

دراسة حساسية أصناف مختلفة من الطماطة باستعمال تقنية الـ PCR

عبد الكريم قاسم المولى¹، كاظم جاسم حمادي² ومثنى عكيدي عبد³

1 مديرية زراعة ميسان، وزارة الزراعة

2 مركز ابحاث النخيل، جامعة البصرة

3 الهيئة العامة للبحوث الزراعية التطبيقية، وزارة الزراعة

الخلاصة. استخدمت تقنية PCR لأول مرة في الكشف عن الفايروس TYLCV في أصناف مختلفة من الطماطة في بعض مناطق زراعة الطماطة في العراق، شملت محافظة البصرة وميسان وكربلاء وبغداد للتأكد من وجود الفايروس اظهر خلالها الاختبار تفاوت الأصناف المختلفة في إصابتها بالفايروس TYLCV إذ لوحظ ظهور الحزم المتوقعة (400 ~) زوج قاعدي في الأصناف المصابة بالفايروس باستخدام بادئات خاصة و سجل الفايروس لأول مرة في محافظة ميسان على أصناف من الطماطة.

الكلمات المفتاحية: PCR، TYLCV.

ثنائية متعددة الأوجه Twinned Icosahedral particle تتكون الفايروسات التوأمية Geminiviruses من قطعة واحدة من DNA (Monopartite) أو من قطعتين (Stanley Bipartite وآخرون، 2005). يعد التشخيص المبكر للأمراض الفايروسية ضروري جدا لتجنب الخسائر الكبيرة في الإنتاج.

أن الطرق المتعارف عليها في كشف الإصابات الفايروسية وضعت على أساس الأعراض التي تظهر على النباتات الكاشفة Indicator plants و الاختبارات السيرولوجية، ألا انه يحصل في بعض الحالات، وخاصة بالنسبة للفايروسات التوأمية المنقولة بوساطة الذباب الأبيض، أن هذه الاختبارات غير فعالة بشكل كاف نتيجة للصعوبات الكبيرة في الحصول على كميات كافية من الانتجين الفايروسي Viral antigen لإنتاج المصل المضاد Antiserum إضافة إلى التقدير غير الدقيق للأعراض لتشابهها مع الأعراض المتكونة نتيجة لظروف النمو والتربة والمناخ مما جعل

المقدمة

يعد مرض تجعد واصفرار أوراق الطماطة المتسبب عن فايروس *Tomato yellow leaf curl Virus* والفايروسات القريبة الصلة هو المرض الأكثر تدميرا للطماطة، تظهر الأعراض بعد عدة أسابيع من الإصابة وتشمل تقزما شديدا واختزال واضح في حجم الورقة وتجعد واصفرار حافاتها وتبرقشها، سقوط الإزهار وانخفاض ملحوظ في الإنتاج (Cohen و Antignus، 1994). عزل الفايروس TYLCV عام 1988 ووصف وشخص كأحد الفايروسات من عائلة Geminiviridae، جنس (Czosnek و Begomovirus وآخرون، 1988). وفي بداية عام 1990 حدد تسلسل جينومة (Navot وآخرون، 1991)، ومن ذلك الحين، شخصت سلالات عديدة للفايروس. تتكون المادة الوراثية للفايروس و لكل أفراد عائلة Geminiviridae من شريط حلقي مفرد من الحامض النووي الريبوزي منقوص الأوكسجين DNA ويطول 2700 زوج قاعدي تقريبا ومغلقة بجزيئات

مستمر نتيجة للطلب المتزايد عليها وتقدر بحوالي 287629 دونم للموسم الزراعي 2011-2012 و من الطبيعي أن يرافق هذه الزيادة ظهور العديد من الآفات الزراعية التي تصيب محصول الطماطة ومن بينها الفايروسات النباتية و بصورة خاصة فايروس تجعد واصفرار أوراق الطماطة TYLCV الذي أصبح عاملا محددًا في إنتاج الطماطة، فقد تقدر الخسائر بالإنتاج في العراق 100 % (جرجيس، 1977 ولطيف، 1983). وفي البصرة على وجه الخصوص تقدر الخسائر 80 % (علي وآخرون، 1989).

وبالنظر لأهمية هذا المرض فقد جاءت هذه الدراسة بهدف تشخيص هذا الفايروس TYLCV و لاختبار حساسية أصناف مختلفة من الطماطة مزروعة في مناطق زراعة مختلفة في العراق بواسطة تقنية PCR.

التقنيات الجزيئية Molecular techniques هي الطرق المهمة للكشف الدقيق عن الفايروسات النباتية. أن تفاعل البوليمريز المتسلسل Polymerase chain reaction أصبح التقنية الأكثر استخدامًا في الكشف عن الفايروسات النباتية وتشخيصها لسرعتها، وحساسيتها وتخصصها وموثوقيتها (Henson و French، 1993) كما أنه باستخدام PCR أمكن التغلب على الكثير من المصاعب المتعلقة باستخدام الطرق السيرولوجية (Herrera و آخرون، 1999) ولذا أصبح هذا الاختبار منذ اكتشافه من قبل Mullis وآخرون (1986).

من أهم الاختبارات التشخيصية للأمراض النباتية الفايروسية، إذ انه يسمح بتكثيف إنتاج الحامض النووي المستهدف ولو كان بتركيز منخفض جدا. في العراق، فان المساحات المزروعة لمحصول الطماطة في ازدياد

جدول (1) يمثل أصناف الطماطة المختبرة في اختبار الـ PCR.

ت	البصرة	العمارة	كربلاء	بغداد
1	سوبر ماريموند	وجدان	شهيره	17
2	هتوف	هتوف	ساتدا	
3	ياسمين	اولكا	علا	
4	دنا	ارليتا	SG	
5	باريكا	دلال	غير معروف	
6	سيدي			
7	هايمر			
8	سيمونا			
9	942			
10	المجد			
11	سمارا			
12	شديدي ليدي			
13	سلطانة			
14	علا			
15	باريتا			
16	أملي			
17	أسيل			

وكذلك بعض المناطق المزروعة بالطماطة في محافظة كربلاء أما بغداد فقد تمت زيارة البيوت البلاستكية في كلية الزراعة - جامعة بغداد جلبت إلى مختبر الوراثة الجزيئية في كلية الزراعة / جامعة البصرة وحفظت النماذج بدرجة -20°C لحين إجراء اختبار PCR (جدول - 1).

المواد وطرائق العمل

جمع عينات النباتات المصابة

جلبت عينات من أوراق الطماطة المشتبه بإصابتها بفيروس تجعد واصفرار أوراق الطماطة في محافظة البصرة (البرجسية وصفوان) ومناطق زراعة الطماطة في محافظة ميسان شملت كميت وعلي الشرقي وعلي الغربي ومركز المحافظة و المجر الكبير و الكحلاء

Master mix و حجم مناسب من الماء المقطر المعقم لإكمال الحجم إلى 20 مايكروليتر تم تحضير هذه المواد في مكان معقم و نظيف في كابينة خاصة PCR Cabinete التي تحتوي أشعة فوق بنفسجية UV لتعقيم الأدوات المستعملة في العمل. استخدم البرنامج التالي في إجراء عملية التضخيم تغيير طبيعة الحامض النووي Initial denaturation بدرجة حرارة 95°م لمدة 4 دقيقة، متبوعاً بـ 35 دورة من Denaturation بدرجة حرارة 95°م لمدة 30 ثانية والتصاق Annealing البادئات مع سلاسل الحامض النووي المستهدفة بدرجة حرارة 60°م لمدة 30 ثانية ثم تمدد كل بادئ عبر المنطقة المستهدفة بدرجة حرارة 72°م لمدة 30 ثانية بعدها التمدد النهائي Extension لكل بادئ بدرجة حرارة 72°م لمدة 10 ثانية وأنجزت تقنية PCR في جهاز Thermocycler موديل GTC و في قسم من عينات محافظة ميسان تم التضخيم في مختبر وحدة أبحاث الخلية والتقنية الحيوية في كلية العلوم - جامعة البصرة و قد استخدمت ثلاث برامج في أن واحد في جهاز Thermocycler (Applied Biosystem-Viriti) و باستخدام البادئ Primer V61 لبرنامج الأول كما في (جدول-2).

أجريت هذه الاختبارات في مختبر الوراثة الجزيئية في كلية الزراعة ومختبر وحدة أبحاث الخلية و التقنية الحيوية في كلية العلوم و مختبر الـ PCR في كلية التربية / جامعة البصرة. تم إجراء التشخيص الجزيئي لكل العينات التي جلبت من محافظات البصرة و ميسان وكربلاء و بغداد. وقبل البدء بإجراء اختبار PCR استخلص DNA الفايروسي من النباتات المصابة باستخدام طريقة Cetyl trimethyl ammonium bromide (CTAB) في استخلاص DNA من النماذج المجموعة (Doyle و Doyle, 1987).

الكشف عن DNA الفايروسي باستخدام تقنية PCR

استخدمت تقنية PCR للتأكد من وجود DNA للفايروس TYLCV في النباتات المصابة، باستخدام بادئ Primer مخصص للكشف عن الفايروس TYLCV والذي تم الحصول عليه من شركة Bioneer الكورية: F : 5-ATA CTT GGA G-3 و R : 5-AGT CAC CAC CTA ATG G-3 و GGG CCC TTA CAA-3. أجريت تقنية PCR المثالية بحجم 20 مايكروليتر محتوياً 1 مايكروليتر من البادئ (Forward و Reverse) و 5 مايكروليتر من الحامض النووي النباتي المستخلص و 5 مايكروليتر

جدول (2). برنامج التضخيم الأول للحامض النووي الفايروسي.

	STAGE	TEMP (°C)	TIME	CYCLE
1	Initial denaturtion	95	4 min	1 cycle
2	Denaturtion	95	30 sec	35 cycle
	Annealing	60	30 sec	
	Extension	72	30 sec	
3	Final extension	72	7 min	1 cycle

جدول (3). برنامج التضخيم الثالث للحامض النووي الفايروسي.

	STAGE	TEMP (°C)	TIME	CYCLE
1	Initial denaturtion	95	3 min	1 cycle
2	Denaturtion	95	1 min	30 cycle
	Annealing	53	1 min	
	Extension	72	1 min	
3	Final extension	72	5 min	1 cycle

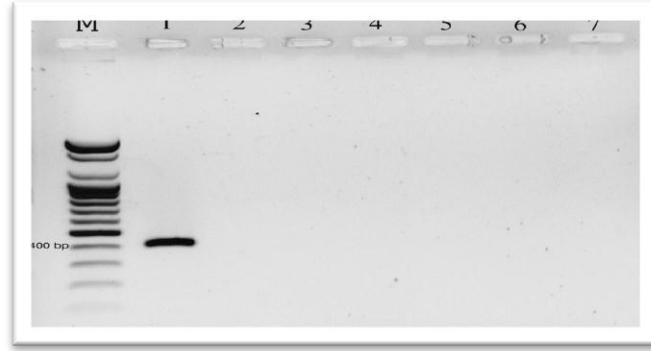
البرنامج الثالث كما في (جدول-4)

للأصناف الحساسة من الطماطة وقد اختبرت 17 صنف من نباتات الطماطة المتداول زراعتها في محافظة البصرة من حيث حساسيتها للإصابة بالفايروس TYLCV. أنتجت ستة اختبارات الحزمة المتوقعة ويحدود 400 ~ وهي صنف سوير ماريموند (شكل-1) والأصناف المجد و سمارا و شيدي ليدي وسلطانة وعلا (شكل-2).

أجريت عملية الترحيل الكهربائي لنواتج PCR على هلام الاكاروز وتم استخدام صبغة بروميد الاثيديوم وتعرضه للأشعة فوق البنفسجية للكشف عن حزم DNA المتكونة.

النتائج والمناقشة

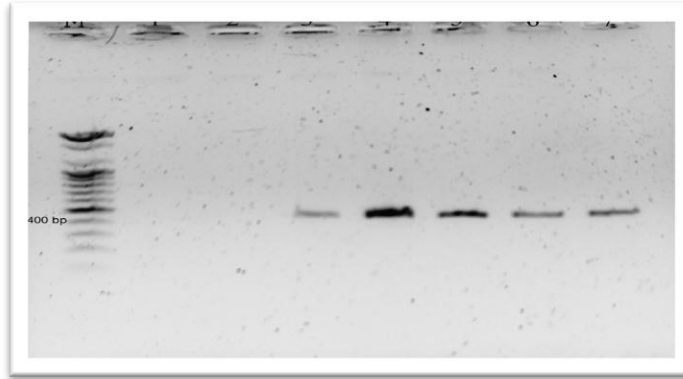
أظهرت النتائج ظهور الحزم Bands المتوقعة وبحجم 400 حزم قاعدي على هلام الاكاروز بالنسبة



شكل (1). حزم ال DNA لفايروس TYLCV لمستخلص من أصناف طماطة مختلفة باستعمال تقنية PCR.

M : Marker 100bp . , Lane 1: Super marimond variety

Lane 2,3,4,5,6,7 : other cultivars



4: Samara , Lane 5: Shedy Lady , Lane

6: Sultana , Lane 7: Aula

شكل (2) حزم DNA لفايروس TYLCV لمستخلص

من أصناف طماطة مختلفة باستعمال تقنية PCR

M: Marker 100bp , Lane 1 : Semona ,

Lane 2 : 942 , Lane 3 , Al-Majid Lane

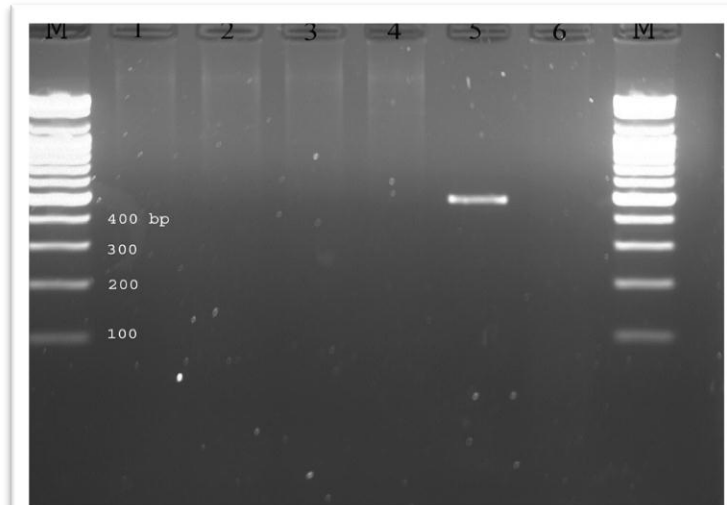
حجم الثمار أن وجدت ويتفق هذا مع ما ذكره Glick وآخرون (2009) من حيث أعراض الإصابة على النباتات.

أعطت بقية الأصناف نتائج سالبة لم تظهر أي حزمة على هلام الاكاروز و هذا يدل على أن هذه الأصناف

وهذا يدل على وجود فايروس TYLCV في أصناف عديدة من الطماطة المزروعة في محافظة البصرة وان الإصابة بهذا الفايروس شديدة حيث ظهر من خلال المشاهدات الميدانية تقزم النبات الشديد وصغر حجم الأوراق وتبرقشها وانحناء حافاتهما وصغر

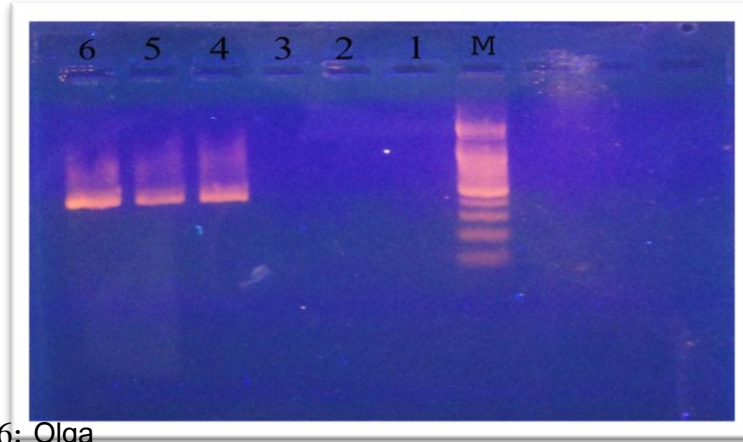
في محافظة ميسان بدأ مؤخراً حيث إن تكرار زراعة الطماطة سنوياً ربما من أسباب انتشار الفايروس TYLCV على مزارع الطماطة لان الصنف المقاوم أو المتحمل ربما يصاب عند تكرار الزراعة لان المسبب المرضي في النباتات يتغير باستمرار لقابليته على تكوين سلالات جديدة تدمر جينات المقاومة المستخدمة في نباتات المحاصيل بوساطة مربي النبات وان النباتات لا تمتلك القابلية على إنتاج أجسام مضادة (Sadik, 2001) تنتشر الذبابة البيضاء في محافظة ميسان على الخيار و الباذنجان و الطماطة إضافة إلى نباتات أدغال عديدة منتشرة في المنطقة مثل الداتورة ، عنب الذيب. و ربما تكون هذه النباتات مصدرا لانتشار الذبابة البيضاء إلى حقول الطماطة المجاورة وبالتالي نقل الفايروس وإدامة الإصابة . وهذا يتفق مع ما ذكره Bedford وآخرون (1998) و Sawalha (2009). كما أن الحقول القديمة للخضراوات والمحاصيل الحقلية الأخرى المجاورة لحقول الطماطة المزروعة تلعب دورا مهما في إيواء الذباب الأبيض الذي سيصيب الطماطة لاحقا لان الطماطة كما نعلم من العوائل المفضلة للذباب الأبيض Mazyad وآخرون (1994).

ربما مصابة بفايروسات أخرى حيث أن الأعراض تتشابه لعدد من الفايروسات ألا أن تقنية PCR تثبت ويشكل قاطع وجود الفايروس أو عدمه ويعد الفايروس TYLCV عامل محدد لزراعة الطماطة في محافظة البصرة وخاصة الأصناف الحساسة التي يعاد زراعتها سنويا وكما هو معروف أن الأصناف المقاومة هي من أفضل وسائل المكافحة بالنسبة للفايروسات لذا أن استبدال هذه الأصناف بأصناف مقاومة هي من وسائل مقاومة المرض. واختبرت أيضاً خمسة أصناف طماطة مزروعة في محافظة ميسان هي (وجدان و هتوف و دلال و اريتا و اولكا) أعطت الأصناف دلال ووجدان وهتوف نتائج موجبة حيث كونت حزم بحجم 400 زوج قاعدي على هلام الاكاروز كما في (شكل-3) و(شكل-4) في حين لم يظهر الصنفان اريتا واولكا أي نوع من الحزم وهذا يؤكد عدم إصابة هذان الصنفان بالفايروس TYLCV وربما تكون مصابة بفايروسات أخرى ، تؤكد هذه النتائج وجود الفايروس TYLCV في محافظة ميسان على نباتات الطماطة المزروعة في البيوت البلاستيكية وهي أول دراسة لهذا الفايروس في المنطقة تثبت وجوده في المحافظة ومن خلال المشاهدات الميدانية المتكررة لأغلب مناطق زراعتها في محافظة ميسان تبين أن الإصابات الفايروسية اقل شدة من الإصابات الملاحظة في محافظة البصرة كون إن التوسع في زراعة الطماطة



شكل - 3 : الكشف عن TYLCV DNA في صنف الطماطة دلال باستخدام تقنية PCR

M: Marker 100bp, Lane 5: Dalal variety, Lane 1,2,3,4: Olga, Arleta variety, Lane 6: Olga



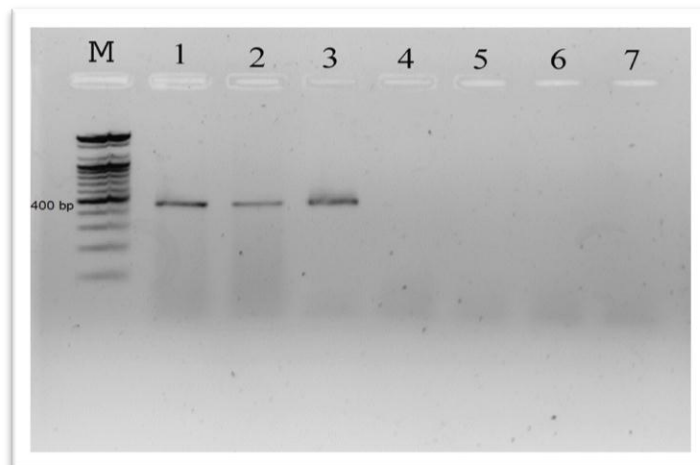
: Olga, Arleta variety, Lane 6: Olga

شكل رقم (4) : الكشف عن (TYLCV) في أصناف مختلفة للطماطة باستخدام تقنية PCR

M: Marker 100bp, Lane 1,2 : Olga, Lane 3 : Arleta, Lane 4, 5 : Hitooof, Lane 6 : Wighdan

الطماطة في البيوت البلاستيكية وقد اختبرت العينات المصابة بتقنية PCR وأظهرت الحزمة الحزمة المتوقعة 400 زوج قاعدي (شكل - 5).

كما أظهرت الدراسة وجود الفايروس TYLCV في جميع عينات الطماطة المأخوذة من حقول كلية الزراعة - جامعة بغداد فقد لوحظت إصابات شديدة على نباتات



شكل - 5 : الكشف عن TYLCV DNA في صنف الطماطة 17 باستعمال تقنية PCR

M : Marker 100bp , Lane 1,2,3 : Baghdad (17) variety , Lane 4,5 : Arleta variety , Lane 6,7 : Olga variety.

الطماطة المختبرة و ربما تكون مصابة بفايروسات أخرى أو أن الأعراض الشبيهة بالمرض الفايروسي ليس بسبب الإصابة الفايروسية و لكن قد تكون استجابة لأحوال البيئية غير الملائمة مثل أحوال الطقس والمحتوى غير المتوازن لمعادن التربة أو الضرر بوساطة الحشرات أو تلوث الهواء (Matthews، 1980) وربما يرجع إلى كون الأصناف المستخدمة في الزراعة وهي (شهيرة، ساندر ، علا ، SG ، غير معروف (محلي) متحملة لا تسمح بتضاعف الفايروس Multiplication مما يتفق مع ما ذكره Lapidot و Friedam (2002) أن النبات العائل يكون مقاوم إذا استطاع منع تضاعف الفايروس . كما أن عدم وجود الذباب الأبيض *Bemisia tabaci* وهو الناقل الوحيد للفايروس TYLCV ربما يكون من أسباب عدم إصابة هذه الأصناف. يلخص (جدول- 5) استجابة أصناف الطماطة المختلفة للإصابة بالفايروس TYLCV.

وهذا يدل على انتشار الفايروس TYLCV في البيوت البلاستيكية في حقول كلية الزراعة وهذا غير مستبعد ولا جديد حيث إن هناك دراسات سابقة وعديدة أكدت وجود الفايروس TYLCV منها جرجيس (1977) وشفيق (1983) وحمد (2000)، لكن في هذه الدراسة استخدمنا تقنية PCR كطريقة حساسة وموثوقة و متخصصة في التشخيص (Henson و French، 1993) كما أن هذه المنطقة تنتشر فيها الحقول الزراعية وحقول التجارب الزراعية وتكرر فيها زراعة الطماطة وبقية الخضروات إضافة إلى انتشار الذبابة البيضاء الناقل الوحيد لهذا الفايروس . كذلك انتشار أدغال عديدة ممكن أن تكون مصادر للفايروس. وقد اختبرت خمسة أصناف طماطة تظهر عليها أعراض الإصابة بالفايروس TYLCV ومن مناطق مختلفة من محافظة كربلاء و كانت النتائج سالبة لم تظهر أي حزمة على هلام الاكاروز مما يدل على عدم وجود الفايروس TYLCV على نباتات

جدول 5. استجابة أصناف الطماطة المختلفة للإصابة بالفايروس TYLCV باستخدام تقنية PCR.

الصنف	نتيجة اختبار الـ PCR	الصنف	نتيجة اختبار الـ PCR
سوبر ماريموند	+	باريتا	-
هتوف	-	ألمي	-
ياسمين	-	أسيل	-
دنا	-	وجدان	+
باريكا	-	هتوف	+
سبيدي	-	اولكا	-
هايمر	-	ارليتا	-
سيمونا	-	دلال	+
942	-	شهيره	-
المجد	+	ساندا	-
سمارا	+	علا	-
شيدي ليدي	+	SG	-
سلطانة	+	غير معروف	-
علا	+	17	+

الباند هو (560bp , 300bp). أما Lisset وآخرون (1999) فقد ذكر أن الحزمة المتوقعة هي (800bp) . أن هذا الاختلاف في حجم الناتج Product size هو أمر طبيعي لان مرض تجعد واصفرار أوراق الطماطة TYLCD يتسبب بوساطة سلالات فايروسية عديدة تعود إلى الجنس Begomoviruses، عائلة Geminiviridae التي تنقل بوساطة الذبابة البيضاء *B. tabaci* يطلق عليها جميعا اسم TYLCV وهذا يتفق مع العديد من الباحثين منهم Delatte (2003) و Köklü وآخرون (2006) و Skaljic و (2010) و Ghanim و Abdallat وآخرون 2011 و Czosnek

أن هذه النتائج تتفق مع ما ذكره العديد من الباحثين بان حجم الناتج هو (400bp ~) وهم Anfoka وآخرون (2008) حيث ذكر أن حجم الناتج هو (~ 433bp)، كذلك Navot وآخرون (1991) بين أن حجم الناتج هو (~ 400bp) و Azizi وآخرون (2008) الذي أوضح أن الحجم هو (406bp ~) و أخيراً Atzomon وآخرون (1998) أوضح أن حجم الحزمة هي (410 bp ~) وقد تختلف هذه النتائج مع ما ذكره Asmaa وآخرون (2011) أن الحزمة المتوقعة هي (500bp ~)، و تختلف مع-Abou Jawdah وآخرون (1999) الذي ذكروا أن حجم

(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):273-282.

Abou-Jawdah, Y. ; Maalouf, R. ; Shebaro, W. and Soubra, K. (1999). Comparison of the reaction of tomato lines to infection by tomato yellow leaf curl begomovirus in Lebanon. *Plant Pathology*. 48: 727-734.

Anfoka, G. ; Abhary, M. ; Haj Ahmad, F. ; Hussein, A.F. ; Rezk, A. ; Akad, F. ; Abou-Jawdah, Y. ; Lapidot, M. ; Vidavski, F. ; Nakhla, M.K. ; Sobh, H. ; Atamian, H. ; Cohen, L. ; Sobol, I. ; Mazyad, H. ; Maxwell, D.P. and Czosnek, H. (2008). Survey of tomato yellow leaf curl disease-associated viruses in the eastern Mediterranean basin. *Journal of Plant Pathology*. 90: 313-322.

Asmaa, F. ; El-Monem, A. ; El-DougDoug, K.A. ; Hamad, I.A. ; Ahmed, E.A. and Abd El-Kader, H.S. (2011). Identification and molecular characterization of *Tomato Yellow Leaf Curl Virus-EG*. *Emir. J. Food Agric*. 23(4): 355-367.

Atzmon, G. ; Vanhoss, H. and Czosnek, H. (1998). PCR-amplification of tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) from squashes of plants and insect vectors: application to the study of TYLCV acquisition and transmission. *European Journal of Plant Pathology*. 104:189-194.

Bedford, I.D. ; Kelly, A. ; Banks, G. K. ; Briddon, R. W. ; Cenis, J. L. and Markham, P. G. (1998). *Solanum nigrum*: an indigenous weed

و Latterrot (1997) وجميعهم يؤكدون بان الاسم TYLCV يعطى لمجموعة الفايروسات geminiviruses التي تصيب الطماطة في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية.

المصادر

الوائلي، مهدي عبد الرضا خلف (2006). دراسة تشخيصية باستخدام طرق سيرولوجية وحيوية لفايروس تجعد واصفرار أوراق الطماطة وإمكانية مكافحة الناقل إحيائياً . رسالة ماجستير ، كلية الزراعة ، جامعة البصرة.

جرجيس، ميسر مجيد (1977). تشخيص وانتشار والأهمية الاقتصادية لبعض فايروسات الطماطة في العراق رسالة ماجستير ،كلية الزراعة ، جامعة بغداد.

حمد، سمير عبد الرزاق حسن (2000). تأثير بعض المستخلصات النباتية ومنظمات النمو في فايروس تجعد واصفرار أوراق الطماطة . رسالة ماجستير ،كلية الزراعة ،جامعة بغداد.

شفيق، حسين لطيف (1983). دراسات على تشخيص ومقاومة فايروس تجعد واصفرار أوراق الطماطة في البيوت البلاستيكية .رسالة ماجستير ،كلية الزراعة ،جامعة بغداد.

علي، سامي عبد الرضا، فائز صاحب وهيفاء ألبير (1998). تأثير مواعيد ظهور مرض تجعد واصفرار أوراق الطماطة على نمو وإنتاجية الطماطة في البصرة ،مجلة البصرة للعلوم الزراعية،مجلد 2،العدد (1-2).

Abdallat, A.M. ; Al Debei, H. ; Akash, M. ; Misbeh, S. and Kvarnheden, A.

- Henson, J. M. & French R. (1993). The polymerase chain reactions and plant disease diagnosis. *Annu Rev Phytopathol.* 31: 81–109.
- Herrera, L. ; Guerra, O. ; Ramos, P. ; Peral, R. ; Echemendia, A. L. ; Ramirez, N. ; Drete, V. and Oramas, P. (1999). Molecular Techniques for the Detection of Tomato Yellow Leaf Curl Geminivirus in Infected Plants and Viruliferous Whiteflies. *Biocnologia Aplicada.* 16:237-241.
- Köklü, G. ; A. Rojas and A. Kvarnheden. (2006). Molecular identification and the complete nucleotide sequence of a tomato yellow leaf curl virus isolate from Turkey. *Journal of Plant Pathology.* 88: 61-66.
- Lapidot M., Friedmann M. (2002): Breeding for resistance to whitefly-transmitted geminiviruses. *Annals of Applied Biology.* 140: 109–127.
- Matthews, R.E.F. (1980). Host plant responses to virus infection. Pages 297–359 in *Comprehensive virology*, vol. 16, virus-host interaction, viral invasion, persistence, and diagnosis, edited by H. Fraenkel-Conrat and R.R. Wagner. Plenum Press, New York, USA .
- Mazyad, H. M. ; Peters, D. and Maxwell, D. (1994). Tomato yellow leaf curl virus in Egypt: epidemiological and management aspects. 1st International Symposium on Geminiviruses, Almeria, Spain.
- Moffat A.S. (1999): Plant Pathology: Geminiviruses Emerge as Serious Crop Threat. *Science.* 286: 1835.
- Mullis, K.F. ; Faloona, F. ; Scharf, S. ; Saiki, R. ; Horn, G. and Erlich, H. reservoir for a tomato yellow leaf curl geminivirus in southern Spain. *European Journal of Plant Pathology.* 104: 221–222.
- Cohen, S. and Antignus, Y. (1994). Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) a whitefly-borne geminivirus of tomatoes. In: Harris K.F. (ed.): *Advances in Disease Vector Research.* Vol. 10. Springer-Verlag, New York: 259-288.
- Czosnek, H.; Ber, R.; Antignus, Y.; Cohen, S. ; Navot, N. and Zamir, D. (1988) Isolation of tomato yellow leaf curl virus, a geminivirus. *Phytopathology.* 78:508-512.
- Czosnek, H. and Laterrot, H. (1997). A worldwide survey of tomato yellow leaf curl viruses. *Archives of Virology.* 142: 1391-1406.
- Delatte, H. ; Dalmon, A. ; Rist, D. ; Soustrade, I. ; Wuster, G. ; Lett, J. M. ; Goldbach, R. W. ; Peterschmitt, M. and Reynaud, B. (2003). Tomato yellow leaf curl virus can be acquired and transmitted by *Bemisia tabaci* (Gennadius) from tomato fruit. *Plant Dis.* 87:1297-1300.
- Doyle, J.J. and J.L. Doyle. (1987). A rapid DNA isolation procedure from small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin.* 19: 11-15.
- FAOSTAT Database (2004). Tomato world production statistics http://www.growtomatoes.com/world_production_statistics.htm.
- Glick E. ; Levy Y. and Gafni Y. (2009): The viral etiology of tomato yellow leaf curl disease – a review. *Plant Protect. Sci.* 45: 81–97.

- Volunteer Tomato, Jimsonweed, and Tobacco in North West Bank: Distribution of Virus Natural Reservoirs in Summer Season. An - Najah Univ. J. Res. (N. Sc.) Vol.
- Skaljic, M. and Ghanim, M. (2011). Tomato yellow leaf curl disease and plant-virus vector interactions. *Israel Journal of Plant Sciences*.58:103-111.
- Stanley, J. ; Bisaro, D.M. ; Briddon, R.W. ; Brown, J.K. ; Fauquet, C.M. ; Harrison, B.D. ; Rybicki, E.P. and Stenger, D.A. (2005). *Geminiviridae: Virus Taxonomy*. In: Ball L.A. (ed.): VIIIth Report International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier/Academic Press, London: 301-326.
- (1986). Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 51: 263-273.
- Navot, N. ; Pichersky, E. ; Zeidan, M. ; Zamir, D. and Czosnek H. (1991). Tomato yellow leaf curl virus: a whitefly-transmitted geminivirus with a single genomic component. *Virology*. 185: 151-161.
- Sadik T. (2001). The Relationship Between Pathogen-induced Systemic Resistance (ISR) and Multigenic (horizontal) Resistance in Plants. *European Journal of Plant Patholog.*107(1):85-93.
- Sawalha H. (2009). Occurrence of Tomato Yellow Leaf Curl Virus on

Sensitivity Study of Different Varieties of Tomato by Using PCR Technique

Abdulkareem Kassim Jabar Al- Molla¹, Kadhim Jasim Hammadi²
Mothana Ekaidi Al-Maadhedi³

¹ Ministry of Agriculture, Maysan Agricultural Directorate; ² University of Basrah, Date-palm Research Center; ³ Ministry of Agriculture, General Foundation for Applied Agricultural Researches

Abstract. Polymerase chain reaction has been used to diagnose the tomato yellow leaf curl virus for the first time in different varieties of tomato in some tomato-growing areas in Iraq including Basrah, Maysan, Karbala, Baghdad Provinces to confirm the presence of the virus. It has been shown that there are dissimilarities among varieties of tomato for infection by TYLCV. Besides, expected (~ 400bp) bands has appeared in the infected varieties Result also shown that this virus has recorded in some varieties of tomato for the first time in maysan Province.

Key word: PCR, TYLCV