ژنتیک نوین
دوره هفدهم، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۱
صفحه ۲۳۷ - ۲۲۷

اثر هرم‌سازی ژن‌های کنترل‌کننده صفت مقاومت نسبت به بیماری ویروسی پیچیدگی برگ زرد گوجه‌فرنگی (Tomato yellow leaf curl virus, TYLCV) بر سیستم‌های دفایی آنزیمی و غیرآنزیمی در لاین‌های مختلف

The effect of Pyramiding resistance control genes on viral disease of Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) on enzymatic and non-enzymatic defense systems in different lines

کمال صالحی[۱]، غلامرضا شریفی سیرچی*[۲]

۱- دانشجوی دکتری، بخش مهندسی باغبانی دانشگاه هرمزگان، هرمزگان، ایران
۲- دانشیار، بخش مهندسی بیوتکنولوژی دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

Salehi K[1], Sharifi-sirchi GhR*[2]

1- PhD Student, Department of Horticultural Science, College of Agriculture, University of Hormozgan, Hormozgan, Iran
2- Associate Professor, Department of Agricultural Biotechnology Engineering, College of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی:Sharifi-sirchi@uk.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۰۱ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۱/۲۴)

چکیده

بیماری ویروسی پیچیدگی برگ زرد گوجه‌فرنگی (TYLCV) از جمله عوامل اصلی محدود کننده است که در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری جهان خسارت بسیار بالایی را به محصول گوجه‌فرنگی وارد می‌نماید. جهت ارزیابی نقش انتقال و هرم‌سازی ژن‌های *TY-2* و *TY-1/3* در ایجاد مقاومت نسبت به این بیماری ویروسی در تعدادی از لاین‌های مختلف گوجه‌فرنگی (حساس اما با عملکرد مطلوب) پژوهش حاضر صورت گرفت. به این منظور بعد از تلاقی والد مقاوم با لاین‌های مورد نظر سه مرحله تلاقی برگشتی و یک مرحله خودگشنی انجام گرفت (به‌منظور شناسایی و غربال‌گری افراد دارای مکان ژنی مورد نظر در هر نسل از نشانگر اسکار T0302 پیوسته با مکان ژنی TY-2 و نشانگر اسکار P6-25 برای مکان ژنی TY-1/3 استفاده شد) و سپس تعدادی از صفات دخیل در سیستم دفاعی گیاه و همچنین میزان غلظت ژنوم ویروس TYLCV با استفاده از تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلیمراز کمی به‌منظور ارزیابی مقاومت مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که آلودگی ویروسی باعث افزایش سطح ترکیبات فنول و فلاونوئید و همچنین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه شاهد شد. در حالی‌که لاین‌های حاوی ژن‌های *TY-2* و *TY-1/3* سطح پایین‌تری از سنتز و بیان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی (فنول و فلاونوئید) و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، پروکسیداز، گایاکول پروکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز) را داشتند. همچنین در بررسی میزان غلظت ژنوم ویروس TYLCV مشاهده شد که لاین‌های حاوی دو مکان ژنی TY-2 وTY-1/3 نسبت به گیاه شاهد کمترین میزان ژنوم ویروس را دارا بودند. این نتایج بیانگر پایین بودن میزان تکثیر ویروس و بروز مقاومت در نتیجه حضور این دو مکان ژنی در گیاه میزبان است. با توجه به مشاهدات این مطالعه می‌توان با ادغام ژن‌های مختلف TY سطح مطلوبی از مقاومت را در لاین‌های با عملکرد بالا اما حساس گوجه‌فرنگی در برابر ویروس TYLCV حاصل نمود.

واژه‌های کلیدی

پروکسیداز
پلی فنول اکسیداز
ژن‌های TY
فلاونوئید
فنول
کاتالاز
گایاکول پروکسیداز

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

مقدمه

بیماری ویروسی پیچیدگی برگ زرد گوجه‌فرنگی یکی از مخرب‌ترین بیماری‌هایی است که باعث بروز خسارت‌های سنگین به محصول گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) در سرتاسر دنیا می‌شود (Al-Abedy et al. 2021; Lee et al. 2021). برای اولین بار این ویروس در فلسطین گزارش شده است (Mabvakure 2016) و در سال ۱۳۷۵ نیز برای اولین بار در مزارع ایران گزارش شد (Hajimorad et al. 1996). این ویروس متعلق به خانواده جمینی ویریده[1] و جنس بگوموویروس‌ها[2] می‌باشد (Zerbini et al. 2017). میزبان اعضای این جنس معمولاً گیاهان دو لپه می‌باشند (Beam et al. 2020) مکانیسم انتقال بگوموویروس‌ها عمدتاً به‌صورت طبیعی توسط سفید بالک[3] و به روش پایا و چرخشی است (Czosnek et al. 2017). از لحاظ مطالعات فیلوژنی اعضای این جنس به ۲ دسته تک قسمتی[4] و دو قسمتی[5] تقسیم‌بندی می‌شوند. افراد با ژنوم تک قسمتی دارای اجزای ژنومی به‌طول تقریبی 2.8 kb (DNA-A) که معمولاً متعلق به دنیای قدیم (آسیا، آفریقا و شبه جزیره هند) می‌باشند. اعضای بگوم‌های دو قسمتی نیز دارای ژنومی به‌طول تقریبی 2.6 kb (دارای هر دو ژنوم DNA-A وDNA-B) می‌باشند و از لحاظ پراکنش بیشتر متعلق به دنیای جدید (قاره آمریکا) می‌باشند (Zerbini et al. 2017; Singh et al. 2019; Gupta et al. 2021).

در مطالعات متعددی ایجاد مقاومت از طریق اینتروگرسیون مکان‌های ژنی مقاومت از گونه‌های *Solanum pimpinellifolium*، *Solanum peruvianum*، *Solanum chilense* و *Solanum habrochaites* به‌طور موفقیت‌آمیزی صورت گرفته است (Dhaliwal et al. 2020). از بین این منابع مشخصات تعداد کمی از ژن‌های مقاومت شرح و نقشه‌ی ژنی آن‌ها ثبت شده است. ژن *TY-1* با غالبیت نسبی از گونه *S. chilense* در اینبردلاین LA1969 اینتروگرسیون شد و جایگاه کروموزومی این ژن در نقشه ژنی بر روی بازوی کوتاه کروموزوم ٦ تعیین شد (Verlaan et al. 2013; Butterbach et al. 2014). ژن *TY–2* بر روی بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۱۱ اینبردلاین B6013 گونه *S. habrochaites* شناسایی شد. این مکان ژنی پروتئین‌های سیتوپلاسمی دارای محل اتصال به نوکلئوتید و غنی از تکرار لوسین را کد می‌کند. ژن *TY–2* مقاومت به بگوموویروس‌های تک قسمتی را فراهم می‌سازد و این در حالی است که نسبت به ایجاد مقاومت به بگوموویروس‌های دوقسمتی غیر مؤثر می‌باشد (Yamaguch et al. 2018; et al. 2014). هر سه ژن *Ty-1*، *Ty-3* و *Ty-3a* آلل‌های مختلف یک مکان ژنی واحد می‌باشند که به‌ترتیب از اینبردلاین‌های LA1969، LA2779 و LA1932 گونه *S. chilense* منشاء گرفته و بر روی کروموزوم شماره ٦ قرار دارند. آلل‌های این مکان ژنی کدکننده یک RNA polymerase وابسته به RAN (RDR) می‌باشند (Verlaan et al. 2013). در مطالعات Hutto et al. (2012) ژن مقاومت *Ty-5* از لاین‌های مشتق شده از کولتیوار Tyking بر روی کروموزوم شماره ٤ شناسایی شده است و سرانجام ژن *TY-6* مسئول ایجاد مقاومت در برابر TYLCV بر روی کروموزوم شماره ۱۰ تعیین شد. حضور این ژن در گیاه، مقاومت در برابر چندین گونه بگوموویروس تک قسمتی و دوقسمتی را فراهم می‌سازد (Gill et al. 2019). با این وجود که بیشتر این منابع به‌عنوان پاسخ‌های مقاومت در برابر ویروس شناخته می‌شوند، سطح فعالیت و علائم ویروس در لاین‌های داری این منابع (ژن‌های *TY*) کمتر از لاین‌های حساس می‌باشد. ایجاد و توسعه ژنتیک مولکولی و تکنولوژی مرتبط با انتخاب به‌کمک نشانگر مولکولی (MAS[6]) منجر به ایجاد زمینه‌های جدیدی در اصلاح گیاهان شد که از آن جمله می‌توان به هرم‌سازی ژن‌های کنترل‌کننده مقاومت در گیاهان را نام برد. هرمی‌سازی ژن منجر به انباشته شدن چندین ژن و بیان هم زمان بیش از یک ژن به‌منظور ایجاد بیان مقاومتی پایدار در یک واریته می‌شود. همچنین هرم‌سازی ژن علاوه بر اینکه سبب بهبود کارایی در انجام اصلاح گیاهان می‌شود، منجر به توسعه ذخایر ژنتیکی و ایجاد طیف وسیعی از پتانسیل‌های مقاومت در گیاهان می‌شود (Lee et al. 2021). هرم‌سازی ژن‌های *TY* در ژنوتیپ‌های حساس گوجه‌فرنگی، باعث ایجاد مقاومت در برابر ویروس TYLCV

[1] Geminiviridea
[2] *Begomovirus*
[3] *Bemisia tabaci*
[4] Monopartite
[5] Bipartite
[6] Marker Associated Selection

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

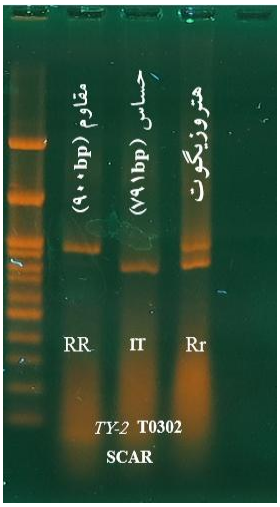
می‌شود. این ژن‌ها مسئولیت مهار فعالیت ژنوم ویروس در گیاه میزبان را دارند (Tabein et al. 2017). در هنگام ایجاد آلودگی توسط پاتوژن‌های مختلف و بروز تنش اکسیداتیو در گیاهان مکانیسم‌های دفاعی میزبان به شکل موضعی یا سیستمیک با شناسایی عوامل بیمارگر یا غیر بیمارگر فعال می‌شوند. این مکانیسم‌ها شامل افزایش تولید و سنتز آنزیم‌های مانند کاتالاز، پروکسیداز، گایاکول پروکسیداز، پلی فنول اکسیداز و ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی می‌باشد (sofy et al. 2021; Pappi et al. 2021; Amoako et al. 2015). گیاهان با تولید این ترکیب و انباشت آن‌ها در مکان‌های از قبیل واکوئل سلول‌های لایه اپیدرمی برگ و ساقه می‌توانند موجب کاهش اثرات تنش اکسیداتیو حاصل از فعالیت پاتوژن‌های مختلف شوند (Agrios 2005). با بررسی پتانسیل میزان تولید ترکیبات فنولی (Singh et al. 2010, 2015) و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ژنوتیپ‌های گوناگون می‌توان به‌منظور شناسایی و غربالگری ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس در برابر تنش‌های متفاوت همانند آلودگی ویروس TYLCV استفاده نمود.

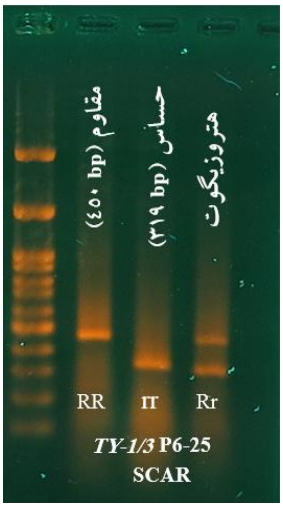
از آن‌جایی که ویروس TYLCV در کل کشور و خصوصاً نواحی جنوبی کشور خسارت سنگینی را وارد می‌نماید، مطالعه و ایجاد ارقام مقاوم به این ویروس امری مهم و اجتناب ناپذیر است. از این رو تحقیق حاضر به‌منظور ارزیابی انتقال و هرم‌سازی ژن‌های (*TY-2, TY-1/3*) کنترل‌کننده مقاومت در برابر ویروس TYLCV انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

به‌منظور غربالگری و شناسایی ژنوتیپ‌های دارای ژن‌های کنترل کننده مقاومت از آغازگرهای اسکار[1] برای دو مکان ژنی *TY-2* (T0302) و *TY-1/3* (P6-25) استفاده شد. پس از شناسایی افراد دارای این مکان‌های ژنی به‌منظور انتقال این دو ژن به یک ژنوتیپ واحد و ایجاد ژنوتیپ پایه که دارای هر دو مکان ژنی باشد، با یکدیگر تلاقی داده شدند. سپس نتاج به‌دست آمده (F_1) با ۸ لاین مطلوب و حساس تلاقی داده شدند. به‌منظور افزایش سهم ژنوم والد دوره‌ای (لاین های مطلوب و حساس) و کاهش سهم ژنوم والد دهنده (مقاوم) ۳ مرحله تلاقی برگشتی صورت پذیرفت. در مرحله انتهای به‌منظور تثبیت ژن‌های کنترل‌کننده مقاومت به شکل هموزیگوت یک مرحله خودگشنی انجام شد. پس از کشت بذرهای حاصل از مرحله خودگشنی و استخراج DNA و غربال‌گری و شناسایی افراد دارای دو مکان ژنی *TY-2* و *TY-1/3* به‌منظور آلوده‌سازی به اتاقک توری آلوده سازی انتقال داده شدند.

[1] Scar





شکل ۱- آغازگرهای اسکار به‌منظور شناسایی و ردیابی دو مکان ژنی *TY-2* (T0302) و *TY-1/3* (P6-25) در ژنوتیپ‌های مختلف گوجه‌فرنگی. هتروزیگوت

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

پس از انتقال لاین‌های مورد نظر به زیر قفسه توری آلوده‌سازی، یک بوته آلوده به ویروس TYLCV پس از شناسایی و تائید نهایی با استفاده از آغازگرهای اختصاصی سنس[1] و آنتی‌سنس[2] (Pico et al. 1998)، که قطعه‌ای در حدود ٦٧٠ جفت‌باز از ژن‌های پروتئین پوششی و حرکتی ویروس را تکثیر می‌کند، نیز به داخل قفسه آلوده‌سازی در کنار سایر لاین‌ها قرار داده شد. سپس تعدادی از برگ‌های آلوده به کلونی‌های مگس سفید بالغ به‌منظور آلوده سازی لاین‌ها در زیر توری قفسه آلوده‌سازی قرار داده شدند. برای اطمینان کامل از فرایند آلوده‌سازی در حدود ٥٠ مگس سفید برای هر گیاه در نظر گرفته شد. پس از ٤٨ ساعت از آغاز دوره آلوده‌سازی (IAP[3]) از سم حشره‌کش در فضای زیر قفسه به‌منظور حذف کامل حشره ناقل استفاده شد. پس از گذشت ٣٠ روز نمونه بافت‌های گیاهی برای مطالعات بعدی برداشت و در دمای ٨٠- درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند (Griffiths and Scott 2001).

اندازه‌گیری ترکیبات فنلی بر اساس روش Folin-Ciocalteut با شدت جذب با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر با طول موج ٧٢٥ نانومتر انجام شد. به‌منظور محاسبه غلظت ترکیب‌های فنولی از منحنی استاندارد گالیک اسید بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید در گرم بافت تازه استفاده شد (Soland and Laima 1999).

میزان فلاونوئید کل با روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید اندازه‌گیری شد (Toor and Savage 2005). شدت جذب در طول موج ٥١٠ نانومتر اندازه‌گیری شد. غلظت نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین بر اساس میزان معادل میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره به‌دست آمد.

ابتدا ٠/٢ گرم از نمونه‌ی گیاهی را وزن و سپس در هاون گذاشته و به آن ٤ میلی‌لیتر بافر Ice-cold اضافه شد. و سپس در هاون کاملاً ساییده تا به‌صورت همگن پدیدآمد. پس از سانتریفیوژ، فاز بالایی به‌عنوان عصاره پروتئین برای سنجش فعالیت آنزیمی مورد استفاده قرار گرفت (de Azevedo et al. 2006).

به‌منظور بررسی فعالیت آنزیم کاتالاز میزان جذب آب اکسیژنه در عصاره آنزیمی توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ٢٤٠ نانومتر در زمان یک دقیقه قرائت شد. تغییرات جذب به‌دست آمده در زمان یک دقیقه، به ضریب خاموشی مولی این واکنش که برابر $٣٦\ mM^{-1}cm^{-1}$ است تقسیم شد و فعالیت آنزیم کاتالاز بر حسب واحد گرم بر وزن تر بیان شد (Beers and Sizer, 1952).

فعالیت آنزیم گایاکول پروکسیداز بر حسب واحد در گرم وزن تر بیان شد. به این منظور میزان جذب آب اکسیژنه در عصاره آنزیمی توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ٤٧٠ نانومتر در زمان یک دقیقه قرائت شد. تغییرات جذب به‌دست آمده در زمان یک دقیقه، به ضریب خاموشی مولی این واکنش که برابر $٢٦/٦\ mM^{-1}\ cm^{-1}$ است تقسیم شد (Nakano and Asada 1981).

جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز جذب کمپلکس واکنشی در طول موج ٢٩٠ نانومتر یادداشت و با استفاده از ضریب خاموشی $٢/٨\ mM^{-1}\ cm^{-1}$ میزان فعالیت آنزیم محاسبه شد (Sairam et al. 2002).

فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در طول موج ٤٢٠ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت این آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی آنزیم PPO با پیش ماده پیروکاتکول ($١٤٠٠\ M^{-1}\ cm^{-1}$) بر حسب میکرومول بر گرم بافت تازه در دقیقه محاسبه شد (Shatta and EI-Shamei 1999).

به‌منظور استخراج DNA با کیفیت و خلوص بالا از روش موری و تامسون (Murry and Thompson 1984) استفاده شد. در این روش مقدار ٠/٥ گرم از برگ تازه با ماده CTAB ٢٪ - ٥٪ در یک بافر تک مرحله‌ای استفاده شد. که به‌منظور ممانعت از اکسیداسیون از ماده ٢- مرکاپتواتانول در بافر استخراج استفاده شد.

به‌منظور استخراج RNA کل از برگ گیاه گوجه‌فرنگی از بافر Iraizol شرکت زیست فناوران رنا (RNA) همراه با کلروفورم، ایزوپروپانول، اتانول بر طبق دستورالعمل استفاده شد. سپس سنتز cDNA با استفاده از کیت دو مرحله‌ای شرکت یکتا تجهیز آزما بر اساس دستورالعمل انجام شد. برای بررسی غلظت سنجی میزان ژنوم ویروس در بافت میزبان (برگ گیاهان گوجه‌فرنگی آلوده) از ژن *β-tubulin* به‌عنوان ژن کنترل داخلی استفاده شد. تکثیر بخشی از پروتئین پوششی ویروس TYLCV با استفاده از آغازگر

[1] Sense
[2] Antisense
[3] Inoculation access period

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

TYLCVp و β-tubulin به‌منظور اندازگیری غلظت ژنوم ویروس توسط واکنش Real Time PCR بر اساس روش استاندارد به‌صورت نسبی انجام گرفت. کمیت نسبی در Real Time PCR به‌وسیله اندازه‌گیری افزایش تشعشع فلورسنس در نتیجه اتصال رنگ SYBR Green (Ampliqon, Denmark) انجام گرفت. کل اجزای واکنش در حجم نهایی ۲۰ µM بود، که شامل Master Mix (10 µM)، cDNA (5 µM) و هر آغازگر (0/5 µM) بودکه با افزودن آب به حجم نهایی رسید. دمای مطلوب برای اتصال هر سه آغازگر بر اساس منابع انتخاب و همچنین آزمایشات qRT-PCR با استفاده از دستگاه ترموسایکلر با برنامه حرارتی ۹٤ °C به مدت ۵ دقیقه، و در ادامه ٤۰ چرخه به‌صورت یک دقیقه در دمای ۹٤ °C، یک دقیقه در دمای ۵۸ °C و یک دقیقه در دمای ۷۲ °C و در ادامه به‌منظور بسط واکنش مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ °C صورت گرفت. در انتهای واکنش داده‌های خام به‌صورت Ct (Threshold cycle) از دستگاه استخراج شد. برای هر نمونه سه تکرار در نظر گرفته شد و از روش ΔΔCt برای تجزیه داده‌ها استفاده شد. همه آزمایش‌ها با سه تکرار و با سه نمونه مستقل انجام گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ و مقایسه میانگین‌ها بر اساس روش LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج

با توجه به جدول تجزیه واریانس (۲) آلودگی ویروسی اثر بسیار معنی‌داری بر میزان محتویات فنول کل دارد. بیشترین میزان در لاین شماره ۱۲۸ (۰/۷۹۰ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم بافت تازه)، لاین شماره ۷ (۰/٦۰۰ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم بافت تازه) و سپس در ژنوتیپ شاهد (۰/۵۱٦میلی‌گرم گالیک اسید در گرم بافت تازه) مشاهده شد که در گروه‌های آماری (a, b, c) مختلف قرار گرفتند. همچنین کمترین میزان تجمع این ترکیب در لاین شماره ٤ (۰/۳۸٦ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم بافت تازه) مشاهده شد (جدول ۳).

تجزیه وازیانس داده‌های مربوط به اندازه‌گیری میزان فلاونوئید نشان داد که اثرات ناشی از آلودگی ویروسی بر روی لاین‌های مختلف گوجه‌فرنگی در سطح یک درصد بر مقدار تجمع این ترکیب اختلاف معنی‌داری وجود دارد.

جدول۱- مشخصات آغازگرهای مورد استفاده

Gene	Forward Primer (5'–3')	Reverse Primer (5'-3')	References
TYLCVp	F-GCTCGTAGAGGGTGACGAAG	R-TCTGCAATCCAGGACCTACC	Ghorbani et al. 2020
β-tubulin	F-AACCTCCATTCAGGAGATGTTT	R-TCTGCTGTAGCATCCTGGTATT	Aime et al. 2013
TYLCV sense/ antisense	F- CGCCCGTCTCGAAGGTTC	R-GCCATATACAATAACAAGGC	Pico et al. 1998
T0302	F-TGGCTCATCCTGAAGCTGATAGCGC	R- AGTGTACATCCTTGCCATTGACT	Garcia et al. 2007
P6-25	F- GGTAGTGGAAATGATGCTGCTC	R- GCTCTGCCTATTGTCCCATATATAACC	Ji et al. 2007b

جدول ۲- تجزیه واریانس فنول کل، فلاونوئید، کاتالاز، پروکسیداز، گایاکول پروکسیداز و پلی فنول اکسیداز

		میانگین مربعات						
منابع تغییرات	درجه آزادی	کاتالاز	پروکسیداز	گایاکول پروکسیداز	پلی فنول اکسیداز	فنول کل	فلاونوئید	TYLCV غلظت ژنوم
تیمار(ژنوتیپ)	۹	۰/۰۰۷٦**	۰/۱۰٤٤**	۰/۰۲۰۰**	۰/۰۵٤**	۰/۰٤۵**	۱۰/۳۸۲**	۱۸/٦۸۵**
خطا		۰/۰۰۰۱۹	۰/۰۰۵۱	۰/۰۰۰۹۵	۰/۰۰۳۳	۰/۰۰۱۱	۱/۰۸۸	۰/٦۸۹
C.V		۳/۹۹۲		۱۳/۱٤۲	۱۱/٦٦۲	۷/۰۲۹	۸/٦۱۸	٤/٤۱٤

** به معنی سطح معنی‌داری در سطح یک درصد است

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

در بررسی اثر آلودگی بیماری ویروسی TYLCV بر روی لاین‌های مختلف گوجه‌فرنگی مقدار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، پروکسیداز، گایاکول پروکسیداز و پلی فنول اکسیداز اندازه‌گیری شد. تجزیه واریانس داده‌ها بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در احتمال یک درصد برای همه آنزیم آنتی‌اکسیدانی مورد مطالعه بود (جدول۲). در بررسی جدول مقایسه میانگین‌ها (جدول ۳) بیشترین میزان آنزیم کاتالاز (۰/٤۸۹میلی‌گرم بر بافت تازه)، آسکوربات پروکسیداز (۰/۹۵۲ میلی‌گرم بر بافت تازه) و گایاکول پروکسیداز (۰/٤۱۳ میلی‌گرم بر بافت تازه) در ژنوتیپ شاهد مشاهد شد. و در مورد آنزیم پلی فنول اکسیداز بیشترین میزان تولید این آنزیم در هر دو ژنوتیپ شاهد (۰/۷٦۸ میکرومول بر گرم بافت تازه) و لاین ۱۲۸(۰/۷۱۹ میکرومول بر گرم بافت تازه) مشاهده شد که از نظر آماری در یک گروه (a) قرار گرفتند.

غلظت ژنوم TYLCV:

بر اساس داده‌های جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) میزان غلظت ژنوم TYLCV بر روی لاین‌های مختلف گوجه‌فرنگی اثر بسیار معنی‌داری (در سطح یک درصد) دارد. بر اساس نمودار (شکل ۲) بیشترین میزان غلظت ژنوم ویروس در گیاه شاهد (۲۳/۵۸٦)، لاین ۱۲۸ (۲۱/۹۱٦) و سپس در لاین شماره ۷ (۲۰/۳۵۳) مشاهد شد و این در حالی است که در لاین‌های ۲۱۰ (۱٦/۱۰)، لاین ۱۸۹ (۱٦/۲۵) و لاین ۱٤۱ (۱٦/۳۸) به‌ترتیب کمترین میزان غلظت ژنوم ویروس TYLCV مشاهده شد.

بحث

گیاهان به‌منظور کاهش اثرات تنش‌های مختلف مکانیسم‌های متفاوتی را به‌کار می‌گیرند که از جمله‌ی این مکانیسم‌ها سنتز و انباشته نمودن ترکیبات فنولی می‌باشد. ترکیبات فنولی باعث القاء انباشت ترکیبات فیتوالکسین‌ها، بیوسنتز لیگنین‌ها، و تشکیل ساختار دیواره غشاء سلولی می‌شود. این ترکیبات نقش مهمی در بروز مقاومت در برابر بیماری‌های ویروسی را ایفا می‌کنند (Abo-Zaid 2020). همان‌گونه که در نتایج مشاهده شد دو لاین ۱۲۸ و ۷ نسبت به گیاه شاهد میزان بیشتری از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی را در مواجه با آلودگی ویروسی سنتز نموده‌اند و این در حالی است که لاین‌های حاوی مکان ژنی *TY-1/3* از میزان سنتز کمتری برخوردار بوده‌اند و در گروه‌های آماری متفاوتی قرار گرفته‌اند. در نتیجه با توجه به افزایش این ترکیبات در ۲ لاین ذکر شده می‌توان نتیجه گرفت که این دو لاین بیشتر از سایر لاین‌های که حاوی مکان ژنی *TY-1/3* بوده‌اند تحت تنش بوده‌اند لذا به‌منظور غلبه بر اثرات ناشی از آلودگی ویروسی ترکیبات فنولی بیشتری را سنتز نموده‌اند. مشاهده شده که تغییر در بیان ژن‌های تشکیل دهنده اجزاء فنولی و بیان ژن‌های موجود در مسیر بیوسنتز فلاونوئید در لاین‌های مشتق شده از گونه‌های *S. habrochaites* در مواجه با آلودگی TYLCV افزایش می‌یابد که این واکنش منجر به تجمع ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها می‌شود که در ایجاد و بروز مقاومت در برابر بیماری ویروسی TYLCV است (Sade et al. 2014).

همچنین مشاهده شده‌است که در ژنوتیپ‌های مقاوم تا ٤ برابر میزان سنتز و انباشت ترکیبات فنولی بیشتر است و در گیاهان حساس تجمع ترکیبات فنولی نسبت به گیاهان مقاوم در مواجه با آلودگی TYLCV بسیار پایین‌تر است (Sudhakar et al. 2006). ترکیبات فنولی در تنظیم فرایندهای متابولیکی همانند سنتز لیگنین و همچنین در خنثی‌سازی اثرات مخرب گونه‌های فعال اکسیژن[1] (ROS) نقش بسیار مهمی را ایفا می‌کند (Sofy et al. 2017). گزارشات متعددی در رابطه بانقش ترکیبات فنولی و ایجاد مقاومت در برابر پاتوژن‌ها ارائه شده است (Aseel 2019). نتایج این تحقیق با سایر گزارشات مطالعه شده در گیاه گوجه‌فرنگی در مواجه با آلودگی بیماری ویروسی TYLCV مطابقت کامل دارد (Sofy et al. 2017; Li etal. 2019; Pappi et al. 2021). پاسخ عمومی گیاهان در برابر انواع تنش‌ها، ایجاد و سنتز بالاتر رادیکال‌های آزاد اکسیداتیو (ROS) است که این واکنش منجر به ایجاد عدم توازن فرایندهای متابولیکی در گیاهان (میزبان) می‌شود. گیاهان به‌منظور جلوگیری از خسارت رادیکال‌های آزاد اکسیداتیو، حذف و کاهش سطح این ترکیبات سیستم‌های دفاعی آنزیمی و غیر آنزیمی را تکامل داده‌اند (Xi et al. 2019; Cai et al. 2021). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سلول‌های گیاهی به‌منظور کاهش میزان H_2o_2 در بافت‌های آلوده سنتز می‌شود (Tran et al.

[1] Reactive oxygen species

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

2012) آنزیم‌های پروکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز سلول‌های گیاهی را در برابر اثرات سمی H_2O_2 به‌واسطه کاتالیز نمودن تجزیه مواد اسمزی فنولی محافظت می‌نماید (Radwan et al. 2007). همچنین آنزیم‌های کاتالاز، همانند گایاکول پروکسیداز و آسکوربات پروکسیداز H_2O_2 را در سلول‌های زنده می‌شکنند و از اثرات مخرب آن بر غشاء و اندام‌های سلولی جلوگیری می‌نمایند (Anuradha 2015). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در مواجه با آلودگی ویروسی در گیاه گوجه‌فرنگی نیز در سایر گزارشات ارائه شده است (Sofy et al. 2o21; Sofy et al. 2017; Bassiouny et al. 2015). میزان تشکیل آنزیم‌های آنتی اکسیدانی با توجه به جدول مقایسه میانگین‌ها (جدول ۳) در لاین‌های حاوی ژن‌های *TY– 2* و *TY-1/3* نسبت به گیاه شاهد سطح پایین تری را داشته است. پایین‌تر بودن میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در این ژنوتیپ‌ها می‌تواند به این علت باشد که گیاه در شرایط پایین‌تری از تنش قرار دارد. بر اساس مطالعات انجام شده، ژنوتیپ‌های مقاوم گوجه‌فرنگی نسبت به ژنوتیپ‌های حساس در مقابله با آلودگی بیماری ویروسی TYLCV میزان کمتری از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را در برگ‌های خود تولید نموده‌اند و این در حالی است که در ژنوتیپ‌های حساس این میزان در حداکثر مقدار خود قرار دارد که با نتایج این تحقیق در هماهنگی کامل قرار دارد (El-Dougdoug et al. 2013). در بررسی و مطالعه غلظت ژنوم ویروس در لاین‌های مختلف در مواجه با آلودگی ویروسی از تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلیمراز کمی (qRT-PCR) که تقریبا ۱۰۰۰ برابر حساس‌تر و دقیق‌تر از روش‌های متداول است استفاده شد (Papayiannis et al. 2010). با توجه به نتایج، لاین‌های حاوی دو مکان ژنی *TY–2* و *TY-1/3* سطح کمتری از غلظت ژنوم و آلودگی ویروس را از خود نشان دادند. گیاهان به‌منظور مقابله با آلودگی ناشی از فعالیت پاتوژن‌ها، به چندین سازکار دفاعی مجهز می‌باشند تا در برابر این عوامل بیماری‌زا از خود مقاومت نشان دهند. یک نوع از این واکنش‌های دفاعی بر اساس خاموشی بیان ژن‌های ویروسی می‌باشد، که شامل دو مکانیسم خاموشی ژن در مرحله رونویسی (TGS)[1] و خاموشی ژن پس از رونویسی (PTGS)[2] است که منجر به عدم تکثیر ویروس در سلول‌های میزبان می‌شود (Gupta et al. 2021). نتایج مطالعات گوناگون نشان داده که حضور *TY-1/3* نسبت به سایر مکان‌های ژنی به‌صورت منفرد سطح مقاومت بالاتری را در برابر بگوموویروس‌های تک قسمتی و دو قسمتی ایجاد می‌کند (Garcia et al. 2008). گیاهان حاوی *TY-1/3* سطح بالایی از siRNA خاص TYLCV را نشان می‌دهند که متیلاسیون هم‌زمان بازهای سیتوزین منطقه پروموتور خود و منطقه پروموتر V1 ویروس را هدف قرار می‌دهند، که این عمل مکانیسم مقاومت TGS پیشرفته را ایجاد می‌کند و مانع از تکثیر ژنوم ویروس در میزبان می‌شود (Butterbach et al. 2014). لاین ۷ که تنها دارای مکان *TY-2* بود نسبت به گیاه شاهد سطح کمتری از ژنوم ویروس را در برگ‌های خود نشان داد در حالی‌که نسبت به لاین‌های حاوی دو مکان ژنی میزان بیشتری از غلظت ژنوم ویروس در برگ‌هایش مشاهده شد. *TY-2* جزء ژن‌های اصلی (R) مقاومت است که پروتئین‌های گروه NBS–LRR را کد می‌کند و در گروه مقاومت تک ژنی قرار می‌گیرد (Mahmoudabadi et al. 2017). مکانیسم مقاومت تک ژنی بر اساس فرضیه ژن برای ژن بوده و باعث بروز مقاومت عمودی می‌شود. همه ژن‌های مقاومت تک ژنی، ایمنی کامل را نشان نمی‌دهند و تک ژن‌های R ممکن است سطوح نسبی مقاومت را ایجاد کنند (Michelmore et al. 2013). آسیب پذیر بودن مقاومت *TY-2* در برابر برخی از سویه‌های بیماری ویروسی پیچیدگی برگ زرد گوجه فرنگی در برخی گزارشات ارائه شده است که با نتایج این مطالعه در یک راستا قرار دارد (Ohnishi et al. 2016; Barbieri et al. 2010). تا به اکنون شش مکان ژنی کنترل‌کننده مقاومت در گیاه گوجه‌فرنگی در برابر بیماری ویروسی TYLCV شناسایی شده است که به‌درستی مکانیزم اثر برخی از آن‌ها در ایجاد مقاومت درک نشده است (Hutton and Scott 2015; Verlaan et al. 2013). بر اساس نتایج یک پژوهش میزان تجمع و انباشت DNA ژنومی ویروس TYLCV در ژنوتیپ‌های مقاوم گوجه‌فرنگی نسبت به ژنوتیپ‌های حساس بسیار ناچیز بوده و علائم ظاهری بیماری در برخی ژنوتیپ‌های مقاوم آشکار نشد و در برخی نیز بسیار علائم

[1] Transcriptional gene silencing

[2] post-transcriptional gene silencing

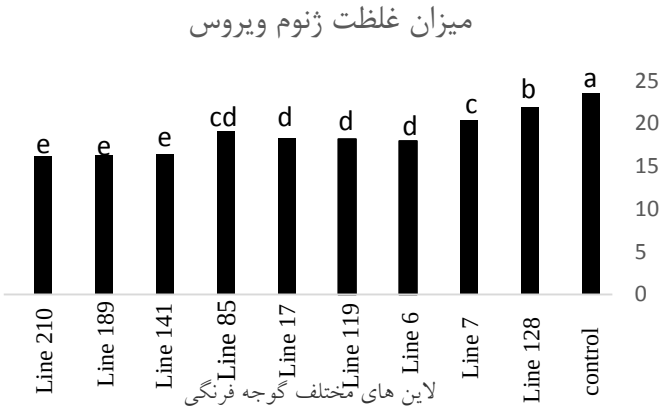
[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

خفیفی مشاهده شد در حالی‌که میزان تجمع و انباشت ژنوم ویروس و همچنین علائم ظاهری مانند کلروزیس و زرد شدن رنگ برگ‌ها در ژنوتیپ‌های حساس بسیار بالا بوده است (Yamaguchi et al. 2013). افزایش DNA ژنوم ویروس TYLCV در ژنوتیپ‌های حساس و در مقابل سطح پایین تجمع و انباشت ژنوم ویروس در ژنوتیپ‌های مقاوم گوجه‌فرنگی در گزارشات متعددی ارائه شده است که با نتایج این تحقیق مطابقت کامل دارد (Tabein et al. 2017; Al- Shihia et al. 2018). با توجه به نتایج، مشاهده شد لاین ۷ که تنها دارای مکان ژنی *TY-2* است، در ایجاد مقاومت در برابر سویه موجود در ایران ناکارآمد است و بهتر است که در برنامه‌های اصلاحی سایر ژن‌های TY در کنار ژن *TY-1/3* به‌کار گرفته شود. همان‌گونه که مشاهده شد لاین ۱۲۸ که فاقد مکان ژنی کنترل‌کننده صفت مقاومت در برابر بیماری ویروسی TYLCV است با توجه به مکانیزم‌های مقاومت فردی از قبیل توانایی سنتز بالاتر ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در مواجه با آلودگی ویروس توانسته به آثار سوء ویروس بر گیاه نسبت به گیاه شاهد عملکرد بهتری را از خود نشان دهد. لذا در برنامه‌های اصلاحی انتخاب افراد با توانایی سنتز بالاتر ترکیبات فنولی نیز در کنار به‌کارگیری ژن‌های *TY* به‌منظور غلبه بر آثار زیان‌بار بیماری‌های ویروسی باید مدنظر قرار گیرد.

جدول ۳- مقایسه میانگین فنول کل، فلاونوئید، کاتالاز، پروکسیداز، گایاکول پروکسیداز و پلی فنول اکسیداز با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد.

ژنوتیپ (لاین)	فنول کل Ga/g DW /(mg)	فلاونوئید mg QE/G	کاتالاز mg/g FW	پروکسیداز mg/g FW	گایاکول پروکسیداز mg/g FW	پلی فنول اکسیداز µmol/g FW
لاین شاهد (-.-)	۰/۵۱۶^{c}	۱۳/٦٤ ^{b}	۰/٤۸۹ a	۰/۹۵۲ a	۰/٤۱۳ a	۰/۷٦۵ a
لاین ۱۲۸(-.-)	۰/۷۹۰^{a}	۱٦/۰۰ ^{a}	۰/۳۷۰b	۰/۸۰۹ b	۰/۳۲۵b	۰/۷۱۹ a
لاین ۷ (*TY-2*)	۰/٦۰۰^{b}	۱٤/۱۵ ^{b}	۰/۳٦۷ b	۰/٦٤۲c	۰/۲۷۹ b	۰/۵۵۱ b
لاین ٦ (*TY-2 . TY-1/3*)	۰/۳۸٦ ^{e}	۱۱/۲۲ ^{c}	۰/۲۸۲c	۰/٤٦۳ de	۰/۲۰۳ c	۰/٤۰۱ c
لاین ۱۱۹ (*TY-2 . TY-1/3*)	۰/٤۱٦ ^{de}	۱۰/۵۲ ^{c}	۰/۲٦۸c	۰/۵۱۱ d	۰/۱۹۰ cd	۰/۳۹٦ c
لاین ۱۷ (*TY-2 . TY-1/3*)	۰/٤۱۰^{de}	۱۰/٦٤ ^{C}	۰/۲۷٦c	۰/۵۳۵ dc	۰/۲۱۷ c	۰/۳۹۳ c
لاین ۸۵ (*TY-2 . TY-1/3*)	۰/٤٤۰^{de}	۱۰/۳۹ ^{C}	۰/۲۸۹c	۰/٤۸۷ d	۰/۲۲۳ c	۰/۳۸۷ c
لاین۱٤۱ (*TY-2 . TY-1/3*)	۰/٤۲۳ ^{de}	۱۱/۱۲ ^{C}	۰/۲۹۳c	۰/٤۲٤ de	۰/۱۷٤ cd	۰/٤۱٤ c
لاین ۱۸۹ (*TY-2 . TY-1/3*)	۰/٤٤٦ ^{d}	۱۱/۳۸ ^{c}	۰/۳۰۵c	۰/٤۵۱ de	۰/۱۸۹ cd	۰/٤۳۸ c
لاین ۲۱۰ (*TY-2 . TY-1/3*)	۰/٤۵۰ ^{d}	۱۱/٦٦^{c}	۰/۲۹٤c	۰/۳۵۱ e	۰/۱٤۰ d	۰/٤٤٤ c

تفاوت حروف در هر ستون به معنی وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.



شکل ۲- نمودار غلظت ژنوم ویروس TYLCV در لاین‌های مختلف گوجه‌فرنگی

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

منابع

Abo-Zaid GA, Matar SM, Abdelkhalek A (2020) Induction of plant resistance against tobacco mosaic virus using the biocontrol agent Streptomyces cellulosae isolate Actino 48. Agronomy 10:1620.

Agati G, Brunetti C, Fini A, Gori A, Guidi L, Landi M, Sebastiani F, Tattini M (2020) Are flavonoids effective antioxidants in plants? Twenty years of our investigation. Antioxidants 9:10-98.

Agrios GN (2005) Plant Pathology. 5th (ED). Academic Press. New York.922 pp.

Al-Shihi AA, Hanson P, Al-Sadi AM, Al-Yahyai RA, Briddon RW, Deadman M, Shahid MS (2018) Evaluation of tomato inbred lines for resistance to the tomato yellow leaf curl disease complex in Oman. Crop Protection 110:91-98.

Amoako S, Yahaya A, Sarfo JK (2015) Catalase activity of cassava *(Manihot esculenta*) plant under African cassava mosaic virus infection in Cape coast, Ghana. African Journal of Biotechnology 14:1201-1206.

Anuradha C, Selvarajan R, Vasantha S, Suresha GS (2015) Biochemical Characterization of Compatible Plant Virus Interaction: A Case Study with Bunchy Top Virus-Banana Host-Pathosystem.

Aseel DG, Rashad YM, Hammad SM (2019) Arbuscular mycorrhizal fungi trigger transcriptional expression of flavonoid and chlorogenic acid biosynthetic pathways genes in tomato against Tomato Mosaic Virus. Scientific reports 9:1-10.

Bahar T, Qureshi AM, Qurashi F, Abid M, Zahra MB, Haider MS (2021) Changes in Phyto-Chemical Status upon Viral Infections in Plant: A Critical Review. Phyton 90:75.

Barbieri M, N Acciarri, E Sabatini, L Sardo, G Accotto, N Pecchioni (2010) Introgression of resistance to two Mediterranean virus species causing tomato yellow leaf curl into a valuable traditional tomato variety. Journal of Plant Pathology 485-493.

Bassiouny FM, Khalil RR, El-Dougdo KA, Abo-Elmaty S, Yousef MS (2015) Geminivirus Modified Antioxidant Systems and Proline Accumulation in Tomato Plant. Journal of Functional and Environmental Botany 5:31-40.

Beam K and Ascencio-Ibáñez JT (2020) Geminivirus resistance: a minireview. Frontiers in Plant Science 11:11-31.

Beers R and Sizer T (1952) Spectrophotometric Method for Measuring the Breakdown of Hydrogen peroxide by Catalase. Journal of Biological Chemistry 195: 133-138.

Butterbach P, Verlaan MG, Dullemans A, Lohuis D, Visser RGF, Bai Y, Kormelink R (2014) The TYLCV Resistance Gene *Ty-1* confers resistance in tomato through enhanced transcriptional gene silencing. Proceedings of the Natural Academy of Sciences 111:12942-12947.

Cai L, Liu C, Fan G, Liu C, Sun X (2019) Preventing viral disease by ZnONPs through directly deactivating TMV and activating plant immunity in Nicotiana benthamiana. Environmental Science: Nano 6:3653-3669.

Chague V, Mercier JC, Guenard M, de Courcel A, Vedel F (1997) Identification of RAPD markers linked to a locus involved in quantitative resistance to TYLCV in tomato by bulked segregant analysis. Theoretical and Applied Genetics 95:671-7.

Czosnek H, Hariton-Shalev A, Sobol I, Gorovits R, Ghanim M (2017) The incredible journey of begomoviruses in their whitefly vector. Viruses 9:273-291.

de Azevedo Neto, Prisco AD, Enéas-Filho TJ, de Abreu C EB, Gomes-Filho E (2006) Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. Environmental and Experimental Botany 56:87-94.

Dhaliwal MS, Jindal SK, Sharma A, Prasanna HC (2020) Tomato yellow leaf curl virus disease of tomato and its management through resistance breeding: A review. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology 95:425-444.

El-Dougdoug NK, Mahfouze SA, Ahmed SA, Othman BA, Hazaa MM (2013) Identification of Biochemical and Molecular Markers in Tomato Yellow Leaf Curl Virus Resistant Tomato Species. Agri Sciences 2:46-53.

Garcia BE, Graham E, Jensen KS, Hanson P, Mejia L, Maxwell DP (2007) Co-dominant SCAR marker for detection of the begomovirus-resistance *TY-2* locus derived from *Solanum habrochaites* in tomato germplasm. Report of the Tomato Genetics Cooperative 57:21-24.

Garcia BE, Mejía L, Melgar S, Teni R, Sánchez-Pérez A, Barillas AC, Montes L, Keuler NS, Salus MS, Havey MJ, Maxwell DP (2008) Effectiveness of the *TY-3* introgression for conferring resistance in F3 families of tomato to bipartite begomoviruses in Guatemala. Report of the Tomato Genetics Cooperative 58:22-28.

Gill U, Scott JW, Shekasteband R, Ogundiwin E, Schuit C, Francis DM, Sim SC, Smith H, Hutton SF (2019) *Ty-6*, a major begomovirus resistance gene on chromosome 10, is effective against Tomato yellow leaf curl virus and Tomato mottle virus. Theoretical and Applied Genetics 132:1543-1554.

Griffiths PD, Scott JW (2001) Inheritance and linkage of tomato mottle virus resistance genes derived from Lycopersicon chilense accession LA 1932. Journal of the American Society for Horticultural Science 126:462-467.

Gupta N, Reddy K, Bhattacharyya D (2021) Plant responses to geminivirus infection: guardians of the plant immunity. Virology Journal 18:1-25.

Hajimorad MR, Kheyr-Pour A, Alavi V, Ahoonmanesh A, Bahar M, Rezaian MA, 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.

Hanson PM, Bernacchi D, Green. S (2000) Mapping a wild tomato introgression associated with tomato yellow leaf curl virus resistance in a cultivated tomato line. Journal of American Society of Horticultural Science 125:15-20.

Hutton SF, Scott JW, Schuster DJ (2012) Recessive resistance to tomato yellow leaf curl virus from the tomato cultivar Tyking is located in same region as *Ty-5* on chromosome 4. Journal of American Society of Horticultural Science 47:324-7.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

Jabar AK, Aldhahi HHK, Salim HA (2020) Effect of manufactured iron oxides in control of tomato yellow leaf curl virus (TYLCV). Plant Archives 20:2131-2134.

Ji Y, Salus MS, van Betteray B, Smeets J, Jensen KS, Martin CT, Mejía L, Scott JW, Havey MJ, Maxwell DP (2007a) Co-dominant SCAR markers for detection of the *Ty-3* and *Ty-3a* loci from Solanum chilense at 25 cM of chromosome 6 of tomato. Report Tomato Genetics Cooperative 57:25-28.

Ji Y, Schuster DJ, Scott JW (2007b) *Ty-3*, a begomovirus resistance locus near the Tomato yellow leaf curl virus resistance locus *Ty-1* on chromosome 6 of tomato. Molecular Breeding 20:271-284.

Kenyon L, Tsai WS, Shih SL, Lee LM (2014) Emergence and diversity of begomoviruses infecting solanaceous crops in East and Southeast Asia. Virus Research 186:104-113.

Lattanzio V, Lattanzio VMT, Cardinali A (2006) Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects. In: Imperato, F. (Ed.), Phytochemistry: Advances in Research. Research Signpost, Trivandrum, pp. 2367.

Lee JH, Chung DJ, Lee JM, Yeam I (2021) Development and application of gene-specific markers for Tomato Yellow Leaf Curl Virus resistance in both field and artificial infections. Plants 10:9-20.

Li T, Huang Y, Xu ZS, Wang F, Xiong AS (2019) Salicylic acid-induced differential resistance to the Tomato yellow leaf curl virus among resistant and susceptible tomato cultivars. BMC plant biology 19:1-14.

Mabvakure B, Martin DP, Kraberger S, Cloete L, van Brunschot S, Geering ADW, Thomas JE, Bananej K, Lett J.-M, Lefeuvre P (2016) Ongoing geographical spread of Tomato yellow leaf curl virus Virology 498:257-264.

Mahmoudabadi G, Milo R (2017) Phillips. Energetic cost of building a virus. Proceedings of the National Academy of Sciences 114:E4324-33.

Mamdouh M, Mahmoud Y, Omar E, Zeinab B (2002) Kinetin regulation of growth and secondary metabolism in waterlogging and salinity treated *Vigna sinenis* and *Zea mays*. Acta Physiologiae Plantarum 24:19-27.

Michelmore RW, Christopoulou M, Caldwell KS (2013) Impacts of resistance gene genetics, function and evolution on a durable resistance. Annual Review of Phytopathology 51:291-319.

Mittler, R (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in plant science 7: 405-410.

Murray HG, Thompson WF (1980) Rapid isolation of high molecular weight DNA. *Nucleic Acids Research* 8:4321-4325.

Nakano Y, Asada K (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiology 22:867-880.

Nevame AYM, Xia L, Nchongboh CG, Hasan MM, Alam MA, Yongbo L, Wenting Z, Yafei H, Emon RM, Ismail M R,Efisue A, Gang S, Wenhu L, Longting S (2018) Development of a new molecular marker for the resistance to tomato yellow leaf curl virus. BioMed Research International 2018:

Ohnishi J, Yamaguchi H, Saito A (2016) Analysis of the Mild strain of tomato yellow leaf curl virus, which overcomes *Ty-2*. Archives of Virology 161:2207-2217.

Papayiannis LC, Iacovides TA, Katis NI, Brown JK (2010) Differentiation of Tomato yellow leaf curl virus and Tomato yellow leaf curl Sardinia virus using real-time TaqMan® PCR. Journal of virological methods 165:238-245.

Pappi P, Nikoloudakis N, Fanourakis D, Zambounis A, Delis C, Tsaniklidis G (2021) Differential triggering of the phenylpropanoid biosynthetic pathway key genes transcription upon cold stress and viral infection in tomato leaves. Horticulturae 7:448.

Pico B, Diez MJ, Nuez F (1998) Evaluation of whitefly-mediated inoculation techniques to screen *Lycopersicon esculentum* L and wild relatives for resistance to tomato yellow leaf curl virus. Euphytica 101:259-271.

Radwan DEM, Fayez KA, Mahmoud SY, Hamad A, Lu G (2007) Physiological and metabolic changes of *Cucurbita pepo* leaves in response to zucchini yellow mosaic virus (ZYMV) infection and salicylic acid treatments. Plant physiology and Biochem 45:480-489

Sade D, Shriki O, Cuadros-Inostroza A, Tohge T, Semel Y, Haviv Y, Willmitzer L,Fernie AR, Czosnek H, Brotman Y (2014) Comparative metabolomics and 169 transcriptomics of plant response to Tomato yellow leaf curl virus infection in resistant and susceptible tomato cultivars. Metabolomics 1-17.

Sairam RK, Rao KV and Srivastava GC (2002) Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Science 163:1037-1046.

Shatta A, EI-Shamei Z (1999) Differentiation of eggplant (*Solanum melongena* L.) polyphenoloxidase, laccase and peroxidase using selective substrates and inhibitors. Advanced Food Science 21:79-83.

Siddique Z, Akhtar KP, Hameed A, Sarwar N, Imran-Ul-Haq, Khan SA (2014) Biochemical alterations in leaves of resistant and susceptible cotton genotypes infected systemically by cotton leaf curl Burewala virus. Journal of Plant Interactions 9:702-711.

Singh RK, Rai NM, Singh SN, Srivastava K (2015) Selection of tomato genotypes resistant to Tomato leaf curls virus disease using biochemical and physiological markers. The Journal of Agricultural Science Cambridge Core 153:646-655.

Singh RK, Rai N, Singh AK, Kumar P, Singh B (2019) A critical review on Tomato leaf curl virus resistance in tomato. International Journal of Vegetable Science 25:373-393.

Singh RK, Rai N, Singh SN (2010) Response of tomato genotypes to tomato leaf curl virus. The Indian Journal of Agricultural Sciences 80:755-758.

Sofy AR, El-Dougdoug KA, Mousa AA, Refaey EE (2017) Impact of two TYLCV Egyptian isolates on metabolic and antioxidant activities in some tomato cultivars. International Journal of Advanced Research in Biological Sciences 4:110-133.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

Sofy AR, Sofy MR, Hmed AA, Dawoud RA, Refaey EE, Mohamed HI, El-Dougdoug NK (2021) Molecular characterization of the Alfalfa mosaic virus infecting Solanum melongena in Egypt and the control of its deleterious effects with melatonin and salicylic acid. Plants 10:459.

Sofy A, El-Dougdoug RKA, Mousa AA, Refaey EE (2017) Impact of two TYLCV Egyptian isolates on metabolic and antioxidant activities in some tomato cultivars. International Journal of Advanced Research in Biological Sciences 4:110-133.

Soland SF, Laima SK (1999) Phenolics and cold tolerance of *Brassica napus*.Plant Agriculture 1:1-5.

Sudhakar N, Nagendra-Prasad D, Mohan N and Murugesan K (2006) Induction of systemic resistance in Lycopersicon esculentum cv PKM1 (tomato) against Cucumber mosaic virus by using ozone. Journal of Virological Methods 139:71–77.

Tabein S, Behjatnia SAA, Laviano L, Pecchioni N, Accotto GP, Noris E, Miozzi L (2017) Pyramiding *Ty-1/Ty-3* and *Ty-2* in tomato hybrids dramatically inhibits symptom expression and accumulation of tomato yellow leaf curl disease inducing viruses. Archives of Phytopathology and Plant Protection 50:213-227.

Toor RK, Savage GP (2005) Antioxidant activity in different fractions of tomatoes. Food Research International 38:487-494.

Tran LT, Taylor JS, Constabel CP (2012) The polyphenol oxidase gene family in land plants: Lineage-specific duplication and expansion. BMC genomics 13:395.

Verlaan MG, Hutton SF, Ibrahem RM, Kormelink R, Visser RGF, Scott JW, Edwards JD, Bai Y (2013) The tomato yellow leaf curl virus resistance genes *Ty-1* and *Ty-3* are allelic and code for DFDGD-Class RNA-dependent RNA polymerases. PLoS Genet 9:1-11.

Xi D, Li X, Gao L, Zhang Z, Zhu Y, Zhu H (2021) Application of exogenous salicylic acid reduces disease severity of Plasmodiophora brassicae in pakchoi (*Brassica campestris* ssp. chinensis Makino). Plos one 16:e0248648.

Yamaguchi H, Ohnishi J, Miyatake K, Nunome T, Ohyama A, Negoro S, Fukuoka H (2013) A simple, efficient agroinoculation soaking procedure for Tomato yellow leaf curl virus. Journal of general plant pathology 79:243-248.

Yamaguchi H, Ohnishi J, Saito A, Ohyama A, Nunome T, Miyatake K, Fukuoka H (2018) An NB-LRR gene, TYNBS1, is responsible for resistance mediated by the *Ty-2* Begomovirus resistance locus of tomato. Theoretical and Applied Genetics, 131:1345-1362.

Zerbini FM, Briddon RW, Idris A, Martin DP, Moriones E, Navas-Castillo J, Rivera-Bustamante R, Varsani A, Consortium IR (2017) ICTV Virus Taxonomy Profle: Geminiviridae. Journal of General Virology 98: 131-133.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]