حدوث فيروس اصفرار وتجعد أوراق البندورة/الطماطم (TYLCV) في الساحل السوري والتوصيف المصلي/السيرولوجي لبعض عزلاته المنتخبة

زياد محمود حسن[1]، عماد دأود إسماعيل[1] وصلاح الشعبي[2]

(1) قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية، البريد الإلكتروني: ziadh1981@yahoo.com؛

(2) الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، دوما، دمشق، سورية.

الملخص

حسن، زياد محمود، عماد دأود إسماعيل وصلاح الشعبي. 2013. حدوث فيروس اصفرار وتجعد أوراق البندورة/الطماطم (TYLCV) في الساحل السوري والتوصيف المصلي/السيرولوجي لبعض عزلاتهً المنتخبة. مجلة وقاية النبات العربية، 31(1): 21–28.

تـمّ تقصّـي وجـود فيـروس اصـفرار وتجعـد أوراق البنـدورة/الطماطم *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV، جـنس *Begomovirus*، وفصـيلة *Geminiviridae*) في 430 عينة انتقائية أبدت أعراض إصابة فيروسية، جمعت من الحقول المكشوفة والدفيئات البلاستيكية في محافظتي اللاذقية وطرطوس خلال موسمي 2009/2008 و2010/2009، ومثّل كل منها نباتاً منفرداً من البندورة باستخدام اختبار إليزا بالاحتواء المزدوج للفيروس بالأجسام المضادة (DAS-ELISA). وجد أن متوسط نسب العينات الانتقائية المصابة بالفيروس المجموعة من الساحل السوري بلغ 31.4%، بينما بلغ متوسط نسبها في محافظة اللاذقية 35.5%، و30.96% في محافظة طرطوس. بلغ متوسط نسب حقول البندورة/الطماطم والدفيئات البلاستيكية الموبوءة فعلاً بمرض اصفرار وتجعد الأوراق في الساحل السوري 58.2%، بينما بلغ متوسطها 80.5% في محافظة اللاذقية، و49.0% في محافظة طرطوس. وتراوح متوسط النسب المئوية للنباتات المصابة حقلياً بالفيروس المذكور بين 9.3 و40.0%، وكانت أعلاها في منطقتي القرداحة (40%)، وبانياس (37.5%) القريبة من مستوى سطح البحر، وأدناها في منطقتي القدموس (9.3%) والشيخ بدر (12.4%) المرتفعة عن مستوى سطح البحر بحوالي 500 م. تمّ التوصيف المصلي لـ 60 عزلة للفيروس TYLCV بوساطة اختبار إليزا بالاحتواء الثلاثي للفيروس بالأجسام المضادة (TAS-ELISA) وباستخدام 5 أجسام مضادة أحادية الكلون. بينت النتائج وجود تنوع بين عزلات الفيروس المختبرة، توزعت في ست مجموعات مختلفة: 1) عزلتان مشابهتان لفيروس TYLCV-European؛ 2) عزلتان مشابهتان لفيروس موزاييك كاسافا لشرق أفريقيا (EACMV)؛ 3) سبع عزلات تفاعلت مع الأجسام المضادة SCR18 وSCR20، ولم تتفاعل مع SCR23 والجسمان المضادان SCR55 وSCR60؛ 4) تسع وثلاثون عزلة لم تتفاعل مع أي من الأجسام المضادة المستخدمة في هذه الدراسة الأمر الذي أشار بوضوح إلى وجود فيروس TYLCV-IL أو تراكيب فيروسية أخرى قريبة منه؛ 5) سبع عزلات تفاعلت فقط مع SCR20؛ 6) ثلاث عزلات تفاعلت فقط مع SCR18.

كلمات مفتاحية: أجسام مضادة أحادية الكلون، إليزا، فيروس اصفرار وتجعد أوراق البندورة/الطماطم، سورية.

المقدمة

تعدُ البندورة/الطماطم *Lycopersicon esculentum* Mill من أكثر الخضـار إنتاجـاً فـي العـالم (22)، وتسـبب إنتاجهـا الواسـع النطـاق والمكثـف فـي عـروات متعاقبـة علـى مـدار العـام فـي جعلهـا عرضـةً للإصـابة بالممرضـات الفطريـة والبكتيريـة والفيروسـية (28)، وأصـبحت الفيروسات المنقولة بوساطة الذباب الأبيض (فصيلة *Geminiviridae*) من أكثرها أهمية وانتشاراً في المناطق المدارية وشبه المدارية (26). يعـدُ اصـفرار وتجعـد أوراق البنـدورة/الطماطم المتسـبب عـن الفيـروس *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV، جـنس *Begomovirus*، وفصـيلة *Geminiviridae*) المـرض الأكثـر ضـرراً بإنتاج البندورة/الطماطم على الصعيد العالمي (17، 36، 37). وقدرت المساحات الموبوءة بـه عالمياً وفقاً لإحصاءات منظمة وقاية النبات الأوروبية بحوالي 7 ملايين هكتار كانت موزعة في 40 بلداً (21). تم عزل الفيروس TYLCV وتنقيته لأول مرة في عام 1988 (18)، وتعدُ منطقة البحر المتوسط وإيران المكان الرئيس لنشأة هذا الفيروس وتنوعه السلالي (31). سجل انتشار واسع لسلالات مختلفة من الفيروس في بلدان حوض المتوسط: *Tomato yellow leaf curl virus*-Israel (TYLCV-IL)، *Tomato yellow leaf curl virus*-Mild (TYLCV-Mld)، و*Tomato yellow leaf curl Sardinia virus* (TYLCSV) (7)، ثم سجل وجود سلالات أخرى للفيروس في كل من السـعودية (TYLCV-Gez)، وإيـران (TYLCV-IR)، وعمـان (TYLCV-OM) ضمن النوع TYLCV (8، 27، 29). وتبين حديثاً أن مجموعة من الأنواع الفيروسية تسبب مرض اصفرار وتجعد أوراق البنـدورة/الطماطم فـي المنـاطق المداريـة وشـبه المداريـة، وهـي تحـدث تـدهوراً شـديداً فـي نمـو النباتـات وخسـائر كبيـرة فـي الإنتـاج، تراوحـت

ما بين 50–100% (11، 14، 26، 53). وقد تمّ تحديد فيروسات هذا المرض في معظم بلدان شرق المتوسط وفي إسبانيا والبرتغال وفرنسا (21، 42)، وفي أجزاء من أفريقيا وآسيا وأستراليا والكاريبي والولايات المتحدة (49). وأكدت دراسات أخرى (41، 52) وجود نوعين من هذه الفيروسات في بلدان حوض المتوسط، هما: *Tomato yellow leaf curl virus*-Israel (TYLCV-Isr) (44) و *Tomato yellow leaf curl Sardinia virus* (TYLCSV) (30) اعتماداً على تسلسل نكيلوتيدات حموضها النووية، والنوع الأول هو ذاته الذي وصف منذ البداية في فلسطين وعرف بسلالة TYLCV-IL. وربط البعض حدوث هذا المرض في بلدان حوض المتوسط بوجود ثلاثة أنواع على الأقل من فيروسات الجنس *Begomovirus*، هي: TYLCV، TYLCSV و *Tomato yellow leaf curl Malaga virus* (TYLCMa1V) (54). وعدَ النوع الأخير ناتج عن اندماج النوعين TYLCV و TYLCSV (40)، بينما نشأ النوع TYLCV-IL من تفاعل السلالة TYLCV-Mld مع الفيروس *Tomato leaf curl Karnataka virus* (ToLCKV) (43). وقد تمّ توصيف أنواع أخرى من فيروسات TYLCVs في بلدان مختلفة، كاليمن TYLCYV (9)، والسعودية TYLCSAV (38)، والصين TYLCV-C (32)، وتايلاند TYLCTHV (51). استخدمت طرائق مختلفة (مصلية/سيرولوجية وجزيئية) في تشخيص فيروسات الجنس *Bgomovirus* (2، 3، 19، 47)، وكان التشابه كبيراً جداً في بروتينات أغلفة فيروساتها التي تنتقل بوساطة الذباب الأبيض (48)، وعلى مستوى السلاسل النكليوتيدية ما بين عزلات فيروس TYLCV في منطقة غرب البحر المتوسط (46). وكان الكثير من هذه الفيروسات مرتبط مصلياً مع بعضه البعض لا سيما عند استخدام أمصال متعددة الكلونات (50). وتم التوصل إلى نتائج جيدة باستخدام اختبار إليزا بعد التنقية المحسنة للعزلات (4)، ثم استخدمت لاحقاً أجسام مضادة أحادية الكلون مطورة لتشخيص بعض هذه الفيروسات، مثل: *African cassava mosaic virus* (ACMV)، *Indian cassava mosaic virus* (ICMV)، ولتعريف عزلات مختلفة من فيروس TYLCV (25، 33). هدف هذا البحث إلى تقصي انتشار فيروس تجعد واصفرار أوراق البندورة/الطماطم على محصول البندورة/الطماطم في الساحل السوري، وتوصيف بعض عزلاته المحلية مصلياً/سيرولوجياً باستخدام أمصال متخصصة وحيدة الكلون.

مواد البحث وطرائقه

المسح الحقلي وجمع العينات

جمعت 430 عينة ورقية من البندورة/الطماطم أبدت أعراض مرض الاصفرار والتجعد وصغر حجم الأوراق والوريقات خلال موسمي النمو 2009/2008 و2010/2009، ومثلت حقول المزارعين المكشوفة والبيوت المحمية المغطاة بالبلاستيك المنتشرة في المناطق الرئيسة لزراعة البندورة/الطماطم في الساحل السوري في محافظتي اللاذقية وطرطوس، ومثّلت كل عينة منها نباتاً منفرداً.

كما حسبت نسبة النباتات التي أبدت أعراضاً ظاهرية لإصابات فيروسية في طور بداية عقد الثمار لكل حقل أو بيت بلاستيكي ممسوح على حدةٍ وفقاً لعروة الزراعة، ومتوسط جميع الحقول الممسوحة في المنطقة ثم المحافظة. نقلت العينات إلى مختبر تشخيص الأمراض الفيروسية في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية بوساطة حافظة مبردة بالثلج الجاف، ثم حفظت في المختبر عند درجة حرارة 4°س لحين إجراء الاختبار المصلي.

الكشف عن الفيروس

تمّ الكشف عن فيروس تجعد واصفرار أوراق البندورة/الطماطم في مختبر الأمراض الفيروسية بإدارة بحوث وقاية النبات في دمشق باستخدام مجموعة اختبار مصلي منتجة من قبل شركة BIOREBA السويسرية قادرة على التفاعل مع جميع سلالات الفيروس المعروفة بوساطة اختبار الادمصاص المناعي المرتبط بالأنزيم (إليزا) بالاحتواء المزدوج للفيروس بالأجسام المضادة Double antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (DAS-ELISA) وفقاً لنشرة الشركة المصنعة واعتماداً على طريقة Clark و Adams (12). تمّت قراءة الأطباق وتسجيل قيم الكثافة الضوئية Optical Density (O.D) عند طول موجة 405 نانومترات بوساطة جهاز قارئ أطباق إليزا من نوع Labsystem multiskan MS، وعدَت العينة مصابة إذا تساوى أو زاد متوسط قيم قراءتيها عن ثلاثة أمثال متوسط قيم قراءات الشاهد السليم. تم حساب نسبة الإصابة الحقلية الفعلية لنباتات البندورة/الطماطم في كل منطقة ومحافظة على حدة وفقاً للمعادلة التالية:

نسبة الإصابة الحقلية الفعلية = نسبة الإصابة في العينات الانتقائية المختبرة (%) × نسبة الإصابة الظاهرية (%)/100

التوصيف المصلي/ السيرولوجي لبعض عزلات الفيروس المحلية

تمّ اختبار 60 عينة فردية من عينات البندورة/الطماطم التي ثبت إصابتها بالفيروس بموجب اختبار إليزا السابق، وهي تمثل 15 عينة من اللاذقية و45 عينة من طرطوس بوساطة اختبار الادمصاص المناعي المرتبط بالأنزيم (إليزا) بالاحتواء الثلاثي للفيروس بالأجسام المضادة Triple antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (TAS-ELISA) وفقاً للطريقة الموصوفة من قبل Al-Moudallal وآخرون (5)، وتعديلات الشركة المصنعة للأمصال.

تمّت قراءة الأطباق وتسجيل قيم الكثافة الضوئية (O.D) عند طول موجة 405 نانومترات بوساطة جهاز قارئ أطباق إليزا من نوع Labsystem multiskan MS، وعدَت العينة مصابة إذا تساوى أو زاد متوسط قيم قراءتيها عن ثلاثة أمثال متوسط قيم قراءات الشاهد السليم. استخدمت في هذا الاختبار مجموعة اختبار مصلي منتجة من قبل شركة NEOGEN Europe (ADGEN Phytodiagnostics) البريطانية تحوي على 5 أجسام مضادة أحادية الكلون SCR18, SCR20, SCR23, SCR55, SCR60 تعود مصادر عزلاتها إلى المعهد الاسكتلندي لبحوث المحاصيل (Scottish Crop Research Institute)، وهي تمكّن من توصيف بعض سلالات فيروس TYLCV والفيروسات الأخرى اعتماداً على نموذج تفاعل العينات المختبرة معها المرفق من الشركة المنتجة لهذه الأجسام المضادة (جدول 1).

جدول 1. طراز تفاعل بعض الفيروسات التابعة لجنس *Begomovirus* أو سلالات الفيروس TYLCV مع الأجسام المضادة أحادية الكلون.

Table 1. Reaction type of some viruses belonging to the genus *Begomovirus* and strains of TYLCV with monoclonal antibodies.

أمصال أحادية الكلون Monoclonal antibodies					الفيروسات المختبرة Tested viruses
SCR 18	SCR 20	SCR 23	SCR 55	SCR 60	
+	+	+			*Tomato yellow leaf curl virus*-European (TYLCV-European)
+			+	+	*Tomato yellow leaf curl virus* –Indian (TYLCV-Indian)
+	+		+	+	*Indian cassava mosaic virus* (ICMV)
+	+	+			*African cassava mosaic virus* (ACMV)
	+	+			*East African cassava mosaic virus* (EACMV)

النتائج والمناقشة

المسح الحقلي والكشف عن الفيروس بواسطة اختبار DAS-ELISA

بلغ متوسط نسب عينات البندورة/الطماطم المصابة بفيروس تجعد واصفرار أوراق البندورة/الطماطم (TYLCV) المجموعة من الساحل السوري 31.4% وفقاً لنتائج الاختبار المصلي، بينما بلغ متوسط نسب العينات المصابة المجموعة من محافظة اللاذقية 35.5%، و30.96% في عينات محافظة طرطوس (جدول 2).

بلغ متوسط نسب الحقول/الدفيئات البلاستيكية المزروعة بالبندورة/الطماطم والموبوءة فعلاً بمرض اصفرار وتجعد الأوراق في الساحل السوري 58.2% وفقاً لنتائج الاختبار المصلي بطريقة إليزا خلال موسمي الدراسة، بينما بلغ 80.5% في محافظة اللاذقية و49.0% في محافظة طرطوس. وسجل أعلى حدوث للمرض في منطقة القرداحة (100%)، تلتها في الأهمية منطقة جبله (85.3%)، بينما كان حدوث المرض في حدوده الدنيا في مناطق البصة في محافظة اللاذقية، والقدموس والشيخ بدر في محافظة طرطوس. وتراوح متوسط النسب المئوية للنباتات المصابة حقلياً بالفيروس TYLCV بين 10.0 و40.0%، وكانت أعلاها في منطقتي القرداحة (40%)، وبانياس (39.17%)، وأدناها في منطقتي القدموس (10.0%) والشيخ بدر (13.3%) بمحافظة طرطوس (جدول 2).

ويعزى ارتفاع نسب النباتات المصابة في كل من منطقتي القرداحة وبانياس إلى قربهما من مستوى سطح البحر، وزراعة البندورة/الطماطم (العائل الرئيس للفيروس) على نطاق واسع على مدار العام تقريباً، بينما يعزى انخفاض نسب النباتات المصابة في منطقتي القدموس والشيخ بدر إلى ارتفاع أراضيهما عن مستوى سطح البحر (أكثر من 500 م)، وإلى قلة المساحات المشغولة بالبندورة/الطماطم، أو إلى طبيعة الأصناف المزروعة فيهما (أصناف محلية غالباً)، أو إلى قلة أعداد الذباب الأبيض على تلك الارتفاعات أو إلى سيادة نوع/أنواع أخرى من الذباب الأبيض غير *B. tabaci* أو إلى العوامل السابقة مجتمعة. وتتوافق هذه الزيادة في حدوث المرض على نباتات البندورة/الطماطم في الساحل السوري مع التقارير الحديثة التي تشير إلى زيادة المساحات المشغولة بهذا المحصول في المناطق الساحلية وإلى تكثيف زراعتها (22)، وإلى الزيادة غير المألوفة في حدوث المرض في منطقة حوض البحر المتوسط (20، 23) وإيران (8)، علماً أن حوالي 30% من الإنتاج العالمي للبندورة/الطماطم في عام 2008 تم الحصول عليه من بلدان حوض البحر المتوسط حيث كانت الظروف المناخية أكثر ملاءمة (22). ويتطلب انتشار مرض اصفرار وتجعد أوراق البندورة/الطماطم على محصول البندورة/الطماطم في الساحل السوري وارتفاع نسب الإصابة به لا سيما في الدفيئات البلاستيكية تطبيق حزمة من الإجراءات الوقائية الكفيلة بمنع الناقل الحشري من الوصول إلى النباتات السليمة على الأقل في البيوت المغطاة، واستخدام أصناف متحملة/مقاومة، ومكافحة العوائل النباتية البديلة للحشرات الناقلة أو تلك التي تشكل مصدراً للفيروس.

جدول 2. حدوث الإصابة بفيروس TYLCV في عينات البندورة/الطماطم المختبرة وفقاً لنتائج اختبار إليزا خلال موسمي 2009/2008 و2010/2009.

Table 2. Occurrence of TYLCV infection in tomato samples collected during 2008/2009 and 2009/2010 growing seasons and tested by ELISA.

النسبة المئوية للعينات المصابة (%) Percentage (%) of infected samples	عدد العينات No. of samples		النسبة المئوية (%) للحقول/الأنفاق البلاستيكية الموبوءة Percentage (%) of actually infected fields/plastic tunnels	عدد الحقول/أنفاق بلاستيكية No. of fields/plastic tunnels		المحافظة/المنطقة Governorate/region	
	المصابة infected	المختبرة tested		الموبوءة وفقاً لنتائج اختبار إليزا Infected based on ELISA test	الممسوحة Surveyed		
						اللاذقية Lattakia	
36.66	33	90	85.3	29	34	Jableh	جبلة
40.00	4	10	100.0	3	3	Al-Qurdaha	القرداحة
20.00	2	10	25.0	1	4	Al-Basaa	البصة
35.45	39	110	80.5	33	41	Total	المجموع
						طرطوس Tartous	
39.17	47	120	65.6	21	32	Banias	بانياس
38.57	27	70	58.3	14	24	Al-Safsafeih	الصفصافة
30.00	9	30	40.0	4	10	Safeeta	صافيتا
10.00	3	30	25.0	3	12	Al-Kadmous	القدموس
13.33	4	30	25.0	3	12	Al-Shakh Badr	الشيخ بدر
20.00	6	30	40.0	4	10	Drakiesh	دريكيش
30.97	96	310	49.0	49	100	Total	المجموع
31.40	**135**	**430**	**58.2**	**82**	**141**	**Grand total**	**المجموع العام**

نتائج التوصيف المصلي لبعض عزلات الفيروس المحلية: أظهرت نتائج توصيف 60 عزلة لفيروس تجعد واصفرار أوراق البندورة/الطماطم بواسطة اختبار TAS-ELISA باستخدام 5 أجسام مضادة أحادية الكلون وجود تنوع ما بين عزلات الفيروس في العينات المختبرة، وقد أمكن توزيعها في ست مجموعات مصلية (جدول 3).

تمايزت من بين المجموعات الست المذكورة أعلاه مجموعتان تمثلان فيروسين مختلفين اعتماداً على نموذج التفاعل المذكور سابقاً (جدول 1)، وهما: المجموعة V، وهي تمثل السلالة الأوروبية للفيروس (TYLCV-European) بواقع عزلتين فقط، والمجموعة VI، وهي تمثل فيروس موزاييك كاسافا لشرق أفريقيا (EACMV) بواقع عزلتين أيضاً. وكان تفاعل الفيروسان TYLCV-European وACMV مع الأجسام المضادة أحادية الكلون متماثلاً وفقاً لنموذج التفاعل المرفق (جدول 1). وحدّد نوع العائل النباتي المختبر نوع الفيروس المكتشف (TYLCV-European)، فكانت العينات النباتية المختبرة مأخوذة من نباتات بندورة/الطماطم وتفاعلت بصورة موجبة مع الأجسام المضادة أحادية الكلون التالية: SCR18، SCR20 و SCR23، بينما يدل التفاعل الموجب مع الأمصال سابقة الذكر على الفيروس ACMV لو كانت العينات النباتية المختبرة مأخوذة من نباتات الكاسافا (المنيهوت) *Cassava esculenta* Crantz، أي أن الفيروسان يمتلكان عوائل نباتية مختلفة، ولا يوجدان معاً على العائل نفسه (33). وقد أكدت نتائج دراسات مرجعية سابقة النتائج المتحصل عليها في هذا البحث، فقد تفاعل المصلان أحاديا الكلون SCR20 وSCR23 بصورة موجبة مع عينات من البندورة/الطماطم أبدت أعراض مرض اصفرار وتجعد الأوراق وكانت مصابة بسلالة الفيروس الأوروبية (TYLCV-European)، بينما اقتصر التفاعل الموجب للمصل المضاد SCRI33 على الفيروس ACMV (39). ولم يستخدم المصل المضاد SCRI33 الخاص بالكشف عن الفيروس السابق في اختبارات هذا البحث كونه غير متوفر لدى الشركة المنتجة في حينه. وقد أطلقت تسمية الفيروس–السلالة الأوروبية (TYLCV-European) على فيروس–سلالة سردينيا (TYLCV-Sardinia)، وهي تنتشر في سواحل أوروبا على البحر المتوسط وتحديداً في فرنسا وجزيرتي سيسيلي وساردينيا (33). وتعدُ هذه النتيجة التسجيل الأول في سورية حول وجود الفيروسين: TYLCV-European (TYLCV-Sardinia) وEACMV.

جدول 3. توزع عزلات فيروس تجعد واصفرار أوراق البندورة وفقاً لتفاعلها مع الأجسام المضادة أحادية الكلون بوساطة اختبار إليزا بالاحتواء الثلاثي للفيروس بالأجسام المضادة (TAS-ELISA).

Table 3. Distribution of TYLCV isolates according to their reaction with monoclonal antibodies by using TAS-ELISA.

نوع الفيروس أو السلالة Virus species or strain	العدد الكلي للعزلات No. of total isolates	تفاعل الأجسام المضادة أحادية الكلون مع عزلات الفيروس TYLCV Reaction of MAbs with TYLCV isolates					عدد العزلات المختبرة No. of isolates tested	المحافظة Governorate		المجموعة المصلية Serotype
		SCR18	SCR20	SCR23	SCR55	SCR60				
TYLCV-Isr	39	-	-	-	-	-	10	Lattakia	اللاذقية	I
أو تراكيب فيروسة أخرى قريبة		-	-	-	-	-	29	Tartous	طرطوس	
-	7	+	+	-	-	-	2	Lattakia	اللاذقية	II
		+	+	-	-	-	5	Tartous	طرطوس	
-	7	-	+	-	-	-	7	Tartous	طرطوس	III
-	3	+	-	-	-	-	3	Tartous	طرطوس	IV
TYLCV-European	2	+	+	+	-	-	2	Lattakia	اللاذقية	V
EACMV	2	-	+	+	-	-	1	Lattakia	اللاذقية	VI
		-	+	+	-	-	1	Tartous	طرطوس	
-	**60**	**4**	**5**	**3**	**-**	**-**	**15**	**Lattakia**	**اللاذقية**	**المجموع**
		8	**13**	**1**	**-**	**-**	**45**	**Tartous**	**طرطوس**	**Total**

لم تتفاعل 39 عزلة مختبرة بصورة موجبة مع أي من الأجسام المضادة أحادية الكلون المستخدمة في هذه الدراسة (المجموعة I) على الرغم من تفاعلها مع الأجسام المضادة متعددة الكلونات PAbs وفقاً لنتائج اختبار إليزا (DAS-ELISA) والتأكد من كونها فيروس TYLCV. ويعتقد أن هذه العزلات تنتمي بصورة رئيسة إلى الفيروسTYLCV-IL بالترافق مع تركيبات أخرى تتبع الجنس *Begomovirus*، مثل: TYLCMaV و TYLCV-Mld، علماً أن فيروس (TYLCV-IL) كان قد سجل بكثافة في فلسطين (24، 44)، ولبنان (1، 34)، والأردن (6، 35)، والعراق (35)، وتركيا (45)، إضافة إلى فيروسات/سلالات أخرى، وهو ينتقل بكفاءة عالية بوساطة الذباب الأبيض بالطريقة المثابرة (16، 55)، محدثاً تدهوراً شديداً لنباتات البندورة/الطماطم، واصفراراً وتجعداً لأوراقها وانخفاضاً واضحاً في حجمها، وتقزماً شديداً في طولها، وتقعراً لأوراقها بإتجاه الأعلى، وتساقطاً لأزهارها، وفقداً كبيراً في المحصول (13، 48). كما أكدت نتائج بعض الدراسات المرجعية السابقة أيضا انتشار النوعين TYLCSV و TYLCV-IL في المنطقة الأوروبية المطلة على غرب البحر المتوسط إضافة إلى التركيبين TYLCMaV و TYLCAxV (21)، وأثبت دراسة أخرى وجود كلا النوعين السابقين في اليونان، بينما سجل النوع الثاني (TYLCV-IL) في قبرص كمسبب لمرض اصفرار وتجعد أوراق البندورة/الطماطم (47).

كان الجسم المضاد SCR20 أكثر الأمصال الأحادية الكلون تفاعلاً مع العزلات المختبرة بواقع 18 عزلة، وعزي ذلك إلى وجود موقع تضاد عام مشترك في بروتينات أغلفتها، بينما تفاعل الجسم المضاد أحادي الكلون SCR18 مع 12 عزلة، وSCR23 مع 4 عزلات مختبرة. وكانت الأجسام المضادة أحادية الكلون SCR 20 و SCR 23 قد استخدمت في دراسات مرجعية سابقة لتعريف الفيروس TYLCV-European، بينما استخدم المصل المضاد SCR 33 للكشف عن الفيروس ACMV (39). كما تم التوصل إلى نتائج مشابهة في تنزانيا، فتفاعلت عزلات الفيروس TYLCV المحلية بصورة متباينة مع الأمصال المضادة أحادية الكلون SCR 17، SCR 20، SCR 23 و SCR 33، وصنفت جميع عزلات الفيروس المتفاعلة بقيم عالية من الكثافة الضوئية (OD) مع المصلين المضادين SCR 20 و SCR 23 بأنها تمتلك علاقة قرابة قوية مع فيروس TYLCV-European (10). وقد أسهم إنتاج أجسام مضادة أحادية الكلون نوعية في الكشف عن سلالات الفيروس TYLCV وتمييزها عن بعضها البعض وعن غيرها من فيروسات الجنس *Begomovirus*،

بينما تفاعلت الأمصال المتعددة الكلونات بصورة ايجابية مع مستخلصات الأنسجة النباتية المصابة ببعض فيروسات الجنس نفسه، مثل: *Bean golden mosaic virus* (BGMV)، *Cabbage leaf curl virus* (CabLCV)، *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV)، و*Tomato mottle virus* (ToMoV) عند استخدامها في اختبار إليزا (2)، الأمر الذي حال دون اعتماد الأخيرة في تمييز سلالات وأنواع المعقد الفيروسي (TYLCVs) المسبب لمرض اصفرار وتجعد أوراق البندورة/الطماطم.

لم يتفاعل الجسمان المضادان أحاديا الكلون SCR55 و SCR60 مع أي من العزلات المحلية المختبرة، وهذا مؤشر على عدم وجود العزلات الهندية للفيروسين (TYLCV-Indian و ICMV) وفقاً لنموذج التفاعل الموضح في الجدول 1، وأكدت هذه النتائج انتماء 10 عزلات محلية إلى مجموعتين مصليتين متباينتين (7 عزلات تعود للمجموعة II و3 عزلات تنتمي للمجموعة IV)، وهي تختلف مصلياً عن سابقاتها. كما أكدت هذه النتائج انتماء 7 عزلات أخرى من فيروس TYLCV إلى مجموعة مصلية مستقلة (المجموعة المصلية III) تفاعلت بصورة موجبة فقط مع المصل المضاد SCR20. وقد أمكن تمييز 15 سلالة و6 أنواع مختلفة في معقد الفيروس TYLCVs عند اختبار 59 عزلة في فلسطين، كما بلغت نسبة التشابه النيكليوتيدي لعزلة الفيروس التي مصدرها أوغندا مع عزلة فلسطين 73% و78% مع عزلة تنزانيا (15). ويتطلب التحديد الكامل والدقيق لمكونات المعقد الفيروسي المسبب لمرض اصفرار وتجعد أوراق البندورة/الطماطم في الساحل السوري اعتماد أمصال تخصصية إضافية واستخدام طرائق أكثر دقة (الطرائق الجزيئية)، ودراسة درجة تشابه فيروسات/سلالات هذا المعقد الفيروسي مع الفيروسات والسلالات المعروفة إقليمياً وعالمياً.

Abstract

Hasan, Z.M., I.D. Ismail and S.M. Al-Chaabi. 2013. Occurrence of *Tomato yellow leaf curl virus* in the Syrian coastal area and serological characterization of selected isolates. Arab Journal of Plant Protection, 31(1): 21-28.

A survey was conducted to determine the incidence of *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV, genus *Begomovirus*, family *Geminiviridae*) in 430 samples showing symptoms of viral infection, collected from 141 open fields and plastic tunnels in the governorates of Lattakia and Tartous in Syria during the growing seasons 2008/2009 and 2009/2010. Each sample represented one tomato plant, and tested by using DAS-ELISA. Average TYLCV incidence in symptomatic tomato samples collected from the Syrian coast was 31.4%, whereas the TYLCV incidence of similar samples collected from provinces of Lattakia and Tartous was 35.5 and 30.96%, respectively. The average percentages of fields/plastic tunnels planted with tomato and already infected with yellow leaf curl disease in the Syrian coast was 58.2%, whereas the average was 80.5% in Lattakia, and 49.0% in Tartous provinces. The average virus incidence in tomato plants in the field ranged from 9.3 to 40.0%, and the highest was in the regions of Qardaha (40%), and Banias (37.5%), near sea level, and the lowest in the regions of Kadmous (9.3%) and Sheikh Bader (12.4%) at around 500 m above sea level. Serological characterization of 60 of the TYLCV isolates by using TAS-ELISA and 5 MAbs showed diversity among the virus isolates tested, and they were distributed in six different serological groups: (i) Two isolates reacted similar to TYLCV-European, (ii) Two isolates reacted similar to *East african cassava mosaic virus* (EACMV), (iii) Seven isolates reacted with MAbs SCR18 and SCR20, and did not reacted with the MAbs SCR23, SCR55 and SCR60 (iv) Thirty nine isolates did not react with any of the monoclonal antibodies used in this study, which clearly pointed towards TYLCV-IL or other viral recombination's close to it, (v) Seven isolates reacted only with MAb SCR20, and (vi) three isolates reacted only with MAb SCR18.

Keywords: ELISA, monoclonal antibody, Syria, TYLCV.

Corresponding author: ***Ziad M. Hasan, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria, Email: ziadh1981@yahoo.com***

References

المراجع

1. **Abou-Jawdah, Y., R. Maalouf, W. Shebaro and K. Soubra.** 1999. Comparison of the reaction of tomato lines to infection by *Tomato yellow leaf curl begomovirus* in Lebanon. Plant Pathology, 48: 727–734.
2. **Abouzidm, A.M., J. Freitas-Astua, D.E. Purcifull, J.E. Polston, K.A. Beckham, W.E. Crawford, M.A. Petersen, B. Peyser, C. Patte and E. Hiebert.** 2002. Serological studies using polyclonal antisera prepared against the viral coat protein of four *Begomoviruses* expressed in Escherichia coli. Plant Disease, 86: 1109-1114.
3. **Accotto, G. and E. Noris.** 2007. *Tomato yellow leaf curl virus* disease, Detection methods for TYLCV and TYLCSV. Biomedical and Life Sciences, Part IV: 241-249.
4. **Al-Bitar, L. and E. Luisoni.** 1995. *Tomato yellow leaf curl geminivirus*: serological evaluation of an improved purification method. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 25, 267-276.
5. **Al-Moudallal, Z., D. Altscuh, J.P. Briand and M.H.V. Regenmortel.** 1984. Comparative sensitivity of different ELISA procedures for detecting monoclonal antibodies. Journal of Immunological Methods, 68: 35-43.
6. **Anfoka, G., F. Haj Ahmad, M. Abhary and A. Hussein.** 2009. Detection and molecular characterization of viruses associated with Tomato

yellow leaf curl disease in cucurbit crops in Jordan. Plant Pathology, 58: 754-762.

7. **Anfoka, G., M. Abhary and F. Haj Ahmad.** 2008. Survey of *Tomato yellow leaf curl disease-associated viruses* in the Eastern Mediterranean Basin. Journal of Plant Pathology, 90: 311-320.
8. **Bananej, K., A. Kheyr-Pour, G.H. Salekdeh and A. Ahoonmanesh**. 2004. Complete nucleotide sequence of *Iranian Tomato yellow leaf curl virus* isolate: further evidence for natural recombination amongst *Begomoviruses*. Archive of Virology, 149: 1435–1443.
9. **Bedford, I.D., R.W. Briddon, J.K. Brown, R.C. Rosell and P.G. Markham.** 1994. *Geminivirus* transmission and biological characterization of *Bemisia tabaci* (Gennadus) biotypes from different geographic regions. Annals of Applied Biology, 125: 311-325.
10. **Boniface, D. Kashina, Robert, B. Mabagala and Anatolia, A. Mpunami.** 2007. Serological detection and variability of *Tomato yellow leaf curl virus* isolates from Tanzania. Journal of Plant Protection Research, 47: 367-372.
11. **CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical).** 1998. Sustainable integrated management of whiteflies as pests and vectors of plant viruses in the tropics. Progress report, Cali, Co.: 131 Pp.
12. **Clark, M.F. and A.N. Adams.** 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. Journal of General Virology, 34: 475-483.
13. **Cohen, S. and Y. Antignus.** 1994. *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV), a whitefly-borne *geminivirus* of tomatoes. In: Harris K.F. (ed.): Advanced in Disease Vector Research. Springer-Verlag, New York, 10: 259- 288.
14. **Crescenzi, A., S. Comes, C. Napoli, A. Fanigliulo, R. Pacella, and G.P. Accotto.** 2004. Severe outbreaks of *Tomato yellow leaf curl Sardinia virus* in Calabria, Southern Italy. Commun Agricultural Applied of Biological Science, 69: 575-580.
15. **Czosnek, H.** 2008. *Tomato yellow leaf curl virus*. Encyclopedia of Virology (third Edithion): 138-145.
16. **Czosnek, H., M. Ghanim, S. Morin, G. Rubinstein, V. Fridman, and M. Zeidan.** 2001. Whiteflies: Vectors and victims of *geminiviruses*. Advances in Virus Research, 57: 291-322.
17. **Czosnek, H. and H. Laterrot.** 1997. A worldwide survey of *Tomato yellow leaf curl viruses*. Archives of Virology, 142: 1391-1406.
18. **Czosnek, H., R. Ber, Y. Antignus, S. Kohen, N. Navot and D. Zamir.** 1998. Isolation of *Tomato yellow leaf curl virus*. A geminivirus. Phytopathology, 78: 508-512.
19. **Dalmon, A., M. Cailly and C. David.** 2000. Comparison of serological and molecular techniques for detection of *Tomato yellow leaf curl begomovirus*. Bull. OEPP, 30: 457-462.
20. **Davino, S., C. Napoli, C. Dellacroce, L. Miozzi, E. Noris, M. Davino and G.P. Accotto.** 2009. Two new natural *begomovirus* recombinants associated with the tomato yellow leaf curl disease co-exist with parental viruses in tomato epidemics in Italy. Virus Research, 143: 15–23.

2.1 **EPPO.** 2005. *Tomato yellow leaf curl* and *Tomato mottle begomovirus*. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 35: 319-325.

22. **FAOSTAT.** 2010. List of countries by tomato production in 2008, Tomato-Wikipedia, The free encyclopedia: 1 page.
23. **García-Andrés, S., G.P. Accotto, J. Navas-Castillo and E. Moriones.** 2007. Founder effect, plant host, and recombination shape the emergent population of *Begomoviruses* that cause the tomato yellow leaf curl disease in the Mediterranean basin. Virology, 359: 302–312.
24. **Ghanim, M. and H. Czosnek.** 2000. *Tomato yellow leaf curl geminivirus* (TYLCV-Is) *is* transmitted among whiteflies (*Bemisia tabaci*) in a sex-related manner. Journal of Virology, 74: 4738-4745.
25. **Givord, L., D. Fargette, B.R. Kounounguissa, J.C. Thouvenel, B. Walter and M.H.V. van Regenmortel.** 1994. Detection of *geminiviruses* from tropical countries by double monoclonal antibody ELISA using antobodies to *African cassava mosaic virus*. Agronomy, 14: 327-333.
26. **Glick, E., Y. Levy and Y. Gafni.** 2009. The viral etiology of tomato yellow leaf curl disease. Plant Protection Science, 45: 81-97.
27. **Idris, A.M. and J.K. Brown.** 2005. Evidence for interspecific-recombination for three monopartite begomoviral genomes associated with the tomato leaf curl disease from central Sudan. Archives of Virology, 150: 1003–1012.
28. **Jones, J.B., J.P. Jones, R.E. Stall and T.A. Zitter.** 1991. Compendium of tomato diseases. Paul, Minnesota, APS Press (The American Pathological Society Press). 73 pp.
29. **Khan, A.J., A.M. Idris, N.A. Al-Saady, M.S. Al-Mahruki, A.M. Al-Subhi, J.K. Brown.** 2008. A divergent isolate of *Tomato yellow leaf curl virus* from Oman with an associated DNA beta satellite: an evolutionary link between Asian and the Middle Eastern virus-satellite complexes. Virus Genes, 36: 169–176.
30. **Kheyr-Pour, A., M. Bendahma, V. Matzeit, G.P. Accotto, S. Crespi and B. Gronenborn.** 1991. *Tomato yellow leaf curl virus* from Sardinia is a whitefly transmitted monopartite *geminivirus*. Nucleic Acids Research, 19: 6763-6769.
31. **Lefeuvre, P., D.P. Martin, G. Harkins, P. Lemey, A.J.A. Gray, S. Meredith, F. Lakay, A. Monjane, J.M. Lett, A. Varsani and J. Heydarnejad.** 2010. The spread of *Tomato yellow leaf curl virus* from the Middle East to the world. PLoS Pathog, 6(10): e1001164.
32. **Liu, Y., J. Cai, B. Qin and P. Tien.** 1998. Chinese *Tomato yellow leaf curl virus:* A new species of *geminivirus*. Science in China Series C, 41: 337-343.
33. **Macintosh, S., D.J. Robinson and B.D. Harrison.** 1992. Detection of three whitefly-transmitted *geminiviruses* occurring in Europe by tests with

heterologous monoclonal antibodies. Annals of Applied Biology, 121: 297-303.

34. **Makkouk, K.M.** 1976. Reaction of tomato cultivars to *Tobacco mosaic* and *Tomato yellow leaf curl viruses* in Lebanon. Poljopriverendna Znanstvena Smotra, 39: 121–126.
35. **Makkouk, K.M.** 1978. A study on tomato viruses in the Jordan Valley with special emphasis on Tomato yellow leaf curl. Plant Disease, 62: 259–268.
36. **Makkouk, K.M., S. Shehab and S.E. Majdalani**. 1979. Tomato yellow leaf curl: Incidence, yield losses and transmission in Lebanon. Phytopathologische Zeitschrift, 96: 263-267.
37. **Mansour, A. and A. Al-Musa.** 1992. *Tomato yellow leaf curl virus*: host range and virus-vector relationships. Plant Pathology, 41, 122-125.
38. **Mazyad, H.M., F. Omar, K. Al-Ther and M. Salha.** 1979. Observations on the epidemiology of Tomato yellow leaf curl disease on tomato plants. Plant Disease, 63: 695-698.
39. **McGrath, P.F. and B.D. Harrison**. 1995. Transmission of *Tomato leaf curl geminiviruses* by *Bemisia tabacci*: effects of virus isolate and vector biotype. Annals of Applied Biology, 126: 307-316.
40. **Monci, F., S. Sanchez-Campos, J. Navas-Castillo and E. Moriones.** 2002. A natural recombinant between the *geminivirus*: *Tomato yellow leaf curl Sardinia virus* and *Tomato yellow leaf curl virus* exhibits a novel pathogenic phenotype and is becoming prevalent in Spanish populations. Virology, 303: 317-326.
41. **Moriones, E. and J. Navas-Castillo.** 2000. *Tomato yellow leaf curl virus*, an emerging virus complex causing epidemics worldwide. Virus Research, 71: 123-134.
42. **Navas-Castillo, J., S. Sánchez-Campos, J.A. Diaz, E. Saez-Alonso and E. Moriones.** 1999. *Tomato yellow leaf curl virus* causes a novel disease of common bean and severe epidemics in tomato in Spain. Plant Disease, 83: 29-32.
43. **Navas-Castillo, J., S. Sánchez-Campos, E. Noris, D. Louro, G.P. Accotto and E. Moriones**. 2000. Natural recombination between *Tomato yellow leaf curl virus*-is and *Tomato leaf curl virus*. Journal of General Virology, 81: 2797–2801.
44. **Navot, N., E. Pichersky, M. Zeidan, D. Zamir and H. Czosnek.** 1991. *Tomato yellow leaf curl virus:* a whitefly-transmitted *geminivirus* with a single genomic component. Virology, 185: 151-161.
45. **Navot, N., R. Ber and H. Czosnek.** 1989. Rapid detection of *Tomato yellow leaf curl virus* in squashes of plants and insect vectors. Phytopathology, 79: 562–568.
46. **Noris, E., E. Hidalgo, G.P. Accotto and E. Moriones.** 1994. High similarity among the *Tomato yellow leaf curl virus* from the west Mediterranean basin: The nucleotide sequence of an infectious clone from Spain. Archives of Virology, 135: 165-170.
47. **Papayiannis, L.C., N. Ioannou, A.D. Avgelis and Nicolaos and I. Katis**. 2006. *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) species in Greece and Cyprus. Pages 122-124. In: Proceedings of the 12th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union, Rhodes Island, Greece, June 11-15, 2006.
48. **Pico, B., M.J. Diez and F. Nuez.** 1996. Viral diseases causing the greatest economic losses to the tomato crop. II, The *Tomato yellow leaf curl virus*- a review. Scientific Horticulture, 67: 151-196.
49. **Polston, J.E. and P.K. Anderson.** 1997. The emergence of whitefly-transmitted *geminiviruses* in tomato in the Western Hemisphere. Plant Disease, 81: 1358-1369.
50. **Roberts, M.I., D.J. Robinson and B.D. Harrison.** 1984. Serological relationships and genome homologies among *geminiviruses*. Journal of General Virology, 65: 1723-1730.
51. **Rochester, D.F., J. Depaulo, C.M. Fauquet and R.N. Beachy.** 1994. Complete nucleotide sequence of the *geminivirus Tomato yellow leaf curl virus,* Thailand isolate. Journal of General Virology, 75: 477-485.
52. **Rybicki, E.P., R.W. Briddon, J.K. Brown, C.M. Fauquet, D.P. Maxwell, B.D. Harrison, P.G. Markham, D. Bisaro, D. Robinson and J. Stanley.** 2000. Family *Geminiviridae.* Pages 285-297. In: Virus taxonomy: Classification and nomenclature of viruses. M.H.V. van Regenmortel, C.M. Fauquet, D.H.L. Bishop, E.B. Carstens, M.K. Estes, S.M. Lemon, J. Maniloff, M.A. Mayo, D.J. McGeoch, C.R. Pringle and R.B. Wickner (eds.). Academic Press, Inc., San Diego.
53. **Solmesky, L.J., A. Zrachya, G. Denisova, Y. Gafni and J.M. Gershoni.** 2010. Preparation and epitope characterization of monoclonal antibodies suitable for detection of *Tomato yellow leaf curl virus*. Phytoparasitica, 38: 201-208.
54. **Varma, A. and V.G. Malthi**. 2003. Emerging *geminivirus* problems: A serious threat to crop production. Annals of Applied Biology, 142: 145-164.
55. **Zeidan, M. and H. Czosnek.** 1991. Acquisition of *Tomato yellow leaf curl virus* by the whitefly *Bemisia tabaci*. Journal of General Virology, 72: 2607-2614.

Received: October 3, 2011; Accepted: February 6, 2012

تاريخ الاستلام: 2011/10/3؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2012/2/6