دراسة لمرض موازيك الفلفل المتسبب عن الفيروس Potato Virus Y بمنطقة المرج – الجبل الأخضر

يونس علي الطيب عمر موسى السنوسي فتحي سعد المسماري*

DOI: https://doi.org/10.54172/mjsc.v8i1.422

الملخص

لـوحظ أثنـاء زيـارات ميدانيـة لمحاصـيل الفلفـل المتـداول زراعتهـا بـالحقول والبيـوت الزجاجيـة المحيطـة بمدينـة المـرج – منطقـة الجبـل الأخضـر انتشـار واسـع لإصـابة فيروسـية تتمثـل أعراضـها في تقّـزم شـديد للنباتـات المصـابة ، موازيـك واصـفرار الأوراق وتحـرّم عروقهـا وتشـوّه الثمـار . ينتقـل هـذا الفـيروس ميكانيكيـاً وكـذلك بواسـطة حشـرات مـنّ الخـوخ الأخضـر *Myzus persicae* بالطريقـة غـير الباقيـة (Non-persistant) . وأثبتـت الدراسـات اللاحقـة علـى كـل مـن الأمراضـية والأعـراض الـتي يحفّزهـا الفـيروس علـى النباتـات الدالـة والخـواص الفيزيائيـة والتغـيرات الخلويـة الدقيقـة Cytological Ultrasructural Changes المصـاحبة للمـرض والصـفات المورفولوجيـة أن درجة الحرارة المميتة للفيروس هي 60°م ونقطة التخفيف النهائية تتراوح مابين 5×10^{-3} ، 5×10^{-4} وقـدرة بقائـه خـارج أنسـجة العائـل 11 يومـاً ، وأن جسـيمات الفـيروس مـن النـوع العصـوي المـرن مصـحوبة بتكـوين أشـكال مروحيـة ذات أذرع منحنيـة ملتفـة حـول المركـز (Pin-wheels) المميـزة للفيروسـات التابعـة لمجموعـة بـوتي (Poty virus group) ، وأكـدت الدراسـات السـيرولوجية (المصـلية) باسـتخدام اختبـار إليـزا غـير المباشـر أن المسـبب لهـذا المـرض هـو فـيروس البطـاطس واي Potato Virus Y (PVY) . وعنـد اختبـار مـدى مقاومـة أصـناف الفلفـل المتـداول زراعتهـا في المنطقة للإصابة بالفيروس ، أظهرت النتائج أن جميع الأصناف قابلة للإصابة .

* قسم البستنة ، كلية الزراعة ، جامعة عمر المختار ، البيضاء – ليبيا .

© للمؤلف (المؤلفون)، يخضع هذا المقال لسياسة الوصول المفتوح ويتم توزيعه بموجب شروط ترخيص إسناد المشاع الإبداعي CC BY-NC 4.0

المقدمة

يعدّ نبات الفلفل *Capsicum spp* الذي يتبع العائلة الباذنجانية *Solanaceae* من محاصيل الخضر الهامة التي تزرع في الجماهيرية على نطاق واسع في الحقول المفتوحة والبيوت الزجاجية ، وذلك نظراً لأهميته الغذائية والاقتصادية حيث أن ثماره ذات قيمة غذائية عالية لاحتوائها على العديد من المعادن والفيتامينات المهمة لبناء جسم الإنسان مثل فيتامين C ، ويدخل في العديد من الصناعات الغذائية والتركيبات الطبية لعلاج بعض الأمراض مثل الدهانات المستخدمة في علاج التهابات المفاصل (مطلوب وآخرون ، 1989 ، أبو غنية ، 1986 ، حسن ، 1984) . ويتعرض هذا المحصول للإصابة بالعديد من الكائنات الممرضة والتي من بينها الفيروسات النباتية التي تُعد إحدى مشاكل الإنتاج الزراعي لما تسببه من خسائر كبيرة في إنتاج المحاصيل الزراعية كمّاً ونوعاً . يصاب الفلفل طبيعياً بالعديد من الفيروسات الهامة والتي وصل العدد المسجل منها على هذا المحصول في العالم إلى أكثر من 20 فيروساً ، بالإضافة لتسجيل ما يقرب من 42 فيروساً يصاب بها اصطناعياً (Bataresh, 1985) ومن بين هذه الفيروسات هناك 14 فيروساً تسبب أعراض الموزايك على الفلفل (Elsanusi, 1988) وتعد الفيروسات التي تنتمي لمجموعة بوتي أكثرها انتشاراً على هذا المحصول في العالم مثل فيروس البطاطس واي (Bataresh, 1985) Potato Virus Y (PVY) فيروس تبرقش الفلفل , Nelson) (Wheeler ، 1972) Pepper Mosaic Virus (PeMV) فيروس التبرقش الشديد على الفلفل Pepper (Gcacia , Severe Mosaic (PSMV) Feldman , 1977) ، فيروس تبرقش عروق الفلفل Pepper Veinal Mottle (PVMV) (Kenten , Brunt , 1971) ، وفيروس حكة التبغ Tobacco Etch Virus (TEV) (Black et al,1991) وفي مسح ميداني للأمراض التي يتعرض لها محصول الفلفل في الحقول والبيوت الزجاجية بمنطقة المرج بالجبل الأخضر لوحظ انتشار واسع لأعراض إصابات فيروسية على هيئة تقزّم شديد للنباتات المصابة ، موزايك واصفرار للأوراق وتحزّم لعروقها، وتشوه للثمار . ونظراً لعدم تعرض الدراسات أو البحوث السابقة في هذه المنطقة لهذه المشكلة ؛ فقد هدفت هذه الدراسة لعزل الفيروس المسبب للمرض وتعريفه ومعرفة طرائق انتشاره ومدى حساسية أصناف الفلفل المتداول زراعتها للإصابة به .

المواد وطرق البحث

مصدر الفيروس

جمعت عينات مصابة بهذا الفيروس من المزارع المحيطة بمدينة المرج بالجبل الأخضر خلال موسم 2000–2001 وذلك بأخذ الأوراق القمية للنباتات التي عليها أعراض الموزايك وتقطيعها بمقص

معقم ثم حفظها في أكياس بلاستيكية عند درجة حرارة 5°م لحين استخدامها .

النقل الميكانيكي

حضّر اللقاح من كل عينة وذلك بسحق الأنسجة المصابة جيداً في هاون خزفي معقم مع محلول منظم فوسفاتي (Phosphate buffer) عياريته 0.01 مول وتركيز أيونات الهيدروجين (pH) 7.0 بنسبة (1:1 حجم/ وزن) ورشح المستخلص خلال طبقتين من قماش الشاش المعقم واستخدم الراشح في تلقيح مجموعة من نباتات الفلفل التي عرضت لفترة من الظلام لمدة 24–48 ساعة (Gibbs و Harrison ، 1976) وفي ظروف بيئية معقمة أجريت عملية التلقيح الميكانيكي (Mechanical inoculation) وفقاً لما وصفه Noordam (1973) وذلك بغمس إصبع السبابة في اللقاح ومسح سطح أوراق النباتات المعفرة بمسحوق الكاربوندم Carborundum 600 mesh ثم غسل الأوراق الملقحة بالماء مباشرة بعد تلقيحها وحفظت في الصوبة أو المعمل لملاحظة ظهور الأعراض النموذجية للمرض .

النقل الحشري

بعد أن عرفت حشرة منّ الخوخ الأخضر (sulz) *Myzus persicae* بواسطة قسم وقاية كلية الزراعة – جامعة عمر المختار ، أجريت مجموعة من الاختبارات على مقدرة هذه الحشرة على نقل الفيروس من نباتات الفلفل المصابة إلى نباتات الفلفل السليمة (صنف كاليفورنيا وندر) حيث تم نقل مجموعة من هذه الحشرات من العينات الحقلية وتربيتها على نباتات فلفل سليمة في صناديق معدة لتربية الحشرات ، لمدة شهر مع التعريض لفترة إضاءة قدرها 16 ساعة لمنع التجنيح ، وتمت مراقبة النباتات خلال هذه المدة (Lowery , 1997 et al) لضمان خلوها من أية إصابة فيروسية ، بعد ذلك قسمت الحشرات البالغة إلى مجموعتين ونقلت المجموعة الأولى بواسطة فرشاة رسم ناعمة مبللة بالماء ووضعت على طبق بتري به ورق ترشيح لمدة 1–2 ساعة لفترة تجويع ، ثم تركت تتغذى على أوراق نبات الفلفل كاليفورنيا وندر المصابة فترات متغيرة (3 ، 5 ، 10 ، 15 ، 20 ، 30 ، 40 ، 50 ، 60 دقيقة) ثم نقلت بمعدل عشر حشرات جائعة مباشرة إلى نباتات سليمة بدون تغذية على أوراق فلفل مصابة وذلك للمقارنة ، أما المجموعة الثانية من الحشرات فلم تعامل ولم تخضع لفترة تجويع ، وتركت حشرات المجموعتين تتغذى على نباتات الاختبار لمدة 24 ساعة ، ثم بعد ذلك تم رش كل النباتات بمبيد حشري (بريمور) .

العوائل المشخصة والمدى العوائلي

اعتمد التشخيص الأولي للفيروس أو الفيروسات المسببة لمرض موازيك الفلفل على الأعراض المرضية التي يحفز ظهورها الفيروس على النباتات التي استخدمها كل من Bos (1970) و Paul & Gibbs (1970) و Smith (1970) و Delgado Sanchez ، Grogan (1970) و Gibbs (1976) و Batarseh (1985) و Makkouk ، آخرون Boiteux (1976) ، آخرون (1996) مثل الزربيح *Gomphrena globosa L.* , *Chenopodiun amaranticolor* و التبغ *Nicotiana N. goutinosa* , *tabacum L.* ، والفول *Vicia faba* ، والفلفل *Capsicum annuum C. L.* ، والداتورا *Datura metel frutescens D. stamoniun* . والتي تختلف في استجابتها للفيروسات المسببة للموزايك على نباتات الفلفل . لقحت نباتات العائلة البقولية في مرحلة الورقتين الأوليتين ونباتات العائلة القرعية في مرحلة الورقتين الفلقيتين ولقحت بقية العوائل في مرحلة 3–8 أوراق وحفظت النباتات بعد تلقيحها في الصوبة أو المعمل لملاحظة ظهور الأعراض المرضية على كل منها . وللتأكد من إصابة هذه النباتات بالفيروس فقد تم تحضير لقاح منها بعد 2–3 أسابيع من العدوى واستخدم في تلقيح نباتات التبغ *Nicotiana tabacum cv.* White burley ونباتات الداتورة *Datura metel* (حقن رجعي Back-inoculation) .

خواص الفيروس الفيزيائية في العصارة الخام

تم تحديد درجة الحرارة المثبطة لنشاط الفيروس Thermal inactivation point (TIP) ونقطة التخفيف النهائية Dilution End point (DEP) وقدرة جسيماته على البقاء خارج أنسجة العائل النباتي Longivity in vitro (LIV) عند درجة حرارة الغرفة ، وذلك بجمع أوراق نباتات فلفل ظهرت عليها أعراض الموزايك بعد 3–4 أسابيع من تلقيحها بالعزلة الفيروسية وطحنها في هاون خزفي في وجود محلول منظم فوسفاتي (0.01M Phosphate buffer, pH 7.0) ثم تعريض العصارة المستخلصة للمعاملات الفيزيائية المختلفة وفقاً لما وصفه Noordam (1973) ولقح بعصارة كل معاملة خمسة نباتات متجانسة من التبغ *N.tabacum* صنف White Burley لملاحظة الأعراض الجهازية ، وكذلك خمس نباتات متجانسة من التبغ *N. glutinosa* لملاحظة أعراض التبقع الموضعي ، ولقح نفس العدد من النباتات بالماء المقطر للمقارنة (شاهد) . بعد ذلك تمت متابعة الأعراض المرضية على النباتات المعداه لمدة 15 يوماً من التلقيح وكررت هذه التجربة مرة أخرى .

الدراسات الفسيولوجية

لمعرفة التغيرات التي تكون قد طرأت على مستوى الخلية في الأنسجة النباتية نتيجة للإصابة بالفيروس ؛ أخذت أجزاء صغيرة من العنق أو العرق الوسطي مع جزء من الأنسجة المتاخمة لأنسجة الميزوفيل من نباتات الفلفل والتبغ المصابة والسليمة وتم تثبيتها (Fixation) في محلول يتكون من Glutarldehyde 2% و Paramaldehde 2% (Karnovesk, 1965) في منظم كاكوديلات Cacodylate درجة حموضته (pH)7.0 لمدة ساعتين عند درجة حرارة الغرفة تحت التفريغ الهوائي ، ثم غسلت عينات الأنسجة عدة مرات في المحلول المنظم (كاكوديلات) وأعيد تثبيتها مرة أخرى في 1% من محلول رابع أكسيد الأوزميوم Osmium tetroxide ($O_s O_4$) لمدة ساعتين ، وصبغت مبدئياً ليلة كاملة في محلول خلات اليورانيل (Uranylacetate) بتركيز 5% عند 4°م ، وبعد عملية نزع الماء Dehydration من العينات بتعريضها لتراكيز متعاقبة من الكحول الإيثيلي طمرت (Embeded) في مادة شمعية resin-Spurr's epoxy ، ثم قطعت مقاطع (Sections) من النسيج بسمك 1 ميكروميتر (1976, Meek) بواسطة جهاز الميكروتوم Ultramicrotome باستعمال السكاكين الزجاجية ، ونقلت إلى شرائح خاصة بالمجهر الإلكتروني (Grids) وصبغت بملامسة وجه الشريحة الحاوية للقطاعات بقطرة من صبغة خلات اليورانيل المائية بتركيز 2% لمدة 10 دقائق (Zobel و Beer ، 1965) وصبغت بسترات الرصاص Lead Citrate لمدة دقيقتين ، ثم فحصت بالمجهر الإلكتروني النافذ نوع JEM-100cx Jeol electron microscope بجامعة الإسكندرية .

الدراسات السيريولوجية

أجري الكشف عن الفيروس في العينات النباتية المصابة باستخدام تقنية إليزا غير المباشر (Indirect Elisa) تبعاً للطريقة التي وصفها Younes (1995) ، Fegla و آخرون (1997) وذلك باستخدام (Antisera) لفيروسات TMV و PVX و PVY و CMV و AMV و TRSV تم الحصول عليها من قسم وقاية النبات في كلية الزراعة بجامعة الإسكندرية والجمعية الأمريكية للمزارع النموذجية ATCC . وتمت تنقية الأمصال المضادة للفيروسات وذلك بإجراء عملية ادمصاص لها (Cross-adsorption) مع عصارة أنسجة نباتات سليمة مخففة بمعدل من 1:20 في محلول المصل (PBS-Tween20 Containing 2% soluble polyvinyl pyrrolidone 0.2% BSA) وتم تحضينها لمدة 45 دقيقة عند 37°م ثم إزالة الراسب المتكون عن طريق الطرد المركزي لمدة 10 دقائق على سرعة 5000 دورة في الدقيقة . بعد تحضير عصارة من أوراق مصابة وأخرى سليمة لنبات الفلفل والتبغ صنف وايت بيرلي في محلول منظم

(0.05 M Carbonate , pH 9.6) بنسبة 1:10 ، وضع 100 ميكروليتر من هذه التخفيفات في حفر طبق الإليز وحضنت الأطباق لمدة ساعتين عند 37°م أو ليلة كاملة عند 4°م بعد ذلك غسلت الأطباق ثلاث مرات حتى الطفو بمحلول الغسيل (PBST) لمدة ثلاث دقائق كل مرة وأضيف 100 ميكروليتر من الأمصال المنقاة لكل حفرة من حفر الطبق ، ثم حضنت عند 37°م لمدة ساعتين ، وبعد غسل الأطباق بالطريقة السابق ذكرها تمت إضافة 100 ميكروليتر من Goat anti-rabbit gamma globulin (IgG) المرتبط بإنزيم Alkaline phosphatase المخفف في محلول المصل بنسبة 1500:1 إلى كل حفرة من حفر الطبق ، وحضن عند 37°م لمدة ساعة واحدة ، ثم غسل بالطريقة السابق ذكرها . بعد ذلك تمت إضافة 100 ميكروليتر لكل حفرة من مادة تفاعل الإنزيم Paranitrophenyl Substrate (10% diethanolamine, 0.5 mg\ml phosphate in pH 9.8) وحضنت الأطباق على درجة حرارة الغرفة لمدة نصف ساعة ثم أوقف النشاط الإنزيمي بإضافة 50 ميكروليتر من هيدروكسيد الصوديوم (3M Na OH) وأخذت القراءة بواسطة الجهاز القاري لأطباق الأليزا (Multiskan-Ms ELISA reader) .

دراسة قابلية بعض أصناف الفلفل للإصابة بالفيروس

زرعت بذور ثمانية أصناف من الفلفل المتداول زراعتها بمنطقة الجبل الأخضر وهي : California wonder و California wonder 300 و Early cal wonder و Anaheim chili و Red cherry hot و Cayenne long slim و Long red cayenne و Tabasco ولقحت خمسة نباتات متجانسة من كل صنف في مرحلة البادرة بعصارة مستخلصة من نباتات فلفل مصابة بنفس الطريقة المشار إليها آنفاً في الإعداء الميكانيكي ، ولقح نفس العدد من النباتات بالماء المقطر للمقارنة (شاهد) . بعد ذلك حفظت النباتات في الصوبة أو المعمل لمتابعة تطور الأعراض المرضية على كل منها لمدة 15 يوماً من التلقيح ، وكررت هذه التجربة مرة أخرى .

النتائج والمناقشة

المسح الميداني

أظهرت نتائج المسح الميداني للحقول المزروعة بمحصول الفلفل في منطقة المرج انتشاراً واسعاً لإصابة فيروسية لهذه النباتات في مراحل نموها المختلفة تتمثل أعراضها في ظهور موزايك على الأوراق ، يتفاوت في شدته من الموزايك الخفيف إلى الشديد المصحوب بتشوهات للأوراق وتقزم للنباتات (شكل 1) .

شكل (1) أعراض موزايك شديدة مصحوبة بتشوهات على نباتات الفلفل .

النقل الميكانيكي

أظهرت نتائج هذه الدراسة قدرة جميع العزلات الفيروسية على الانتقال ميكانيكياً من نباتات الفلفل المصابة إلى النباتات السليمة وتحفيز ظهور الأعراض النموذجية للمرض عليها ، لذلك اختيرت عزلة واحدة فقط لإجراء باقي الاختبارات للتعرف على الفيروس ، ونقلت هذه العزلة على نباتات التبغ صنف وايت بيرلي *Nicotiana tabacum* cv. White burley لاستخدامها في الدراسات اللاحقة .

النقل الحشري

لقد أظهرت نتائج هذه الدراسة مقدرة حشرة منّ الخوخ الأخضر *Myzus persicae* على نقل الفيروس من نباتات الفلفل والتبغ المصابة إلى النباتات السليمة بالطريقة غير الباقية (non-persistent) وذلك عند تجويعه لمدة ساعتين وتركه على مصدر الفيروس لمدة خمس دقائق مع استخدام عشر حشرات لكل نبات ، أي أن جسيمات الفيروس تحمل خارجياً على رمح الحشرة (borne-Stylet) والذي يفسر الانتشار الواسع للإصابة بهذا الفيروس في الحقول المفتوحة والبيوت الزجاجية نتيجة لنشاط هذه الحشرة وكثافتها العددية . تتفق هذه النتائج مع العديد من الدراسات السابق Lloyd (1982) ، Batarseh (1985) ، Delgado-Sanchez ، Budnik et al (1996) و Grogan (1970) ، Fereres et al (1993) ، Garanta و Palloix (1995) ، Collar et al (1997) ، وتؤكد أهمية منّ الخوخ الأخضر في نقل وانتشار معظم الفيروسات المسببة لأعراض الموزايك على نباتات الفلفل .

شكل 1 أعراض موزايك شديدة مصحوبة بتشوهات على نباتات الفلفل

النباتات المشخصة والمدى العوائلي

عند دراسة مقدرة العزلة الفيروسية على إصابة نباتات المحاصيل المتداول زراعتها بالمنطقة وبعض النباتات البرية التي قد تعمل عوائل ثانوية للفيروس والتي من بينها نباتات دالة Indicator plant تختلف في استجابتها للفيروسات المسببة لأعراض الموزايك على نباتات الفلفل (جدول 1) ظهرت أعراض الموزايك على أصناف التبغ *N. tabacum* و *N. glutinosa* (شكل 2 أ) واستجاب نوعا الفلفل *Capsicum annuum* و *C. frutescens* (شكل 2 ب) للإصابة بأعراض الموزايك المصحوب بتحزم للعروق وموت نيكروزي و على نبات *Datura metel* فقد ظهرت أعراض الموزايك وتحزم العروق (شكل 2 ج) ، بينما لم تصب النباتات و *P. floridana* و *N. sylvestris* و *N. rustica* و *C. album C. quinoa* بهذه العزلة ؛ مما يستبعد أن تكون هذه الإصابة ناتجة عن فيروس حكة أوراق نباتات التبغ (TEV) أو فيروس تبرقش أوراق الفلفل (PeMV) أو فيروس تبرقش عروق أوراق نباتات الفلفل (PVMV) أو فيروس التبرقش الشديد لأوراق الفلفل (PSMV) التي تحفز عند إصابتها لهذه العوائل أعراض مرضية متميزة وفقاً لما وصفه Wheeler و Nelson (1978) و Purcifull et al (1975) و Kenten , Brunt (1972) و Smith (1970) و Zipora et al (1976) و Zitter (1974) و Gumpf , Makkok (1972) وترجح أن تكون الإصابة ناتجة عن فيروس البطاطس واي PVY إلا أن هذه العزلة غير قادرة على إصابة الداتورا *D. stramonium* التي تعد أحد النباتات المشخصة الهامة لهذا الفيروس . تتفق هذه النتائج مع ما وجده Delgado – Sanchez و Grogan (1970) ، Deboks و Huttinga (1981) ، Batarseh (1985) في دراستهم لفيروس موزايك البطاطس واي (PVY) حيث لم تظهر أعراض جهازية أو موضعية على نباتات *Chenopodium amaranticolor* عند حقنها بالعزلات المستخدمة في هذه الدراسة . وتتفق أيضاً مع ما ذكره Huttinga و Deboks (1981) عن وجود تباين بين سلالات فيروس البطاطا واي في مقدرتها على إصابة نباتات *Chenopodium amaranticolor* وتختلف مع ما أشار إليه Delgado– Sanchez و Grogan (1970) و Batarseh (1985) بخصوص استجابة هذه النباتات للإصابة بهذا الفيروس ببقع موضعية ميتة ، وقد يعزى ذلك لاختلاف السلالات المختبرة كما توضح النتائج المتحصل عليها من هذه الدراسة عدم مقدرة العزلة على إصابة نباتات ورد الدكمة التابع لعائلة عرف الديك *Amaranthaceae* العائلة القرعية *Cucurbitaceae* والعائلة البقولية *Leguminosae* التي تم اختبارها وتتفق هذه النتائج مع ما وجده

(أ)

(ب)

(ج)

شكل 2 يبين أعراض الموزايك التي حفزتها العزلة الفيروسية على نباتات التبغ (أ) ونباتات الفلفل (ب) ونباتات الداتورا (ج)

جدول 1 يبين استجابة بعض العوائل النباتية للإعداء الميكانيكي بالفيروس المعزول من الفلفل

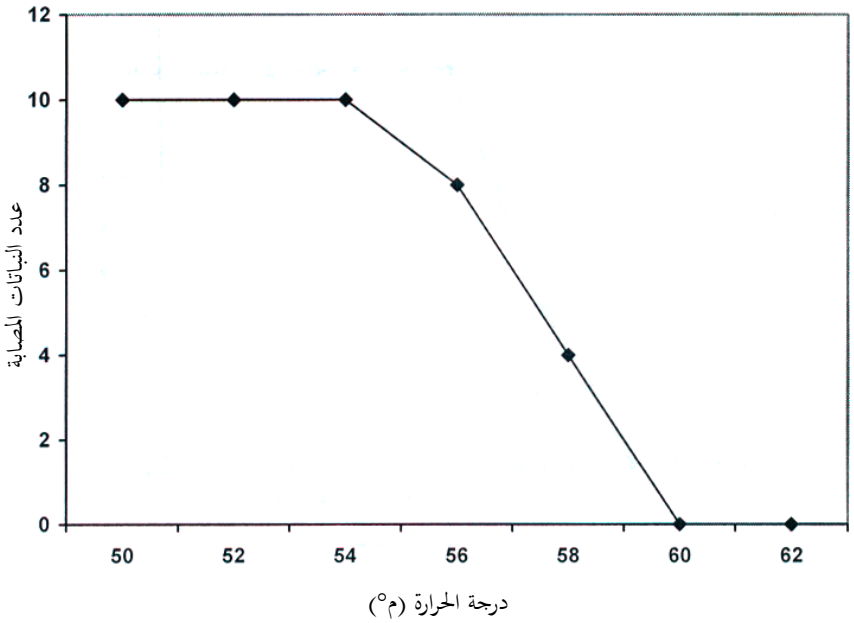
العائلة	اسم النبات	القابلية للإصابة	الأعراض
Chenopodiaceae	*Chenopodium amaranticolor*	–	--
	C. quinoa	–	--
	C. album	–	--
Amaranthaceae	*Gomphrena globosa*	–	--
Solanaceae	*Nicotiana tabaccum cvs. White burley*	+	موزايك
	Nicotiana tabaccum cvs. White burly	+	موزايك
	N. glutinosa	+	موزايك + تحزم عروق
	N. Sylvestris	–	--
	N. rustica	–	--
	N. Turkish	–	--
	Physalis floridana	–	--
	Solanum nigrum	–	--
	Lycopersicon esculentum	–	--
Leguminosae	*Cicer arietinum*	–	--
	Phseolus vulgaris	–	--
	Vicia faba	–	--
	Capsicum annuum	+	موزايك ، تحزم عروق ، موت نيكروزي
	C. frutescens	+	موزايك ، تحزم عروق ، موت نيكروزي
	Datura stramonium	–	--
	D. metel	+	موزايك ، تحزم عروق ، تشوه أوراق
Cucurbitaceae	*Citriullus lanatus*	–	--
	Cucumis melo	–	--
	C. sativus	–	--
	Cucurbita pepo	–	--

الخواص الفيزيائية للفيروس

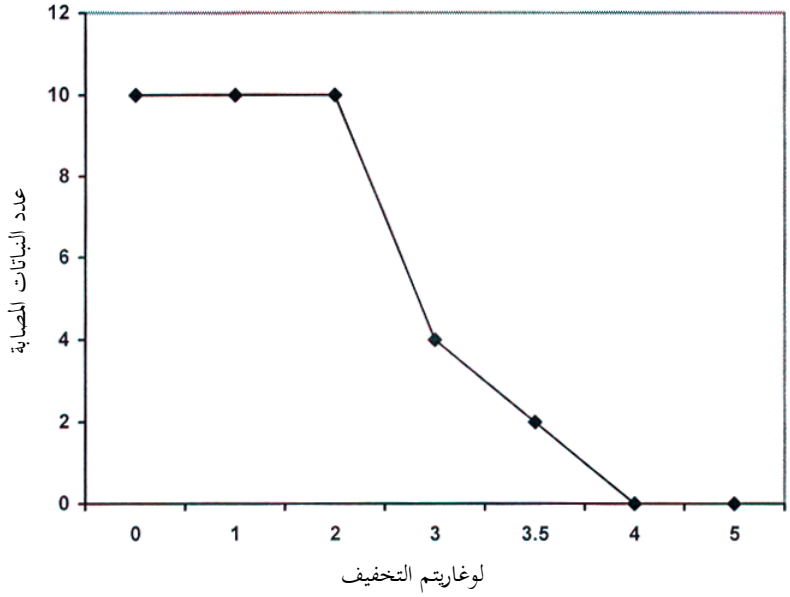
عند دراسة الخواص الفيزيائية للعزلة الفيروسية في العصارة الخام تبين أن درجة الحرارة المميتة للفيروس Thermal Inactivation Point (TIP) عند التسخين لمدة عشر دقائق هي 60°م (شكل 3) وأن نقطة التخفيف النهائية Dilution End Point (DEP) تقع بين 5×10^{-4} (شكل 4) ومدة بقاء العزلة الفيروسية في العصارة الخام Longevity *In Vitro* (LIV) عند درجة حرارة الغرفة لا تتجاوز 11 يوماً (شكل 5) . تدعم هذه النتائج تلك المتحصل عليها من تفاعل النباتات الدالة ، وتتفق مع نتائج دراسات سابقة للخواص الفيزيائية لفيروس البطاطس واي ، حيث وجد أن درجة الحرارة المميتة للفيروس تتراوح مابين 55–60°م Sanches Delgado و Grogan (1970) ، Batarseh 1985 ، يونس (2000) ، 50–62°م Deboks و Huttinga (1981) و 58–60م° Elsanusi (1988) . وتختلف مع نتائج Smith 1972) التي بينت أن درجة الحرارة المميتة للفيروس ما بين 52–55°م . أما نقطة التخفيف النهائية (DEP) فهي متقاربة مع ما ذكره (1988) Elsanusi و Bateseh (1985) حيث أوضحا أن نقطة التخفيف لفيروس البطاطس واي ما بين 10^{-3} و 10^{-4} وتختلف إلى حد ما مع ما ذكره (يونس 2000) في أن نقطة التخفيف تقع مابين 10^{-1} و 10^{-2} ، أما مدة بقاء هذه العزلة الفيروسية تحت الدراسة 11 يوماً فهي متطابقة مع ما ذكره السنوسي (1991) وهي أطول من ما ذكره Smith (1972) بأن مدة بقاء الفيروس هي ساعة واحدة وما ذكره Delgado – Sanches و (1970) ,Grogan وكذلك يونس (2000) بأن مدة بقاء الفيروس في العصارة الخام تتراوح مابين 2–3 أيام وأيضاً ما أشار إليه Batarseh (1985) من أن مدة بقاء الفيروس في العصارة ما بين 5-7 أيام . وقد يعزى هذا التباين في الخواص الفيزيائية للفيروس إلى اختلاف العوائل النباتية المستخدمة والعزلات الفيروسية المختبرة والمحتوى الكيميائي للعصارة المستخلصة وتأثيرها على تركيب الجسيمات الفيروسية وثباتها ومقدرتها على إحداث العدوى ، وهذا يتفق مع ذكره Wheeler و Nelson (1978) في تباين السلالات الفيروسية في خواصها الفيزيائية .

الدراسات السيتولوجية

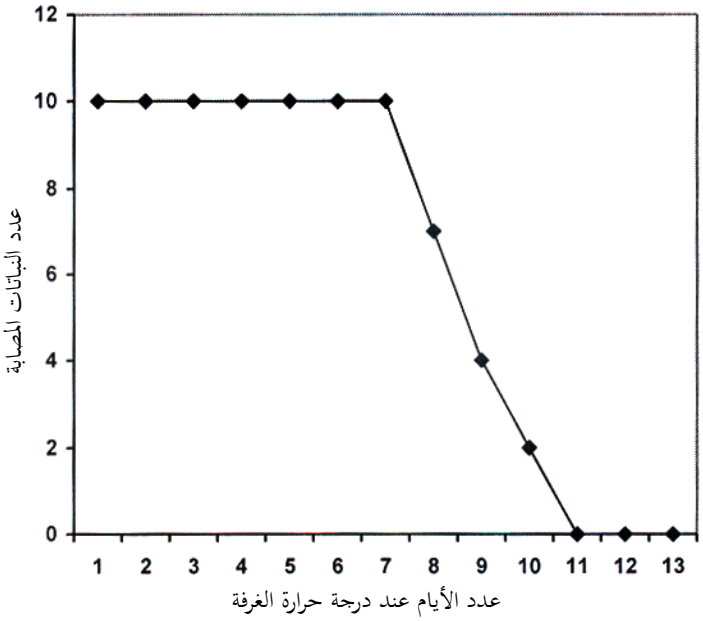
أظهرت نتائج الدراسة السيتولوجية باستخدام المجهر الإلكتروني Electron microscope على عدة قطاعات رقيقة من أنسجة نباتات الفلفل والتبغ المصابة ، وجود جسيمات فيروسية عصوية مرنة Flexuous Particles (شكل 6) ، والتي قد تتراص أحياناً في مجموعات منتظمة (شكل 7) ، أو تكون مبعثرة بداخل بروتوبلازم الخلايا (شكل 7 أ) كما لوحظ أيضاً



شكل 3 درجة الحرارة المثبطة (TIP) لنشاط العزلة الفيروسية في العصارة الخام

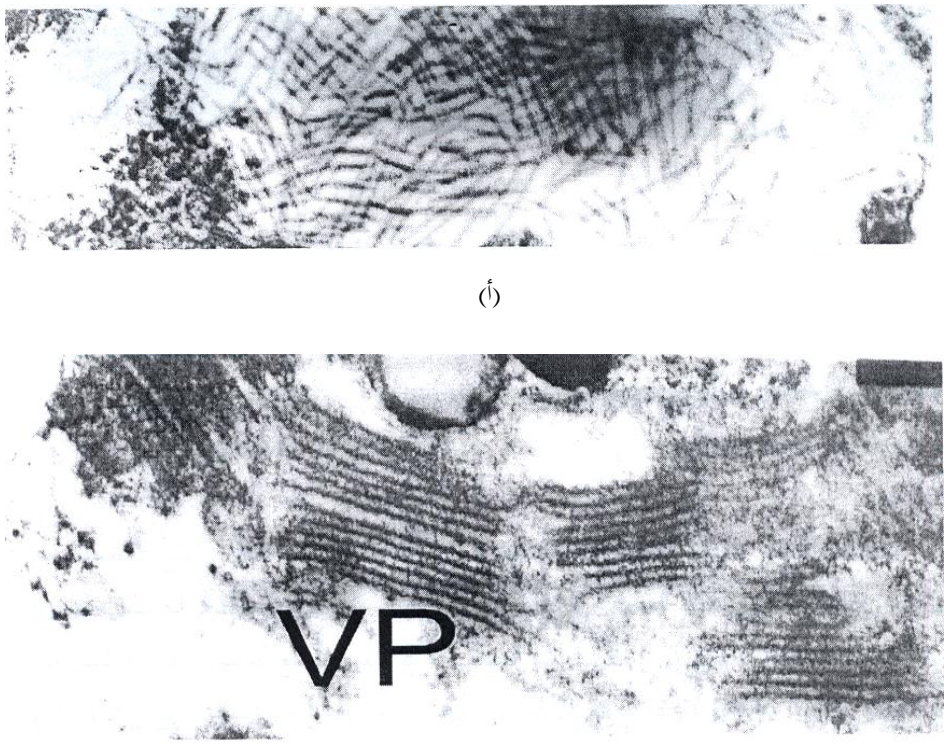


شكل 4 نقطة التخفيف النهائية (DEP) للعزلة الفيروسية في العصارة الخام



شكل 5 مدة بقاء العزلة الفيروسية في العصارة الخام عند درجة حرارة الغرفة

شكل 6 قطاع تحت المجهر الألكتروني لنباتات فلفل مصاب بالعزلة الفيروسية يبين جسيمات فيروسية (VP) عصوية مرنة Flexious Rod-shape Virus Particles



(أ)

(ب)

شكل 7 قطاع تحت المجهر الألكتروني لنباتات فلفل مصاب العزلة الفيروسية يبين جسيمات فيروسية (VP) عصوية مرنة Flexious Rod-shape Virus Particles مبعثرة داخل سيتوبلازم الخلية (أ) أو متراصة في مجموعات منتظمة (ب)

وجود أنواع من الأجسام المحتواة (Inclusion bodies) داخل سيتوبلازم خلايا العائل المصاب على هيئة أشكال مروحية مكونة من مجموعات أذرع منحنية ملتفة حول مركز واحد تسمى دواليب الهواء (Pin-wheels) (شكل 8) وهو ما يميز مجموعة بوتي الفيروسية (Poty virus group) والتي ينتمي إليها فيروس موزايك البطاطس واي . وتتفق هذه النتائج مع ما وجده Weintraub و Ragetli, (1968); Bos, (1983, 1970); Smith, (1972); Noordam, (1973) و Bisheya, (1980) إذ أن وجود الأجسام المحتواة من نوع Wheels-Pin في سيتوبلازم الخلايا المصابة

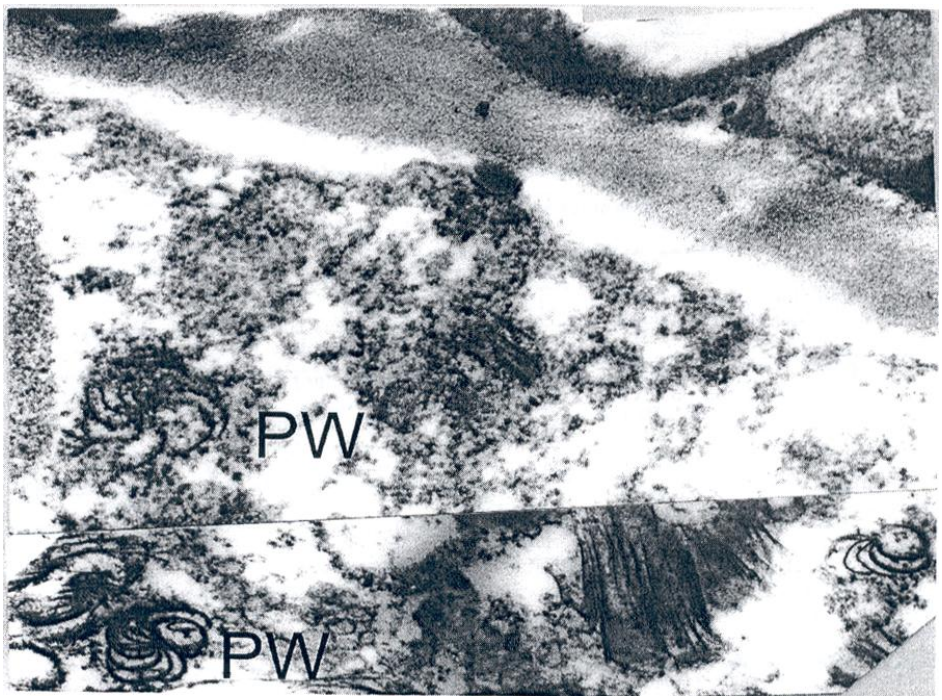
يؤيد نتائج التشخيص أن هذه الأجسام المروحية تظهر مع مجموعة فيروسات البطاطس واي (PVY) والذي يعد فيروس موازيك البطاطس أحد أفرادها . كما تمت مشاهدة الأجسام المحتواة في سيتوبلازم الخلايا المصابة بواسطة Edwardson و Purcifull (1967) ، Edwardson و آخرون (1968) . كذلك لاحظ Edwardson (1966) في خلايا نبات الخس المصابة بالفيروسات Bean common mosaic virus ، Sugar cane mosaic virus ، Tobacco etch virus ، Potato virus Y و Watermelon mosaic virus وجود الأجسام المحتواة في النسيج المصاب ، وكل هذه الفيروسات تتبع مجموعة بوتي .

الاختبارات المصلية (السيرولوجية)

عند اختبار تفاعل العصارة المستخلصة من أنسجة نباتات الفلفل والتبغ المصابة مع أمصال مضادة للفيروسات المحتمل مصاحبتها لأعراض المرض باستخدام اختبار الإليزا غير المباشر (جدول 2) أظهرت العينات تفاعلاً موجباً مع المصل المضاد لفيروس موزايك التبغ (TMV) وفيروس موزايك الخيار (CMV) وفيروس البقع الحلقية للتبغ (TRSV) وفيروس موزايك الصفصفة (AMV) وهذا يتفق مع ما وجده Debokx و Huttinga (1981) و Fegla وآخرون (1997) و Younes (1995) و Marco وآخرون (1979) تؤكد هذه الدراسة النتائج المتحصل عليها من دراسة العوائل التشخيصية والمدى العوائلي والخواص الفيزيائية والدراسات السيتولوجية .

اختبار حساسية أصناف الفلفل المتداول زراعتها للإصابة بالفيروس

عند اختبار قابلية أصناف الفلفل المتداول زراعتها بمنطقة الجبل الأخضر للإصابة بالفيروس ، بينت النتائج حساسية جميع الأصناف للإصابة بعزلة هذا الفيروس ، وقد تباينت الأعراض من صنف لأخر وتراوحت ما بين موزايك فقط كما في حالة الأصناف (Anaheim Chili و Red cherry hot و Cayenne long slim و Tabasco) إلى موزايك واصفرار للأوراق (California wonder) إلى موزايك وتنكرز للعروق (California wonder 300) إلى موزايك وتحزم للعروق (Early cal wonder) جدول (3) .



شكل 8 قطاع تحت المجهر الألكتروني لنباتات فلفل مصابة بالعزلة الفيروسية يبين الأجسام المروحية (دواليب الهواء) Pin-Wheels (PW)

جدول 2 تفاعل مستخلص أوراق نباتات الفلفل والتبغ المصابة مع بعض الأمصال الفيروسية

Antisera المصل المضاد للفيروس	Absorbance value at 405 nm الأمتصاصية عند الطول الموجي 405 نانومتر			
	Pepper		N.tabacum cv. White Burley	
	H	I	H	I
TMV	0.129	0.205	0.303	0.421
PVY	0.543	1.045	0.452	0.619
CMV	0.222	0.165	0.186	0.292
AMV	0.158	0.291	0.514	0.410
TRSV	0.114	0.100	0.137	0.122

جدول 3 اختبار حساسية أصناف الفلفل المتداول زراعتها بمنطقة الجبل الأخضر للإصابة بالفيروس

اسم الصنف	القابلية للإصابة	الأعراض
California wonder	+	موزايك أصفر
California wonder 300	+	موزايك ، موت نيكروزي
Early cal wonder	+	موزايك ، تحزم عروق
Anaheim chili	+	موزايك
Red cherry hot	+	موزايك
Cayenne long slim	+	موزايك
Long red cayenne	+	موزايك ، تحزم عروق
Tabasco	+	موزايك

Study Of Mosaic Disease On Pepper Plant In EL-Marj County Of Green Mountain District

Yunis Ali Taib **Omar Mussa Alsanousi** **and** **Fathi S. El-Musmary***

Abstract

Asurvey conducted during spring 2000 of the diseases affecting pepper cultivars grown in EL-Marj county of Green mountain district, revealed a wide spread of viral diseases. Its symptoms was manifested as dwarfing of infected plants, mosaic, chlorosis and vein banding of the leaves. The virus was readly transmitted to healthy plants by mechanical inoculation and Green peach aphids in non-pesistent manner. Preliminary studies on physical properties, host range, differential hosts and cytopathological alteration indicates that the virus has a thermal inactivation point (TIP) of 60C°, a dilution end point (DEP) of $5\times 10^{-3} - 5\times 10^{-4}$, longevity *in vitro* (LIV) of 11 days, infecting only solanaecious plants including, *Datura metel* several pepper cultivars and some tobacco species among the 36 different plant species and cultivars assyed and has a flexuous virus particles and pin-wheel inclusion bodies in thin sections of infected tissues, a characteristic feature of poty virus group.

Serological studies using indirect ELISA technique confirmed the association of potato virus Y (PVY) with the disease syndrome.

Screening of pepper varities for resistance and susceptibility showed that none of commonly grown cultivars was immune to infection.

* Plant Proatection Department, Faculty of Agriculture, University of Omar ElMokhtar.

المراجع

السنوسي ، عمر موسى ، محمد عبد المجيد شقرون وجبر عبد الله خليل (1991) : عزل وتعريف فيروس البطاطا Y من نباتات الفلفل في ليبيا ، مجلة وقاية النبات العربية ، 9 (1) : 47–51 .

أبو غنية ، عبد النبي (1986) : أمراض المحاصيل البستانية ، جامعة الفاتح ، الجماهيرية الليبية .

حسن ، أحمد عبد المنعم (1984) : الخضر الثمرية ، الدار العربية للنشر والتوزيع .

مطلوب ، عدنان ناصر ، عز الدين سلطان محمد وكريم صالح عبدول (1989) : إنتاج الخضراوات ، الجزء الثاني – مديرية دار الكتب للطباعة والنشر – جامعة الموصل .

يونس ، نضال ذنون (2000) : دراسات عن بعض الفيروسات المسببة لأعراض الموزايك على محصول الفلفل في محافظة نينوى بالعراق ، رسالة ماجستير ، كلية الزراعة والغابات ، جامعة الموصل .

Batarseh, S. F. (1985): Plant veruses affecting peppers in Jordan. M. Sc thesis, Faculty of Agriculture. Univ. of Jordan.

Bisheya, F. A. (1980): Identification and cytological studies of watermelon mosaic virus affecting squash. *Cucurbita pepo L.* In Tripoli area, M. Sc thesis Faculty of Agriculture. University of El-Fateh, Libya.

Black, L. L. Green, S. K. Hartman, G. L. and Poulos, J. M. (1991) Pepper diseases. Afield guide. Asian vegetable Research and Development center, (ABRDC) publ. No. 91. 347.

Boiteux, L. S. Cupertino, F. P. and Silva, C. (1996) Resistace to potato virus Y (patho type 1-2) in *Capsicum annuum* and *C. chinense* is controlled by two independent major genes, Euphytica. 87:53-58.

Bos, L. (1970) Bean Yellow mosaic virus CMI\AAB Description of plant viruses No. 40 .

Bos, L. (1983) Introduction to plant virology. Center fr Agricultural publishing and documentation. Wageningen 160 pp.

Brunt, A. A. and R. H. kenten. (1971) Pepper veinal mottel virus a new member of the potato virus Y. group from peppers (*Capsicum annuum* L. and *C. frutescens* L. in Ghana. Ann. Appl. Biol. 69:235-243.

Brunt, A. A. and R. H. kenten. (1972) Pepper veinal mottel virus CMI\AAB Description of plant viruses, No. 104.

Budnik, K. ; Laing, M. D. ; Graca, Jv. Da, and Da-Graca, J. B. (1996) Reduction of yield losses in pepper crops caused by potato virus Y in Kwazulu-Natal. South Africa, using plastic mulch and yellow sticky traps. Phytoparasitica 24:119-124.

Collar, T. L. ; Arillaa, C. ; Duque, M. and Fereres, A. (1997) Behavioral respons and virus vector ability of *Myzus persicae* (Homoptera:*Aphididae*) probing on pepper plants treated with aphicides,

Gibbs, A. J. and B. Harrison. (1976) plant virology. The principles, Edward Arnold, London. 292 pp.

Gibbs, A. J. and Harrison, B. D. (1970) Cucumber mosaic virus CMI\AAB Desctiption of plant viruses No. 1.

Gracia, O. and Feldman, J. M. (1979) Virus disease of pepper in Mendoza and Sanjuan provinces. India, 3, 349-354, 80-85. Rev Plant pathology 59, 5512. (Abstr).

Lloyd. Thomas, O. S. (1982) Hot pepper mosaic an important disease in the West Indies. Tropical Pest Management. 28:88-89. Rev plant pathology. 61, 5419 (1982) (Abstr).

Lowery, D. T. Eastwell, k. C. and Smirle, M. J. (1997) Neem seed oil inhibits aphid transmission of potato virus Y to pepper. Annuls of Applied-Biology. 130:217-225.

Makkouk, K. M. and Gumpf, D. J. (1976) Characterization of potato virus Y strains isolated from pepper phytopathology. 66:576-581.

Makkouk, K. M. and Gumpf, D. J. (1974) Further identification of naturally occurring virus diseases of pepper in California. Plant diseases. 58:1002-1006.

Marco, S. and Cohn, S. (1979) Rapid detection and titer evalution of viruses in pepper by Enzym-Linked immunosorbent assay. Phytopathology. 69:1259-1262.

Meek, G. A. (1976) Practical electron microscopy for biologists. 2 n Edition Awiley-interscience. Publication England. 528pp.

Nelson, M. R. and R. F. wheeler. 91972) A. new virus disease of pepper in Arizona. Plant disease. 56:731-735.

Nelson, M. R. and R. F. Wheeler, (1978) Biological and serological J. of Economic Entomology. 90;1628-1634.

Deboks. J. A. and Huttinga, H. (1981) potato virus Y. CMI\ABB Description of plant Viruses No.242.

Delgado-Sanchez, S. & Grogan, R. G. (1970) potato Virus Y. CMI\ABB Description of plant Viruses No. 37.

Edwardson, J. R. (1966) Electron microscopy of cytoplasmic inclusions in cells infected with rod-shaped viruses American Jornal Botany 53:359-364.

Elsanusi, O. M. (1988) identification of two viruses causing mosaic disease in pepper plants in Tripoli and Gharabuli areas. Msc. thesis, Faculty of Agriculture, University of Elfateh, Libya.

Fereres, A. ; Perez. P. ; Gemens, C. and ponz, F. (1993) Transmission of Spanish pepper and potato-PVY isolates by aphid (Homoptera:*Aphididae*) vectors: epidemiological implications. Environmental. Entomology 22: 1260-1265.

Fegla, G. I. El-Samara, I. A. Noaman, K. A. and Younes, H. A. (1997) Host rang, transmission and serology of an isolate of tomato yellow leaf curl virus from tomato of plastic houses in northern of agricultural sciences Faculty of agric. Assiut. Univ, Assiut, No. 1:13-14.

Feldman, J. M. and O. Gracia, (1977) Pepper severe mosaic virus Anew poty virus from pepper in Argentina phytopathology 87:146-160.

Garanta, C. and pulloix, A. (1995) Both common and specific genetic factors are involved in polygenic resistance of pepper to several. Poty viruses. Theor. App L. Genetic 92:15-20.

Weintraub, M. and Ragetli, H. W. J. (1968) Fine structure of inclusions and organelles in vicia faba infected with bean yellow mosaic virus. Journal of Cell Biology. 38:316-329.

Younes, H. A. H. (1995) Studies on certain virus diseases affecting some vegetable crops under green houses condition ph. D. Thesis fac. Of Agri, Alex. Uni. Egypt.

Zipora, W. and G. M. Milbrath. (1976). The isolation of tobacco etch virus from bell peppers and weeds in Southern Illinois plant Disease. 60:469-471.

Zitter, T. A. (1972) Naturally occurring pepper virus strains in south Florida. Plant Disease. 56:586-590.

Zobel, R. E. and M. Beer. (1965). The use of heavy metal salt as electron stains. International Review of Cytology 18:363-400.

characterizations and separation of potyviruses infecting peppers. Phytopathology. 68:979-984.

Noordam, D. (1973) Identification of plant viruses, Methods and Experiments center for Agricultural publishing and documention. Wageningen. Nether land. 207pp.

Purciful, D. E. T. A. Zitter and E. Hiebert. (1975) Morphology, host rang, and serological relationship of pepper mottel virus. Phytopathology. 65:559-562.

Purciful, D. E. and j. R. Edwardson, (1967). Watermelon mosaic virus:tubular inclusion in pumpkin leaves and aggregates in leaf extracts. Virology. 32:393-401.

Smith, P. G. (1970) Tobacco etch strains on peppers. Plant disease. 54 (9):786-787.

Smith, K. M. (1972) A text book of plant virus Diseases, Longman Group Ltd. London. 684pp.