دراسة مسحية وتشخيصية لفايروس موزائيك الباميا Okra mosaic *tymovirus* (OkMV) في محافظة نينوى.

حميد حمود علي

قسم وقاية النبات / كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل

العراق

الخلاصة

أظهرت الدراسة أن نسبة الإصابة بفايروس موزائيك الباميا في موسم سنة 2005 في حقول الباميا في محافظة نينوى وصلت الى 48.3% ، وسجلت أعلى نسبة في قبر العبد (65%) وأدناها في الموصل (37%). وتبين أن المسبب المرضي هو فايروس موزائيك الباميا (OkMV) والذي شخص بأستخدام النباتات الكاشفة ، وكانت كل الأصابات المتحققة هي إصابات جهازية ولم يعطي أية نبات كاشف أصابة موضعية. وأظهرت نتائج الأختبار المصلي للمصل المضاد لفايروس موزائيك الباميا ولكلا الاختبارين نتيجة ايجابية مما يدل على فاعلية المصل المضاد وتأكيد وجود الفايروس وتشخيصه في العينات النباتية المصابة.

المقدمة

تعد الباميا (*Hibiscus esculentus* (L.) Okra) من محاصيل الخضر الصيفية الهامة ، وهي مصدر غذائي غني بالبروتين ، وتنتشر زراعتها في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية من العالم ويعتقد بأن موطنها الأصلي هو غرب أفريقيا(Purseglove ، 1987) وتزرع في محافظة نينوى كمحصول صيفي بمساحات واسعة ، تصاب الباميا بالعديد من المسببات المرضية ، وتعد فايروسات النبات أحدى أهم تلك المسببات المحددة لأنتاج الباميا في مناطق زراعتها وتسبب خسائر كبيرة في الحاصل ، تتراوح بين 25-94% وذلك اعتماداً على عمر النبات ووقت حدوث الإصابة (Mohammed Ali وآخرون ، 2000) ويعد فايروس موزائيك الباميا Okra mosaic virus (OkMV) من اكثر الفايروسات النباتية أنتشاراً على الباميا (Atiri ، 1984) ، سجل هذا الفايروس لأول مرة في ساحل العاج سنة 1972 من قبل Givord و Hirth (1973).

ومن خلال الملاحظات الشخصية التي سجلت في بعض حقول الباميا في محافظة نينوى في موسم (2005) لوحظ ظهور أعراض إصابات فايروسية بشكل بقع مصفرة ومساحات صفراء على الأوراق وموزائيك بالأضاقة الى تشوه في شكل الأوراق والثمار ، وهي من الأعراض الحقلية المميزة لفايروس موزائيك الباميا في الحقل (Vanlommeal وآخرون ، 1996).

ونظراً لعدم وجود أية دراسة على هذا المرض في المنطقة ، تم أجراء هذا البحث والذي تضمن أجراء مسح حقلي لحقول مختارة لمحصول الباميا في مناطق متعددة من المحافظة بهدف تحديد نسبة الأصابة ، وتشخيص الفايروس بالاعتماد على الأعراض على النباتات الكاشفة المشخصة والتشخيص المصلي.

مواد وطرق البحث

1- المسح الحقلي وحساب نسب الإصابة بفايروس موزائيك الباميا :

أجري المسح الحقلي في موسم سنة 2005 في ثلاث مناطق من محافظة نينوى هي قبر العبد والموصل والرشيدية ، بأجراء جولات حقلية منتظمة أمتدت من منتصف نيسان وحتى نهاية أب

2- تشخيص الفايروس وتثبيت عزلته على نباتات باميا:

أ- التشخيص بالنباتات الكاشفة : جلبت أعداد من أوراق الباميا عليها اعراض أصفرار وموزائيك وتشوه من المناطق التي شملها المسح ، وخضعت كل عينة عشوائية أختيرت من عينات كل منطقة لإجراءات التشخيص بالكواشف النباتية، حيث تم تحضير المستخلص من تلك الاوراق وذلك بسحق 10غم من كل عينة ورقية في 20مل من المحلول الفوسفاتي المنظم (KH_2PO_4) بتركيز 0.1 مولار و p^H = 7.2 ، ورشح العصير خلال طبقة مزدوجة من قماش الموسلين ، ولقحت به عشرة نباتات باميا بمرحلة نمو 3-4 أوراق بطريقة التلقيح الميكانيكي وذلك بعد رش الأوراق بمسحوق الكاربورندم 600 مش كمادة مخدشة ، وتركت النباتات في البيت البلاستيكي ، وبعد ظهور الأعراض عليها تم تحضير مستخلص من الاوراق المصابة ولقحت به خمسة نباتات كاشفة من كل نوع تلقيحا" ميكانيكيا" وبمرحلة نمو 4-6 أوراق وهي : الخيار *Cucumis sativus* L. والزربيح *Chenopodium amaranticolor* Coste&Reyne واللوبيا *Vigna sinensis* Endl. وفستق الحقل *Arachis hypogaea* L. والداتورة *Datura stramonium* L. والفاصوليا *Phaseolus vulgaris* L. وهي أهم النباتات المشخصة لفايروس موزائيك الباميا (OkMV) التي أستعملها Givord و Hirth (1973) و Givord و Koenig (1974) و Givord (1978) و Krishnareddy وأخرون (2003). وتم الاحتفاظ بعزلة الفايروس النقية وذلك بتحضير مستخلص من البقع المصفرة التي ظهرت على نباتات الخيار الملقحة والتي سحقت في المنظم الفوسفاتي بالطريقة المبينة أنفا" ، ولقحت بالمستخلص ميكانيكيا" عشرة نباتات باميا بمرحلة نمو 2-4 أوراق وحفظت عليها عزلة الفايروس لغرض أجراء الأختبارات اللاحقة. حفظت النباتات في البيت البلاستيكي ، وتم تجديد عزلة الفايروس على نباتات باميا بمرحلة نمو 2-4 أوراق كل شهر. أستعملت في عمليات الزراعة ، تربة مزيجية مخلوطة بنسبة 1:3 مع البتموس والمعقمة بالمؤصدة عند 1.5 كغم/سم^2 وحرارة 121° م لمدة نصف ساعة.

ب- التشخيص المصلي للفايروس : تم الحصول على 5 مل من المصل المضاد لفايروس موزائيك الباميا (OkMV) من قسم أمراض النبات/ المعهد الهندي للبحوث البستنية في الهند *

(Division of plant pathology, Indian Institute of Horticultural Research, India)

حيث تم اختيار حقلين في كل منطقة ، وتم خلال المسح حساب النسبة المئوية للإصابة بالفايروس لكل موقع بطريقة القطرين المتعامدين ووفق المعادلة الآتية :

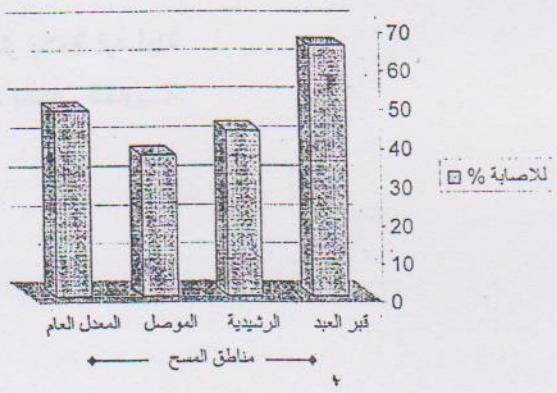
$$\frac{\text{عدد النباتات المصابة}}{\text{عدد النباتات الكلية}} \times 100 .$$

* اتصال شخصي مع الدكتور Krisgnareddy قسم أمراض النبات / المعهد الهندي للبحوث البستنية / الهند.

المخفف بنسبة 500/1 ، موضوع داخل انبوبة محكمة الغلق حاوية على مادة الكلسرين الحافظة ، وقد أستعمل هذا المصل المضاد للكشف عن الفايروس بطريقة التلازن على الشريحة الزجاجية وفق طريقة Slogteren و Van (1969) ، حيث تم تحضير عصير من اوراق الباميا المصابة بعزلة الفايروس والذي أخضع الى أنتباذ واطئ (5000 دورة/دقيقة) لمدة عشرة دقائق ، وضعت قطرتان من العصير المصاب المنقى جزئيا" على أحد طرفي الشريحة الزجاجية ، وعلى الطرف الأخر وضعت قطرتان من العصير الخام المحضر من أوراق باميا سليمة والخاضع لإجراءات الأنتباذ ذاتها ، بواسطة ماصة حجمية بحجم (0.1) مل ، تم تأشير موضع القطرتين على الشريحة بقلم شمعي وذلك للحفاظ على الشد السطحي للسائل. ثم أضيفت أليهما قطرتان من المصل المضاد وبنفس الماصة الحجمية ، ومزجت جيدا" بواسطة أبرة معقمة. نقلت الشريحة الزجاجية بحذر الى طبق بتري يحوي ورقة ترشيح مبللة بالماء ، وتركت بدرجة حرارة المختبر، أخذت النتائج بعد نصف ساعة وبالأستعانة بالمجهر الضوئي وعلى القوة الصغرى (x10) وباستخدام إضاءة جانبية ، وكرر الأختبار ثلاث مرات.

أختبار الأنتشار المناعي المزدوج في الأجار : أجري الاختبار حسب طريقة Purcifull وBatchelor (1977) ، حيث حضر 100 مل من وسط الانتشار بأذابة 0.8غم من الأجار النقي (Noble Agar) في 60مل ماء مقطر في حمام مائي على درجة حرارة 90° م لمدة نصف ساعة ، إذيب 0.02غم من مادة أزايد الصوديوم (NaN_3) Sodium azide في وسط الأجار لمنع حدوث أي نمو بكتيري ، أستعملت أطباق بتري بلاستيكية بقطر 8.5سم أضيف لكل منها15 مل من الاجار السائل ، تركت الاطباق مفتوحة لمدة (5) دقائق لغرض تصلب الأجار وخروج البخار ولمنع تكوين تكثيف للبخار على غطاء الطبق عند غلقه ، وغلقت الأطباق ووضعت في الثلاجة لمدة 24 ساعة لغرض تصلب وسط الأجار ولحين الاستعمال. وبواسطة ثاقبة فلين قطر (4) ملم عملت حفرة مركزية وأحيطت بـ(6) حفر أخرى محيطية بنفس القطر وبمسافة (4)ملم عن محيط حفرة المركز بالأعتماد على رسم تخطيطي يوضع أسفل الاطباق ، وضعت في كل حفرة مركزية قطرتان من المصل المضاد للفايروس وبمقدار 0.2مل بواسطة ماصة حجمية ، وفي الحفر المحيطية الأربعة المتتالية وضعت وبواسطة الماصة الحجمية قطرتين من راشح النبات المصاب وفي الحفرتين الأخريين وضع راشح اوراق باميا سليمة (0.2مل) حضنت الأطباق لمدة 24-48ساعة وعلى درجة22± 2 ° م.

المسح الحقلي وحساب نسب الأصابة بفايروس موزائيك الباميا : أظهرت نتائج المسح الحقلي لموسم 2005 بان معدل نسبة الإصابة في المناطق الثلاث التي شملها المسح وصلت الى 48.3% حيث وصلت نسبة الإصابة في قبر العبد الى 65% وتلتها حقول الرشيدية 43% ثم حقول الموصل 37% وهذا ما يوضحه الشكل (1) . إن ارتفاع نسب الأصابة بفايروس (OkMV) يشير الى سعة أنتشاره في المحافظة ، وهذا يتفق مع ما أشارت إليه العديد من الدراسات التي بينت أرتفاع نسب الإصابة بهذا المرض في مناطق عديدة من زراعة الباميا من العالم (Givord و Hirth ، 1973 ؛ Givord ، 1978 ؛ Givord و DenBoer ، 1980 ؛ Atiri ، 1984 ؛ Mohammad Ali وأخرون ، 2000).



الشكل (1) نسب الإصابة بمرض موزائيك الباميا في مناطق المسح الثلاثة

تشخيص فايروس موزائيك الباميا وتثبيت عزلته : بينت نتائج التشخيص أن عزلة الفايروس التي تم الحصول عليها من حقول الباميا هي لفايروس موزائيك الباميا (OKMV) Okra mosaic *tymovirus* ، حيث ظهرت الأعراض على نباتات الباميا بعد 7-8 أيام من التلقيح بشكل بقع جهازية صفراء تطورت الى موزائيك أخضر فاتح صاحبه تشوه لبعض الأوراق، أما الأعراض على نباتات الخيار فقد ظهرت بعد ستة أيام بشكل بقع صفراء كبيرة الحجم على الأوراق الملقحة مع اصفرار رائق صاحب بعض العروق في الأوراق النامية الحديثة ، فيما ظهرت الأعراض على نباتات الزربيح بشكل اصفرار جهازي وتخطط وذلك بعد تسعة أيام من التلقيح ، وظهرت على فستق الحقل أعراض جهازية بشكل موزائيك أخضر فاتح وغامق بعد 12 يوما من التلقيح ، بينما ظهرت الأعراض على نباتات اللوبيا بشكل اصفرار منتظم حول العروق وذلك بعد عشرة أيام من التلقيح ، بينما لم تظهر على نباتات الداتوره والفاصوليا أية أعراض جهازية أو موضعية ولغاية شهر من تلقيحها بعصير النبات المصاب ، وتتطابق الأعراض التي ظهرت على النباتات الكاشفة مع الأعراض الموصوفة على هذه النباتات من قبل Givord و Hirth (1973) و Givord (1978) و Vanlommeal واخرون (1996) و Krishnareddy وأخرون (2003).

التشخيص المصلي لفايروس موزائيك الباميا

أختبار التلازن على الشريحة الزجاجية : أعطى الأختبار نتيجة موجبة مع عصير أوراق الباميا المصابة وذلك بظهور التكتل التلازني الواضح والذي لم يلاحظ مع العصير السليم. تدل هذه النتيجة على فاعلية المصل المضاد وتأكيد وجود فايروس موزائيك الباميا في العينات النباتية المصابة ، إن هذا الأختبار هو أحد الأختبارات الشائع استعمالها في التشخيص المصلي لفايروسات النبات (Gibbs و Harrison ، 1980 و Matthews ، 1981).

أختبار الأنتشار المناعي المزدوج في الأجار :

أعطى الاختبار نتيجة موجبة مع عصير العينات المصابة وذلك بظهور أهلة ترسيبية واضحة أحاطت بالحفر الأربعة التي وضع فيها راشح النبات المصاب وذلك بعد 24 ساعة من التحضين على درجة حرارة 22 ± 2 °م ، ولم يظهر مثل هذا الهلال حول الحفرتين الحاوتين على راشح النبات السليم الشكل (2). أكدت هذه النتيجة تأكيد وجود فايروس موزائيك الباميا في العينات النباتية المستخدمة ، ولقد أشار Purcifull و Batchelor (1977) إلى فاعلية هذا الاختبار في الكشف عن فايروسات النبات.

ويعتبر هذا التسجيل هو الأول في المحافظة.

الشكل (2) : اختبار الانتشار المزدوج في الاجار يلاحظ فيه أهلة الترسيب تحيط بالحفر الحاوية (Zone)

REFERENCES

1- Atiri ,G.I. (1984). The occurrence and important of Okra mosaic virus in Nigeria weeds.Annals of Applied Biology 104:261-265.

2- Gibbs,A. and B.Harrison (1980). Plant virology, The principles 2nd ed. Edward Arnold,London.

3- Givord,L. (1978). Alternative hosts of Okra mosaic virus near plantings of Okra southren Ivory Coast. Plant Disease Reporter 62,412-416.

4- Givord,L. and L. Den Boer (1980). Insect transmission of Okra mosaic virus in the Ivory Coast. Annals of Applied Biology 94: 235-241.

5- Givord,L. and L. Hirth (1973). Identification ,purification and some properties of a mosaic virus of okra (*Hibiscus esculentus*). Annals of Applied Biology 74,359-370.

6- Givord,L. and K. Koenig (1974). Okra mosaic virus. CMI/AAB, Description of Plant Viruses 128,4pp.

7- Krishnareddy,M.; S. Jalali and D.K.Somuel (2003). Fruit distortion mosaic disease of okra in India. Plant Dis. 87:1395.

8- Matthews,R.E.F.(1981). Plant Virology.2nd ed. Academic Press. New York.

9- Mohammed A. ; M.Z. Hossain and N.C. Sarker (2000). Inheritance of Yellow Vein Mosaic Virus (YVMV) tolerance in a cultivar of okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench). Euphytica 111:205-209.

10- Purcifull, D.E. and Batchelor (1977). Immunodiffusion tests with sodium dodecul sulfate treated plant viruses and plant viruses inclusion. Florida Agricultural Experiment Station.Technical Bulletin , 788.U.S.D.A

11- Purseglove ,J.W. (1987). Tropical Crops Dicotyledons. Longman Singapore Publishers (Ptv) Ltd.

12- Slogteren, D.H. and M.Van (1969). Analytical serology of plant viruses (Phytophagineae) In: J.B.G. Kwapinski (ed.). Analytical serology of micro-organism. (pp335-409) John Wiley.

13- Vanlommeal, S. ; L. Duchateau and J. Coosemans (1996). The effect of Okra mosaic virus and beetle damage on yield of four okra cultivars.African Crops Science Journal 4:71-77.

DIAGNOSTIC STUDY AND SURVEY OF OKRA MOSAIC *tymovirus* IN NINAVAH PROVINCE

Hameed Hamoud Ali

Plant protect Dept./ College of Agric.&Forestry/Mosul Univ.

Iraq

ABSTRACT

The study showed that the incidence of Okra mosic *Tymovirus* (OkMV) in crops okra in Ninavah Province was 48.3% in 2005. The highest percentage was recorded in Gaber-Alabid (65%) , and the lowest in Mosul (37%). Diagnostic studies by using indicator plants showed that the virus under investigation , was Okra mosaic virus, all infection in host was systemic , and no reliable local lesion host known. The study serological for using antiserum to the Okra mosaic virus showed efficiency of this antiserum was tested by using agglutination test and double immuno diffusion test.