

أول تسجيل لفيروس تشقق قلف الحمضيات (Citrus exocortix viroid, CEVd) على البصل وتحديد تسلسله الجيني الكامل باستخدام تقانة تسلسل الجيل التالي (NGS) في العراق

عامر سعد محسن^{1*} ومعاذ عبد الوهاب الفهد²

(1) المديرية العامة لتربية محافظة صلاح الدين، وزارة التربية، العراق؛ (2) قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة تكريت، العراق.

* البريد الإلكتروني للباحث المراسل: Amer.s.mohsen@st.tu.edu.iq

الملخص

محسن، عامر سعد ومعاذ عبد الوهاب الفهد. 2025. أول تسجيل لفيروس تشقق قلف الحمضيات (Citrus exocortix viroid, CEVd) على البصل وتحديد تسلسله الجيني الكامل باستخدام تقانة تسلسل الجيل التالي (NGS) في العراق. مجلة وقاية النبات العربية، 43(2): 164-170. <https://doi.org/10.22268/AJPP-001306>

هدفت هذه الدراسة إلى عزل وتشخيص فيروس تشقق قلف الحمضيات (CEVd) على نبات البصل وتوصيف أعراضه المرضية، وتحديد تسلسله الجيني الكامل في العراق ورسم شجرة القرابة الوراثية باستخدام تقنية تسلسل الجيل التالي (NGS) وبرامج المعلوماتية الحيوية (Bioinformatics). تم تأكيد وجود سلالة من هذا الفيروس في العراق تصيب نبات البصل وتسبب أعراضاً تتمثل في إلتواء الأوراق وتجعد أطرافها، انثناءات حادة في الورقة وقصر طولها، إضافة إلى إحداث تغيير في التركيب الأنسوبي الطبيعي للورقة وزيادة الحجم في مكان دون آخر. تم الحصول على 98945112 قراءة دقيقة تمثل تسلسل الحمض النووي الريبسي (RNA) الكلي لعينات نبات البصل المصاب. ربطت هذه القراءات بالتسلسل المرجعي للفيروس بشكل كامل بواقع 49175 قراءة دقيقة وبطول 395 زوج قاعدي. استناداً للتسلسل الجيني الكامل، سُجِّل هذا الفيروس لأول مرة في العراق تحت اسم Citrus exocortix viroid isolate Aan-Saladin (CEVd Aan-saladin) في مكتبة الجينات التابعة للمركز الوطني لمعلومات التقانة الحيوية NCBI تحت الرمز التعريفي OR589765.1. دلت الشجرة الوراثية على وجود تقارب بين العزلة المشخصة (CEVd Aan-Saladin) وعزلة النجف (OR024670.1) وعزلة تكريت (ON993891.1) وعزلة بغداد (OR343512.1) وابتعدت عن الفيروسات خارج المجموعة. **كلمات مفتاحية:** فيروس تشقق قلف الحمضيات، أمراض البصل، تسلسل الجيل التالي، برامج المعلوماتية الحيوية، الجينوم الكامل، الشجرة الوراثية.

المقدمة

الحلقي. يتكون مجين الفيروس من 371 زوج قاعدي (Di Serio et al., 2017؛ Duran-Vila, 2017). حيث تم وصف المرض في بادئ الأمر في عام 1948 كمسبب لتشقق لحاء البرتقال كما يؤثر على الجذور. تم تشخيص هذا الفيروس في اليابان عام 1963 (Duran-Vila, 2017؛ Tanaka, 1981)، ثم انتشر إلى المناطق القريبة مثل الصين ومن ثم إلى جميع مناطق العالم المنتجة للحمضيات (Dattaraj et al., 2017؛ Ito et al., 2003؛ Opoku, 1972).

رصد هذا الفيروس في منطقة الشرق الأوسط، ومنها السودان، المغرب، تونس، ليبيا، مصر، فلسطين المحتلة، المملكة العربية السعودية، عمان، قبرص وتركيا (Al-Harthi et al., 2013؛ Hadidi et al., 2003). ومع مرور الوقت تبين أن لهذا الفيروس مدى عائلتي واسع يشمل إصابة العنب والمانجو والتين (El-DougDoug et al., 2012؛ Yakoubi et al., 2007)، وكذلك محاصيل الخضر مثل البندورة/الطماطم، الباذنجان، الفاصولياء، اللهاية/الملفوف، الجزر وكذلك

ينتمي البصل (*Allium cepa*) إلى عائلة Alliaceae وجنس *Allium*، وهو أحد أهم المحاصيل الإقتصادية، ويمثل خامس أهم محصول خضروات عالمياً. يزرع البصل في جميع أنحاء العالم، ويتميز بتباين وراثي يغير شكله ولونه ومحتواه من المواد المختلفة. تعدّ دول شرق البحر الأبيض المتوسط موطنه الأصلي، ويستخدم على نطاق واسع في الطهي كخضراوات وأبصال ناضجة وكتوابل، وهو محصول غذائي يحتوي على الفينولات، الفلافونويدات، مضادات أكسدة، سكريات وفيتامينات (Alemu et al., 2022).

إن أحد مسببات الأمراض النباتية ذات الأهمية الإقتصادية هي الفيروسات، ويعدّ فيروس تشقق قلف الحمضيات (Citrus exocortix viroid, CEVd) أحدّها (Silvija et al., 2012). والذي ينتمي إلى عائلة Pospiviroida جنس Pospiviroid ذات الحمض النووي ssRNA

الخس (الساهي، 2022؛ Duran-Vila, 2017؛ Elleuch *et al.*, 2006؛ Patrick *et al.*, 2019).

تعود تسميته بفيروئيد قلف الحمضيات (CEVd) لأنه اكتشف في بادئ الأمر على الحمضيات حيث يسبب لها أعراض إصابة تظهر الأوراق، كما ثبت أنه يصيب محاصيل أخرى، وله القدرة على الانتقال بين أفراد النوع الواحد وبين المحاصيل المختلفة. ينتقل CEVd عن طريق التطعيم والتلقيح الميكانيكي، كما ينتقل بواسطة حبوب اللقاح والبنور وعن طريق الجذور والترقيد. يحدث الفيروئيد تأثيراً كبيراً في النباتات، كما يحدث أعراض إصابة تتراوح بين التقرن وضعف الأوراق وتجعلها إضافة إلى تتخر العرق الوسطي وتيبس في أعلى الورقة وتحول لون الورقة إلى البني الفاتح. تنتج هذه الأعراض انخفاضاً كبيراً في الحاصل (الساهي، 2022؛ Duran-Vila, 2017؛ Katsarou *et al.*, 2020؛ Murcia *et al.*, 2015؛ Verniere *et al.*, 2004).

إن تقنية تسلسل أو تتابع الجيل الجديد (NGS) تعطي التسلسل الكامل للحمض النووي للعينة المراد فحصها، وتستطيع هذه التقنية الكشف عن الأحماض النووية ذات التركيز المنخفض أو الطول القصير أو الجينات غير المستقرة، وأفادت هذه التقنية علم الفيروسات بشكل كبير حيث فتحت الأنظار لمعرفة الفوارق بين الفيروسات وأنماطها وتحواراتها، كما بإمكانها الكشف عن وجود الفيروسات الكامنة والتي تكون بأحجام يصعب على الطرائق التقليدية تشخيصها (عايد والفهد، 2024؛ Krishna *et al.*, 2019؛ Repkora, 2017؛ Satam *et al.*, 2023).

مواد البحث وطرائقه

جمع عينات النباتات المصابة

جمعت العينات من نباتات البصل التي ظهرت عليها أعراض إصابة توحي بأنها إصابات فيروئيدية في محافظة صلاح الدين، شملت أفضية الدور وتكريت وبلد. جمعت عدة عينات، وتم اختيار العينات ذات الأعراض الأكثر شدة، وجرى إكثارها بواسطة الإلقاح الميكانيكي. تم استخلاص الفيروئيد من الأوراق المصابة بوضعها مع ضعف وزنها من محلول منظم فوسفاتي بارد في هاون خزفي ومن ثم سحقها وتصفيتها من الشوائب بواسطة طبقتين من قماش الشاش، وبعدها وضع المستخلص مع مادة الكاربورندم الخادشة وأجري الإعداء الميكانيكي بواسطة اليد، ثم غسلت الأوراق الملقحة بالماء المقطر المعقم بعد 1-3 دقيقة. أعدت النباتات في مرحلة الورقة الحقيقية الرابعة وتركت لمدة أسبوعين لحين ظهور الأعراض على نباتات البصل. زرعت فسق/قنارة بصل صنف Texas earl Y grano F1 في المختبر ضمن أحواض زراعية/ سنادين، عرضها 25 سم وطولها 30 سم، وضعت فيها تربة مزيجية وبتموس

بحجم متساوي، وزرع في كل سندانه فسقتين من نبات البصل لتصبح جاهزة للتلقيح بعد 15 يوماً.

تحضير محلول الحفظ

تم وضع 1.861 غ من disodium salt dihydrate EDTA مع 23 غ من NaOH في دورق يحتوي على ماء مقطر معقم عالي الإذابة وكُمّل الحجم إلى 1000 مل، وعقم في المؤصدة عند حرارة 121°س لمدة 15 دقيقة. ثم أذيب 294 غ من سترات الصوديوم في دورق يحتوي على ماء وأكُمّل الحجم إلى 1000 مل، وعقم بالمؤصدة تحت نفس الظروف أعلاه. حضر دورق سعة 3 ليتر ووضع 1400 مل من الماء المقطر المعقم مع 60 مل من المحلول المحضر أعلاه مع 37.5 مل من المحلول المحضر من سترات الصوديوم، أضيف لها 1050 غ سلفات أمونيوم وتمت إذابة الخليط على سطح ساخن (Hotplate) مع التحريك لمدة 30 دقيقة. تُرك المحلول ليبرد ثم مرر من خلال فلتر 0.2 ميكرومتر وخُزن عند حرارة 4°س لمدة 24 ساعة، ليصبح جاهزاً للاستخدام.

تجهيز العينة للإرسال

تم أخذ العينات من النباتات التي ظهر عليها أعراض الإصابة بالفيروئيد ومن الأوراق الحديثة، غُسلت جيداً بالماء المقطر المعقم جيداً لإزالة الأتربة والأوساخ منها ونشفت بورق خاص. قطعت الأوراق إلى قطع لا تزيد عن 1 سم ثم وضعت في أنبوبة 2 مل ومُلئت من محلول الحفظ مع تجنب حدوث فراغات أو فقاعات داخل الأنبوب، ورقمت بعد الغلق. تم تحضير عشرة مكررات من كل عينة مرسلّة، وضعت في علبة اسطوانية وثبتت بواسطة قطن طبي، وأغلقت جيداً، ونقلت إلى الشركة الناقلة بواسطة حاظفة تحتوي على الثلج الجاف. كتبت جميع المعلومات على العلبة من الخارج وأرسلت العينات إلى شركة DNA link في كوريا الجنوبية.

إجراء الفحص

تم استخلاص الأحماض النووية DNA و RNA بواسطة عدة استخلاص وحسب تعليمات الشركة المنتجة (شركة DNA link في كوريا الجنوبية). فحص الحمض النووي بواسطة المطياف الضوئي ND-1000 spectrophotometer ومن ثم رحل على هلام الأجاروز لمشاهدة الحزم. من بعدها تمت قراءة الحمض النووي على منصة Seq 600 Nova DNA وحللت البيانات بواسطة جهاز Expert bioanalyzer 2100 Thermoscientific. اعتمدت نتائج القراءة على حجم العينة وتركيزها ومن خلالها أمكن تحديد سلامة العينة المراد فحصها. تميز البرنامج باحتوائه على أدوات قوية لتقييم البيانات وتحليلها بدقة عالية فضلاً عن التكامل التلقائي واليدوي للعينات، ولقراءة التسلسل الكلي لحمض ال RNA

باستخدام منصة RNA 6000 Nano، حيث تم تحضير مكتبة رقمية من الحمض النووي وأرسلت البيانات على شكل ملف بحجم كبير عبر البريد الإلكتروني.

التحليل الإحصائي

بعد وصول تسلسلات المدمجة التي تمثل مكتبة الحمض النووي من شركة DNA link حملت على حاسوب فائق السرعة، وشملت عينتان: مثلت الأولى: القراءات الأمامية والثانية: للقراءات العكسية، وباستخدام برنامج Geneious Prime أمكن ربطهما معاً بطول 150 زوج قاعدي. بعدها تم تنزيل التسلسل النيكلوتيدي للفيروس CEVd من مكتبة الجينات NCBI وأمکن عمل خريطة مرجعية للتسلسل المحمل من بنك الجينات مع مكتبة الجينات لمعرفة مدى التطابق بين العينة والتسلسل المحمل من خلال البرنامج ليظهر نسبة التطابق وعدد القراءات المرتبطة وطول التسلسل المرجعي للحمض النووي.

الشجرة الوراثية

تم اعتماد برنامج Geneious Prime لاستخراج الشجرة الوراثية للفيروس وذلك ضمن منصة Phylogenetic tree بعد تحميل تسلسلات لفيروسات قريبة لفيروس تشقق قلف الحمضيات وفيروس بعيد القرابة من منصة الـ NCBI لمعرفة مدى التقارب فيما بينها (الساهي، 2022؛ العادي، 2021).

النتائج

وصف الأعراض المرضية للفيروس في مناطق جمع العينات
تفاوتت أعراض الإصابة على نباتات البصل بين مناطق الزراعة (أفضية

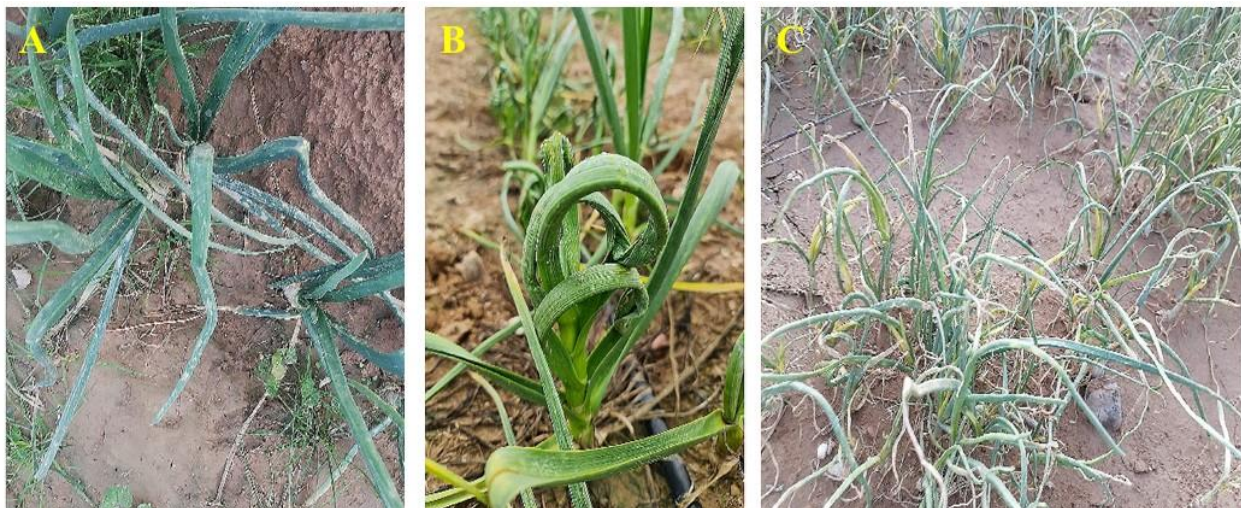
الدور وتكرت وبلد من محافظة صلاح الدين)، حيث شوهدت أعراض النفاق وتكسر وتجعد الأوراق في قضاء الدور (شكل 1-A)، كما ظهرت على نباتات الثوم في قضاء بلد أعراض التواء شديد للورقة وتجعدا مع زيادة امتداد سطح الورقة الخارجي مما أدى إلى النفاقها (شكل 1-B)، أما في قضاء تكرت فظهر على نباتات البصل أعراض تجعد واصفرار وتكسر الأوراق وتيبس في أعلاها (شكل 1-C)، وقد يعود التباين الطفيف في الأعراض إلى اختلاف النوع والصنف النباتي، بالإضافة إلى الاختلاف في موعد الإصابة والظروف البيئية المحيطة.

أعراض الإصابة بالفيروس على النباتات في المختبر

بعد إجراء عملية التلقيح الميكانيكي للنباتات في المختبر ظهرت أعراض الإصابة عليها، وتراوحت بين التواء في الأوراق وتجعدا وتيبس أعلى الورقة وانتشاءات حادة في الورقة واختزال حجمها إضافة إلى أحداث تغير في التركيب الأنسوبي الطبيعي للورقة كانطابق الورقة أو زيادة الحجم في مكان دون آخر، وربما يعود السبب في وجود هذه الأعراض إلى أن أوراق البصل ذات حساسية عالية متغيرة لردود الأفعال تجاه أي خلل فسيولوجي يصيب النبات، وأن للفيروس تأثير على البصل تتشابه أعراضه إلى حد كبير مع الأعراض التي تظهر على نباتات أخرى مثل الخس، البندورة/الطماطم والحمضيات (Abualrob et al., 2023؛ Alsahi et al., 2022؛ Silvoja et al., 2012).

تركيز ونقاوة الحمض النووي RNA للفيروس في العينة

بلغ تركيز الحمض النووي للفيروس في العينة 40.7 نانوغرام/ميكروليتر للعينة OR، وأن نسبة امتصاص الأشعة فوق البنفسجية على طول موجي 260/280 بلغت 2.06، أما كفاءة الحمض النووي (RNA integrity number) فبلغت 5.1 مما يؤهله للاستخدام في الاختبارات التالية.



شكل 1. أعراض الإصابة بفيروس تشقق قلف الحمضيات على نباتات البصل في الحقول الممسوحة في العراق.
Figure 1. Symptoms of Citrus exocortis viroid on onion plants in the surveyed fields in Iraq.

الترحيل الكهربائي وتخطيط جهاز Bioanalyzer

أظهر الترحيل الكهربائي وجود ست حزم لترحيل الجينوم، وظهرت في المخطط البياني لجهاز الـ Bioanalyzer بشكل ست قمم (شكل 2)، مما يدل على وجود أنواع مختلفة من الـ RNA في العينة المستخلصة، ويعطي هذا مؤشراً بأن العينة صالحة ومؤهلة لإكمال الخطوات اللاحقة. انتقلت نتائج التحاليل الأولية للمادة الوراثية مع ما نشر سابقاً (العابدي، 2021؛ الدليمي، 2022؛ Al-Dulami & Al-Fahd, 2023).

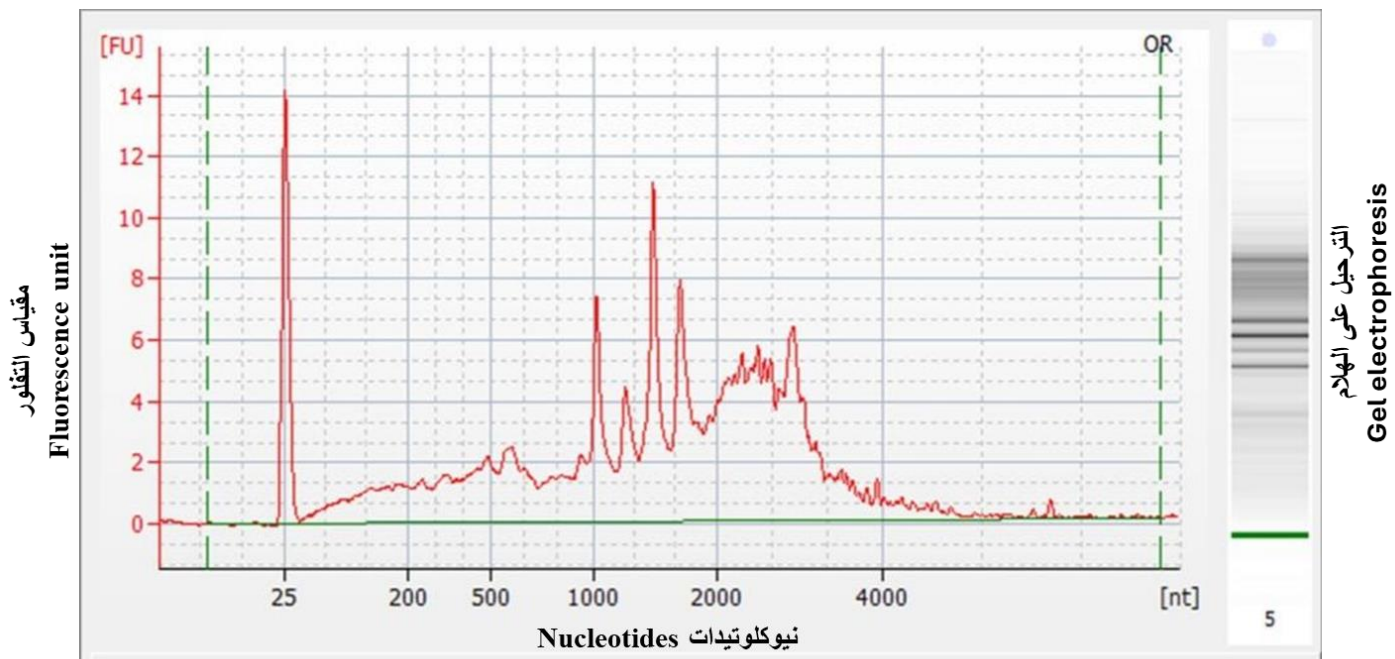
تحليل الارتباطات الجينية

أظهر تتابع خريطة المصادر بواسطة منصة Geneious Prime للتسلسل المرجعي، الذي بلغ حجمه 98945112 زوج قاعدي، الخاص بجينوم الـ RNA للبصل المصاب وجود تطابق مع التسلسل المحمل للجينوم الكامل للفيروس Citrus exocortix viroid برمز تعريف FJ662762.1 عند إجراء التطابق معه والذي بلغ حجمه 395 زوج قاعدي. وفيما يخص التطابق مع العزلات الأخرى، فقد بينت نتائج التحليل الجيني وفق نظام Blast أن العزلة المدروسة مطابقة بنسبة 86.9%، وهي نسبة جيدة جداً وتؤكد تقارب فيروس تشقق قلف الحمضيات المدروس مع عزلة النجف المسجلة على الحمضيات (منصة NCBI). تم سحب سلسلة الحمض النووي RNA المطابقة المحللة من قبل الشركة الكورية الجنوبية باستخدام

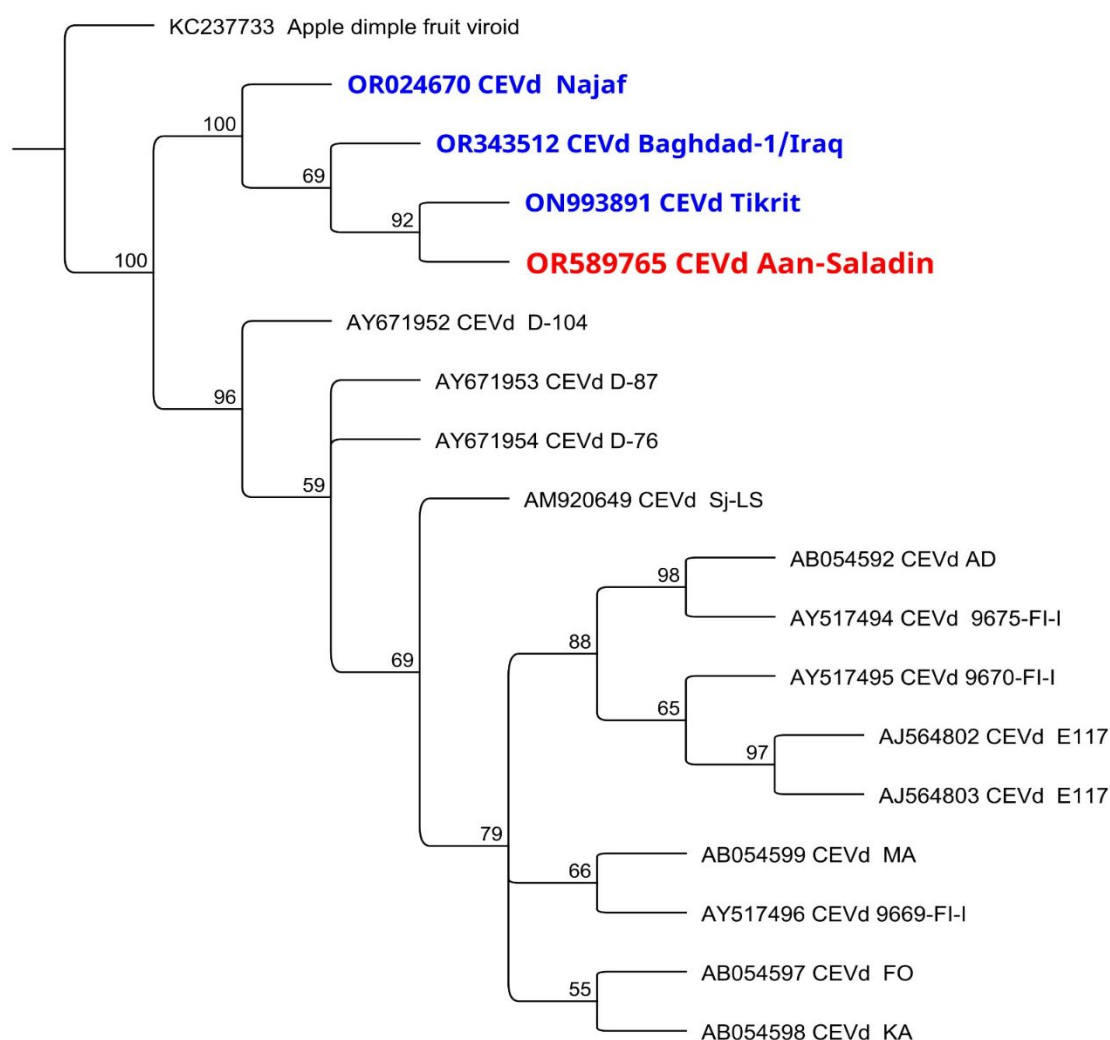
نظام Consensus، أجري عليها عملية تشذيب، ثم قدمت إلى NCBI، وبعد هذا أول تسجيل في العراق على نبات البصل. أخذ الفيروس بـ OR589765.1 Accession number وسجل الفيروس باسم Citrus exocortix viroid isolate Aan-Saladin في 2023/11/21 في بنك الجينات.

رسم الشجرة الوراثية وتحديد القرابة لعزلة الفيروس المحلية

بينت شجرة القرابة الوراثية (شكل 3) للفايرويدات المعزولة محلياً (عزلة النجف OR024670.1 وعزلة تكريت ON993891.1 وعزلة بغداد OR343512.1) كانت متقاربة جداً فيما بينها وتعود جميعها إلى أصل واحد، ولكن الأقرب إلى العزلة المحلية المدروسة Citrus exocortix viroid isolate Aan-Saladin كانت عزلة تكريت CEVd Tikrit التي أعطت نسبة تقارب 92%، يليها في درجة القرابة عزلة بغداد CEVd Baghdad-1/Iraq ثم عزلة النجف الأشرف. لوحظ أن عزلات فيروس تشقق قلف الحمضيات حول العالم لها درجة قرابة أو أصل نشوئي واحد، بينما كان فيروس Apple dimple fruit viroid بعيداً كل البعد عن مجموعة فيروس تشقق قلف الحمضيات وعدم وجود تطابق مع الفيروسات المعزولة محلياً أو عالمياً (Abualrob et al., 2023؛ Alsahi et al., 2022؛ Vazquez et al., 2020).



شكل 2. الترحيل الكهربائي والقياس بجهاز Bioanalyzer لعينة البصل المصابة بفيروس تشقق قلف الحمضيات.
Figure 2. Electrophoresis and bioanalyzer measurement of an onion sample infected with Citrus exocortix viroid.



شكل 3. الشجرة الوراثية لفيرويد CEVd Aan-Saladin مقارنة بالفيرويدات القريبة منه.

Figure 3. Phylogenetic tree of the CEVd Aan-Saladin viroid together with the closely related viroids.

Abstract

Mohsen, A.S. and M.A. Al-Fahd. 2025. First Record of Citrus exocortis viroid (CEVd) on Onions and Determining its Complete Sequence Using Next Generation Sequencing (NGS) Technology in Iraq. Arab Journal of Plant Protection, 43(2): 164-170. <https://doi.org/10.22268/AJPP-001306>

This study was conducted at the Research Station of the College of Agriculture, Tikrit University, and aimed to isolate and diagnose a strain of Citrus exocortis viroid (CEVd) on onion plants, describe its pathological symptoms, determine the complete genomic sequence of the Iraqi isolates, and draw its phylogenetic tree using next generation sequencing (NGS) technology and bioinformatics programs. The observed symptoms of infection included twisting and wrinkling of the leaves, stiffening of the top of the leaf, sharp leaf bending, and reduced growth, in addition to causing a change in the natural tubular leaf structure and variation in size. 98,945,112 accurate reads were obtained representing the total RNA sequences in infected plant samples. These reads were mapped to the complete viroid reference sequence, with 49,175 accurate reads and a length of 395 base pairs. This viroid strain which infects onion was the first record in Iraq and was given the name Citrus exocortis viroid isolate Aan-Saladin (CEVd Aan-saladin) and deposited in the gene library of the National Center for Biotechnology Information (NCBI) under the accession number OR589765.1, based on the complete genomic sequence. The phylogenetic analysis revealed close relation between the diagnosed isolate CEVd Aan-Saladin and the Najaf OR024670.1, Tikrit OR993891.1 and Baghdad OR343512.1 isolates, with significant divergence from the viroids outside the group.

Keywords: Citrus exocortis viroid, onion disease, next generation sequence, complete genome, Phylogenetic tree.

Affiliation of authors: A.S. Mohsen^{1*} and M.A. Al-Fahd². (1) Division of seed testing and certification, Ministry of Agriculture, Iraq; (2) Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, Tikrit University, Iraq. *Email address of the corresponding author: Amer.s.mohsen@st.tu.edu.iq

- Alemu, D., C. Kitila, W. Garedew, L. Jule, B. Badassa, N. Nagaprasad, V. Seenivasan, A. Saka and K.Ramaswamy. 2022. Growth, yield, and yield variables of onion (*Allium cepa* L.) varieties as influenced by plant spacing at Dambi Dollo, Western Ethiopia. Scientific Reports, 12(1):20563. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-24993-x>
- Alsahi, A.M., O.N. Alsawi and M. Alfahd. 2022. Endogenous pararetroviruses (eprvs) in lettuce genome are less expressed but probably share co-infection. Journal of Jilin University (Engineering and Technology Edition), 41(11):248-256. <https://doi.org/10.17605/OSF.IO/6DWMY>
- Dattaraj, B.P., S. Zhu and T. Sano. 2017. Geographical distribution of viroids in South, Southeast, and East Asia. Pp. 507-518. In: Viroids and Satellites. A. Hadidi, R. Flores, J.W. Randles and P. Palukaitis (eds.). Academic Press, London. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801498-1.00047-4>
- Di Serio, F., S.-F. Li, V. Pallás, R.A. Owens, J.W. Randles, T. Sano, J.Th.J. Verhoeven, G. Vidalakis and R. Flores. 2017. Viroid taxonomy. Viroids and Satellites, 135-146. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-801498-1.00013-9>
- Duran-Vila, N. 2017. Citrus exocortis viroid. Pp. 169-179. In: Viroids and Satellites. A. Hadidi, R. Flores, J.W. Randles and P. Palukaitis (eds.). Academic Press, London, UK. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801498-1.00016-4>
- El-DougDoug, K.A., D.A. Rehab, A.A. Rezk and A.R. Sofy. 2012. Incidence of fruit tree viroid diseases by tissue print hybridization in Egypt. International Journal of Virology, 8:114-120. <https://doi.org/10.3923/ijv.2012.114.120>
- Elleuch, A., F.D. Khouaja, I. Hamdi, N. Bsais, J.P. Perreault, M. Marrakchi and H. Fakhfakh. 2006. Sequence analysis of three citrus viroids infecting a single Tunisian citrus tree (*Citrus reticulata*, Clementine). Genetics and Molecular Biology, 29(4):705-710. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572006000400020>
- Hadidi, A., H.M. Mazyad, M.A. Madkour and M. Bar-Joseph. 2003. Viroids in the Middle East. Pp. 275-278. In: Viroids. A. Hadidi, R. Flores, J.W. Randles and J. Semancik (eds.). CSIRO Publishing, Melbourne, Australia.
- Ito, T., N. Namba and T. Ito. 2003. Distribution of citrus viroids and Apple stem grooving virus on citrus trees in Japan using multiplex reverse transcription polymerase chain reaction. Journal of General Plant Pathology, 69:205-207.
- Katsarou, K., M. Chiumenti, K. Kalantidis and M.M. Mathioudakis. 2020. First report of citrus viroids infecting Persian (Tahiti) lime in Greece. Plant Disease, 104(3):998. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-19-1385-PDN>
- الدليمي، علي كاظم عليوي. 2022. التوصيف الجزيئي لفيروس PVY بتقانة NGS واستحثاث المقاومة في نباتات البطاطا بطحلب *Spirulina platensis* المنمى محلياً. رسالة ماجستير، قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة تكريت، العراق. 125 صفحة.
- [Al-Dulami, A.K.A. 2022. Molecular characterization of PVY using NGS technology and induction of resistance in potato plants by locally cultivated *Spirulina platensis* algae. M.Sc. thesis, Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, University of Tikrit, Iraq. 125 pp. (In Arabic)]
- الساهي، احمد محمود. 2022. التشخيص الجزيئي لفايرويد قلف الحمضيات على نبات الخس. رسالة ماجستير، قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة تكريت، العراق. 89 صفحة.
- [Al-Sahi, A.M. 2022. Molecular diagnosis of Citrus exocortis viroid on lettuce plant and its control. M.Sc. thesis, Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, University of Tikrit, Iraq. 89 pp. (In Arabic)]
- العابدي، علي حسن عطية. 2021. تحديد الجينوم الكامل لفايروس تجعد واصفرار الطماطة السلالة المعتدلة TYLCV mild والفيريونيدات الداخلية المرافقة لنبات الطماطة في العراق باستعمال تقانة الجيل الجديد. رسالة ماجستير، قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة الكوفة، العراق. 78 صفحة.
- [Al-Abedi, A.H.A. 2021. Defining the whole genome sequence of Tomato yellow leaf curl virus-mild and the associated endogenous pararetrovirus of tomato in Iraq by using the next generation sequencing technique. M. Sc. thesis, Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, University of Kufa. Iraq. 78 pp. (In Arabic)]
- عايد، بسمة ضباب ومعاذ عبدالوهاب الفهد. 2024. تأثير مستخلص المورينغا وطحلب *Spirulina platensis* وزيت النيم على مقاومة نبات الخيار ضد الإصابة بفايروس اصفرار عروق الخيار Cucumber yellow vein virus (CVYV) والكشف الجزيئي عنه. مجلة العلوم الحديثة والتراثية (العراق)، 12(1):101-115.
- [Ayed, B.D. and M.A. Al-Fahad. 2024. Effect of moringa extract and algae *Spirulina platensis* and neem oil on the resistance of cucumber plants against infection with cucumber yellowing vein virus (CVYV) and its molecular detection. Journal of Modern and Heritage Science (Iraq), 12(1):101-115. (In Arabic)].
- Abualrob, A., O. Alabdallah, R. Abou Kubaa and S. Naser. 2023. Molecular detection of Citrus exocortis viroid (CEVd), Citrus viroid-III (CVd-III), and Citrus viroid-IV (CVd-IV) in Palestine. Scientific Reports, 14:423. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-50271-5>
- Al-Dulami, A.K.E. and M.A. Al-Fahd. 2023. Biomass production of *Spirulina platensis* and its use in inducing hostility resistance against Potyvirus Potato virus Y. Earth and Environmental Sciences, 1158(7):072018. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1158/7/072018>
- Al-Harathi, A., A.M. Al-Sadi and A.A. Al-Saady. 2013. Potential of citrus budlings originating in the Middle East as sources of citrus viroids. Crop Protection, 48:13-15. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2013.02.006>

- Silvija, C., M. Curkovic-Perica, G. Rusak and D. Skoric.** 2012. In vitro system for studying interactions between *Citrus exocortis* viroid and *Gynura aurantiaca* (Blume) DC. metabolism and growing conditions. *Journal of Plant Interactions*, 7(3):254-261.
<https://doi.org/10.1080/17429145.2011.591945>
- Tanaka, H.** 1981. Other viruses and virus-like disease. Pp. 51-52. In: *Citrus Diseases in Japan*. Miyakawa, T. and A. Yamaguchi (eds.). Japan Plant Protection Association, Tokyo, Japan.
- Vazquez, P.F., M.P. López-Gresa, I. Rodrigo, J.M. Bellés and P. Lisón.** 2020. Ethylene is involved in symptom development and ribosomal stress of tomato plants upon *Citrus exocortis* viroid infection. *Plants*, 9(5):582.
<https://doi.org/10.3390/plants9050582>
- Verniere, C., X. Perrier, C. Dubois, A. Dubois, L. Botella, C. Chabrier and N.D. Vila.** 2004. *Citrus viroids*: Symptom expression and effect on vegetative growth and yield of clementine trees grafted on trifoliate orange. *Plant Disease*, 88(11):1189-1197.
<https://doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.11.1189>
- Yakoubi, S., A. Elleuch, N. Besaies, M. Marrakchi and H. Fakhfakh.** 2007. First report of *Hop stunt* viroid and *Citrus exocortis* viroid on fig with symptoms of fig mosaic disease. *Journal of Phytopathology*, 155(2):125-128.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2007.01205.x>
- Krishna, M.B., M.A. Khan and S.T. Khan.** 2019. Next-generation sequencing (NGS) platforms: an exciting era of genome sequence analysis. *Microbial Genomics in Sustainable Agroecosystems*, 2:89-109.
https://doi.org/10.1007/978-981-32-9860-6_6
- Murcia, N., S.B. Hashemian, P. Serra, J.A. Pina and N. Durán-Vila.** 2015. *Citrus viroids*: Symptom expression and performance of Washington navel sweet orange trees grafted on Carrizo citrange. *Plant Disease*, 99(1):125-136.
<https://doi.org/10.1094/PDIS-05-14-0457-RE>
- Opoku, A.A.** 1972. Incidence of exocortis virus disease of citrus in Ghana. *Ghana Journal of Agricultural Science*, 5(1):65-71.
- Patrick, C., B. Belda-Palazon, C.R. Adkar-Purushothama, J.P. Perreault, E. Schleiff, I. Rodrigo and P. Lisón.** 2019. Citrus exocortis viroid causes ribosomal stress in tomato plants. *Nucleic Acids Research*, 47(16):8649-8661.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkz679>
- Repkova, J.** 2017. Application of next-generation sequencing in plant breeding. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 53(3):89-96.
<https://doi.org/10.17221/192/2016-CJGPB>
- Satam, H., K. Joshi, U. Mangrolia, S. Waghoo, G. Zaidi, S. Rawool and S.K. Malonia.** 2023. Next-generation sequencing technology: current trends and advancements. *Biology*, 12(7):997.
<https://doi.org/10.3390/biology12070997>

Received: January 4, 2024; Accepted: February 29, 2024

تاريخ الاستلام: 2024/1/4؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2024/2/29