

تغییرات وقوع و شدت بیماری پیچیدگی برگ گوجه‌فرنگی و جمعیت سفیدبالک *Bemisia tabaci* در سه رقم گوجه‌فرنگی در کشت گلخانه‌ای (مورد مطالعه: شیراز، استان فارس، ایران)*

النا باقرنژاد، سیدعلی‌اکبر بهجت‌نیا**، علیرضا افشاریفر و حبیب‌اله حمزه زرقانی^۱

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۵/۲۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۸/۲۶)

چکیده

پیچیدگی برگ از بیماری‌های خسارت‌زای گوجه‌فرنگی است که توسط چندین ویروس از جنس *Begomovirus* (خانواده *Geminiviridae*) از جمله ویروس پیچیدگی برگ زرد گوجه‌فرنگی (TYLCV) ایجاد می‌شود. این ویروس توسط سفیدبالک *Bemisia tabaci* منتقل می‌شود. بمنظور بررسی تغییرات وقوع و شدت بیماری و تخمین جمعیت ناقل ویروس در سه رقم گوجه‌فرنگی شامل PANDA-F1، YRMT و BRST، ۱۵ گیاه از هر رقم که در گلخانه پرورشی-تولیدی دانشکده کشاورزی شیراز کشت شده بودند بصورت تصادفی انتخاب و میزان آلودگی طبیعی آنها به جدایه ایرانی TYLCV (TYLCV[Ab]) در فواصل زمانی ۲۰ روز (از ۲۰ روز پس از تاریخ کاشت تا انتهای ۱۰۰ روز) بوسیله آزمون PCR با استفاده از آغازگرهای اختصاصی TYLCV[Ab] تعیین شد. پس از بروز علائم، شدت بیماری با روش چشمی و با مقیاس ارزیابی ترتیبی اندازه‌گیری و به مقیاس نسبی تبدیل شد. بمنظور برآورد جمعیت *B. tabaci* تعداد ۵۰ عدد شفیره از برگ‌های هر گیاه جمع‌آوری و با استفاده از خصوصیات ظاهری شفیره، شفیره‌های *B. tabaci* از شفیره‌های سفیدبالک گلخانه (*Trialeurodes vaporariorum*) تفکیک و شمارش گردیدند. تجزیه آماری نشان داد که تفاوت معنی‌دار در میزان وقوع و شدت بیماری و جمعیت *B. tabaci* بین ارقام وجود دارد. وقوع بیماری از ۶/۶٪ تا ۸۶/۶٪ بترتیب در ۴۰ و ۱۰۰ روز پس از تاریخ کاشت برآورد شد. وقوع و شدت بیماری و جمعیت حشره ناقل در رقم‌های YRMT و PANDA-F1 نسبت به رقم BRST روندی صعودی‌تری نشان دادند و با شیب بیشتری افزایش یافتند. رقم BRST نسبتاً "متحمل‌تر از دو رقم دیگر (YRMT و PANDA-F1) که نسبت به TYLCV حساس بودند تشخیص داده شد.

کلیدواژه: رقم YRMT، رقم PANDA F1، رقم BRST، گوجه‌فرنگی، ویروس پیچیدگی برگ زرد گوجه‌فرنگی

* بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول، ارائه شده به دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز.

** مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: behjatni@shirazu.ac.ir

۱. به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار، استاد و دانشیار بیماری‌شناسی گیاهی گروه آموزشی گیاهپزشکی دانشگاه شیراز.

Changes in incidence and severity of tomato leaf curl disease and population dynamics of *Bemisia tabaci* in three tomato cultivars in greenhouse cultivation (Shiraz, Fars Province, Iran)*

E. Baghernejad*, S.A.A. Behjatnia**, A.R. Afsharifar, and H. Hamzehzarghani¹

(Received: 15.8.2017; Accepted: 17.11.2017)

Abstract

Tomato leaf curl disease (TLCD) is one of the most destructive diseases of tomato caused by a number of begomoviruses including *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) belonging to the genus *Begomovirus* (family *Geminiviridae*). TYLCV is transmitted by the whitefly *Bemisia tabaci*. In order to investigate changes in occurrence and severity of TLCD and evaluate the viral vector population on three tomato cultivars namely Yellow Round Multiple Truss (YRMT), PANDA F1 and Black Russian ST 175 (BRST) in a greenhouse in College of Agriculture, Shiraz University, 45 plants (15 plants from each cultivar) were randomly selected. Specific primers of an Iranian isolate of TYLCV (TYLCV[Ab]) were used to detect plants naturally infected with TYLCV by PCR. After symptom emergence, both disease incidence (DI) and severity (DS) were evaluated visually using an ordinal rating scale. To estimate vector's population, 50 whitefly puparia were collected from two leaves of each cultivar and based on the vasiforme and outward specifications of puparia, *B. tabaci* distinguished from *Trialeurodes vaporariorum*. The data analysis by SAS software indicated significant differences in DI, DS and vector population dynamics between three tomato cultivars. The DI was estimated to be 6.6% to 86.6%, at 40 and 100 days after planting date, respectively. The incidence and severity of disease and insect vector populations in YRMT and PANDA-F1 cultivars showed a higher trend and rose more sharply compare to those in the BRST cultivar. BRST was comparatively more resistant than the two other cultivars (YRMT and PANDA) which were susceptible to TYLCV.

Keywords: BRST cultivar, PANDA F1 cultivar, YRMT cultivar, Tomato, *Tomato yellow leaf curl virus*

* Part of M.Sc. Thesis of the First Author Submitted to College of Agric., Shiraz Univ., Shiraz, Iran.

**Corresponding author's E-mail: behjatni@shirazu.ac.ir

1. M.Sc. Student, Assoc. Prof., Prof., Assoc. Prof., respectively, of Plant Pathol., College of Agric., Shiraz Univ., Shiraz, Iran.

مقدمه

این جدایه‌ها در چهار خوشه فیلوژنتیک قرار گرفته که براساس منشاء جغرافیائی تفکیک می‌گردند.

ژنوم TYLCV و TLCV یک جزئی است و از یک مولکول دی‌ان‌ای تک رشته‌ای حلقوی تشکیل یافته است. علاوه بر این ویروس‌ها، یک واریانت از *Tomato leaf curl Palampur virus* که یک بگوموویروس با ژنوم دو بخشی است بعنوان عامل اپیدمی بیماری پیچیدگی برگ گوجه‌فرنگی در ایران معرفی شده است. این ویروس علاوه بر گوجه‌فرنگی بیماری‌های مهمی را در انواع کدوئیان مخصوصاً "خیار و طالبی ایجاد می‌نماید (Heydarnejad et al. 2009). ژنوم بگوموویروس‌ها درون پیکره‌های دوقلوی جورترا بسته بندی می‌شوند (Lazarowitz 1992). ناقل طبیعی این ویروس‌ها، سفیدبالک *Bemisia tabaci* است که ویروس را به روش پایا و غیرتکثیری انتقال می‌دهد (Ghanim et al. 2001; Gilbertson et al. 2015; Zerbin et al. 2017). هر چند که در چند سال اخیر، تکثیری بودن این ویروس‌ها در بدن ناقل به اثبات رسیده است (Pakkianathan et al. 2015).

بوته‌های گوجه‌فرنگی که در سن کم به TYLCV آلوده می‌شوند، به شدت کم رشد می‌شوند؛ شاخه‌های انتهایی راست رشد می‌کنند و برگچه‌های آن‌ها کوچک و دارای شکل غیر طبیعی می‌گردند. برگ‌هایی که بلافاصله بعد از آلودگی توسعه می‌یابند، به طرف پائین می‌پیچند، در حالی که برگ‌هایی که بعداً توسعه می‌یابند مشخصاً "کلروز، بدشکل و دارای حاشیه‌های پیچیده به طرف بالا می‌شوند. تأثیر در میوه به سن گیاه در موقع آلوده شدن بستگی دارد. اگر گیاهان زود آلوده شوند، ضعیف می‌شوند و میوه‌ی کامل تولید نمی‌کنند. هرگاه آلودگی‌ها در مراحل بعدی نمو رخ دهد، میوه‌ی دیگری نمی‌تواند تشکیل شود اما میوه‌ای که قبلاً وجود داشته، به طور تقریباً طبیعی می‌رسد. هیچ

گوجه‌فرنگی یکی از محصولات صنعتی کشاورزی است که می‌تواند نقش بسزایی در رشد اقتصادی کشور داشته باشد (Mazaheri Tehrani et al. 2007). بیماری پیچیدگی برگ یکی از معضلات کشت گوجه‌فرنگی در کشت‌های مزرعه و گلخانه‌ای در سراسر ایران است که توسط چندین گونه ویروس از جنس *Begomovirus* و تیره *Geminiviridae* از جمله ویروس پیچیدگی برگ زرد گوجه‌فرنگی (TYLCV) ایجاد می‌شود. بعد از اولین گزارش بیماری پیچیدگی برگ گوجه‌فرنگی در ایران (Hajimorad et al. 1996)، این بیماری از تمام مناطق کشت گوجه‌فرنگی کشور شامل استان‌های سیستان و بلوچستان، فارس، بوشهر، کرمان، هرمزگان، خوزستان، مرکزی، یزد و خراسان و سایر مناطق گزارش گردید. در حال حاضر، حداقل شش سویه از گونه TYLCV شامل سویه‌های ایرانشهر، آباء، بوشهر (گناوه)، کهنوج، میناب و بندرعباس به ترتیب با رس شماره‌های AJ132711، GU076442، EU635776، GU076454، FJ355946 و EU085423 از مزارع استان‌های فارس، بوشهر، کرمان و هرمزگان، یک سویه از گونه *Tomato leaf curl virus* (TLCV) با رس شمار AY297924 از مزارع گوجه‌فرنگی ایرانشهر در استان سیستان و بلوچستان و یک سویه از گونه *Tomato leaf curl New Delhi virus* با رس شمار KP793719 از مزارع کدوئیان استان خوزستان گزارش شده‌اند (Behjatnia et al. 2011, Brown et al. 2015; Pakniat Jahromi, et al. 2011; Yazdani-Khameneh et al. 2016; Zerbin et al. 2017). واکاوی فیلوژنتیک توالی ژنوم کامل تعداد زیادی جدایه TYLCV از ایران و دیگر کشورها که توسط حسین زاده و همکاران در سال ۲۰۱۴ (Hoseinzadeh et al. 2014) صورت گرفت نشان داد که

دارای محصولی زرد رنگ، گیلاسی شکل و خوشه‌ای مرکب می‌باشد، رقم ANDA F1 از شرکت GENTO Seeds ترکیه که دارای محصولی قرمز رنگ، گرد و مسطح می‌باشد و Black Russian ST 175 (BRST) از شرکت Green harvest استرالیا، دارای محصولی گرد، مسطح و قرمز تیره که حاشیه آن به رنگ بنفش می‌باشد و در گلخانه پرورشی و تولید گیاهان گلخانه‌ای دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز کشت شده بودند استفاده شد. تعداد ۱۵ گیاه از ۶۰ گیاه گوجه فرنگی کاشته شده از هر رقم، به طور تصادفی انتخاب شد. اولین نمونه برداری از هر ۱۵ گیاه هر رقم در نیمه خردادماه ۱۳۹۵ (۲۰ روز بعد از تاریخ کشت) که مصادف با مرحله ی چهاربرگی گیاهان بود انجام شد. پس از آن به فاصله هر ۲۰ روز در چهار نوبت دیگر مجدداً از گیاهان مورد آزمایش نمونه برداری انجام شد.

اندازه‌گیری وقوع بیماری

وقوع بیماری در گیاهان انتخابی هر رقم با ردیابی TYLCV با انجام آزمون واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) در نمونه‌های هر پنج نوبت نمونه برداری، اندازه‌گیری شد. دی‌ان‌ای کل از ۲۰۰ میلی گرم بافت برگ هر نمونه با روش CTAB (Gawel and Jarret 1991) استخراج شد و در آزمون PCR بکار رفت. برای ردیابی TYLCV از یک جفت آغازگر اختصاصی [Ab]-TYLCV شامل 5'-GGATCCTCGAAGCGACCAGGCGATA 3'-TAATC-311^v و [Ab]-TYLCV شامل 5'-AAGCTTTTAATTTGATATGGAATCA 3'-TAGAAATAG-311^v که قادر به تکثیر قطعه‌ای باندازه ۷۷۴ جفت باز است استفاده شد. واکنش PCR در حجم‌های ۲۵ میکرولیتری شامل دی‌ان‌ای قالب استخراج شده از حدود ۳/۳ میکروگرم بافت برگ (۱ میکرولیتر)، آغازگرها (هر

گونه علائمی در گل مشاهده نمی‌شود اما ریزش گل‌ها رایج است (Cohen and Lapidot 2007; Jones et al. 1991).

تاکنون مطالعات اندکی در مورد شدت بیماری پیچیدگی برگ گوجه‌فرنگی و شاخص‌های دخیل در آن و میزان خسارت ویروس ای ایجاد کننده این بیماری صورت گرفته است. با توجه به اهمیت بیماری پیچیدگی برگ گوجه‌فرنگی و خسارت شدیدی که این بیماری به ارقام مختلف گوجه‌فرنگی وارد می‌کند، در این مطالعه به منظور برآورد میزان خسارت این بیماری، میزان وقوع ویروس عامل بیماری، شدت علائم بیماری و جمعیت ناقل ویروس بر روی سه رقم گیاه گوجه‌فرنگی شامل YRMT، PANDA-F1 و BRST در شرایط طبیعی کشت گلخانه‌ای مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌های بررسی

انتخاب گیاهان مورد آزمایش

این پژوهش در محل گلخانه پرورشی - تولیدی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز، منطقه باجگاه با ارتفاع ۱۸۱۰ متر از سطح دریا، ۵۲°۳۲' طول شرقی و عرض ۲۹°۳۶' نیمکره شمالی، در گلخانه‌ای به مساحت ۵۰۰ متر مربع، رطوبت نسبی ۶۵-۷۵ درصد و میانگین دمایی شب و روز ۲۵-۲۰ درجه سلسیوس با پوشش پلی کربنات، سیستم سرمایشی از نوع پنکه و پوشال و سیستم گرمایشی از نوع بخاری هیتر، به اجرا درآمد. در این مطالعه از سه رقم گیاه گوجه فرنگی شامل رقم Yellow Round Multiple Truss (YRMT) از شرکت Green Genomic Seeds چین که اصلاح بذر آن توسط بخش باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز صورت گرفته بود و

(DS) و خسارت بررسی شد (Madden 2007).

$$DS = \frac{\sum [(0 \times a) + (1 \times b) + (2 \times c) + (3 \times d) + (4 \times e)]}{(a + b + c + d + e) \times 4}$$

برآورد جمعیت ناقل ویروس

بمنظور برآورد جمعیت ناقل ویروس، در هر نمونه برداری، از پائین‌ترین برگ‌های موجود در گیاهان انتخاب شده در هر رقم، مجموعاً "یک جمعیت ۵۰ تایی شفیله از دو برگ هر رقم جمع‌آوری شد. با در نظر گرفتن خصوصیات ظاهری شفیله‌های *Bemisia tabaci* مخصوصاً "قسمت سوراخ منرج (Vasiform orifice) آن، شفیله‌های *B. tabaci* از شفیله‌های سفیدبالک گلخانه (*Trialeurodes vaporariorum*) با تهیه اسلاید و استفاده از میکروسکوپ جدا و شمارش شدند.

واکاوی آماری داده‌ها

به منظور تعیین تاثیر رقم گوجه فرنگی بر اپیدمیولوژی بیماری با استفاده از رویه غیرخطی نرم‌افزار SAS (Proc nlin) مدل نمائی پیشرفت بیماری (رشد جمعیت) بر داده‌های وقوع و شدت بیماری (در مقیاس نسبی) و جمعیت نسبی ناقل در برابر زمان برازش داده شد. مقادیر برآورد شده نمونه‌ای پارامترهای شدت و وقوع در آغاز بیماری و جمعیت نسبی اولیه ناقل (عرض از مبدا) و سرعت افزایش (تکثیر) بیماری (ناقل) بر روی میزبان (شیب) و خطای معیار آنها مورد استفاده قرار گرفتند. برای مقایسه دو به دوی ارقام از نظر مقدار بیماری (جمعیت نسبی ناقل) در آغاز بیماری {عرض از مبدا} و سرعت افزایش بیماری (جمعیت ناقل) {شیب} آزمون تی (t-test) انجام شد. برای این کار با استفاده از فرمول زیر آماره t محاسبه گردید (برای رعایت اختصار فقط فرمول محاسبه

کدام به غلظت ۴/ میکرومولار)، چهار داکسی‌نوکلئوتید تری فسفات هر یک به غلظت ۲۰۰ میکرومولار، ۱/۵ میلی مولار از کلرید منیزیم ($MgCl_2$)، ۱/۲۵ واحد آنزیم پلی‌مراز Taq (شرکت سیناژن، ایران) و ۲/۵ میکرولیتر از بافر اختصاصی (10X) انجام گرفت. برنامه دمایی آزمون PCR شامل یک چرخه واسرشت سازی اولیه به مدت ۳ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس، ۳۰ چرخه با دمای واسرشت سازی ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه، دمای اتصال ۵۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه، دمای گسترش ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه و یک چرخه انتهایی به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس بود.

اندازه‌گیری شدت علائم بیماری

اندازه‌گیری شدت علائم بیماری با روش چشمی و بر روی یک مقیاس ارزیابی ترتیبی (ordinal rating scale) صورت گرفت. بدین صورت که هر ۱۵ گیاه از هر رقم، در فواصل ۲۰ روز به صورت چشمی بررسی و یک نمره از بین صفر تا چهار براساس شدت علائم ناشی از TYLCV شامل نمره‌های ۰ = سالم (بدون علائم)، ۱ = پیچیدگی و کوچکی خفیف برگ‌ها (علائم خفیف)، ۲ = پیچیدگی و کوچکی متوسط برگ‌ها (علائم متوسط)، ۳ = پیچیدگی، قاشقی شدن و کوچکی و زردی نسبتاً شدید برگ‌ها (علائم نسبتاً شدید)، ۴ = پیچیدگی، قاشقی شدن و کوچکی و زردی شدید برگ‌ها (علائم شدید) به هر گیاه داده شد (Vidavski 2007). شدت بیماری براساس رابطه زیر به مقیاس ۰ تا ۱ تبدیل شد که در آن a تا e بترتیب تعداد گیاهان ارزیابی شده در رده نمره‌های ۰ تا ۴ در طی مدت ارزیابی بودند. سپس براساس رقم بدست آمده منحنی پیشرفت بیماری رسم و رابطه بین شدت بیماری

آماره t برای شیب نوشته شده است).

$$t_{cal} = \frac{\hat{r}_i - \hat{r}_j}{s(\hat{r}_i - \hat{r}_j)}$$

که در آن \hat{r}_i و \hat{r}_j به ترتیب برآورد شیب رقم اول (آم) و رقم دوم (ژام) هستند و $s(\hat{r}_i - \hat{r}_j)$ خطای معیار تفاوت بین شیب‌ها می باشد که بصورت زیر برآورد می‌شود.

$$s(\hat{r}_i - \hat{r}_j) = (s_{(\hat{r}_i)}^2 + s_{(\hat{r}_j)}^2)^{\frac{1}{2}}$$

اگر در چنین مقایسه‌ای $t_{cal} > t_{\alpha,df}$ (که در آن $\alpha = 0.05$ و $df = df_i + df_j$ است. df_i و df_j به ترتیب درجه آزادی خطای مدل برای رقم آم و ژام می‌باشند) باشد، در اینصورت فرض صفر (H_0) عدم تفاوت بین دو رقم از نظر شیب (سرعت افزایش بیماری یا جمعیت ناقل) رد می‌شود و لذا نتیجه‌گیری می‌شود تفاوت در سطح آلفای مورد نظر مثلاً ۵ درصد معنی‌دار است. برای مقایسه هر دو رقم دلخواه از نظر مقادیر اولیه و سرعت افزایش وقوع و شدت بیماری و همچنین سرعت تکثیر ناقل، شیب و عرض از مبدا مقایسه‌ها با این روش انجام گردید.

نتایج

خصوصیات فنوتیپی گیاهان آلوده ارقام مورد آزمایش

در نمونه‌برداری اول و دوم (به ترتیب ۲۰ و ۴۰ روز پس از تاریخ کشت) علائم خاصی بر روی گیاهان انتخاب شده مشاهده نشد. علائم تبییک بیماری پیچیدگی برگ گوجه فرنگی به صورت کاهش اندازه برگچه‌ها، بدشکلی، قاشقی شدن و پیچیدگی برگ‌ها به سمت بالا، زردی حاشیه برگ‌های جوان و زردی فاصله بین رگبرگ‌ها در پهنک برگچه‌ها، ریزش گل و کوتولگی گیاه در سومین نوبت نمونه‌برداری (دو ماه پس از کشت) و با شدت بیشتر

تا پنجمین نوبت نمونه‌برداری (۱۰۰ روز پس از کشت) در گیاهان انتخاب شده مشاهده شد (شکل ۱).

روند وقوع بیماری در گیاهان ارقام مورد مطالعه

وقوع بیماری با ردیابی TYLCV توسط آزمون PCR و با استفاده از آغازگرهای اختصاصی [Ab]-TYLCV در هر نوبت نمونه‌برداری ثبت شد. شکل ۲ بعنوان نمونه نتایج حاصل از ردیابی TYLCV را در رقم PANDA F1 در ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ روز بعد از کاشت نشان می‌دهد.

بررسی نتایج PCR نشان داد که پس از سپری شدن ۲۰ روز از تاریخ کاشت، در هیچ یک از گیاهان مورد آزمایش، TYLCV ردیابی نشد. در ۴۰ روز پس از تاریخ کاشت تنها یک گیاه از رقم PANDA F1 به این ویروس آلوده بود. در همین زمان هیچ‌کدام از گیاهان دو رقم دیگر آلوده به ویروس پیچیدگی برگ زرد گوجه‌فرنگی نشده بودند. اما پس از ۶۰ روز از تاریخ کاشت نشاء، هشت گیاه از رقم YRMT و دو گیاه از رقم PANDA F1 به این ویروس آلوده بودند و هیچ گیاهی از رقم BRST به این ویروس آلوده نشده بود. با گذشت زمان روند افزایش آلودگی به ویروس پیچیدگی برگ زرد گوجه‌فرنگی و تعداد گیاهان بیمار در هر سه رقم ادامه یافت بطوریکه در آخرین نوبت نمونه‌برداری یعنی ۱۰۰ روز پس از تاریخ کاشت نشاء، تعداد گیاهان آلوده به این ویروس در دو رقم YRMT و PANDA F1 به ۱۳ گیاه رسید. در حالی که تعداد گیاهان آلوده به این ویروس در رقم BRST به هفت عدد افزایش یافت. جدول ۱ تعداد گیاهان آلوده به [Ab]-TYLCV در سه رقم مورد مطالعه در تمام تاریخ‌های نمونه‌برداری را نشان می‌دهد.

بنابراین نتایج حاصل از ردیابی TYLCV در فواصل زمانی ۲۰ روزه (از مرحله ی ۴ برگی گیاهان یعنی از ۲۰



شکل ۱. علائم بیماری پچییدگی برگ گوجه‌فرنگی به صورت کاهش اندازه برگچه‌ها، بدشکلی، پچییدگی و قاشقی شدن برگ‌ها به سمت بالا، زردی حاشیه برگ‌های جوان و زردی فاصله بین رگبرگ‌ها در پهنک برگچه‌ها که با شدت‌های متفاوت در گیاهان آلوده گوجه‌فرنگی (A) رقم YRMT، (B) رقم PANDA-F1 و (C) رقم BRST مشاهده شد. گیاه سالم هر رقم در پانل سمت راست نشان داده شده است. dpc، روز‌های بعد از کشت.

Figure 1. Tomato leaf curl disease symptoms including leaflet's size reduction, deformation, curling and upward cupping of leaves, yellowing of young leaves margin and interveinal yellowing on leaflet's lamina with different intensities observed on infected-tomato plants of A) YRMT cultivar, B) PANDA-F1 cultivar and C) BRST cultivar. Healthy plant of each cultivar is shown in left panel. dpc (days post-cultivation).

روز پس از تاریخ کاشت نشاء تا انتهای ۱۰۰ (روز)، بیانگر افزایش تعداد گیاهان بیمار توسط ویروس پچییدگی برگ زرد گوجه‌فرنگی در رقم‌های YRMT و PANDA F1 بود. در حالیکه تحت شرایط یکسان و با گذشت زمان، گیاهان رقم BRST به نسبت کمتری آلوده به این ویروس شدند (شکل ۳).

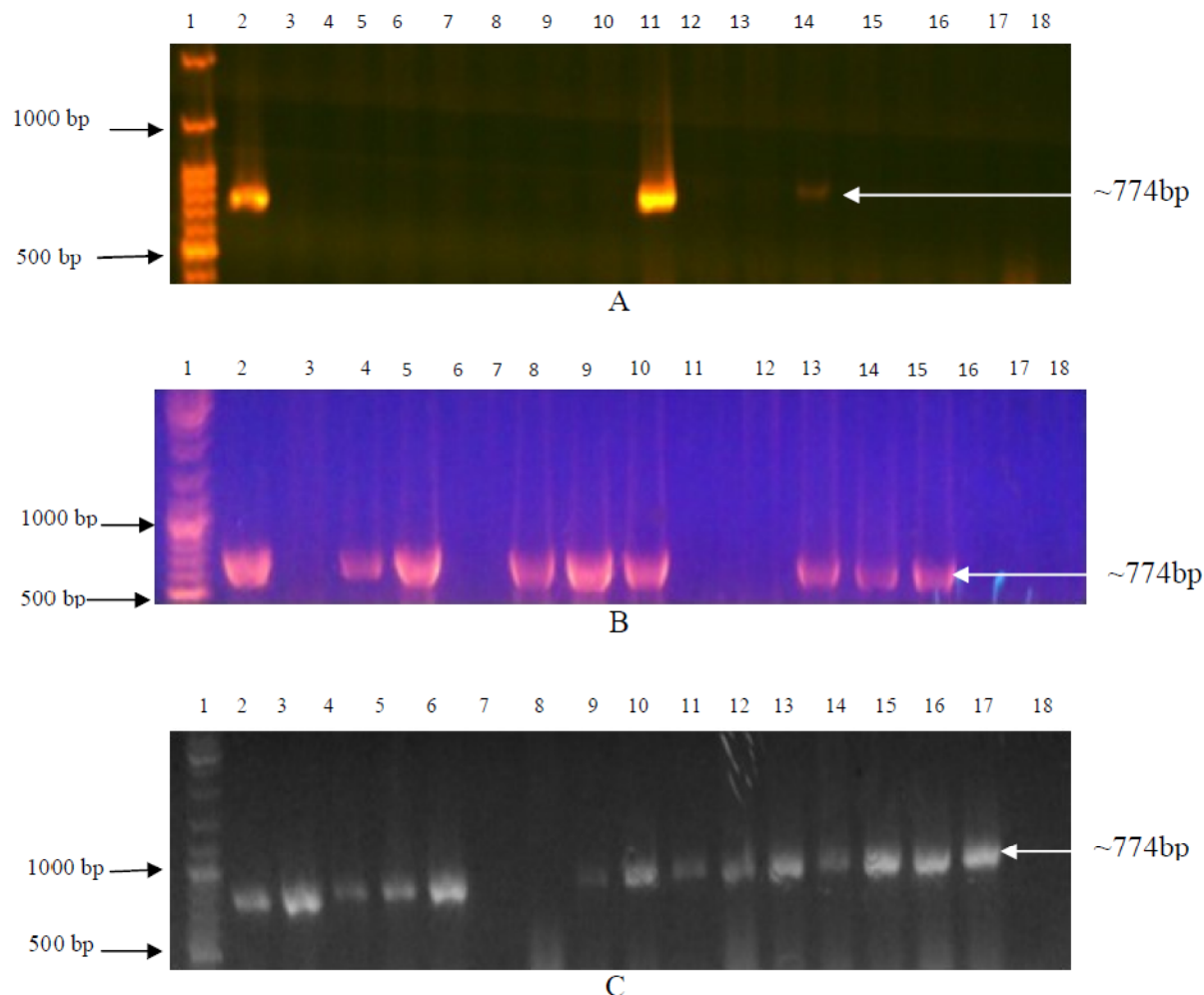
نتایج حاصل از تجزیه آماری نشان داد که دو رقم PANDA F1 و BRST از لحاظ وقوع بیماری پچییدگی برگ گوجه‌فرنگی در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند. همچنین دو رقم YRMT و BRST در سطح یک درصد از لحاظ وقوع این بیماری اختلاف

جدول ۱. تعداد گیاهان آلوده به TYLCV-[Ab] از جمع ۱۵ گیاه جمع‌آوری شده از هر یک از ۳ رقم گوجه‌فرنگی مورد مطالعه در تاریخ‌های نمونه‌برداری. درصد آلودگی در پراتسزها نشان داده شده است.

Table 1. Number of TYLCV-[Ab]-infected plants from 15 collected plants of each tomato cultivar in five sampling dates. Percentage of infection has shown in parentheses.

Sampling date	Tomato cultivar		
	YRMT	PANDA F1	BRST
20 dpc	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
40 dpc	0 (0 %)	1 (6.6 %)	0 (0 %)
60 dpc	8 (53.3 %)	2 (13.3 %)	0 (0 %)
80 dpc	9 (60 %)	9 (60 %)	2 (13.3 %)
100 dpc	13 (86.6 %)	13 (86.6 %)	7 (46.6 %)

dpc, (days post-cultivation)



شکل ۲. نقوش الکتروفورزی قطعات تکثیر شده در PCR با استفاده از جفت آغازگر اختصاصی [Ab]-TYLCV در ژل آگارز یک درصد. راهک ۱: نشانگر صد جفت بازی، راهک ۲: کنترل مثبت (دی‌ان‌ا استخراج شده از یک گیاه آلوده به [Ab]-TYLCV)، راهک های ۳-۱۷: به ترتیب دی‌ان‌ا استخراج شده از ۱۵ گیاه انتخابی رقم PANDA F1، راهک ۱۸: کنترل منفی (دی‌ان‌ا استخراج شده از یک گیاه سالم)، (A)، (B) و (C) به ترتیب ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ روز پس از تاریخ کشت.

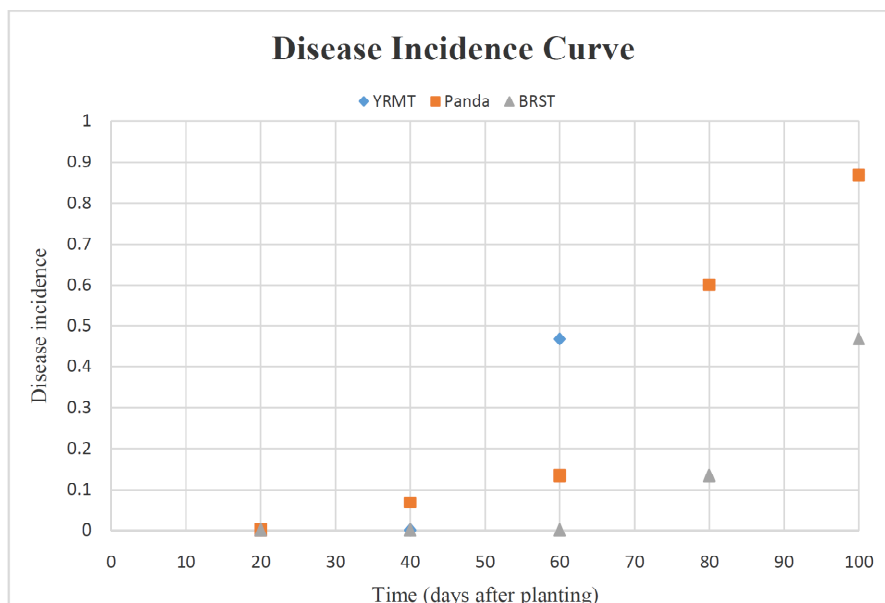
Figure 2. Electrophoresis pattern of PCR products using a specific TYLCV-[Ab] primer pair on 1% agarose gel. Line 1: DNA ladder, Line 2: Positive control (Total DNA extract of leaf tissue of a TYLCV-[Ab]-infected plant, Line 3-17: Total DNA extract of leaf tissue of 15 selective plants from PANDA F1 cultivar, respectively. Line 18: Negative control (Total DNA extract of leaf tissue of a healthy plant of PANDA F1 cultivar), A) 60 dpc (days post-cultivation), B) 80 dpc and C) 100 dpc.

روند پیشرفت شدت بیماری در گیاهان ارقام مورد

مطالعه

به طور کلی صرف‌نظر از رقم گوجه‌فرنگی، هرچه گیاه گوجه‌فرنگی زودتر به ویروس آلوده شود یا مدت زمان آلودگی به ویروس بیشتر باشد، شدت بیماری بیشتر

معنی‌داری با یکدیگر نشان دادند. بین دو رقم YRMT و F1 PANDA اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد. در نهایت رقم BRST نسبت به TYLCV مقاوم‌تر از دو رقم دیگر (YRMT و PANDA F1) که هر دو نسبت به این ویروس حساس بودند تشخیص داده شد (جدول ۲).



شکل ۳. روند وقوع بیماری پیچیدگی برگ گوجه‌فرنگی در سه رقم PANDA F1، YRMT و BRST در پنج نوبت نمونه‌برداری (روزهای بعد از کشت)

Figure 3. Tomato leaf curl disease occurrence on three tomato cultivars (YRMT, PANDA F1 and BRST) in five sampling dates (days post-cultivation).

جدول ۲. واکاوی آماری مقایسه میزان وقوع ویروس پیچیدگی برگ زرد گوجه‌فرنگی بر روی سه رقم PANDA F1، YRMT و BRST بصورت دو تا دو تا.

Table 2. Statistical analysis comparison of *Tomato yellow leaf curl virus* occurrence on three tomato cultivars (YRMT, PANDA F1 and BRST) two by two.

Comparison	Intercept				slope			
	d	SE(d)	t _{cal}	Pr>t	d	SE(d)	t _{cal}	Pr>t
YRMT vs. PANDA	0.032	0.051	0.627	0.553 ^{ns}	0.008	0.011	0.727	0.494 ^{ns}
PANDA vs. BRST	0.0266	0.021	1.266	0.252 ^{ns}	0.035	0.01	3.5	0.0128*
YRMT vs. BRST	0.0586	0.047	1.246	0.259 ^{ns}	0.043	0.01	4.3	0.005**

1 Slope: شیب (سرعت پیشرفت شدت بیماری)

2 Intercept: عرض از مبدا (شدت اولیه بیماری)

3 Difference (D): اختلاف

4 Standard Error (SE): خطای معیار

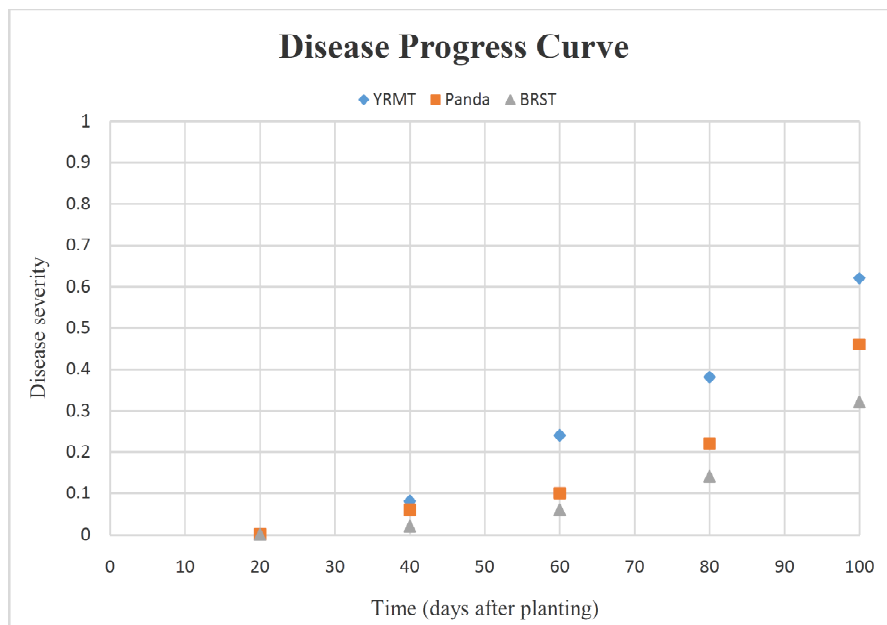
5 T Calculated (TC): مقدار آماره T محاسبه شده

6 Pr>T: Probability (P), میزان احتمال شانسی رد فرض صفر درست $H_0: \mu_i = \mu_j$ و significance سطح معنی‌داری (ns=غیرمعنی‌دار، *

معنی‌دار در سطح ۵ درصد، و ** معنی‌دار در سطح ۱ درصد)

عکس العمل سه رقم گوجه‌فرنگی مورد مطالعه استفاده شد. واکاوی داده‌ها نشان داد که شدت بیماری ایجاد شده توسط TYLCV در رقم‌های YRMT و PANDA F1

خواهد بود. پارامترهای عرض از مبدأ و شیب مدل نمایی که بهترین مدل برای توصیف اپیدمی‌های TYLCV و دینامیک جمعیت سفیدبالک *B. tabaci* بود برای ارزیابی



شکل ۴. روند پیشرفت بیماری پیچیدگی برگ گوجه‌فرنگی در سه رقم PANDA F1، YRMT و BRST در پنج نوبت نمونه‌برداری (روزهای بعد از کشت)

Figure 4. Tomato leaf curl disease progress on three tomato cultivars (YRMT, PANDA F1 and BRST) in five sampling dates (days post-cultivation).

نوبت نمونه‌برداری اقدام شد. سفیره‌های *B. tabaci* جمع‌آوری از هر نمونه از سفیره‌های سفیدبالک گلخانه (*Trialeurodes vaporariorum*) براساس خصوصیات ظاهری سفیره‌های سفیدبالک‌ها و قسمت Vasiforme آنها که در زیر شرح داده شده است، با تهیه اسلاید میکروسکوپی و استفاده از میکروسکوپ جدا و شمارش شدند.

پوسته‌های سفیرگی *B. tabaci* کم‌رنگ، طویل، بیضی‌شکل، نازک و پهن، در حاشیه مضرس و در ناحیه سر متناسب با ساختار برگ میزبان از یک تا هفت جفت مو متغیر است. در سطح پشتی آخرین حلقه شکم عضوی به نام سوراخ منخرج (Vasiform orifice) قرار گرفته که در گونه *B. tabaci* مثلی شکل و طویل و در سفیدبالک گلخانه (*T. vaporariorum*) به شکل قلب نامتقارن است. در هر دو گونه سوراخ منخرجی توسط سرپوشی به نام

نسبت به رقم BRST روندی صعودی‌تری داشته و با شیب بیشتری افزایش یافت (شکل ۴).

همچنین تجزیه آماری پیشرفت شدت بیماری پیچیدگی برگ گوجه‌فرنگی در سه رقم PANDA F1، YRMT و BRST به صورت دوتا دوتا نشان داد که دو رقم YRMT و BRST از لحاظ سرعت پیشرفت شدت بیماری در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر دارند و سرعت پیشرفت شدت بیماری در رقم BRST کمتر و در رقم YRMT بیشتر بود (جدول ۳). در حالیکه بین دو رقم YRMT و PANDA F1 و همچنین بین دو رقم BRST و PANDA اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد.

بررسی فراوانی ناقل ویروس در ۵ تاریخ نمونه‌برداری

بمنظور برآورد فراوانی ناقل ویروس نسبت به جمع‌آوری ۵۰ سفیره از دو برگ هر نمونه و در هر پنج

جدول ۳. واکاوی آماری مقایسه شدت بیماری پیچیدگی برگ گوجه‌فرنگی ارقام YRMT، PANDA F1 و BRST بصورت دو تا دو تا.

Table 3. Statistical analysis comparison of tomato leaf curl disease severity of three tomato cultivars (YRMT, PANDA F1 and BRST) two by two.

Comparison	Intercept				slope			
	d	SE(d)	t _{cal}	Pr>t	d	SE(d)	t _{cal}	Pr>t
YRMT vs. PANDA	0.029	0.041	0.707	0.506 ^{ns}	0.007	0.05	0.14	0.600 ^{ns}
PANDA vs. BRST	0.019	0.01	1.99	0.093 ^{ns}	0.024	0.05	0.48	0.524 ^{ns}
YRMT vs. BRST	0.048	0.04	1.22	0.266 ^{ns}	0.031	0.01	3.1	0.021*

1 Slope, 1: شیب (سرعت پیشرفت شدت بیماری)

2 Intercept, 2: عرض از مبدا (شدت اولیه بیماری)

3 Difference(D), 3: اختلاف

4 Standard Error (SE), 4: خطای معیار

5 T Calculated (TC), 5: مقدار آماره T محاسبه شده

6 Pr>T: Probability (P), 6: میزان احتمال شانسی رد فرض صفر درست $H_0: \mu_i = \mu_j$ و H_a : significance سطح معنی داری

(ns=غیر معنی دار، * معنی دار در سطح ۵ درصد، و ** معنی دار در سطح ۱ درصد)

سرعت پیشرفت شدت بیماری در سطح ۵ درصد اختلاف معنی داری با یکدیگر دارند (جدول ۴). اما دو رقم YRMT و BRST از لحاظ فراوانی ناقل در ایجاد شدت اولیه بیماری اختلاف معنی دار نداشته اما از لحاظ فراوانی ناقل در ایجاد سرعت پیشرفت شدت بیماری در سطح ۵ درصد با یکدیگر اختلاف معنی داری دارند (جدول ۴). بین دو رقم YRMT و PANDA F1 در هر دو مورد فراوانی ناقل در ایجاد شدت اولیه بیماری و ایجاد سرعت پیشرفت شدت بیماری اختلاف معنی دار مشاهده نشد (جدول ۴).

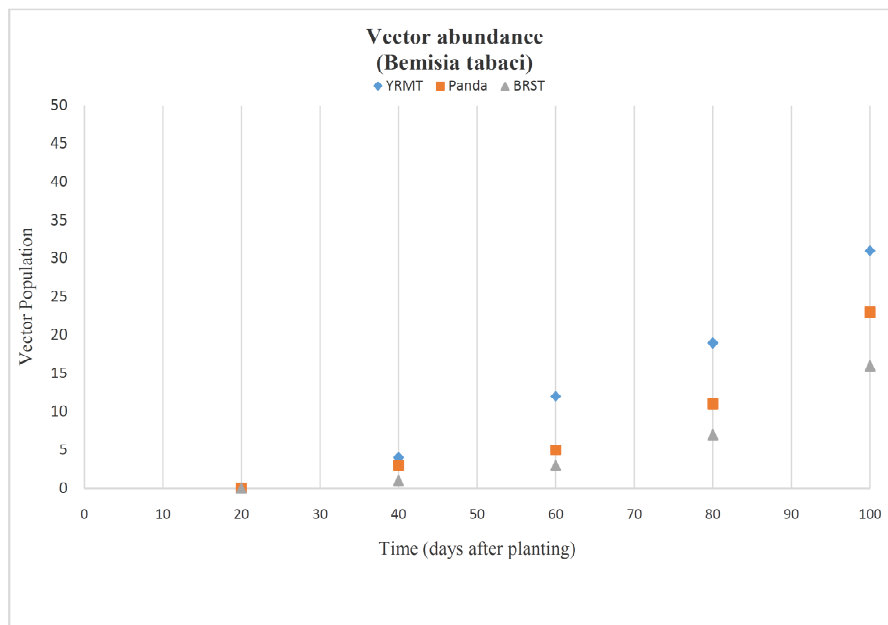
بحث

گوجه‌فرنگی از جمله سبزیجات میوه‌ای است که به اشکال مختلف خام یا فرآوری شده مورد استفاده انسان قرار می‌گیرد. ارقام گوجه‌فرنگی که از زمان قدیم در ایران کشت می‌گردیدند دارای عملکرد زیادی نبودند لذا عواملی مانند نوع مصرف، طول دوره‌ی رشد، کیفیت مناسب و مقاومت به بیماری‌ها مورد توجه قرار دارد. از وقتی که لاپیدت و همکاران در سال ۱۹۹۷ (Lapidot et al. 1997)

Operculum پوشیده می‌شود که در زیر آن یک زائده زبان مانند به نام *lingula* قرار گرفته است. در گونه *B. tabaci* operculum متورم بوده و در گونه *T. vaporariorum* لپ‌دار (lobed) است. از مهم‌ترین ویژگی‌های پوسته سفیدبالک *B. tabaci* وجود یک جفت موی بلند در ناحیه انتهایی شکم به نام *caudal setae* است (Shahbazi 2011).

نتایج فراوانی ناقل ویروس در پنج تاریخ نمونه‌برداری در نمودار شکل ۵ نمایش داده شده است. همانطور که داده‌های این شکل نشان می‌دهد، تعداد ناقل ویروس پیچیدگی برگ زرد گوجه‌فرنگی در گیاهان هر سه رقم با گذشت زمان افزایش یافت (شکل ۵). همچنین تکثیر سفیدبالک ناقل ویروس روی رقم BRST نیز بطور معنی داری کندتر از دو رقم دیگر بود (شکل ۵).

تجزیه آماری فراوانی ناقل *Bemisia tabaci* در سه رقم YRMT، PANDA F1 و BRST به صورت دو تا دو تا نشان داد که دو رقم PANDA F1 و BRST از لحاظ فراوانی ناقل در ایجاد شدت اولیه بیماری و در ایجاد



شکل ۵. روند فراوانی ناقل *Bemisia tabaci* در سه رقم PANDA F1، YRMT و BRST در پنج نوبت نمونه‌برداری (روزهای بعد از کشت)

Figure 5. Vector abundance trend on three tomato cultivars (YRMT, PANDA F1 and BRST) in five sampling dates (days post-cultivation).

جدول ۴: واکاوی آماری مقایسه فراوانی ناقل *Bemisia tabaci* در سه رقم PANDA F1، YRMT و BRST بصورت دو تا دو تا. داده‌های نشان داده شده در جدول میانگین داده‌های پنج نوبت نمونه‌برداری است.

Table 4. Statistical analysis comparison of *Bemisia tabaci* abundance trend on three tomato cultivars (YRMT, PANDA F1 and BRST) two by two. The data presented in the Table is the mean of five sampling dates data.

Comparison	Intercept				slope			
	d	SE(d)	t _{cal}	Pr>t	d	SE(d)	t _{cal}	Pr>t
YRMT vs. PANDA	1.196	0.686	1.743	0.131 ^{ns}	0.008	0.004	2	0.092 ^{ns}
PANDA vs. BRST	0.309	0.127	2.433	0.0509*	0.005	0.002	2.5	0.0465*
YRMT vs. BRST	1.505	0.677	2.223	0.067 ^{ns}	0.013	0.004	3.25	0.0174*

1 Slope: شیب (سرعت پیشرفت شدت بیماری)

2 Intercept: عرض از مبدا (شدت اولیه بیماری)

3 Difference(D): اختلاف

4 Standard Error (SE): خطای معیار

5 T Calculated (TC): مقدار آماره T محاسبه شده

6 Pr>T: Probability (P), میزان احتمال شانس رد فرض صفر درست $H_0: \mu_i = \mu_j$ و significance سطح معنی داری (ns=غیرمعنی‌دار، *

معنی‌دار در سطح ۵ درصد، و ** معنی‌دار در سطح ۱ درصد)

این بیماری گزارش نشده است. بنابراین ضروری به نظر می‌رسد که با توجه به شرایط اقلیمی مناسب استان فارس و شهر شیراز برای کشت گوجه‌فرنگی، ارقام خارجی که

ارقام گوجه‌فرنگی را از لحاظ مقاومت به بیماری پیچیدگی برگ گوجه‌فرنگی به دو دسته حساس و متحمل تقسیم‌بندی کردند، تا به حال رقم کاملاً مقاومی در برابر

در ایران وارد می‌شوند، از لحاظ مقاومت به این بیماری در شرایط آزمایشگاهی و طبیعی مورد بررسی قرار گیرند.

بمنظور بررسی میزان خسارت بیماری پیچیدگی برگ گوجه‌فرنگی، بهجت نیا و همکاران (Behjatnia et al. 2015) واکنش دو رقم گوجه‌فرنگی Rio grand (RG) و Grosse lisse (GL) را به ویروس‌های پیچیدگی برگ زرد (TYLCV) و پیچیدگی برگ گوجه‌فرنگی (TLCV) با استفاده از همسانه‌های عفونت‌زای این دو ویروس به روش مایه‌زنی با آگروباکتیوم (agroinoculation) بررسی نمودند. تفاوت معنی‌داری در شدت بیماری و شاخص‌های رشد شامل وزن و ارتفاع گیاه بین نوع ویروس، رقم گوجه‌فرنگی و مدت زمان آلودگی و برهمکنش ویروس*رقم*طول مدت آلودگی مشاهده شد. شدت بیماری در گیاهان آلوده به TLCV کمتر از گیاهان آلوده به TYLCV بود و در هر دو مورد در رقم RG بیشتر از GL بود. با افزایش طول مدت آلودگی میزان شاخص‌های گیاهی کاهش بیشتری داشتند و رقم GL کاهش کمتری در شاخص‌های رشد نشان داد. در کل، آلودگی به TYLCV نسبت به TLCV شدت بیماری بیشتری را نشان داد و TYLCV خسارت‌زاتر بود.

در مطالعه دیگری، مقاومت ۱۴۰ توده ژنی گوجه‌فرنگی به سویه بندرعباس TYLCV (TYLCV-Ir2, accession EU085423) با استفاده از مایه زنی با حشره ناقل در شرایط گلخانه مورد ارزیابی قرار گرفت. براساس ارزیابی‌های فنوتیپی و مولکولی، هیچ توده ژنی، مقاومت کامل به TYLCV نشان نداد، در حالی که نه (۹) توده ژنی در برابر آلودگی به این ویروس متحمل شناخته شدند (Azizi et al, 2008).

این مطالعات در شرایط آزمایشگاهی و مایه‌زنی گیاهان با همسانه‌های عفونت‌زای ویروس‌ها یا مایه زنی با حشره

ناقل در شرایط گلخانه انجام شده بود. در حالیکه برآورد خسارت در شرایط طبیعی که آلودگی بوسیله حشره ناقل صورت می‌گیرد تخمین دقیق‌تری از میزان خسارت را بدست می‌دهد. بهمین منظور در این تحقیق واکنش سه رقم، Yellow Round Multiple Truss (YRMT)، PANDA F1 و Black Russian ST 175 (BRST) نسبت به آلودگی طبیعی بیماری پیچیدگی برگ گوجه‌فرنگی که قاعدتاً "بوسیله ناقل ویروس بطور طبیعی صورت می‌گیرد مورد بررسی قرار گرفت. در بین این ارقام، رقم BRST در مقایسه با دو رقم YRMT و PANDA F1 حساسیت کمتری در مورد وقوع بیماری پیچیدگی برگ گوجه‌فرنگی، سرعت پیشرفت بیماری و فراوانی ناقل بیماری (Bemisia tabaci) نشان داد. بدین صورت که دو رقم PANDA F1 و BRST از لحاظ وقوع بیماری پیچیدگی برگ گوجه‌فرنگی در سطح ۵ درصد و دو رقم YRMT و BRST در سطح ۱ درصد از لحاظ وقوع این بیماری اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نشان دادند. همچنین از لحاظ سرعت پیشرفت شدت بیماری دو رقم YRMT و BRST اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند و مشخص شد که در رقم BRST سرعت پیشرفت شدت بیماری کم، در حالیکه در ارقام YRMT و PANDA F1 زیاد می‌باشد. از لحاظ فراوانی ناقل (Bemisia tabaci) هم، دو رقم PANDA F1 و BRST در ایجاد شدت اولیه بیماری و سرعت پیشرفت شدت بیماری در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نشان دادند. همچنین دو رقم YRMT و BRST در سطح ۵ درصد از لحاظ فراوانی ناقل در ایجاد سرعت پیشرفت شدت بیماری با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشتند. در نهایت به دلیل کمتر بودن شدت و وقوع بیماری پیچیدگی برگ گوجه‌فرنگی در رقم BRST، در مقایسه با دو رقم دیگر (YRMT و PANDA F1)،

سه رقم گوجه‌فرنگی ذکر شده و تفاوت‌های مشاهده شده، پیشنهاد می‌شود تغییرات احتمالی غلظت دی‌ان‌ای ژنومی در طول مدت رشد هر رقم با تکنیکی مانند آزمون زنجیره ای پلیمرز در زمان واقعی انجام گیرد تا تصمیم‌گیری برای انتخاب رقم مناسب که درجه بالائی از تحمل را به TYLCV نشان می‌دهد آسانتر باشد.

می‌توان گفت که رقم BRST دارای مقاومت احتمالی نسبت به این بیماری است. مقاومت احتمالی BRST نسبت به دو رقم دیگر می‌تواند هم به دلیل مکانیزم‌های مقاومت فردی به تکثیر و آثار سوء ویروس بر گیاه و هم به دلیل عدم ترجیح میزبانی بوسیله ناقل باشد. با توجه به نتایج حاصل از ردیابی ویروس پیچیدگی برگ زرد گوجه‌فرنگی توسط آزمون زنجیره‌ای پلیمرز در

منابع

- Azizi A., Mozafari J. and Shamsbakhsh M. 2008. Phenotypic and molecular screening of tomato germplasm for resistance to Tomato yellow leaf curl virus. *Iranian Journal of Biotechnology* 6: No. 4.
- Behjatnia S. A. A., Izadpanah K. and Afsharifar A. 2011. The status of geminivirus species in Iran. *First Iranian Plant Virologist symposium*, Shiraz, Iran.
- Behjatnia S. A. A., Delnavaz S. and Hamzehzarghani H. 2015. Comparison of tomato vegetative growth indices affected by Tomato (yellow) leaf curl viruses. *First International and 9th National Biotechnology Congress of Islamic Republic of Iran*. May 24 – 26 2015, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.
- Brown J.K., Zerbini F.M., Navas-Castillo J., Moriones E., Ramos-Sobrinho R., Silva J.C.F., Fiallo-Olive E., Bridson R.W., Zepeda C.H., Idris A., Malathi V.G., Martin D.P., Bustamante R.R., Ueda S. and Varsani A. 2015. Revision of *Begomovirus* taxonomy based on pair wise sequence comparisons. *Archives of Virology* 160: 1593–1619.
- Cohen S. and Lapidot M. 2007. Appearance and expansion of TYLCV: A historical point of view, pp. 3-12 In H. Czosnek (Ed.). *Tomato yellow leaf curl virus disease (Management, Molecular Biology, Breeding for Resistance)*. Springer. Netherlands.
- Gawel N. J. and Jarret R. L. 1991. A modified CTAB DNA extraction procedure for *Musa* and *Ipomoea*. *Plant Molecular Biology Reporter* 9: 262-266.
- Ghanim M., Morin S. and Czosnek H. 2001. Rate of Tomato yellow leaf curl virus translocation in the circulative transmission pathway of its vector, the whitefly *Bemisia tabaci*. *Phytopathology* 91: 188-196.
- Gilbertson R.L, Batuman O. Webster C. G and Adkins S. 2015. Role of the insect super-vectors *Bemisia tabaci* and *Frankliniella occidentalis* in the emergence and global spread of plant viruses. *Annual Review of Virology* 2: 67-93
- Hajimorad M. R., Kheyrpour A., Alavi V., Ahoonmanesh A., Bahar M., Rezaian M. A. and Gronenborn B. 1996. Identification of whitefly transmitted tomato yellow leaf curl geminivirus from Iran and a survey of its distribution with molecular probes. *Plant Pathology* 45: 418-425.
- Heydarnejad J., Mozaffari A., Massumi H., Fazeli R., Gray A. J. A., Eredith M., Lakay F., Shepherd D. N., Martin D. P. and Varsani A. 2009. Complete sequences of tomato leaf curl Palampur virus isolates infecting cucurbits in Iran. *Archives of Virology*. 154: 1015–1018.
- Hosseinzadeh M. R., Shamsbakhsh M., Osaloo S. K. and Brown, J. K. 2014. Phylogenetic relationships, recombination analysis, and genetic variability among diverse variants of tomato yellow leaf curl virus in Iran and the Arabian Peninsula: further support for a TYLCV center of diversity. *Archives of Virology* 159: 485–497.
- Jones J. B., Jones J. P., Stall R. E. and Zitter T. A. 1991. *Compendium of tomato diseases*. American Phytopathological Societies Press. 73p.
- Lapidot M., Friedmann M., Lachman O., Yehezkel A., Nahon S., Cohen S. and Pilowsky M. 1997. Comparison

- of resistance level to tomato yellow leaf curl virus among commercial cultivars and breeding lines. *Plant Disease* 81:1425-1428.
- Lazarowitz S. 1992. Geminiviruses: genome structure and gene function. *Critical Reviews in Plant Sciences* 11: 327-349.
- Madden, L.V., Hughes, G., and van den Bosch, F. 2007. Epidemics and crop yield, pp.353-388 In Madden L. V. (Ed.). *The Study of Plant Disease Epidemics*. The American Phytopathological Society, APS Press St. Paul, Minnesota. 421p.
- Mazaheri Tehrani M., Mortazavi S. A., Ziaalhagh H. and Ghandi A. 2007. *Tomato product and technology*. The first edition. College of Agriculture, Mashhad Ferdowsi University. 231p.
- Pakkianathan B. C., Kontsedalov S., Lebedev G., Mahadav A., Zeidan M., Czosnek H. and Ghanim M. 2015. Replication of Tomato yellow leaf curl virus in its whitefly vector, *Bemisia tabaci*. *Journal of Virology* 89: 9791-9803.
- Pakniat-Jahromy A., Behjatnia S. A. A., Kharazmi S., Shahbazi M., and Izadpanah K. 2011. Molecular characterization and construction of an infectious clone of a new strain of Tomato yellow leaf curl virus in southern Iran. *Iranian Journal of Plant Pathology* 46: 101-115.
- Shahbazi M. 2011. Biotypes of *Bemisia tabaci* from southern Iran and their efficiency in transmission of tomato leaf curl and tomato yellow leaf curl begomoviruses. M.Sc. Thesis, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.
- Vidavski F.S. 2007. Exploitation of resistance genes found in wild tomato species to produce resistant cultivars; pile up of resistant genes, pp. 363-372 In: H. Czosnek (Ed.). *Tomato yellow leaf curl virus disease (Management, Molecular Biology, Breeding for Resistance)*. Springer. Netherlands.
- Yazdani-Khameneh S., Aboutorabi S., Shoori M., Aghazadeh A., Jahanshahi P., Golnarahi A. and Maleki M. 2016. Natural Occurrence of Tomato leaf curl New Delhi virus in Iranian Cucurbit Crops. *The Plant Pathology Journal* 32: 201-208.
- Zerbini F. M., Briddon R. W., Idris A., Martin D. P., Moriones E., Navas-Castillo J., Rivera-Bustamante R., Rougmanac P. and Varsani A. 2017. ICTV Report Consortium. ICTV Virus Taxonomy Profile: *Geminiviridae*. *Journal of General Virology* 98: 131-133.