

عزل وتعريف فيروس موزاييك الطماطم من نباتات فلفل في ليبيا

عمر موسى السنوسي¹، محمد عبد المجيد شقرون²، وجبر عبدالله خليل²

1 - جامعة عمر المختار/ قسم الوقاية/ البيضاء

2 - جامعة الفاتح كلية الزراعة/ قسم الوقاية/ طرابلس

الملخص

السنوسي، عمر موسى، محمد عبد المجيد شقرون، وجبر عبد الله خليل. 1991. عزل وتعريف فيروس موزاييك الطماطم من نباتات فلفل في ليبيا. مجلة وقاية النبات العربية. 9 (1): 52 - 56.

الفيروس في العصارة فكانت 315 يوماً. وجدت علاقة مصلية بين الفيروس ومصل مضاد لفيروس موزاييك التبغ من الولايات المتحدة وإيطاليا. جسيمات الفيروس عسوية صلبة وأبعادها 300 × 18 نانومتراً. وعلى أساس النتائج فإن الفيروس المدروس يتبع مجموعة فيروسات التوبامو، ويحتمل أن يكون سلالة من فيروس موزاييك الطماطم/ البندورة. كلمات مفتاحية: فلفل، أمراض فيروسية، ليبيا.

لوحظ انتشار أعراض الموزاييك على أوراق وثمار نباتات الفلفل في البيوت الزجاجية بمشروع القره بوللي الزراعي، وتم أخذ عزلة من أوراق النباتات المصابة. أوضحت الدراسات التي أجريت للتعرف على الفيروس أنه بالإمكان نقله ميكانيكياً إلى 35 من بين 48 نوعاً تتبع 7 فصائل نباتية. تقع درجة الحرارة المميتة للفيروس بين 92 - 93°م ودرجة التخفيف النهائية بين 10⁻⁷ و 10⁻¹⁰. أما مدة استمرارية نشاط

مقدمة

(White Burley) نامية في صوبة زجاجية مانعة لدخول الحشرات.

الانتقال الميكانيكي والمدى العوائل. تم تحضير اللقاح المعدي وذلك بهرس أوراق طازجة وصغيرة مأخوذة من نباتات تبغ صنف «وايت بيرلي» مصاب في محلول الفوسفات المنظم (0.1M Potassium phosphat buffer pH 7) بواسطة مهراس ومدق. تم إلقاح أوراق نباتات الاختبار المعقمة بمادة الكاربوراندوم (Carborandum) بإمرار العصارة الخام عليها بواسطة السبابة.

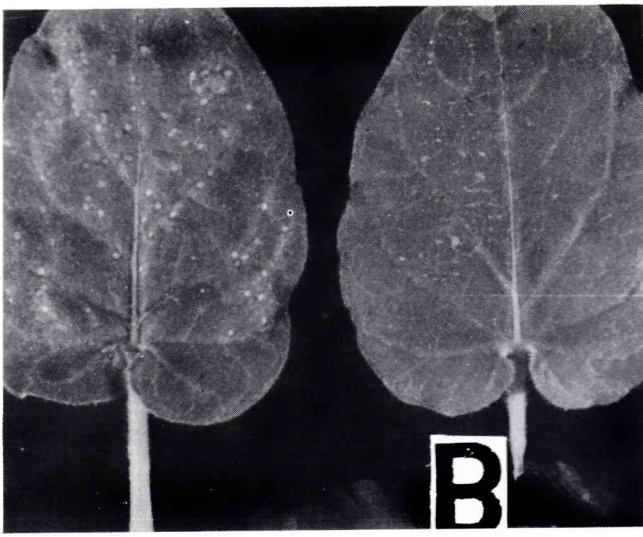
تصاب نباتات الفلفل في الطبيعة بأربعة فيروسات من مجموعة التوبامو. فقد ثبت أن فيروس موزاييك التبغ يصيب نباتات الفلفل في الأرجنتين (6)، والولايات المتحدة (1)، 8، (11)، والهند (10) ونيجريا (7) وكريت (2). كما تم عزل فيروس التبرقش الخفيف في الفلفل (Pepper mild mottle virus) وفيروس باراموزاييك التبغ (Para-tobacco mosaic virus) من نباتات فلفل مصابة (15). وتم عزل فيروس موزاييك الطماطم/ البندورة من الفلفل في الولايات المتحدة (9، 12)، والمجر (4) وكريت (2).

خواص الفيروس في العصارة الخام. استخلصت العصارة الخام من أوراق نباتات التبغ صنف «وايت بيرلي» المصابة وذلك بهرس 60 غراماً من الأوراق بوجود الماء المقطر (1:1 وزن/حجم) بواسطة مهراس ومدق. واستعملت العصارة الناتجة في تجارب تحديد درجة الحرارة المميتة للفيروس، ودرجة التخفيف النهائية، ومدة بقاء الفيروس نشطاً (مدة التعمير) في العصارة عند درجة حرارة الغرفة حسب الطريقة التي وصفها روس (3). استخدمت نباتات التبغ «وايت بيرلي» والتبغ (*N. glutinosa*) كنباتات دالة.

لوحظت أعراض الموزاييك على نباتات الفلفل في عدة حقول وصوب زجاجية بمنطقة طرابلس. تمثلت بدرجات متفاوتة من التبرقش على الأوراق وموزاييك وتشوه على الثمار. وعلى أساس الأعراض الملاحظة والانتقال الميكانيكي، يتوقع أن يكون مسبب المرض فيروساً واحداً أو أكثر. وقد هدفت الدراسة الحالية إلى عزل وتعريف الفيروس أو الفيروسات التي تسبب هذه الأعراض.

مواد وطرائق البحث

جمعت عينات من أوراق وثمار نباتات الفلفل التي تبدي أعراض الموزاييك من بيت زجاجي بمشروع القره بوللي الزراعي شرق طرابلس في ربيع 1984. وحفظت عزلة الفيروس في نباتات تبغ صنف وايت بيرلي (*N. tabacum* cv.)



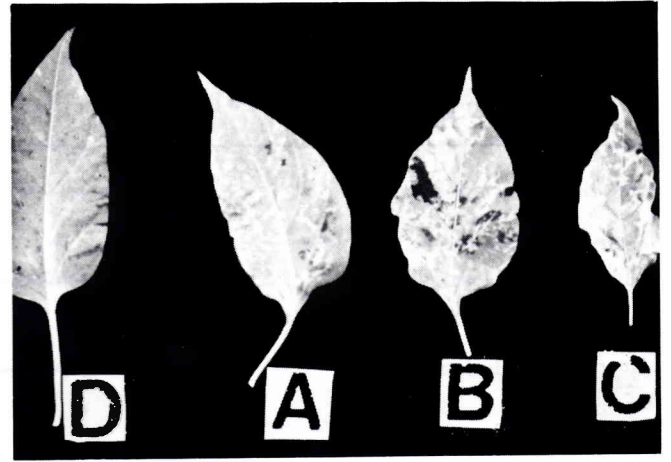
الشكل 2. إصابات موضعية ميتة أحدثها تلقيح عزلة الفيروس في ورقة تبغ (أ)، مقارنة بورقة تبغ غير محقونة (ب).

Figure 2. A: Necrotic local lesions produced by the virus isolate in *N. glutinosa* leaf
B: Uninoculated leaf.

استخدم المجهر الإلكتروني لدراسة التفاعل السيولوجي بين الفيروس ومصله المضاد ومصل مضاد لفيروس موزاييك التبغ استقدم من إيطاليا. كما استخدم اختبار الترسيب الدقيق كما وصفه بال (3) لدراسة التفاعل بين الفيروس ومصل مضاد لفيروس موزاييك التبغ من أمريكا - TMV 135-PVAS- American type culture collection.

النتائج

المدى العوائي والأعراض. تم بنجاح إلقاء الفيروس ميكانيكياً إلى 35 من بين 48 نوعاً أو صنفاً نباتياً تنضوي تحت 7 فصائل، ويوضح الجدول رقم 1 نتائج المدى العوائي والأعراض.



الشكل 1 (أ، ب، ج): موزاييك أصفر أحدثته عزلة الفيروس على أوراق الفلفل صنف أناهيم شيلي سانداي، د: ورقة فلفل غير ملقحة.

Figure 1. (A,B,C): Yellow mosaic induced by the virus isolate in *C. annuum* cv. «Anaheim Chili Sandia» leaves. D: Uninoculated leaf.

الفحص بالمجهر الإلكتروني. صبغت جسيمات الفيروس بمحلول من أسيتات اليورانيل تركيز 2% Uranil acetate 2% وفحصت الجسيمات بالمجهر الإلكتروني طراز «فيليس 201».

الدراسات المصلية / السيولوجية. تحضير المصل المضاد - تم خلط 1 مل من محلول الفيروس مع 1 مل من محلول ملح الطعام تركيز 0.85%. نفذت الحقنة الأولى في العروق الكبيرة لأذن أرنب نيوزيلاندي أبيض. وحقن الأرنب ثلاث مرات إضافية عن طريق العضلات على فترات أسبوعية، وتكونت كل حقنة من مستحلب مكون من 1 مل من مستحضر الفيروس مع 1 مل من زيت معدني. وسحب الدم بعد أسبوع من الحقنة الأخيرة.

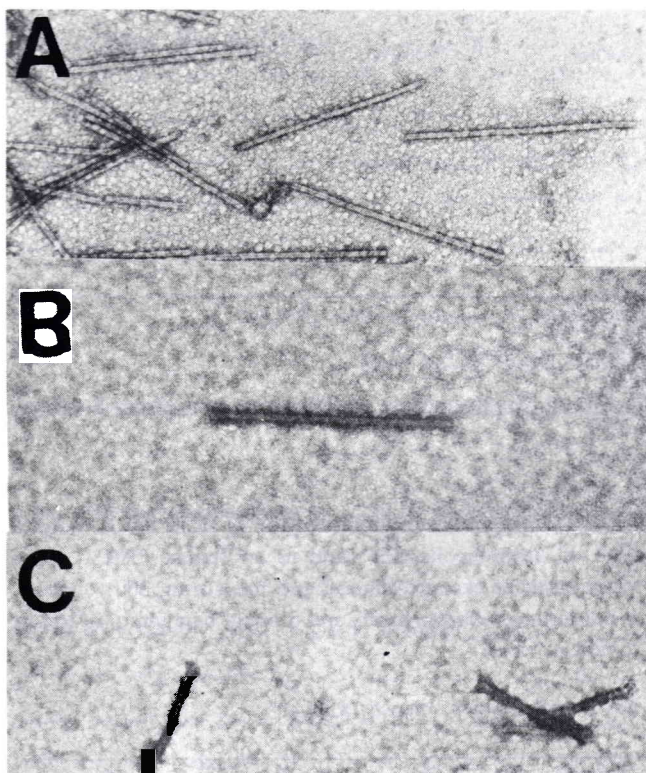
جدول 1. استجابة نباتات الاختبار للإلقاء الميكانيكي بالفيروس.

Table 1. Response of test plants to mechanical inoculation with the virus isolate.

استجابة نبات الاختبار Response of test plant	نباتات الاختبار Test plant
Necrotic local lesions	شوندر سكري / بنجر، الأصناف: ديترويت، <i>Beta vulgaris</i> cv. Detroit، دارك رد، إيرلي واندنر، رجرين توب، Green Top and Ruby Queen.
Necrotic local lesions, wilting, defoliation and yellow mosaic (fig. 1)	فلفل، الصنفان: أنا هايم شيلي، سانداي، وشيلي جالابينو، <i>Capsicum annuum</i> cv. Anaheim Chili, Sandia and Chili Jalapeno.
Necrotic local lesions, yellowing and defoliation	والأصناف: فلورل جيم جراند، إيرلي كال - واندنر، كاليفورنيا واندنر، جانت ريس رقم 3 م ر، كاين لونج ريد، Red, Narrow, Red Cherry Hot and Ruby Giant.

Table 1. (cont'd)

استجابة نبات الاختبار Response of test plant	نباتات الاختبار Test plant
Chlorotic local lesions	إصابات موضعية شاحبة <i>Chenopodium album</i> رجل الإوز البيضاء
Chlorotic local lesions	إصابات موضعية شاحبة <i>C. amaranticolor</i> الزربيع
Necrotic local lesions	إصابات موضعية شاحبة <i>C. quinoa</i> كينوا
Necrotic local lesions	إصابات موضعية ميتة <i>Datura metel</i> بقم
Necrotic local lesions	إصابات موضعية ميتة <i>D. stramonium</i> داتورة
Chlorotic local lesions	إصابات موضعية شاحبة <i>Gamphrena globosa</i> حعفرينا
Yellow mosaic	موزاييك أصفر <i>Lycopersicon esculentum</i> cv. طماطم / بندورة، أصناف: ايرليانا، روما، مارجلوب سوريم، مارمند، جامبو، ريد شيري، وسان مارزانو. Earliana, Roma, Marglobe Sureme, Marmande, Jumbo, Red Cherry, and San Marzano
Mosaic	موزاييك <i>N. debneyi</i> تبغ
Necrotic local lesions (fig.2)	إصابات موضعية ميتة (شكل 2) <i>N. glutinosa</i> تبغ
Necrotic local lesions	إصابات موضعية ميتة <i>N. rustica</i> تبغ
Necrotic local lesions	إصابات موضعية ميتة <i>N. sylvestris</i> تبغ
Mosaic	موزاييك <i>N. tabaccum</i> cv. «White Burley» تبغ صنف وايت بيرلي
Necrotic local lesions	إصابات موضعية ميتة <i>N. tabacum</i> cv. «Xanthi-nc» تبغ كزانتني
Necrotic local lesions	إصابات موضعية ميتة <i>Petunia hybrida</i> بيتونيا
Mosaic	موزاييك <i>Physalis floridana</i> فيسالييس
Mosaic	موزاييك <i>Solanum nigrum</i> عنب الثعلب
Mosaic	موزاييك <i>Zinnia elegans</i> زينيا



الشكل 4. صورة بالمجهر الالكتروني توضح التفاعلات السيرولوجية لعزلة الفيروس

أ. جسيمات الفيروس متفاعلة مع المصل العادي

ب. جسيمات الفيروس متفاعلة مع مصلها المضاد المشابه

ج. جسيمات الفيروس متفاعلة مع المصل المضاد لفيروس موزاييك التبغ الايطالي.

Figure 4. Electron micrographs showing serological reactions of the virus isolate. «X 70.000»

A: The virus particles mixed the normal serum

B: The virus particles decorated with its homologous antiserum

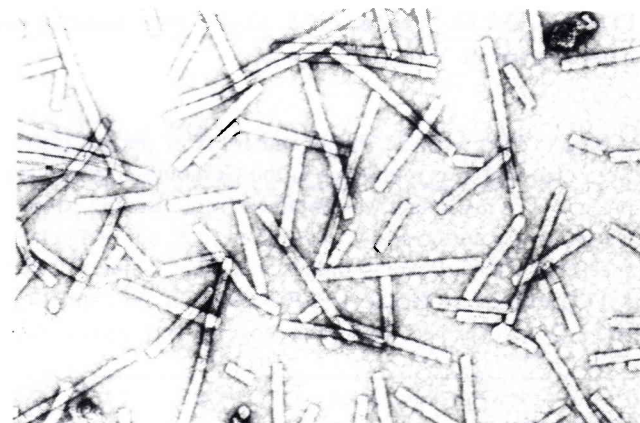
C: The virus particles decorated with the Italian tobacco mosaic virus antiserum.

أعراض الموزاييك على التبغ (*N. sylvestris*). بينما تحدث الفيروسات الأخرى عليه إصابات موضعية فقط. كما لاحظوا أن فيروس باراموزاييك التبغ، وفيروس موزاييك الطماطم/ البندورة، سببا إصابات موضعية في البيتونيا (*Petunia hybrida*) بينما أحدث فيروس التبرقش الخفيف في الفلفل وفيروس موزاييك التبغ أعراض الموزاييك على هذا النبات. كما لاحظوا أيضاً أن فيروس موزاييك التبغ وفيروس موزاييك الطماطم/ البندورة أحدثا أعراض الموزاييك في الطماطم/ البندورة صنف مارماند (*L. esculentum* cv. Marmande) بينما لم يصب فيروس التبرقش الخفيف في الفلفل وفيروس باراموزاييك التبغ هذا الصنف من الطماطم/ البندورة.

سبب الفيروس موضوع هذه الدراسة إصابات موضعية في كل من التبغ (*N. sylvestris*) والبيتونيا (*P. hybrida*) كما أحدث أعراض الموزاييك في الطماطم صنف مارماند. وعلى أساس تفاعلات العوائل هذه فإنه يقترح أن الفيروس المدروس هو سلالة من فيروس موزاييك الطماطم.

خواص الفيروس في العصارة الخام. دلت النتائج أن درجة الحرارة المميتة للفيروس تقع بين 92 - 93 م، وأن درجة التخفيف النهائية تقع بين 10^{-6} - 10^{-7} وأن مدة بقاء الفيروس نشطاً في العصارة الخام عند درجة حرارة الغرفة كانت 315 يوماً.

الفحص بالمجهر الالكتروني. أظهرت نتائج فحص مستحضر الفيروس أن جسيمات الفيروس ذات شكل عصوي طولها 300 نانومتراً وعرضها 18 نانومتراً (شكل 3).



الشكل 3. صورة بالمجهر الالكتروني لعزلة الفيروس تبين جسيمات عصوية الشكل. «تكبير 70 000 مرة»

Figure 3. An electron micrograph of the virus isolate showing rod-shaped particles «X 70 000».

الدراسات المصلية (السيرولوجية). أوضحت الدراسات المصلية أن الفيروس مناعي وله علاقة مصلية (سيرولوجية) مع فيروس موزاييك التبغ (ATCC)، كما اتضح من اختبار الترسيب الدقيق. كما دلت الدراسات السيرولوجية باستخدام المجهر الالكتروني على وجود علاقة سيرولوجية بين الفيروس المدروس وفيروس موزاييك التبغ من إيطاليا (شكل 4).

المناقشة

دلت نتائج الفحص بالمجهر الالكتروني والدراسات السيرولوجية أن جسيمات الفيروس عصوية الشكل أبعادها 300×18 نانومتراً وأن للفيروس علاقة سيرولوجية بفيروس موزاييك التبغ من أمريكا وإيطاليا، ويستنتج من ذلك أن الفيروس يتبع مجموعة فيروسات توبامو (Tobamo - viruses) التي تشتمل على الفيروسات التالية: فيروس التبرقش الخفيف في الفلفل، فيروس باراموزاييك التبغ، فيروس موزاييك التبغ وفيروس موزاييك الطماطم/ البندورة، والتي ثبت أنها تصيب الفلفل.

قام فان رجنورتل (14) بتصنيف فيروسات مجموعة توبامو وذكر أن فيروس موزاييك التبغ يصيب التبغ (*N. sylvestris*) ولكنه لا ينتج إصابات موضعية عليه. قارن ويترو زملاؤه (15) بين فيروسات مجموعة توبامو التي تصيب نباتات الفلفل باستعمال نباتات دالة ووجدوا أن فيروس موزاييك التبغ ينتج

ACKNOWLEDGEMENT

We would like to thank Dr. G.P. Martelli, Dr. D. Galitelli, and Mrs. S. Gallitelli at the University of Bari, Institute of Plant Pathology, Bari, Italy, for providing TMV antiserum and allowing us to use their lab facilities for conducting electron microscopy and serology studies.

نود أن نتقدم بجزيل الشكر لكل من / ج. ب. مارتللي، د. جاليتللي والسيدة اس جاليتللي من جامعة باري بإيطاليا، معهد أمراض النبات لتزويدنا بالمصل المضاد لفيروس موزاييك التبغ الايطالي والسماح لنا باستعمال مختبرهم بما فيه المجهر الالكتروني .

Abstract

El-Sanusi, O., M. Shagrun and J. Khalil. 1991. Isolation and identification of tomato mosaic virus from pepper plants in Libya. Arab Journal Pl. Prot. 9(1): 52 - 56.

Mosaic symptoms on leaves and fruits of pepper plants were observed in greenhouses in the Garabulli Agricultural project. A virus isolate was obtained from diseased pepper leaves. It was mechanically transmitted to 35 out of 48 plant species or cultivars representing seven plant families. It has a TIP between 92 and 93 C, DEP between 10^{-6} and 10^{-7} and LIV of 315 days. It is immunogenic and serologically

related to tobacco mosaic virus (TMV) from the American type of culture collection, and to an Italian (TMV). The virus particles are rod-shaped and measuring 300×18 nm. It belongs to tobamoviruses and it could be a strain of tomato mosaic virus.

Key words Pepper, Viruses, Libya.

References

1. Anderson, C.W. and M.K. Corbette, 1957. Virus diseases of pepper in central Florida, survey results, 1955, Plant Dis. Repr., 41: 143 - 147.
2. Avgelis, A.D. 1987. Viruses of pepper in plastic houses in Crete. Neth. J. Pl. Path., 93: 153 - 158.
3. Ball, E.M. 1974. Serological tests for the identification of plant viruses. Amer. Phytopath. Soc., 31 pp.
4. Csillery, G., I. Tobies, J. Rusko, 1983. A new strain of tomato mosaic virus. Acta Phytopathol., 18: 195 - 200, (In Virol. Abstr. 18 (6):89.)
5. Gooding, G.V. and T.T. Hebert, 1967. A simple technique for purification of tobacco mosaic virus in large quantities. Phytopathology, 57:1285.
6. Gracia, O.; J.M. Feldman.; R.E. Pontis and J. Boninsegna. 1968. Some viruses affecting tomatoes and peppers in Argentina. Plant Dis. Repr., 52: 674 - 676.
7. Igwebe, E.C.K. 1983. Some properties of tobacco mosaic virus strains isolated from pepper *Capsicum annum* in Nigeria. Plant Dis., 67: 317 - 320.
8. Kendrick, J.B. Jr.; L.D. Anderson and R.C. Dickson. 1951. Source and seasonal spread of certain viruses in peppers in Southern California. Phytopathology, 41:20.
9. Knight, C.A.; D.M. Silva, D. Dahl and A. Tugita.

المراجع

1962. Distinctive strains of tobacco mosaic virus. Virology, 16: 236 - 243.
10. Mathur, S.B., M.D. Mishra and V.P. Tiwari. 1966. A new strain of tobacco mosaic virus affecting Chilli pepper variety Puri orange. Plant Dis. Repr., 50: 619 - 621.
11. Milbrath, G.M. and A.A. Cook. 1971. Virus diseases of pepper *Capsicum* sp. in Hawaii. Plant Dis. Repr., 55: 783 - 785.
12. Miller, P.M. and H.M. Thornberry. 1958. A new viral disease of tomato and pepper. Phytopathology, 48: 665 - 670.
13. Ross, A.F. 1964. Identification of plant viruses. Pages 68 - 92 in Plant Virology. Corbett and Sisler, eds. University of Florida Press, Gainesville, 527 pp.
14. Van Regenmortel, N.H.V. 1981. Tobamoviruses, pages 541 - 564 (in **Handbook of Plant Virus Infection and Comparative Diagnosis** Kurstak, ed. Elsevier North Holland Biomedical Press, 943 pp.)
15. Wetter, C., M. Conti, D. Altschuh, R. Tabillion and M.H.V. Van Regenmortel. 1984. Pepper mild mottle virus, a tobamovirus infecting pepper cultivars in Sicily. Phytopathology, 74: 405 - 410.