

الملخص العربي

أجريت تجارب هذه الدراسة في معامل وصوب ومزرعة كلية الزراعة بمشتهر جامعة الزقازيق خلال الموسمين ٩٧/١٩٩٦ - ٩٨/١٩٩٧ بهدف:-

أولاً: عزل وتعريف بعض الفيروسات التي تصيب محصول الفلفل في مصر والتي تتبع مجموعة فيروسات وای البطاطس نظراً للانتشار الخطير للأمراض الفيروسية وما ترتب عليه من انخفاض في إنتاج الفلفل في السنوات الأخيرة.

ثانياً: محاولة التوصل إلى طرق فعالة للحد من انتشار أو مقاومة الأمراض الفيروسية باستخدام وسائل طبيعية لا تؤثر سلباً في تلوث البيئة.

ثالثاً: دراسة حساسية بعض سلالات وأصناف الفلفل المزروعة تحت ظروف الصوبة ومدى إمكانية إصابتها بالسلالة الفيروسية المعزولة.

لعزل الفيروس أو الفيروسات موضع الدراسة تم جمع عينات أوراق حديثة مصابة طبيعياً من حقول الفلفل المختلفة في ثلاث محافظات متجاورة تشكل محوراً هاماً في إنتاج الفلفل بالنسبة للجمهورية وخاصة محافظة القليوبية والتي سجلت إحصائيات وزارة الزراعة أنها تتميز بأعلى إنتاجية فلفل من بين عشرة محافظات في شمال مصر شملت الدراسة.

النباتات المصابة طبيعياً تبدو على أوراقها أعراض شفافية العروق و التبرقش الشديد والتشوه ، بينما تظهر بقع ميتة واضحة على الساق والثمار وكذلك على الأوراق ، تتساقط بشدة معظم أوراق النباتات المصابة ، كما تنقرض النباتات المصابة وتنخفض إنتاجيتها.

حقن العصير المتحصل عليه من الأوراق الحديثة المصابة في نباتات اختبار مفرقة مثل الزربيح والداتورة وبطاطس هجين ١٦ ، فتكونت بقع موضعية ملونة على أوراق الزربيح المخقونة ، فصلت تلك البقع كل على حده وتم هرسها على شريحة زجاجية وأعيد حقنها على نفس نباتات الاختبار السابقة. ثم أخذت البقع المتكونة مرة

ثانية وهرست وحقن عصيرها على نباتات فلفل صنف كاليفورنيا ووندر لإكثارها حيث يبدي هذا الصنف إصابة جهازية واضحة ومميزة (تشبه تلك التي تظهر على النباتات المصابة طبيعياً) خلال فترة قصيرة لذا استخدم كنبات إكثار لمصدر العدوى الفيروسية خلال بقية مراحل الدراسة التالية.

كانت أهم النتائج المحصل عليها كالآتي :

- ١- أبدت نباتات الفلفل المحقونة بالعزلة المنقاة بيولوجياً عن طريق البقع الموضعية المفردة من الفيروس أعراضاً جهازية مطابقة تماماً لتلك المشاهدة على نباتات الفلفل المصابة طبيعياً.
- ٢- اقتصر المدى العوائي للفيروس المعزول على بعض الأصناف النباتية التابعة للعائلات الباذنجانية والرمرامية والقطفيات بينما لم تصب نباتات البقوليات المختبرة. ظهرت بقع موضعية ميتة صغيرة جداً على نبات *Amaranthus* *ascendens* Lois التابع لعائلة *Amaranthaceae* وتعتبر هذه أول حالة يسجل فيها هذا العائل الذي قد يستخدم فيما بعد ضمن العوائل المفرقة لفيروسات مجموعة واي البطاطس.
- ٣- بدراسة الخواص الطبيعية للفيروس المعزول في المعمل تبين أن هذا الفيروس يفقد قدرته على إحداث العدوى إذا تعرض لدرجة حرارة ٨٠°م لمدة ١٠ ق ، وعند تخفيف العصير المتحصل عليه إلى ١٠^{-٧} فقد الفيروس قدرته على العدوى ، وعند تخزين العصير الخام دون أي إضافات في جو المعمل (حوالي ٢٥°م) لمدة تراوحت بين ٢٨ - ٣٥ يوم فقد قدرته على إحداث العدوى المرضية.
- ٤- أثبتت الاختبارات المختلفة لنقل الفيروس أنه ينتقل بسهولة بواسطة الحقن الميكانيكي ، وكذلك ينتقل بواسطة حشرات من الخوخ الأخضر ضمن مجموعة الفيروسات الغير باقية. بينما لم ينتقل خلال البذور المأخوذة من نباتات فلفل مصابة جهازياً.

- ٥- أجريت عملية التعريف الدقيق للعزلة الفيروسية باستخدام اختبارات الترسيب الدقيق في الأنابيب واختبار الانتشار خلال الأجاروز في أطباق و الـ ELISA بالطريقة المباشرة . حيث استخدم الفيروس المنقى جزئياً في اختبار الترسيب والانتشار ، بينما استخدم الفيروس عالي النقاوة في اختبارات الـ ELISA وخاصة في تحضير المصل المضاد للفيروس المعزول والذي استخدم في عملية التعريف الدقيق للفيروس المعزول وساعد في وضعه ضمن المجموعة التابع لها سيولوجياً ، كما استخدم المصل المضاد للعزلة الفيروسية والذي تم تحضيره في معامل الكلية في عملية البحث عن الفيروس خلال عملية المسح التي شملت بعض محافظات الجمهورية. أثبتت التجارب السيولوجية أن الفيروس المعزول وثيق الصلة سيولوجياً بالأمصال المضادة لبعض الفيروسات التابعة لمجموعة واي البطاطس مثل PSMV و PVY و TEV ولم يتفاعل إيجابياً مع المصل المضاد لفيروس PVMV والتي تم الحصول عليها بالاتصال الشخصي من الأرجنتين و ألمانيا وفنلندا ونيجيريا على التوالي.
- ٦- أظهرت نتائج فحص الجزيئات عالية النقاء بواسطة الميكروسكوب الإلكتروني والتي سبق صبغها سلبياً بالصبغ المناسب وجود جزيئات خيطية مرنة متجانسة بلغ متوسط طولها ٧٦٠ نانومتر وعرضها حوالي ١٥ نانومتر.
- ٧- في تجربة لمحاولة مقاومة مرض الموزايك الشديد في الفلفل أو الحد من خطورته ، استخدم المستخلص المائي لأوراق وأزهار وثمار اثني عشرة صنفاً نباتياً تتبع عشرة عائلات نباتية مختلفة. تم رش العصير المستخلص من النباتات المختبرة قبل أو بعد يوم كامل من الحقن بالفيروس المعزول ، بينما تم خلط عصير النباتات المختبرة مع العصير الفيروسي المعدي وحقننا معاً فور استخلاصهما. أعطت مستخلصات بعض النباتات تأثير مثبط فعال في إعاقة الإصابة الفيروسية اقتربت من المنع الكامل للإصابة ومنها نباتات *Chenopodium amaranticolor* Coste & Reyn., *Hibiscus rosa sinensis* L., *Vinca rosea* L., *Lantana camara* L., *Euphorbia pulcherrima*

Willd., *Pelargonium zonale* L'Hérit, *Datura metel* L., *Salvia officinalis* L., *Azadirachta indica* A. Juss أعطت بعض النباتات تأثير متوسط إلى ضعيف في تثبيط الإصابة الفيروسية مثل *Euphorbia peplus* L. و *Adhatoda vasica* Ness والمأخوذ من نبات *Acalypha fruticosa* Forsk. أي تأثير مثبط. وكانت المعاملة برش العصير النباتي قبل الحقن بالفيروس بيوم كامل أكثر المعاملات فعالية في تثبيط الإصابة الفيروسية.

٨- اختبرت حساسية بعض أصناف وهجن الفلفل وخاصة التي أعتيد زراعتها في نظم الزراعة المحمية (الصوب) للإصابة بالفيروس المعزول تحت ظروف الصوبة ، فتبين أن الأصناف الحريفة من الفلفل أقل عرضة للإصابة بالفيروس المعزول من نباتات الفلفل الحلو. وكانت نباتات الفلفل صنف Serrano من أكثر النباتات المختبرة مقاومة للإصابة الفيروسية بالفيروس المعزول موضع الدراسة وهو صنف شديد الحرافة ، بينما كان هجين الفلفل Gedeon من الفلفل الحلو وهو أكثر الأصناف الحلوة المختبرة مقاومة للإصابة بالفيروس المدروس. أيضاً تدرجت بقية الأصناف المختبرة في درجة مقاومتها للإصابة سواء كانت من الأصناف الحلوة أو الحريفة .

٩- أجريت عملية مسح شملت عشرة محافظات في دلتا مصر الشمالية بهدف حصر وجود وخطورة الإصابة بالفيروس موضع الدراسة وقد استخدم في عملية الكشف عن وجود الفيروس وخطورته اختبار الـ ELISA بالطريقة المباشرة. فتبين وجود الفيروس بدرجات متفاوتة من الشدة والخطورة في سبع محافظات كانت على التوالي حسب تدرج شدة الإصابة هي : البحيرة ، الإسماعيلية ، المنوفية ، الشرقية ، الجيزة ، الغربية ثم القليوبية ، بينما أعطت تجارب الكشف عن الفيروس نتائج سلبية في عينات ثلاث محافظات هي : الدقهلية ، دمياط و كفر الشيخ. وبمقارنة نتائج عملية المسح وما صاحبها من

ملاحظة شدة الإصابة مع البيانات الإحصائية المدونة في السجلات السنوية لوزارة الزراعة تبين أن شدة الإصابة ترتبط إيجابيا وطرديا مع الانخفاض في إنتاجية الفلفل في بعض المحافظات التي شملتها الدراسة.

١٠- خضعت الثمار التي تم جمعها من النباتات السليمة أو المصابة أثناء عملية المسح التي شملت بعض محافظات الوجه البحري بحثا عن الفيروس موضع الدراسة وتحديد شدة الإصابة به للتحليل الكيماوي لتقدير محتواها من فيتامين ج والمادة المسئولة عن الحرافة في الفلفل المعروفة بالكابساسين وذلك لمعرفة مدى تأثير الإصابة الفيروسية على محتوى الثمار من تلك المواد. تبين من النتائج أن الإصابة بالفيروس المعزول تؤثر عكسيا على محتوى ثمار الفلفل من تلك المواد فقد انخفضت مقاديرها في النباتات المصابة عن مثلها في ثمار نباتات الفلفل السليمة. أيضا لوحظ من نتائج التحاليل أن زيادة مادة الحرافة في الفلفل تؤدي لتقليل تعرض الثمار للإصابة الفيروسية مثلما سجلت العديد من الدراسات السابقة تلك الملاحظة ولو كانت الدراسة تعني بفيروسات أخرى غير الفيروس المدروس. تم تقدير فيتامين ج بواسطة بعض الاختبارات اللونية بواسطة دلائل تقديرية كشفية ، بينما تم تقدير مادة الحرافة في الفلفل بواسطة التحليل الكروماتوجرافي.

فائدة

- تم عزل فيروس بيدي أعراض مرضية خطيرة تؤدي إلى خفض إنتاجية الفلفل لأول مرة في مصر وبعد تعريفه باستخدام المدى العوائلي ، والخواص الطبيعية في العصور ، وطرق انتقال الفيروس ، وطرق الكشف السيولوجية تبين أنه يتبع مجموعة واي البطاطس ويقترح تسميته *Pepper severe mosaic potyvirus* (PSMV) نظرا لتميزه بأعراض الموزايك الشديدة على أوراق الفلفل المصابة.
- تم التوصل لعائل جديد قد يستفاد منه وهو نبلت *Amaranthus ascendens* Lois. التابع لعائلة القطيفيات *Amaranthaceae* قد يستخدم مستقبلا كعائل

مشخص لأفراد الفيروسات التابعة لمجموعة واي البطاطس أثناء دراسة المدى العوائلي لذلك الفيروس والمحدود في نطاق بعض نباتات العائلة الباذنجانية والرمامية.

- يمتاز الفيروس المدروس بالثبات خلال فترة التخزين لمدة وصلت قرابة الشهر ، وقدرته على العدوى بتخفيفات عالية ، ولا يتأثر إلا بالحرارة العالية التي بلغت ٨٠°م.
- ينتقل بحشرة من الخوخ الأخضر وبواسطة الحقن بالعصير ولا ينتقل خلال بذور الفلفل المأخوذة من نباتات مصابة.
- جزيئات الفيروس خيطية مرنة طولها ٧٦٠ نانومتر وعرضها ١٥ نانومتر.
- يرتبط الفيروس المعزول سيروlogياً ببعض أفراد مجموعة واي البطاطس مما يثبت - إلى جانب بقية الاختبارات الفيروسية الأخرى - أن الفيروس المعزول يتبع هذه المجموعة.
- أعطت المستخلصات المائية لبعض النباتات نتائج مشجعة في الحد من الإصابة الفيروسية بدرجة تشجع على تحسين وتعميم تلك النوعية من المقاومة حفاظاً على البيئة والصحة العامة من التلوث بالمبيدات وخاصة أن استخدام المبيدات لا يجدي نفعاً في مقاومة الفيروسات.
- ينتشر هذا الفيروس بشدة متفاوتة في بعض محافظات الوجه البحري المنتجة بكثرة للفلفل وقد أثر في إنتاجية بعض المحافظات.
- بعض أصناف الفلفل المزروعة في الصوب مقاومة للإصابة بهذا الفيروس وخاصة الحريفة منها وأكثرها مقاومة صنف Serrano ، بينما كانت الأصناف الحلوة كلها قابلة للإصابة بشدة وأقلها إصابة بهذا الفيروس كان الهجين Gedeon .
- الفيروس المعزول لم يتناول من قبل بالقدر الكافي من الدراسة لذا يستلزم إجراء المزيد من الدراسات المكتملة للإحاطة به أكثر قبل أن تبدو خطورته بمرور الوقت.