلالات فيروس TYLCV.

أخذت الطعوم من النباتات المصابة المختبرة وأُجريت عملية التطعيم بإحداث شق طولي صغير في ساق النبات الأصل وذلك بإزالة الورقة الحقيقية الأولى، وأدخلت الحافة المشطوفة للورقة الطعم داخل الشق في ساق نبات الأصل وتم تثبيتها إلى الساق باستخدام ملقط تثبيت خاص بالتطعيم بهدف الحفاظ على انتصاب الورقة الطعم باتجاه الأعلى خلال عملية التحام الأصل بالطعم، ثم نقلت الشتول المطعمة إلى الظل ضمن أقفاص محكمة الإغلاق لمنع وصول الحشرات إليها ووضعت لمدة أسبوعين عند درجات حرارة 26°س خلال النهار و20°س ليلاً ورطوبة نسبية لا تقل عن 95% تجنباً لذبول الطعم.

حُسبت نسبة نجاح التطعيم بعد أربعة أسابيع من عملية التطعيم، ثم اختبرَت النباتات المطعمة للتأكد من نجاح عملية نقل العدوى الفيروسية بعد خمسة أسابيع من التطعيم وذلك باستخلاص الحمض النووي DNA من الأوراق العلوية للنباتات المطعمة وأجري عليها اختبار PCR للتأكد من وجود الفيروس.

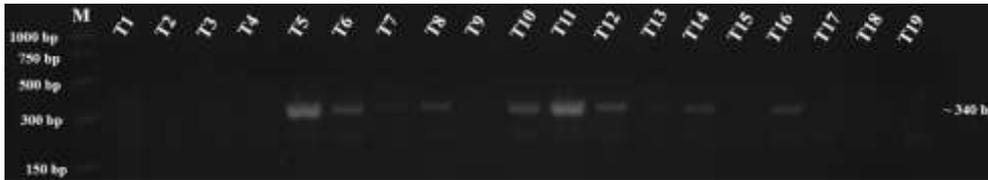
النتائج والمناقشة:

الكشف عن سلالات TYLCV عند العينات الحقلية باختبار PCR:



الشكل (3): الرحلان الكهربائي لمنتجات تفاعل البلمرة المتسلسل Generic PCR باستخدام البادئات المتعددة TycpV369/TycpC1023.

أظهر الرحلان الكهربائي لمنتجات الـ Generic PCR للكشف عن فيروس TYLCV باستخدام زوج البادئات المتعددة TycpV369/TycpC1023 وجود تفاعل إيجابي بظهور حزمة واحدة بوزن جزيئي 650 bp عند 11 من أصل 19 عينة بنسبة مئوية 57.9% (شكل 3).



الشكل (4): الكشف عن إصابة العينات النباتية بالسلالة الشرسة TYLCV-IL باختبار PCR باستخدام زوج البادئات TYSF/TYSR.

كما بينت نتائج الرحلان الكهربائي لمنتجات PCR باستخدام زوج البادئات TYSF/TYSR، والذي يضحّم جزءاً من مورثة بروتين التضاعف Rep عند السلالة الشرسة TYLCV-IL، وجود حزمة واحدة بوزن جزيئي 336 bp بمجموع 11 من أصل 19 عينة مختبرة ونسبة مئوية 57.9%، فيما لم تتفاعل باقي العينات ولم تعطِ أي حزمة (شكل 4).



الشكل (5): الكشف عن إصابة العينات النباتية بالسلالة المعتدلة TYLCV-Mid باختبار PCR باستخدام زوج البادئات TYMF/TYMR.

وعند إجراء الرحلان الكهربائي لمنتجات الـ PCR للكشف عن السلالة المعتدلة TYLCV-Mid باستخدام زوج البادئات TYMF/TYMR ظهرت حزمة واحدة بوزن جزيئي 450 bp لدى خمسة من أصل 19 عينة مختبرة بنسبة 26.3% (شكل 5). وهذا يتفق مع ما أكدته Hasan و Mouhanna (2016, 278) من الانتشار الواسع لكل من السلالتين المعتدلة والشرسة لفيروس TYLCV في الساحل السوري.

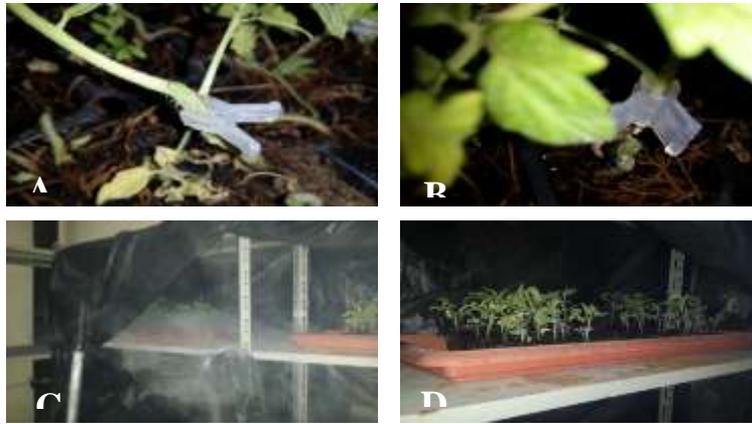
بينما لم يلاحظ وجود أي حزمة عند جميع العينات المختبرة عند استخدام كل من زوج البادئات TYAlmv2516/TYAlmc115 المتخصص بالكشف عن السلالة TYLCSV-ES، وزوج البادئات Sa2267/RVC427 المتخصص بالكشف عن السلالة TYLCSV-Sic، وذلك على الرغم من تسجيل وجود سلالة صقلية من قبل حسن ومهنا (2021) وسلالة إسبانيا (حسن ومهنا، 2022) على نبات البنندورة في الساحل السوري.

نقل العدوى الفيروسية بالتطعيم بالورقة الواحدة

نُقِلَت العدوى الفيروسية بالتطعيم بالورقة الواحدة لكل من السلالتين المكتشفتين في العينات المصابة (TYLCV-IL و TYLCV-Mid) بعدد 40 عينة نباتية لكل سلالة، وبيّنت نتائج اختبار PCR باستخدام زوج البادئات (TycpV369/TycpC1023) عدم وجود إصابة بأي من سلالات فيروس TYLCV عند شتول البندورة المزروعة من صنف أرجوان قبل التطعيم:

1. نتائج عملية التطعيم

أوضحت نتائج عملية التطعيم بالورقة الواحدة على الشتول المزروعة نجاح التطعيم عند 34 شتلة بندورة من أصل 40 عينة مزروعة بنسبة 85% عند النباتات التي نقلت إليها العدوى بالسلالة الشرسة TYLCV-IL، بينما نجح التطعيم عند 32 شتلة بندورة من أصل 40 عينة مزروعة بنسبة 80% عند الشتول التي نقلت إليها العدوى بالسلالة المعتدلة TYLCV-Mid (شكل 6).



الشكل (6): بعض خطوات عملية التطعيم بالورقة الواحدة

B&A شتول مطعمة مثبتة بملقط تطعيم خاص بالخضار

D&C وضع الشتول في جهاز الترطيب للحفاظ على حيوية الشتول المطعمة.

2. نتائج نقل العدوى الفيروسية لشتول البندورة بطريقة التطعيم بالورقة الواحدة



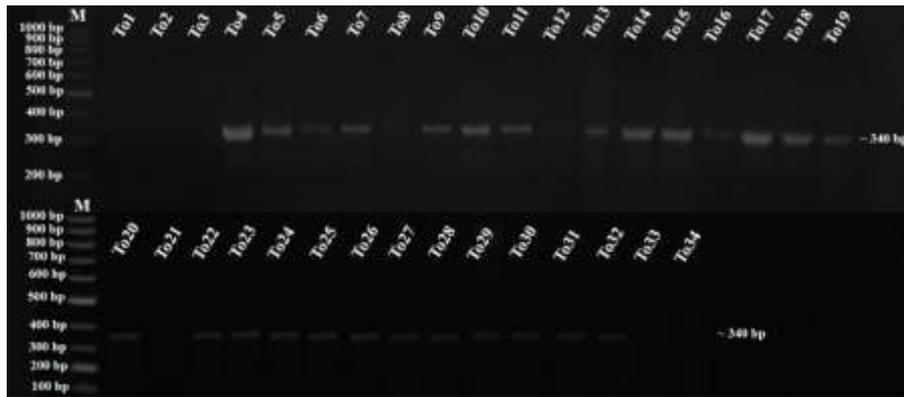
الشكل (7): تكشف الأعراض الظاهرية لفيروس TYLCV على نباتات البندورة المطعمة بعد خمسة أسابيع من التطعيم: A- نباتات مطعمة بالسلالة

B- TYLCV-IL - نباتات مطعمة بالسلالة TYLCV-Mid.

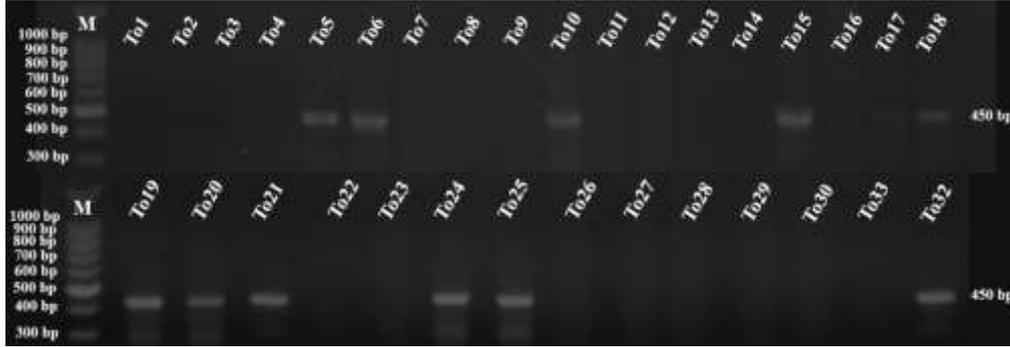
حُسبت نسبة تكتشف الأعراض الظاهرية المميزة لفيروس TYLCV عند النباتات المطعمة بعد مرور خمسة أسابيع على عملية التطعيم. إذ ظهرت هذه الأعراض عند 27 نبات مطعم بالسلالة الشرسة TYLCV-IL من أصل 34 نبات بحيث نجحت عملية نقل العدوى الفيروسية بنسبة 79.4% (شكل A7)، بينما ظهرت الأعراض الظاهرية عند 9 نباتات مطعمة بالسلالة المعتدلة TYLCV-Mld من أصل 32 نبات مطعم بنسبة 28.125% (شكل B7).

كما أكدت نتائج اختبار تفاعل البلمرة المتسلسل PCR للكشف عن السلالة TYLCV-IL عند عينات الشتول المطعمة وجود حزمة واحدة بوزن جزيئي 336 bp عند 28 من أصل 34 عينة مطعمة بنسبة 82.35% (شكل 8)، وقد تفاعلت العينة To7 إيجاباً باختبار PCR على الرغم من عدم تكتشف الأعراض الظاهرية المميزة للإصابة بالسلالة الشرسة للفيروس TYLCV-IL، أما بالنسبة للسلالة الفيروسية TYLCV-Mld أكدت نتائج اختبار PCR باستخدام زوج البادئات TYMF/TYMR أن 12 من أصل 32 عينة مطعمة كانت مصابة بنسبة 37.5% وأعطت كل منها حزمة واحدة بوزن جزيئي 450 bp (شكل 9)، وقد لوحظ أن العينات (To10، To17، To18) أعطت تفاعلاً إيجابياً باختبار PCR وذلك برغم الغياب الكلي للأعراض الظاهرية المميزة لفيروس TYLCV عند هذه العينات، يمكن أن يعزى غياب الأعراض الظاهرية عند بعض النباتات المصابة بالعزلتين TYLCV-IL و TYLCV-Mld لعدد من العوامل منها غياب المرافق بيثا DNA β -Satellite (Gelbart *et al.*, 2020,2) أو أن تركيز الفيروس منخفض أو قد يؤثر لوجود عازلة محلية جديدة للسلالتين الشرسة والمعتدلة لاتحرض على ظهور الأعراض الظاهرية المميزة عند النباتات المصابة، ما يحتاج للمزيد من الدراسة على المستوى الجزيئي وتحليل تتابع النكليوتيدات لتعريف هذه العزلات المحلية إن وجدت، خصوصاً أن دراسات سابقة قام بها Hasan و Mouhanna (2016, 285) بيّنت وجود عدة عزلات محلية للسلالتين TYLCV-IL و TYLCV-Mld وانتشارهما في الساحل السوري.

وبالتالي لايمكن الاعتماد على الأعراض الظاهرية فقط كمؤشر لانتقال فيروس TYLCV من الطعم المصاب إلى الأصل السليم وذلك لغياب الأعراض الظاهرية عند عدد من العينات التي أثبت اختبار PCR إصابتها بسلالتي فيروس TYLCV.



الشكل (8): الكشف عن إصابة العينات النباتية المطعمة بالسلالة الشرسة TYLCV-IL باختبار PCR باستخدام زوج البادئات TYSF/TYSR.



الشكل (9): الكشف عن إصابة العينات النباتية المطعمة بالسلالة المعدلة TYLCV-M1d باختبار PCR

باستخدام زوج البادئات TYMF/TYMR.

أوضحت هذه الدراسة نجاح استخدام طعم الورقة الواحدة لنبات البدنورة المصاب بفيروس TYLCV بنقل كمية كافية من اللقاح الفيروسي للشنول المطعمة لإحداث العدوى الفيروسية، وهو ما يتفق مع العديد من الدراسات العالمية التي أشارت لأهمية استخدام التطعيم في نقل العدوى الفيروسية (Malekzadeh *et al.*, 2011, 308).

وبالتالي فإن استخدام طريقة العدوى بالتطعيم الموصوفة في هذا البحث يوفر المزيد من المرونة لإجراء الأبحاث المتعلقة بفيروس TYLCV بما فيها اختبار الأصناف المقاومة (Azizi *et al.*, 2008, 204)، الحفاظ على العزلات الفيروسية ودراسة الخصائص التطورية للفيروس (Lee *et al.*, 2017, 348).

الاستنتاجات:

- 1- نجاح نقل العدوى بفيروس TYLCV إلى نباتات بدنورة سليمة من خلال التطعيم باستخدام ورقة واحدة مصابة بهذا الفيروس.
- 2- لا يمكن الاعتماد على الأعراض الظاهرية كمؤشر لانتقال السلالتين TYLCV-IL و TYLCV-M1d من الطعم المصاب إلى الأصل السليم وذلك لغياب الأعراض الظاهرية عند عدد من العينات التي أثبت اختبار PCR إصابتها بفيروسات هاتين السلالتين.

المراجع References:

3. حسن، اوس علي ومهنا، أحمد محمد (2016). تقييم عدة طرائق لاستخلاص الـ DNA من نبات الفليفلة *Capsicum annuum L.* للكشف عن فيروسات تابعة لجنس *Begomovirus*. مجلة جامعة البعث، مج: 38. عدد: 12. ص: 169-196. حمص: سورية. جامعة البعث.
4. حسن، اوس علي ومهنا، أحمد محمد. (2021). التحري عن سلالة صقلية لفيروس تجعد الأوراق الأصفر على البندورة TYLCSV-Sic على نبات البندورة ضمن البيوت المحمية في الساحل السوري. مجلة جامعة حماة. مج: 4. حماة: سورية. جامعة حماة.
5. حسن، اوس علي ومهنا، أحمد محمد. (2022). التحري عن السلالة الإسبانية لفيروس تجعد الأوراق الأصفر على البندورة TYLCSV-ES المنتشرة ضمن البيوت المحمية في الساحل السوري. مجلة وقاية النبات العربية. مج: 40. عدد: 1. قيد النشر.
6. يوسف، علام علي. (2017). توصيف الجينوم لفيروسات تابعة لجنس *Begomovirus* في سوريا والكشف عنه في ناقله الحوي *Bemisia tabaci*. ماجستير. وقاية النبات. كلية الزراعة. جامعة دمشق. دمشق: سورية. 150.
7. Glick, M., Levy, Y., & Gafni, Y. (2009). The Viral Etiology of Tomato Yellow Leaf Curl Disease - A Review. *Plant Protection Sciences*, 3, 81-97.
8. Mabvakure, B., Martin, D., Kraberger, S., Cloete, L., Brunschot, S., Geering, A., Thomas, J., Bananej, K., Lett, J. M., Lefeuvre, P., Varsani, A. & Harkins. G. (2016). Ongoing geographical spread of Tomato yellow leaf curl virus, *Virology*, 498, 257-264. <http://dx.doi.org/10.1016/j.virol.2016.08.033>
9. Lee, H., Kim, M. K., Choi, H. S., Kang, J. H., Ju, H. J., & Seo, J. K. (2017). Efficient Transmission and Propagation of Tomato Chlorosis Virus by Simple Single-Leaflet Grafting. *The plant pathology journal*, 33(3), 345-349. <https://doi.org/10.5423/PPJ.NT.02.2017.0039>
10. Whitfield, A. E., Falk, B. W., & Rotenberg, D. (2015). Insect vector-mediated transmission of plant viruses. *Virology*, 479-480, 278-289. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.03.026>
11. Zhao, J., Chi, Y., Zhang, X. J., Lei, T., Wang, X. W., & Liu, S. S. (2019). Comparative proteomic analysis provides new insight into differential transmission of two begomoviruses by a whitefly. *Virology journal*, 16(1), 32. <https://doi.org/10.1186/s12985-019-1138-4>
12. Wei, J., Zhao, J. J., Zhang, T., Li, F. F., Ghanim, M., Zhou, X. P., Ye, G. Y., Liu, S. S., & Wang, X. W. (2014). Specific cells in the primary salivary glands of the whitefly *Bemisia tabaci* control retention and transmission of begomoviruses. *Journal of virology*, 88(22), 13460-13468. <https://doi.org/10.1128/JVI.02179-14>
13. Guo, Q., Shu, Y. N., Liu, C., Chi, Y., Liu, Y. Q., & Wang, X. W. (2019). Transovarial transmission of *Tomato Yellow Leaf Curl Virus* by seven species of the *Bemisia tabaci* complex indigenous to China: Not all whiteflies are the same. *Virology*, 531, 240-247. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2019.03.009>
14. Hilf, M. E., & Lewis, R. S. (2016). Transmission and Propagation of 'Candidatus Liberibacter asiaticus' by Grafting with Individual Citrus Leaves. *Phytopathology*, 106(5), 452-458. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-09-15-0221-R>
15. Azizi, A., Mozafari, J., & Shams-bakhsh, M. (2008). Phenotypic and Molecular Screening of Tomato Germplasm for Resistance to Tomato Yellow Leaf Curl Virus. *Iranian Journal of Biotechnology*, 6(4), 199-206.

16. Gilbertson, R., Rojas, M., Russell, D., & Maxwell, D. (1991). Use of the asymmetric polymerase chain reaction and DNA sequencing to determine genetic variability of Bean golden mosaic Geminivirus in the Dominican Republic. *The Journal of general virology*. 72, 2843-2848.
17. Wyatt, S. D., & Brown, J. K. (1996). Detection of subgroup III geminivirus isolates in leaf extracts by degenerate primers and polymerase chain reaction. *Phytopathology*. 86, 1288-1293.
18. Al-Abdallat, A., Al-Debei, H., Akash, M., Misbeh, S. & Kvarnheden, A. (2011). Complete Nucleotide Sequences and Construction of Infectious Clones of Two Jordanian Isolates of Tomato Yellow Leaf Curl Virus, *Jordan Journal of Agricultural Sciences*. 7(2), 273-283.
19. Anfoka, G. H., Abhary, M., & Nakhla, M. K. (2005). Molecular Identification of Species of the Tomato Yellow Leaf Curl Virus Complex in Jordan. *Journal of Plant Pathology*. 87, 65-70.
20. Anfoka, G., Abhary, M., & Haj Ahmad, F. (2008). Survey of tomato yellow leaf curl disease-associated viruses in the Eastern Mediterranean Basin. *Journal of Plant Pathology*. 90, 311-320.
21. Hasan, A. A., & Mouhanna, A. M. (2016). Detection of *Tomato Yellow Leaf Curl Virus* TYLCV in some vegetable crops in greenhouses and identify its strains in the Syrian Coast. *International Journal of ChemTech Research*, 9(11), 278-286.
22. Gelbart, D., Chen, L., Alon, T., Dobrinin, S., Levin, I., & Lapidot, M. (2020). The recent association of a DNA betasatellite with Tomato yellow leaf curl virus– A new threat to tomato production. *Crop Protection*, 128, 104995. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.104995>
23. Malekzadeh, S., Bananej, K. & Vahdat, A. (2011). Serological and molecular identification of *Tomato yellow leaf curl virus* in Khuzestan province of Iran, *Phytopathologia Mediterranea*, 50(2), 303-309.

