

## تأثير المعاملات المختلفة في إنتاج مادة إكثار نباتية من صنف الكرمة الحلواني خالية من فيروس التفاف أوراق الكرمة مختبرياً

ميادة السمين<sup>1\*</sup>، خليل المعري<sup>1</sup> وفهد البيسكي<sup>2</sup>

(1) قسم علوم البستنة، كلية الزراعة، جامعة دمشق، سورية؛ (2) الهيئة العامة للتقانة الحيوية، وزارة التعليم العالي، سورية.

\*البريد الإلكتروني للباحث المراسل: mayada2013@ymail.com

### الملخص

السمين، ميادة، خليل المعري وفهد البيسكي. 2022. تأثير المعاملات المختلفة في إنتاج مادة إكثار نباتية من صنف الكرمة الحلواني خالية من فيروس التفاف أوراق الكرمة مختبرياً. مجلة وقاية النبات العربية، 40(4): 334-339. <https://doi.org/10.22268/AJPP-40.4.334339>

نُفذ البحث في مختبر زراعة الأنسجة النباتية في الهيئة العامة للتقانة الحيوية في كلية الزراعة بجامعة دمشق خلال الفترة 2020-2021، بهدف إنتاج نباتات خالية من فيروس التفاف أوراق الكرمة GLRaV-3 من صنف الكرمة الحلواني المصاب بهذا الفيروس، وذلك باستخدام تقانة زراعة الميرستيم المترافقة مع المعاملة الحرارية والكيميائية. أُخذت القمم الميرستيمية بطول 500 ميكرومتر من النباتات المصابة، وزرعت في وسطٍ مغذٍ 1/2 MS أُضيف له 0.5 مغ/ل BAP و 30 غ/ل سكروز. اختبرت النباتات الناتجة بواسطة اختبار إليزا المباشر (DAS-ELISA). أظهرت النتائج أن المعاملة المشتركة أعطت أعلى نسبة للنباتات الخالية من الفيروس (87.67%)، بينما أعطت المعاملة الحرارية أقل نسبة منها (56.25%). أوضحت النتائج تفوق معاملة زراعة القمة الميرستيمية معنوياً على بقية المعاملات، في نسبة النباتات النامية التي وصلت إلى 98.13%. كما بيّنت هذه النتائج أن هناك ثمة تأثيرات سلبية لجميع المعاملات في استتالة النباتات، وبخاصة المعاملة الحرارية التي أعطت أقل استتالة للنمو (0.33 سم).

كلمات مفتاحية: فيروس التفاف أوراق الكرمة، الكرمة، الميرستيم، المعاملة الحرارية، المعاملة الكيميائية، اختبار الإليزا.

### المقدمة

الكشف عنه في جميع مناطق زراعة الكرمة عالمياً (Vončina et al., 2017; Xiao et al., 2018).

أما في سورية، فقد أُجري مسح لتحديد الفيروسات التي تصيب الكرمة في 214 صنفاً، أُخذت عيناتها من المجمعات الوراثية في مديرية البحوث العلمية الزراعية في دمشق ومراكز بحوث حمص وجلين والسويداء ويحمول ومن حقول المزارعين في المحافظات المذكورة، وتبين أن فيروس التفاف الورقة GLRaV-3 كان أكثرها إنتشاراً على عينات الكرمة المختبرة (الشعبي وآخرون، 2000)، وهذا ما أكدته نتائج دراسة غرز الدين (2009) حول انتشار فيروسات التفاف أوراق الكرمة في بساتين/كروم الكرمة المزروعة في جنوب سورية، وخاصةً فيروس التفاف أوراق الكرمة GLRaV-3. أكدت الدراسة التي قام بها Duran-Vila et al. (1988) على التأثير السلبي للفيروسات في نمو وإنتاجية الكرمة فضلاً عن تأثيرها في نوعية العنب الناتج (Gilardi et al., 2020; Malenica et al., 2020)؛ لذا كان لابد من إنتاج غراس كرمة خالية من الأمراض الفيروسية وموثوقة (Mahmoudzadeh, 2018). أكدت العديد من الدراسات وجود

تعدّ الكرمة من أهم أشجار الفاكهة التي تدعم الاقتصاد الوطني في سورية، إلا أن زراعتها بدأت بالتراجع بسبب العديد من المعوقات المتمثلة بالإجهادات الحيوية واللاحوية؛ لذلك فقد حظيت هذه الشجيرة باهتمام الباحثين من حيث نشر الأصناف المقاومة للآفات والأمراض التي تسبب نقصاً في الإنتاج وتدنياً في النوعية (Malenica et al., 2020; Wu et al., 2020)، وبخاصة الأمراض الفيروسية منها؛ والتي تُعدّ من أهم المشاكل الخطيرة التي تواجه الإنتاج الزراعي (Barba et al., 2015)؛ (Daurov et al., 2018). تُصاب الكرمة بأكثر من 70 فيروساً (Jo et al., 2019; Debat et al., 2017; al., 2017). يُعدّ الفيروس المسبب لمرض التفاف أوراق الكرمة والمعروف بـ Grapevine leafroll-associated virus-3 (GLRaV-3) من أكثر أمراض الكرمة إنتشاراً وضرراً (Gilardi et al., 2020; Kazybayeva et al., 2020; Wu et al., 2020)، حيث تمّ

نُقلت العينات السليمة والتي بدأت بالنمو إلى وسط زراعة الميرستيم نفسه بواقع مرّة كل 20 يوماً بهدف إكثارها وزيادة عدد النموات المتكونة ليصار إلى تأمين المادة الأولية اللازمة لاختبار الإليزا.

### المعاملة الحرارية

وضعت النباتات المصابة بالفيروس والمزروعة في أنابيب اختبار تحوي الوسط MS في الحاضنة، عند درجة حرارة 25°س وفترة الإضاءة المذكورة أعلاه نفسها (8:16). تم رفع درجة حرارة الحاضنة تدريجياً (بمعدل درجتين كل يومين) حتى وصلت إلى 37°س. بقيت النباتات في الحاضنة مدة ستة أسابيع، وذلك تحت مستوى عالٍ للكثافة الضوئية 5000 لوكس (Skiada et al., 2009؛ Panattoni & Triolo, 2010). وبعد المعاملة الحرارية للنباتات، تم إكثارها باستخدام تقانة الاكثار الخضري الدقيق، وبمعدل عقلة واحدة في كل أنبوب اختبار يحتوي 18 مل من المحلول المغذي MS. حُصّنت الأنابيب في غرفة النمو تحت الشروط سابقة الذكر نفسها مع مراعاة نقل النموات السليمة المتكونة إلى الوسط MS بواقع مرّة كل 20 يوماً.

### المعاملة الحرارية مع استئصال القمم الميرستيمية

عُزلت القمم الميرستيمية بطول 500 ميكرومتر بعد المعاملة الحرارية للنباتات (37°س، 6 أسابيع)، وزرعت على الوسط الخاص بالميرستيم المذكور آنفاً (Kim et al., 2003)، ثم حُصّنت الأنابيب في غرفة النمو تحت الشروط سابقة الذكر نفسها مع مراعاة نقل النموات السليمة المتكونة إلى وسط الميرستيم نفسه بواقع مرّة كل 20 يوماً.

### المعاملة الكيميائية

زُرعت العقل القميّة والجانبية المستأصلة من النباتات المصابة بالفيروس بمعدل عقلة واحدة في كل أنبوب اختبار يحتوي 18 مل من المحلول المغذي MS مضافاً إليه مادة الريبافيرين بتركيز 20 مغ/ل. حُصّنت الأنابيب في غرفة النمو تحت الشروط سابقة الذكر نفسها. نقلت العينات السليمة إلى الوسط المغذي MS نفسه والمضاف له مادة الريبافيرين، بواقع مرّة كل 20 يوماً.

### المعاملة الكيميائية مع استئصال القمم الميرستيمية:

عُزلت القمم الميرستيمية بطول 500 ميكرومتر من النباتات المصابة بالفيروس، وزرعت في الوسط المغذي الخاص بالميرستيم مضافاً إليه مادة الريبافيرين بتركيز 20 مغ/ل (Hu et al., 2012)، ثم حُصّنت الأنابيب في غرفة النمو تحت الشروط سابقة الذكر نفسها، ثم نقلت العينات السليمة إلى الوسط المغذي نفسه، الخاص بالميرستيم والمضاف له مادة الريبافيرين، بواقع مرّة كل 20 يوماً.

عدّة طرائق للحصول على نباتات خالية من الفيروسات أو للتخلص منها، بما في ذلك زراعة القمة الميرستيمية، والتي تُعدّ من أهم الطرائق المعتمدة من الناحية الاقتصادية لإنتاج نباتات كرمه خالية من الفيروسات خلال وقت قصير (Turcsan et al., 2020)، إضافةً إلى المعاملة الحرارية، أو الكيميائية (Bouamama-Gzara et al., 2017؛ Bi et al., 2018)، أو زراعة القمة الميرستيمية مُعزّزة بالمعاملة الحرارية أو الكيميائية (Smerea et al., 2010، Yancheva et al., 2018)، حيث بيّنت العديد من الأبحاث إمكانية الحصول على نباتات خالية تماماً من الفيروس 3-GLRaV باستخدام المعاملة الحرارية جنباً إلى جنب مع زراعة القمة الميرستيمية (Díaz-Barrita et al., 2008؛ Salami et al., 2009).

## مواد البحث وطرائقه

### المادة النباتية

استخدم في هذا البحث صنف الكرمه (الهلواني)، وهو صنف محلي من أصناف المائدة المشهورة والفاخرة. جُمعت العينات النباتية من حقول المزارعين في محافظة السويداء في شهري أيار/مايو وحزيران/يونيو على هيئة نموات حديثة، قسمت إلى عدة قطع (explants) بطول 0.5-1 سم، يحمل كل منها عقدة نباتية تحوي برعمًا رئيساً وبرعمين جانبيين، بالإضافة إلى العقل القمية التي تمّ إكثارها باستخدام تقانة الإكثار الخضري الدقيق، وبمعدل عقلة واحدة في كل أنبوب اختبار، يحتوي على 18 مل من المحلول المغذي MS (Murashige & Skoog, 1962)، المزود بـ 30 غ/ل سكرورز و 7 غ/ل آغار وبدرجة حموضة 5.8، والمُعقّم في جهاز التعقيم الرطب (Autoclave) عند درجة حرارة 121°س، وضغط 1.04 كغ/سم<sup>2</sup> مدة 20 دقيقة، ثم حُصّنت الأنابيب في غرفة النمو عند درجة حرارة 24±2°س، وفترة ضوئية 16 ساعة إضاءة: 8 ساعات ظلام، وشدة ضوئية 2000-3000 لوكس لمدة أربعة أسابيع.

### استئصال القمم الميرستيمية

عُزلت القمم الميرستيمية من النموات بطول 500 ميكرومتر تحت المكبرة (Skiada et al., 2009؛ Wan et al., 2008). تمّت الزراعة ضمن أنابيب صغيرة قياس 10×100 مم بمعدل قمة ميرستيمية/أنبوب ضمن الوسط الخاص بالميرستيم (1/2MS مضافاً إليه 0.5 مغ/ل BAP، إضافةً إلى 30 غ/ل سكرورز و 7 غ/ل آغار). عدّلت حموضة الوسط إلى 5.8 قبل التعقيم في الأوتوكلاف. حُصّنت الأنابيب بعد زراعتها في غرفة النمو تحت الظروف السابقة نفسها.

## المعاملة الحرارية والكيميائية مع استئصال القمم الميرستيمية (المعاملة المشتركة)

عُزلت القمم الميرستيمية بطول 500 ميكرومتر للنباتات بعد المعاملة الحرارية (37°س، 6 أسابيع)، وزرعت على الوسط الخاص بالميرستيم مضافاً له مادة الريبافيرين 20 مغ/ل. حُصّنت الأنابيب في غرفة النمو تحت الشروط سابقة الذكر نفسها، مع مراعاة نقل النموات المتكونة، بواقع مرة كل 20 يوماً، إلى وسط الميرستيم نفسه والمضاف إليه الريبافيرين (Hu *et al.*, 2020). سُجّلت النسب المئوية للنمو، ومتوسط استطالة النموات بعد 60 يوماً من الزراعة في جميع المعاملات السابقة.

## اختبار الإدمصاص المناعي المرتبط بالأنزيم (إليزا ELISA)

اختبرت العينات النباتية الأم، والعينات النباتية الناتجة عن مرحلة الإكثار في المعاملات المختلفة، باستخدام اختبار الإدمصاص المناعي المرتبط بالأنزيم (إليزا المباشر DAS-ELISA) حسب التقنية الموصوفة من قبل Clark & Adams (1977). عُدّت العينة مصابة إذا تجاوز امتصاص محلول العينة للضوء، على طول موجة 405 نانومتراً، متوسط امتصاص عينات الشاهد السليم، مضافاً إليه ثلاثة أمثال الانحراف المعياري Standard Deviation (SD) (Savigny & Voller, 1980).

## التحليل الإحصائي

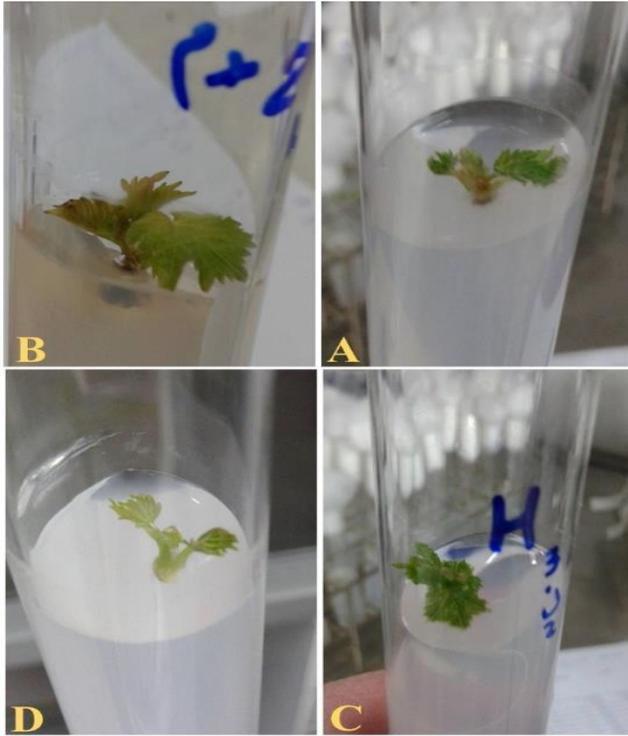
صُممت التجربة وفق التصميم العشوائي الكامل، وذلك بواقع 7 معاملات، 2 مكرر لكل معاملة، 20 عينة نباتية (أنبوب) في المكرر الواحد (7×2×20=280 نبات). تم تحليل بيانات التجربة بعد تبويبها بالشكل المناسب باستخدام البرنامج GenStat 12، وتطبيق تحليل ONE WAY ANOVA، وأجريت المقارنة بين المتوسطات عن طريق اختبار أقل فرق معنوي (LSD) ومعامل التباين (CV) عند مستوى الإحتمال 1%.

## النتائج والمناقشة

أشارت النتائج (جدول 1) إلى وجود فروق معنوية بين المعاملات في نسبة التخلص من الفيروس GLRaV-3، حيث تفوقت المعاملة المشتركة معنوياً على بقية المعاملات في تحقيق أعلى نسبة للنباتات الخالية من الفيروس والتي وصلت إلى 87.67%، وهذا ما أكدته أبحاث سابقة (Hu *et al.*, 2020)؛ وتلاها معاملة القمم الميرستيمية مع المعاملة الحرارية مسجلة 81.25%، في حين تعادلت كل من المعاملة بزراعة القمم الميرستيمية والمعاملة الكيميائية المترافقة بزراعة القمم الميرستيمية في نسبة التخلص من الفيروس، والتي بلغت 75.00%، وبدون فروق معنوية بينهما؛ بينما أعطت المعاملة الحرارية أقل نسبة من النباتات

الخالية من الفيروس GLRaV-3 (56.25%)، وذلك مقارنةً بنباتات الشاهد المصابة بالفيروس، ويتوافق هذا مع ما أشار إليه Maliogka *et al.* (2009).

كما أظهرت النتائج (جدول 1، شكل 1) تفوق معاملة زراعة القمم الميرستيمية معنوياً على بقية المعاملات في نسبة النباتات النامية التي وصلت إلى 98.13%، وهذا ما أكدته النتائج التي حصل عليها Maliogka *et al.* (2009)، تلاها نباتات الشاهد غير المعاملة، بينما أدت المعاملة الحرارية إلى أقل نسبة من النباتات النامية (55%) وبفروق معنوية واضحة بينها وبين جميع المعاملات، ويتوافق هذا مع ما أشار إليه Hu *et al.* (2020)، بأن المعاملة الحرارية تتسبب بموت ما يزيد عن 75% من البراعم. كما وجد أيضاً أن لجميع المعاملات تأثير تثبيطي في استطالة النموات، حيث لوحظ تفوق نباتات الشاهد غير المعاملة معنوياً على بقية المعاملات من حيث استطالة النبيتات، بينما كانت الفروق معنوية ما بين جميع المعاملات، حيث تحققت أقل استطالة للنموات (0.33 سم) بعد المعاملة الحرارية.



شكل 1. نمو القمم الميرستيمية بعد المعاملات المختلفة: (A) نمو القمم الميرستيمية؛ (B) نمو القمم الميرستيمية بعد المعاملة الحرارية؛ (C) نمو القمم الميرستيمية بعد المعاملة الكيميائية؛ (D) نمو القمم الميرستيمية بعد المعاملة المشتركة.

**Figure 1.** Growth of the meristem tip after different treatments: (A) growth of the meristem tip; (B) growth of the meristem tip after thermal treatment; (C) growth of the meristem tip after chemical treatment; (D) growth of the meristem tip after combined treatment.

جدول 1. تأثير المعاملات المختلفة في نسبة التخلص من فيروس التقاف الأوراق 3-GLRaV في صنف الكرمة الحلواني.

**Table 1.** Effect of different treatments on the elimination of Grapevine leafroll-associated virus 3 (GLRaV-3) in grape Halwani cultivar.

Studied Feature الصفة المدروسة			Treatment	المعاملة
% التخلص من الفيروس % Virus elimination rate	متوسط استطالة النموات بعد 60 يوماً (سم) Average elongation (cm)	% النباتات النامية % of growing plants		
00.00 f	2.8000 a	95.87 b	Control	الشاهد
75.00 c	0.5050 b	98.13 a	Meristem-tip	القمة الميرستيمية
56.25 e	0.3300 b	55.00 g	Thermal	الحرارية
81.25 b	0.6050 b	72.72 e	Thermal + Meristem-tip	الحرارية + القمة الميرستيمية
62.50 d	0.8300 b	63.67 f	Chemical	الكيميائية
75.00 c	0.6800 b	83.67 d	Chemical + Meristem-tip	الكيميائية + القمة الميرستيمية
87.67 a	0.5750 b	90.20 c	Combined treatment	المعاملة المشتركة
0.30	38.40	0.40		C.V. (%)
1.05	0.55	1.00		LSD <sub>0.01</sub>

القيم التي يتبعها أحرف متشابهة ضمن العمود الواحد تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال 1%.

Means in each column followed by the same letters are not significantly different at P= 0.01.

## Abstract

El-Samin, M., K. El-Maari and F. El-Biski. 2022. Effect of Different Treatments on Producing *in vitro* Healthy *Vitis vinifera* L. cv. Halwani Free From Grapevine Leafroll-Associated Virus-3. Arab Journal of Plant Protection, 40(4): 334-339. <https://doi.org/10.22268/AJPP-40.4.334339>

This study was carried out during the period 2020-2021, to produce virus-free propagation material from Halwani cultivar of grape infected with Grapevine leafroll-associated virus 3 (GLRaV-3), by using the meristem tip culture technique together with thermal and chemical treatments. The meristem tip of 500 micrometers was excised from infected plants and placed on 1/2 MS medium which contains 0.5 mg/l BAP and 30 g/l sucrose. Virus presence or absence was confirmed by the ELISA test (DAS-ELISA). Results showed that the highest Percentage of virus free plantlets (87.67%) was obtained from the combined treatment, whereas the thermal treatment resulted in the lowest percentage of virus-free plants (56.25%). The results obtained also showed the significant superiority of using meristem-tip culture compared with all other treatments in terms of percent growing plants, which reached 98.13%. This study indicated that there were negative effects of all treatments on plant elongation, especially the thermal treatment, which gave the least plant growth elongation (0.33 cm).

**Keywords:** Grapevine leafroll-associated virus, grape, meristem, thermal treatment, chemical treatment, DAS-ELISA.

**Affiliation of authors:** M. El-Samin<sup>1</sup>\*, K. El-Maari<sup>1</sup> and F. El-Biski<sup>2</sup>. (1) Horticulture Department, Faculty of Agriculture, University of Damascus, Syria; (2) National Commission of Biotechnology, Ministry of Higher Education, Damascus, Syria. \*Email address of corresponding author: mayada2013@ymail.com

## References

- Barba, M., V. Iardi and G. Pasquini. 2015. Control of pome and stone fruit virus diseases. *Advances in Virus Research*, 91: 47-83. <https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2014.11.001>
- Bi, W.L., X.Y. Hao, Z.H. Cui, R. Pathirana, G.M. Volk and Q.C. Wang. 2018. Shoot tip cryotherapy for efficient eradication of Grapevine leafroll-associated virus-3 from diseased grapevine *in vitro* plants. *Annals of Applied Biology*, 173(3): 261-270. <https://doi.org/10.1111/aab.12459>
- Bouamama-Gzara, B., I. Selmi, S. Chebil, I. Melki, A. Mliki, A. Ghorbel, A. Carra, F. Carimi and N. Mahfoudhi. 2017. Elimination of grapevine leafroll associated virus-3, grapevine rupestris stem pitting associated virus and grapevine virus A from a Tunisian cultivar by somatic embryogenesis and characterization of the somaclones using Ampelographic descriptors. *The Plant Pathology Journal*, 33(6): 561-571.

## المراجع

- الشعبي، صلاح، عبد الرحمن درويش، فايز إسماعيل، جمال مندو، سناء نعمان، ليلى مطرود، أيمن الصالح وفراس الأسود. 2000. تقويم الحالة الصحية لأشجار اللوزيات والكرمة في سورية. مجلة وقاية النبات العربية، 18(1): 17-23.
- [Al-Chaabi, S., A.R. Darwech, F. Esmael, J. Mando, S. Numan, L. Matrod, A. Al-Saleh and F. Aswad. 2000. Assessment of the phytosanitary status of stone fruit trees and grapevine in Syria. *Arab Journal of Plant Protection*, 18(1): 17-23. (in Arabic)]
- غرز الدين، مجدي. 2009. الكشف عن الفيروسات المرتبطة بالتقاف أوراق الكرمة في جنوب سورية وتحديد نواقلها الحشرية. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة دمشق، سورية. 105 صفحات.
- [Gharz Eddin, M. 2009. Detection of Grapevine leafroll-associated closterovirus in Southern Syria and identification of their vectors. MSc thesis, Faculty of Agriculture, Damascus University, Syria. 105 p. (in Arabic)]

- GLRaV-3 elimination in grapevines. *Journal of Plant Biotechnology*, 30(2): 155-160.  
<https://doi.org/10.5010/JPB.2003.30.2.155>
- Mahmoudzadeh, H.** 2018. *In vitro* regeneration of virus-free grapevine (*Vitis vinifera* L.) in some commercial cultivars. *International Journal of Agricultural and Natural Sciences*, 1(1): 69-74.
- Malenica, N., M. Jagić, B. Pavletić, N. Bauer, D. Vončina, G. Zdunić and D. Leljak Levanić.** 2020. Somatic embryogenesis as a tool for virus elimination in Croatian indigenous grapevine cultivars. *Acta Botanica Croatica*, 79(1): 26-34.  
<https://doi.org/10.37427/botcro-2020-008>
- Maliogka, V.I., F.G. Skiada, E.P. Eleftheriou and N.I. Katis.** 2009. Elimination of a new ampelovirus (GLRaV-Pr) and Grapevine rupestris stem pitting associated virus (GRSPaV) from two *Vitis vinifera* cultivars combining in vitro thermotherapy with shoot tip culture. *Scientia Horticulturae*, 123(2): 280-282.  
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.08.016>
- Murashige, T. and F. Skooge.** 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum*, 15: 473-497.  
<https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Panattoni, A. and E. Triolo.** 2010. Susceptibility of grapevine viruses to thermotherapy on in vitro collection of Kober 5BB. *Scientia Horticulturae*, 125(1): 63-67.  
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2010.03.001>
- Salami, S.A., A. Ebadi, Z. Zamani and M. Koochi Habibi.** 2009. Incidence of Grapevine Fan leaf Virus in Iran: A Survey Study and Production of Virus-Free Material Using Meristem Culture and Thermotherapy. *Europ. Journal Horticulture Sciences*, 74(1): 42-46.
- Savigny, D.D. and A. Voller.** 1980. The communication of ELISA data from laboratory to clinician. *Journal of immunoassay*, 1(1): 105-128.  
<https://doi.org/10.1080/01971528008055779>
- Skiada, F.G., K. Grigoriadou, V.I. Maliogka, N.I. Katis and E.P. Eleftheriou.** 2009. Elimination of Grapevine leafroll-associated virus 1 and Grapevine rupestris stem pitting-associated virus from grapevine cv. Agiorgitiko, and a micropropagation protocol for mass production of virus-free plantlets. *Journal of Plant Pathology*, 91(1): 177-184.  
<https://doi.org/10.4454/jpp.v91i1.639>
- Smerea, S., L. Andronic, T. Grigorov and V. Bujoreanu.** 2010. In vitro regenerative genotypic specificity of meristems from virus infected grapevine cultivars. *Romanian Biotechnological Letters*, 15(2):19-25.
- Turcsan, M., E. Demian, T. Varga, N. Jaksa- Czotter, E. Szegedi, R. Olah and E. Varallyay.** 2020. Hts-Based monitoring of the efficiency of somatic embryogenesis and meristem cultures used for virus elimination in grapevine. *Plants*, 9(12): 1782.  
<https://doi.org/10.3390/plants9121782>
- Vončina, D., M. Al Rwahnih, A. Rowhani, M. Gouran and R.P.P. Almeida.** 2017. Viral diversity in autochthonous croatian grapevine cultivars. *Plant Disease*, 101(7): 1230-1235.  
<https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.06.2017.0122>
- Clark, M.F. and A.N. Adams.** 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of general virology*, 34(3): 475-483.  
<https://doi.org/10.1099/0022-1317-34-3-475>
- Daurov, D., Z. Kuanysh, D. Aiansh, V. Dmiriy, B. Makpal, E. Aigul, T. Dana, S. Malika and Z. Kabl.** 2018. Production of Virus-free Planting Material for the Southeast of Kazakhstan. *International Journal of Agriculture and Biology*, 20(4): 851-856.  
<https://doi.org/10.17957/IJAB/15.0576>
- Debat, H.J., D. Zavallo, R.S. Brisbane, D. Voncina, R.P.P. Almeida, A.G. Blouin, M. Al-Rwahnih, S. Gomez-Talquena and S. Asurmendi.** 2019. Grapevine virus L: a novel vitivirus in grapevine. *European Journal of Plant Pathology*, 155: 319-328.  
<https://doi.org/10.1007/s10658-019-01727-w>
- Díaz-Barrita, A.J., M. Norton, R.A. Martínez- Peniche, M. Uchanski, R. Mulwa and R.M. Skirvin.** 2008. The Use of Thermotherapy and in vitro Meristem Culture to Produce Virus-Free ‘Chancellor’ Grapevines. *International Journal of Fruit Science*, 7(3): 15-25.  
[https://doi.org/10.1300/J492v07n03\\_03](https://doi.org/10.1300/J492v07n03_03)
- Duran-Vila, N., J. Juárez and J.M. Arregui.** 1988. Production of Viroid-Free Grapevines by Shoot Tip Culture. *American Journal of Enology and Viticulture*, 39(3): 217-220
- Gilardi, G., W. Chitarra, A. Moine, M. Mezzalama, P. Boccacci, M. Pugliese, M. L. Gullino and G. Gambino.** 2020. Biological and molecular interplay between two viruses and powdery and downy mildews in two grapevine cultivars. *Horticulture Research*, 7: 188. <https://doi.org/10.1038/s41438-020-00413-x>
- Hu, G.J., N. Hong, L.P. Wang, H.J. Hu and G.P. Wang.** 2012. Efficacy of virus elimination from in vitro cultured sand pear (*Pyrus pyrifolia*) by chemotherapy combined with thermotherapy. *Crop Protection*, 37: 20-25. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2012.02.017>
- Hu, G., Y. Dong, Z. Zhang, X. Fan and F. Ren.** 2020. Efficiency of chemotherapy combined with thermotherapy for eliminating grapevine leafroll-associated virus 3 (GLRaV-3). *Scientia Horticulturae*, 271: 109462.  
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109462>
- Jo, Y., M.K. Song, H. Choi, J.S. Park, J.W. Lee, S. Lian, B.C. Lee and W.K. Cho.** 2017. Genome sequence of grapevine virus T, a novel foveavirus infecting grapevine. *Genome announcements*, 5(37): e00995-17. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00995-17>
- Kazybayeva, S., S. Dolgikh, S. Kulshanov, M. Urazayeva and G. Ushkempirova.** 2020. The organization of the virus-tested planting material production for the grape varieties of the local and foreign selection in Kazakhstan. *BIO Web of Conferences*, 25: 01002.  
<https://doi.org/10.1051/bioconf/20202501002>
- Kim, H.R., J.D. Chung, J.W. Park, Y.M. Choi and M.S. Yiem.** 2003. Effects of thermotherapy and shoot apical meristem culture, antiviral compounds for

**Xiao, H., M. Shabanian, C. Moore, C. Li and B. Meng.** 2018. Survey for major viruses in commercial *Vitis vinifera* wine grapes in Ontario. *Virology Journal*, 15: 127. <https://doi.org/10.1186/s12985-018-1036-1>

**Yancheva, S., P. Marchev, V. Yaneva, V. Roichev and I. Tsvetkov.** 2018. In vitro propagation of grape cultivars and rootstocks for production of pre-basic planting material. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 24(5): 801-806 .

<https://doi.org/10.1094/PDIS-10-16-1543-RE>

**Wan, Y.Z., H.L.D. Schwaninger, C.J. Simon, Y.J. Wang and C.H. Zhang.** 2008. A review of taxonomic research on chinese wild grapes. *Vitis*, 47(2): 81-88. <https://doi.org/10.5073/vitis.2008.47.81-88>

**Wu, Q., N. Habili, F. Constable, M. Al Rwahnih, D.E. Goszczynski, Y. Wang and V. Pagay.** 2020. Virus pathogens in Australian vineyards with an emphasis on Shiraz disease. *Viruses*, 12(8): 818. <https://doi.org/10.3390/v12080818>

Received: December 21, 2021; Accepted: May 28, 2022

تاريخ الاستلام: 2021/12/21؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2022/4/28