ألمجلة أللليبية لوقاية النبات

Libyan Journal of Plant Protection

http://www.ljpp.org.ly

ISSN : 2709-0329

تعريف الفيروس المسبب لمرض الموزاييك على محصول الطماطم في منطقة الوسيطة بالجبل الأخضر- ليبيا

أنور عمر موسى، عيسى على أبوغرسه و عمر موسى السنوسي

قسم وقاية النبات/ كلية الزراعة / جامعة عمر المختار البيضاء - ليبيا

Received – October 26, 2022; Revision –November 02, 2022; Accepted –December 17, 2022; Available Online – December 20, 2022.

* Corresponding author E-mail: E-mail \ omar.elsanousi@omu.edu.ly (Omar Mousa El-Sanousi)

الملخص /

أجريت هذه الدراسة بهدف تشخيص المسبب المرضي للموزاييك على نبات الطماطم بناء على الخواص البيولوجية (المدى العوائلي وطريقة الانتقال)؛ الدراسة السيرولوجية باستخدام الأمصال واختبار تفاعل سلسلة البوليميريز Polymerase chain reaction (PCR) الذي يتفاعل مع سلسلة معينة من الحمض النووي للفيروس. في هذه الدراسة تم زيارة عدة حقول لمحصول الطماطم في منطقة الوسيطة بالجبل الأخضر- ليبيا. أخذت 11 عينة لأوراق مصابة تحمل أعراض الموزاييك من 4 حقول مزروعة بمحصول الطماطم. استخدام نبات التبغ *Nicotiana glutinosa* كنبات كاشف حيث أظهر أعراض الموزاييك على في 9 عينات والتي منها درست 4 عزلات من 4 حقول مختلفة. دراسة المدى العوائلى كشف عن ظهور أعراض الموزاييك والتشوه على نبات التبغ *Nicotiana glutinosa* وأعراض الموزاييك على نبات الطماطم صنف منى و دنا بينما لم يصب الصنف ندى و أعراض الموزايك على نبات التبغ *N. tabacum* cv. White Burley و *N.tabacum cv.* Xanthi وعلى نبات عنب الذيب *Solanium nigrum* ونبات الفلفل *Capsicum annum* ونبات الداتورا *Datura metel* بينما هذه العزلات لم تظهر أعراض على نبات الخيار *Cucumis sativus*، الدلاع *Citriullus lanatus* والبطيخ *Cucumus melon* من العائلة القرعية وكذلك لم يصب نبات الفول *vicia faba*، نبات البازلاء *Pisum satvuim* ونبات الحمص *Glycine max* من العائلة البقولية ونبات الزربيح *Chenopodium amaranticolor* من العائلة الرمرامية. دراسة نقل هذه العزلات بحشرة من الخوخ الأخضر *Myzus persica* بينت أن كل هذه العزلات تنتقل بالطريقة غير الباقية. الدراسة السيرولوجية باستخدام (ELISA) مع أمصال فيروس موزاييك الخيار (CMV), فيروس واي البطاطس (PVY) وفيروس موزاييك التبغ (TMV) أوضحت تفاعل هذه العينات مع مصل فيروس موزاييك

الخيار. استخدام بادئات (Primers) خاصة بفيروس موزاييك الخيار أظهر تفاعل هذه البادئات مع الحمض النووي للعينة المختبرة في اختبار سلسلة البوليميريز نتج عنه تكوين حزمة بحجم 704 قاعدة مزدوجة. هذه النتائج من العوائل المشخصة والنقل بحشرة المن واختبار الأمصال وتفاعل سلسلة إنزيم البوليميريز بينت أن العزلات التي اختبرت تتبع فيروس موزاييك الخيار.

الكلمات الدالة: فيروس موزايك الخيار، الطماطم، حشرة المن ، اختبار اليزا

المقدمة /

يعتبر محصول الطماطم *Lycopersicon esculentum Mill* من محاصيل الخضر المهمة حيث تقدر المساحة المزروعة بمحصول الطماطم في ليبيا حسب منظمة الفاو عام 2011 حوالي 10 ألاف هكتار منتجة ما يقارب 212 ألف طن . يصاب محصول الطماطم بمجموعة كبيرة من الأمراض النباتية التي تسببها الفطريات والبكتيريا والنيماتودا وكذالك الفيروسات و تسبب هذه الأمراض خسائر كبيرة على المحصول [1]. نبات الطماطم من محاصيل الخضر المهمة في منطقة الجبل الأخضر - ليبيا حيث يزرع على نطاق واسع وهو يعاني من الإصابة بالكثير من الأمراض الفطرية ، البكتيرية، النيماتودية والفيروسية. لوحظ أن الإصابة الفيروسية تسبب العديد من الأعراض على نبات الطماطم في الحقول تشمل التفاف الأوراق والتقزم وأعراض الموزاييك. في زيارات ميدانية إلى منطقة الوسيطة لوحظ أعراض مرض الموزاييك على نبات الطماطم في عدة حقول في هذه المنطقة والتي يشتبه بان تكون هذه الأعراض ناتجة عن إصابة فيروسية وحيث أنه لا توجد دراسات سابقة عن فيروسات الطماطم في منطقة الجبل الأخضر تطلب الأمر دراسة وتعريف المسبب المرضي لهذا المرض. في الدراسات السابقة يوجد العديد من الفيروسات التي تسبب أعراض الموزاييك على نبات الطماطم في العديد من مناطق العالم وتشمل فيروس موزاييك الطماطم، فيروس موزاييك التبغ، فيروس موزاييك الخيار، فيروس موزاييك البرسيم الحجازي، فيروس البطاطس X، فيروس البطاطس Y، فيروس تبرقش عروق الفلفل و فيروس التقزم الشجيري للطماطم [9]، حيث تم تسجيل مجموعة من هذه الفيروسات في ليبيا منها فيروس موزاييك الخيار على نبات الطماطم في منطقة الزاوية [5]، كذالك فيروس موزاييك البرسيم الحجازي [6]، وتم عزل كل من فيروس البطاطس Y وفيروس موزاييك الطماطم من نبات الفلفل [4,3] وفي الجبل الأخضر تم تسجيل فيروس موزاييك الخيار على عدة عوائل وهي الفلفل، العنصل والتبغ البري [7]. وحيث أنه شوهد لأول مرة عرض الموزاييك على نبات الطماطم بالجبل الأخضر فقد اقترحت هذه الدراسة بهدف عزل وتعريف هذا الفيروس من خلال دراسة الخواص البيولوجية (المدى العوائلي وطريقة الانتقال). الدراسة السيرولوجية باستخدام اختبار الادمصاص المناعي المرتبط بالإنزيم (ELISA) و اختبار تفاعل سلسلة البوليميريز Polymerase chain reaction (PCR) الذي يتفاعل مع سلسلة معينة من الحمض النووي للفيروس.

مواد وطرق البحث /

جمع وحفظ العينات : تم زيارة عدة حقول لمحصول الطماطم في منطقة الوسيطة وأخذت عينات لأوراق مصابة تحمل أعراض الموزاييك شكل (1), في هذه الزيارات أخذ 11 عينة من 4 حقول مزروعة بمحصول الطماطم هذه العينات وضعت في أكياس بلاستيكية وكل عينة قسمت إلى عدة عينات لأجل استخدامها في نقل الفيروس للمعمل وحفظت بقية العينات في المجمد لغرض استخدامها في الدراسة.

شكل (1) . أعراض مرض الموزاييك على الطماطم

الدراسة البيولوجية / العدوى الميكانيكية : تم تحضير اللقاح عن طريق اخذ 1 جرام من كل عينة مصابة وسحقت في الهاون مع 1 مل من فوسفات البوتاسيوم KH_2PO_4 عيارته 0.1 ودرجة الحموضة (pH 7). وذلك بالطريقة التي وصفها Noordam [15].

إعداء (حقن) النباتات : وضعت النباتات التي اجري لها الاختبار في الظلام لمدة 24 ساعة ثم رشت بالمادة الخادشة كاربوراندوم و حقنت بالعصارة التي تحتوي على الفيروس.

استخدام العوائل المشخصة : في هذه الدراسة استخدم نبات التبغ *N. glutinosa* الذي يعطي أعراض مشخصة للفيروسات التي تنتج أعراض الموزاييك على الطماطم.

العزلات المستخدمة في الدراسة: تسعة عزلات من العينات التي تم اختبارها أعطت أعراض الموزاييك على نبات التبغ *N. glutinosa* واثنان من العينات لم تنتج عنهما أعراض. تم أخذ 4 عينات من التي أعطت أعراض الموزاييك في الاختبارات اللاحقه.

اختبار حشرة المن في نقل الفيروس: تم اختبار انتقال الفيروس باستخدام حشرة منٌ الخوخ الأخضر *Myzus persica*. حيث تم تربيتها على نباتات خيار سليمة في أقفاص تمنع دخول الحشرات. من هذه الحشرات تم فصل أعداد منها في طبق بتري لغرض التجويع لمدة ساعة ثم وضع معها أوراق مفصولة من نباتات التبغ *Nicotiana tabacum cv White burley* مصابة من كل عزلة من عزلات الفيروس وتركت للتغذية من 1-3 دقائق ثم نقلت إلى نباتات تبغ سليمة بواقع 6 حشرات لكل نبات حيث تم استخدام 7 نباتات لكل عزلة تركت للتغذية لمدة ساعة ثم رشت بالمبيد الحشري موسبي (Mosby) لقتل حشرة المن [18]. دراسة

استجابة عدة عوائل لعزلات الفيروس: في هذا الأختبار تم أعداء 18 صنف نباتي تتبع 4 عائلات نباتية كما هو مبين في الجدول (1).

جدول (1). النباتات التي تم اعدؤها لغرض دراسة استجابتها لعزلات الفيروس.

الاسم العربي	الاسم الإنجليزي	العائلة والاسم العلمي
العائلة الباذنجانية	Nightshade family	Solanaceae
طماطم أصناف(منى، دنا وندى)	Tomato	*Lycopersicon esculentum*
تبغ	Tobacco	*Nicotiiana tabacum*
تبغ	Tobacco	*N. tabacum cv.* White burley
تبغ	Tobacco	*N. tabacum cv.* Xanthi
تبغ	Tobacco	*N.glutinosa*
داتورا	Jimson weed	*Datura stramonium*
داتورا	Jimson weed	*D. metel*
فلفل	Pepper	*Capsicum annuum*
عنب الذيب	Black Night Hade	*Solanium nigrum*
العائلة القرعية	Gourd family	Cucurbitaceae
دلاع	Watermelon	*Citriullus lamatus*
بطيخ	Cantaloupe	*Cucumis melo*
خيار	Cucumber	*C. sativus*
العائلة الرامرامية	Goose foot family	Chenopodiaceae
زربيح	Pig weed	*Chenopodium amaranticolor*
العائلة البقولية	Legume	Legumonaceae
فول	Broad bean	*Vicia faba*
بازلاء	Pea	*Pisum satvuim*
حمص	Chickpeas	*Glycine max*

الدراسة السيرولوجية/ حفظ العينات : العينات تم حفظها بطريقة التجفيف وذلك بتقطيع كل عينة عن طريق مقص معقم إلى أشرطة صغيرة ثم تركت لتجف في درجة حرارة الغرفة ثم وضعت على طبقة من كلوريد البوتاسيوم في أنابيب عينات محكمة الإغلاق [18]. الكشف عن الفيروس باستخدام (ELISA) عن طريق التغطية بمولد الضد: لقد تم إجراء هذا الاختبار في معمل الفيروسات بجامعة سابا باشا في الإسكندرية بجمهورية مصر العربية. حيث اختبرت العينات باستخدام اختبار إليزا عن طريق اختبار التغطية بمولد الضد بالطريقة التي وصفها مكوك وآخرون [9].في هذا الاختبار تم اختبار أمصال لكل من فيروس موزاييك الخيار (CMV) فيروس واي البطاطس (PVY) وفيروس موزاييك التبغ (TMV).

استخدام اختبار تفاعل متسلسل البوليميريز(PCR): لقد تم هذا الاختبار في معمل أمراض النبات والتقنية الحيوية بكلية الزراعة في جامعة كفر الشيخ بجمهورية مصر العربية.

استخلاص الحمض النووي RNA : ثم هذا الاختبار باستخدام Easy REDTM Total RNA Extraction 100 Kit (cat.NO.17063) ملجرام من العينة تم سحقها في وجود 250ميكروليتر من المحلول PBS في أنبوبة بحجم 1.5 مل ثم أضيف لها 750 ميكروليتر من محلول استخراج الحمض النووي (easy-REDTM) خلطت العينة باستخدام الدوامة النشطة(vigorously vortex) لمدة 15 ثانية وحضنت عند درجة حرارة الغرفة لمدة 5 دقائق ثم أضيف 200ميكروليتر من الكلور فورم وخلطة العينة باستخدام الدوامة النشطة لمدة 15 ثانية وحضنت عند درجة حرارة الغرفة لمدة 5 دقائق بعد الطرد المركزي للأنبوبة على سرعة 13000 دورة في الدقيقة عند 4 درجات مئوية لمدة 15 دقيقة نقل 400 ميكرو ليتر من السطح العلوي للمحلول إلى أنبوبة جديدة بحجم 1.5 مل وأضيف 250 ميكرو ليتر من محلول PBS و 250 ميكروليتر من isopropanal وخلط جيدا فقلبت الأنبوبة من 5-6 مرات وتركت لمدة 10 دقائق عند درجة

حرارة الغرفة ، بعناية أزيح المعلق بدون تعكر للراسب وأضيف 1 مل من 70% إيثانول وخلط المحلول حينها عن طريق قلب الأنبوبة 4-5 مرات ثم عمل طرد مركزي لمدة 5 دقائق على سرعة 13000 دورة بالدقيقة، بعناية تم التخلص من المعلق بدون تعكير للراسب ثم ترك الراسب ليجف، تم أذيت الحمض النووي RNA في 20 ميكروليتر من الماء الخالي من RNase وحفظ عند درجة حرارة - 70 م^{o} [16,14]

نسخ الحمض النووي RNA إلى حمض نووي ديوكسي متمم (cDNA) : استخدم لهذا الغرض مواد مكونات النسخ العكسي لشركة مكسما الألمانية (Maxime RT Premix kit (Gene ON, GmbH, Germany) والتي تحتوي على a) MMLV Reverse Transcriptase 10.000 (units. (conc 200m/ml b) 5x Reaction Buffer(250Mm Tris-HCL pH8.3,375Mmkcl, 15Mm Mgcl2 and 50Mm DTT.c) dNTP mix 0.2ML d) Oligo(dt)15-30mg(MW:4501 mol/l e) RNAse-DNAse free water

خطوات اختبار نسخ حمض نووي متمم cDNA للفيروس : أضيف 0.5 ميكروليتر من الحمض النووي للفيروس الذي سبق استخلاصه إلى 9.5 ميكروليتر من الماء المعقم في أنبوبة خالية من RNAs ثم أضيف إلية 1 ميكروليتر من البادي. وسخن لمدة 10 دقائق على درجة 65 م^{o} . حرك بعناية لأجل تجمع المحلول في قاع الأنبوبة وأضيفت الكواشف الآتية RNase inhibitor 1.0 $\mu\ell$ - 5x RT buffer 4.0 $\mu\ell$ - dNTP 2.0 $\mu\ell$ - DTT 2.0 $\mu\ell$ - AMV RT enzyme 0.5 $\mu\ell$ مع التحريك بلطف. تم التحضين عند درجة حرارة 42 م^{o} في حمام مائي لمدة 60 دقيقة ثم سخن على درجة 70 م^{o} لمدة 5 دقائق لإنهاء التفاعل [14].

اختبار تفاعل متسلسل لبوليميريز / البادئ الذي استخدم في الاختبار: البادئات التي استخدمت في هذا الاختبار صنعت عن طريق شركة Biolegio company الهولندية كما هو موضح بالجدول (2)

جدول (2). البادئات المستخدمة في اختبار تفاعل متسلسل للبوليميريز.

البادي Primer	المتوالية Oliogonucleotide sequence (5'-3')	طول الحزمة الناتجة Length of amplified fragment	المرجع Reference
F	CTACGTTTATCTTCC	704 bp	[14]
R	AACCGGTGATTTACCATCGC		

خطوات الاختبار : تم الاختبار عن طريق خلط 12.5ميكروليتر من X2 مخلوط رئيسي جاهز للاستخدام يتكون من 0.1 وحده / ميكروليتر من الانزيم Taq Polymerase، 500 ميكرو ليتر من القواعد dNTP، 20 ملي ميكرون من Tris-HClحموضته (pH8.3). مع (23 ملي ميكرون من كلوريد الماغنسيوم MgCl ، 100 ملي ميكرون من كلوريد البوتاسيوم KCl)، ثم أضيف له 1 ميكروليتر من كل بادئ لفيروس موزاييك الخيار و1 ميكروليتر من الحمض DNA المتمم cDNA و أضيف إليه 10.5 ميكروليتر من الماء المعقم الخالي من RNAs ليصبح الحجم النهائي 25 ميكروليتر. اجري الاختبار باستخدام جهاز (Bio-Rad, C - 1000) واستخدمت درجات الحرارة في هذا الجهاز على النحو الآتي :

أولا درجة حرارة مبدئية 94 م^{o} لمدة 5 دقائق لمسخ الحمض النووي, ثم أتبع بثلاث درجات متتابعة 94 م^{o} لمدة 30 ثانية لانفصال السلسلة المزدوجة للحمض النووي, 54 م^{o} لمدة دقيقة

لارتباط البادئ و 72 م^{o} للتمدد. وهذه الدرجات كررت 40 دورة والدرجة الأخيرة من التمدد استمرت لمدة 10 دقائق [14].

تحليل الناتج : بعد نهاية دورات الاختبار الناتج المضخم تم تحليله على 1.5 % من جل الآجاروز يحتوي على 0.5% ميكروجرام من بروميد الايثيديم لكل 1 مل. 0.9 جم من الآجاروز الخاص بالترحيل الكهربائي حضرت في 60 مل من محلول X TAE1 في قارورة معقمة ثم سخنت في الميكروويف مع التحريك لإذابة كل الحبيبات ثم تركت لتبرد عند 70 م^{o} ثم 0.5 µg /ml من ايثيدم البرومايد أضيفت وخلطت تماما. سكب الآجاروز الساخن في جهاز الترحيل الذي وضع فيه المشط في المكان المناسب وترك عند درجة حرارة الغرفة للبلمرة. أزيح المشط ثم مليئا جهاز الترحيل بمحلول TAE (1X) . 10 ميكروليتر من الناتج المضخم وضعت في الحفرة ثم رحلت بجانبKh plus DNA ladder 1. في محلول الترحيل(1X) TAE عند 5 volts/cm لمدة 45 دقيقة. بعد نهاية الترحيل نقل الجل إلى UV cabinet . الجل تم تصويره عن طريق نظام توثيق الجل (syngene) والقراءات تم تحليلها خلال برنامج الكومبيوتر

النتائج /

استخدام العوائل المشخصة : نتيجة استخدام العائل المشخص نبات التبغ *N. glutinosa* أوضحت النتائج أن جميع العزلات أعطت عليه أعراض الموزاييك (جدول 6).

نقل الفيروس بحشرة المن : اتضح من هذه الدراسة أن حشرة المن*M. persica* بعد تغذيتها على أوراق مصابة من نبات التبغ *N. glutinasa* لمدة 1-3 دقائق قادرة على نقل الفيروس حيث ظهرت أعراض الموزاييك بعد العدوى بكل العزلات (جدول (3)

جدول (3). قدرة حشرة المن *M. persica* على نقل عزلات الفيروس.

العزلة الفيروسية	عدد النباتات المختبرة / عدد النباتات المصابة
العزلة (1)	7/7
العزلة (2)	7/7
العزلة (3)	6/6
العزلة (4)	7/7

شكل (2). ظهور الأعراض على *N. tabacum cv.* White burley بعد العدوي عن طريق حشرة المن.

استجابة العوائل المستخدمة لعزلات الفيروس : استجابة العائلة الباذنجانية لعزلات الفيروس مدرجة في الجدول (4)

جدول (4). استجابة نباتات من العائلة الباذنجانية لعزلات الفيروس.

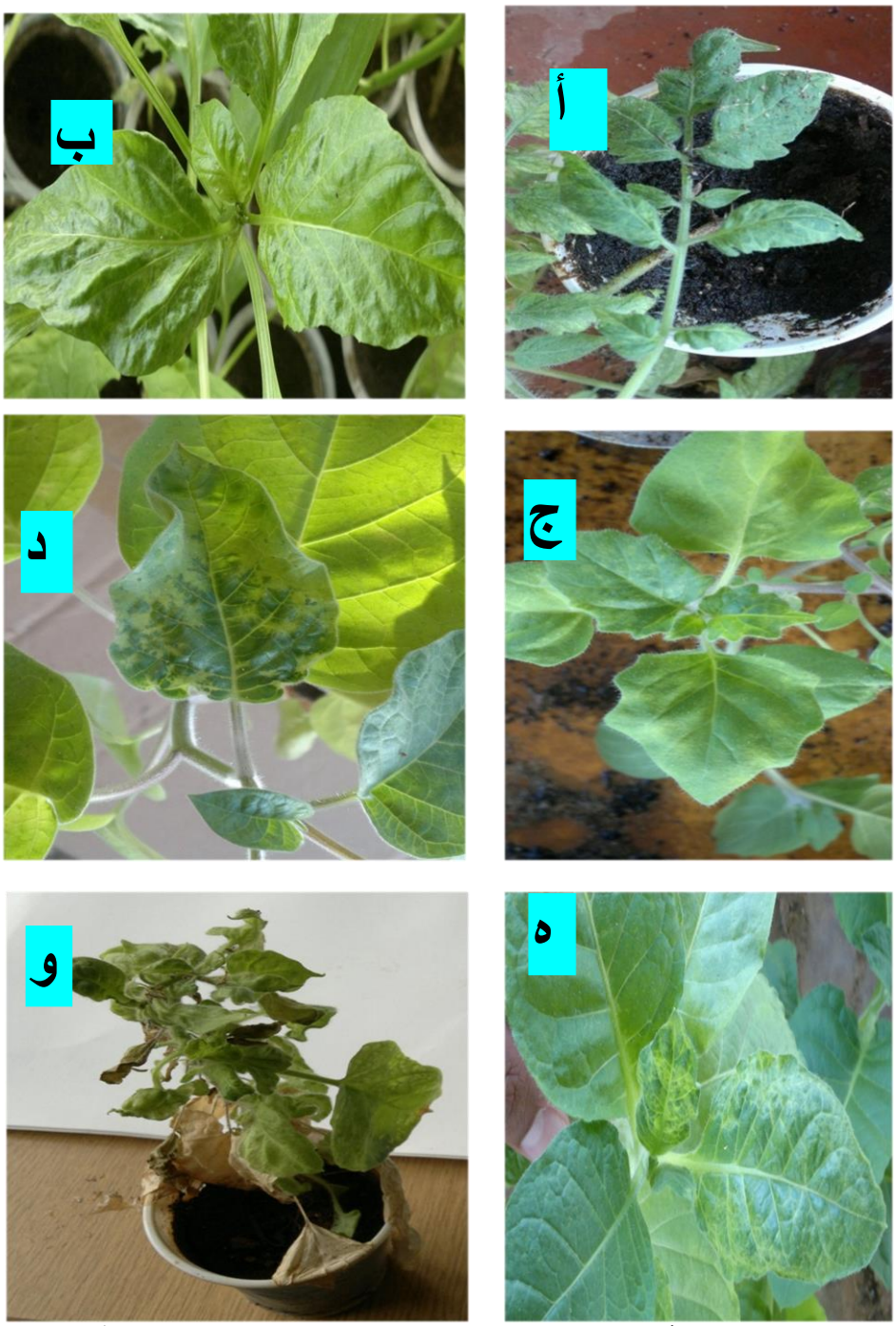
العائلة الباذنجانية	الأعراض			
	عزلة 1	عزلة 2	عزلة 3	عزلة 4
طماطم *Lycopersicon esculentum*				
صنف منى	موزاييك	موزاييك	موزاييك	موزاييك
صنف دنا	موزاييك	موزاييك	موزاييك	موزاييك
صنف ندى	-	-	-	-
الفلفل *Capsicum annuum*	موزاييك	موزاييك	موزاييك	موزاييك
عنب الذيب *Solanium nigrum*	موزاييك	موزاييك	موزاييك	موزاييك
داتورا *Datura metel*	موزاييك	موزاييك	موزاييك	موزاييك
Nicotiiana glutinosa	موزاييك	موزاييك وتشوه	موزاييك	موزاييك
***N. tabacum cv.* White burley**	موزاييك	موزاييك	موزاييك	موزاييك
***N. tabacum cv.* Xanthi**	موزاييك	موزاييك	موزاييك	موزاييك

- **لم تظهر الأعراض**

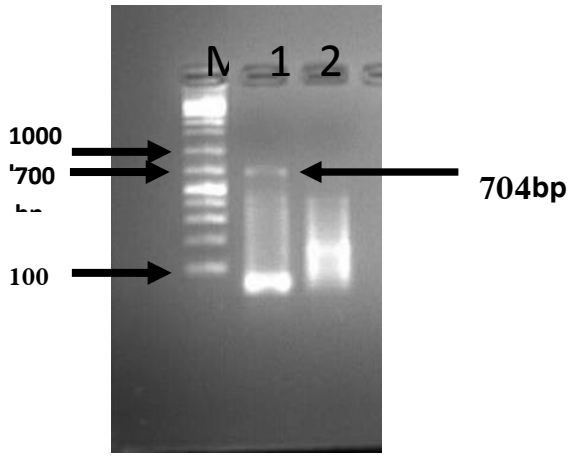
هذه النتائج أظهرت أن العزلات أعطت أعراض الموزاييك على الطماطم *Lycopersicon esculentum* (صنف دنا وصنف منى) ، نبات الداتورا *D. metel* ، عنب الذيب *Solanium nigrum* ونبات الفلفل *Capsicum annuum* ونبات التبغ صنف *N. tabacum cv.* White burley و موزاييك مع تشوه على نبات التبغ صنف *Nicotiana glutinosa*. الأعراض على هذه العوائل موضحة في الشكل (3). أظهرت نتائج عدوي نباتات من العائلة القرعية عدم إصابة كل من الخيار والبطيخ الأصفر والبطيخ الأحمر و عدم إصابة نباتات العائلة البقولية (الفول، البازلاء والحمص) ونبات الزربيح من العائلة الرمرامية.

الدراسة السيرولوجية/ عند استخدام اختبار ELISA عن طريق التغطية بمولد الضد مع أمصال كل من فيروس موزاييك الخيار (CMV) فيروس واي البطاطس (PVY) فيروس موزاييك التبغ (TMV) ، تبين أن العزلات الأربع التي استخدمت تتفاعل مع المصل المضاد لفيروس موزاييك الخيار ولم تتفاعل مع المصل المضاد لكل من فيروس واي البطاطس وفيروس موزاييك التبغ

اختبار سلسلة البوليمريز: بعد إتمام تفاعل سلسلة البوليمريز (PCR) وتحليل الناتج باستخدام الترحيل الكهربائي في الجل تبين ظهور حزمة من الحمض النووي المتمم cDNA بطول 704 من القواعد المزدوجة شكل (4).



شكل (3). أعراض العدوى الميكنيكية على النباتات المختبرة(ا) الطماطم (ب) الفلفل (ج) عنب الذيب (د) نبات *D.metel* (ه) نبات التبغ **White burley** *cv. tabacum N.* (و) التبغ *Nicotiana glutinosa*



شكل (4). الحزمة المتكونة 704 قاعدة مزدوجة للعينة رقم

1. العزلة الاولى لفيروس موزاييك الخيار (CMV)
2. نبات سليم (شاهد) DNA Marker : M

المناقشة /

أجريت هذه الدراسة لأجل التعرف على الفيروس المسبب لمرض الموزاييك على نبات الطماطم *Lycopersicon esculentum* وذلك باستخدام الطرق البيولوجية والسيرولوجية وتفاعل سلسلة البوليميريز. نتيجة استخدام العائل المشخص أوضحت أن جميع العزلات أعطت أعراض الموزاييك على نبات التبغ *N. glutinosa* هذه النتيجة أوضحت أن هذه العزلات لا تنتمي إلى الفيروسات التي تعطي أعراض بقع موضعية على نبات التبغ *N. glutinosa* مثل فيروس موزاييك الطماطم ، فيروس التقزم الشجيري للطماطم وفيروس البطاطس X والتي تنتج أعراض البقع الموضعية على هذا النبات وأيضا لا تنتمي إلى فيروس تبرقش عروق الفلفل الذي لا يحدث إصابة على نبات التبغ *N. glutinosa* [11]. وفي المقابل نجد أن الفيروسات التي تنتج أعراض الموزاييك على نبات التبغ *N. glutinosa* هي فيروس موزاييك الخيار [9] وفيروس البطاطسY [11]. نتائج دراسة النقل الحشري أظهرت أن حشرة المن*M. persica* بعد تغذيتها على أوراق مصابة من نبات التبغ *N. glutinasa* لها القدرة على نقل جميع عزلات الفيروس وذلك كما هو موضح في الجدول (3). حشرة المن عرفت في الدراسات السابقة بنقلها لكل من فيروي البطاطس Y، فيروس البرسيم الحجازي (10)، فيروس تبرقش عروق الفلفل [11]، وفيروس موزاييك الخيار [13] والتي تنتج أعراض الموزاييك على نبات الطماطم و عدم مقدرتها على نقل كل من فيروس موزاييك الطماطم، فيروس التقزم الشجيري للطماطم وفيروس البطاطس X التي لا يوجد له ناقل حيوي [11,9]. وبذلك فإن نتائج النقل بواسطة حشرة المن وضعت احتمالية أن هذه العزلات تتبع فيروس موزاييك الخيار أو فيروس البطاطس Y باعتبار أن كلاهما ينتقل عن طريق حشرة المن وينتج أعراض الموزاييك على نبات التبغ *N. glutinosa* . نتيجة اختبار اليزا باستخدام أمصال لكل من فيروس موزاييك الخيار، فيروس البطاطس Y وفيروس موزاييك التبغ أظهرت استجابت كل العزلات إلى المصل المضاد لفيروس موزاييك الخيار وعدم الاستجابة لكل من فيروس البطاطس Y وفيروس موزاييك التبغ مما يدل أن هذه العزلات تتبع فيروس موزاييك الخيار. إن استخدام اختبار تفاعل سلسلة البوليميريز عن طريق بادئات خاصة بفيروس موزاييك الخيار أوضحت ظهور حزمة بطول 704 قاعدة مزدوجة مطابقة للحزمة التي تنتجها هذه البادئات مع فيروس موزاييك الخيار [14] هذه النتائج عززت النتائج السابقة من الدراسة البيولوجية و السيرولوجية بأن عزلات الفيروس تتبع فيروس موزاييك الخيار *Cucumber mosaic virus (CMV)*. نتائج استجابة عدة عوائل أظهرت أن العزلات أعطت أعراض الموزاييك على كل من أصناف التبغ *Nicotiana glutinosa*، *N. tabacum* صنف White burley و Xanthi و نبات الفلفل *Capsicum annuum* ونبات عنب الذيب *Solanium nigrum* هذه النتائج تشابه استجابة هذه العوائل لعزلة فيروس موزاييك الخيار التي عزلها [7] من نبات التبغ البري بمنطقة الجبل الأخضر والتي أعطت أعراض الموزاييك على كل من أصناف التبغ *Nicotiana glutinosa* ، *N. tabacum* صنف White burley وXanthi . ونبات الفلفل *Capsicum annuum* ونبات عنب الذيب *Solanium nigrum*. وأيضا مع نتائج عزلات فيروس موزاييك الخيار الذي عزل من نبات

التبغ البري في الساحل الغربي من ليبيا [12]. العزلات التي استخدمت في هذه الدراسة تم عزلها من نباتات طماطم يظهر أعراض الموزاييك وأعطت نفس الأعراض على صنفين من نبات الطماطم (دنا ومنى) وبهذا اختلفت هذه العزلات عن عزلة الفيروس CMV من نبات التبغ في منطقة الجبل الأخضر [7] وكذلك عن عزلات الفيروس CMV من الساحل الغربي من ليبيا [12] التي لم تصب نبات الطماطم. هذه العزلات أنتجت أعراض الموزاييك على نبات الداتور *D. metel* وهي بذلك تختلف عن عزلة الجبل الأخضر التي لم تظهر أعراض على هذا النبات [7,8]. وكذلك عزلات الفيروس من التبغ البري في الساحل الغربي التي لم تصب نبات الداتورا *D. metel* [12]. أظهرت نتائج عدوي نباتات من العائلة القرعية عدم إصابة كل من الخيار والبطيخ الأصفر والبطيخ الأحمر وهذا يتفق مع نتائج عزلة فيروس موزاييك الخيار من التبغ البري التي درسها [7] وكذلك التي درسها (Ejmal12). النتائج أظهرت عدم إصابة نباتات الفول بهذه العزلات هذه النتيجة تختلف عن دراسة علي [7] التي أظهرت فيها عزلة الفيروس ظهور بقع موضعية على الأوراق المعداة. أما دراسة Ejmal تختلف فيها النتائج على حسب العزلات فبينما تتفق مع عزلات طرابلس ومصراته وسرت التي لم تصب نبات الفول نجد انها تختلف معها في عزلة الخمس التي أعطت بقع موضعية وعزلة الزاوية التي أعطت أعراض الموزاييك على نبات الفول. أوضحت النتائج عدم إصابة نبات الزربيح وهذه النتائج تختلف عن نتائج عزلة التبغ البري في الجبل الأخضر التي أنتجت بقع موضعية على كل والزربيح [7] وكذلك نتائج [12] التي أعطي فيها نبات الزربيح بقع موضعية مع جميع العزلات.

المراجع /

[1]. أجريوس ، جورج. 1984. أمراض النبات. ترجمة محمود أبوعرقوب. منشورات جامعة قاريونس. 996 صفحة.

[2]. اجمال، محجوب على، عمر موسى السنوسي و صلاح سعيد العماري. 2006. التحرى عن فيروس موزاييك الخيار على نبات التبغ البري *Nicotiana glauca* Graham المؤتمر العربي التاسع لعلوم وقاية النبات 19 -30 أكتوبر دمشق، سوريا.

[3]. السنوسي، عمر موسى، محمد عبدالمجيد شقرون وجبر عبدالله الخليل. 1991أ. عزل وتعريف فيروس البطاطس Y من نباتات الفلفل في ليبيا. مجلة وقاية النبات العربية 9 (1): 47-51.

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

[5]. دبوب، حنان، جبر خليل ، حسنى يونس، وعمر موسى السنوسي. 2009. حصر وتعريف فيروسات الطماطم في منطقة الزاوية بليبيا. المؤتمر العربي العاشر لعلوم وقاية النبات. بيروت لبنان. كتاب ملخصات البحوث.

[6]. عزو، يوسف، جبر خليل، صفاء قمري ونوران عطار. 2009. حصر وتعريف فيروس موزاييك البرسيم الحجازي/الفصة وأحد فيروسات عائلة Luteoviridae على البرسيم الحجازي في ليبيا. المؤتمر العربي العاشر لعلوم وقاية النبات. بيروت - لبنان. كتاب ملخصات البحوث.

[7]. علي، سعاد سعيد. 2008. دراسة فيروس موزاييك الخيار على عدة عوائل في المنطقة الوسطى من الجبل الأخضر. رسالة مقدمة كجزء من متطلبات الأجازة العلية (الماجستير) في وقاية النبات. كلية الزراعة/ جامعة عمر المختار ليبيا.

[8]. علي، سعاد سعيد ، عمرموسى السنوسي وفتحى سعد المسماري. 2009. دراسة فيروس موزاييك الخيار على عدة عوائل في منطقة الجبل الأخضر. المؤتمر العربي العاشر لعلوم

وقاية النبات. بيروت لبنان. كتاب ملخصات البحوث، ص61.

[9]. مكوك, خالد محي الدين, جابر إبراهيم فجلة وصفاء غسان قمري. 2008. الأمراض الفيروسية للمحاصيل الزراعية المهمة في المنطقة العربية . دار النهضة العربية.

[10]. Bos, L. and Jaspars, E. M. J. 1971. Alfalfa mosaic virus CMI/AAB Description of Plant Viruses No. 46,

[11]. Brunt, A. A., Crabtree, K., Dallwitz, M. J., Gibbs, A. J. and Watson, L. 1996. Viruses of plants, Descriptions and lists from the VIDE database. CAB International.

[12]. Ejmal, M. A. 2007. Identification of viruses causing mosaic on wild tobacco (*Nicotiana glauca* Graham) in western Costal-belt of Libya MSc Thesis, Faculty of Agriculture, University of Al-Tahadi, Sirt, Libya pp 91.

[13]. Francki, R. I. B., Mossop, D. W. and Hatta, T. 1979. Cucumber mosaic virus CMI/AAB Description of Plant Viruses No242, 6pp.

[14]. Liao, Q. S., Du, Z. Y., Zhang, H. R., Wu, P., Zhu, L. P. and Chen, J. S. 2008. Construction of infection clone for cucumber mosaic virus pepper isolate, SciAgric Sinica , , vol. 41 (pg. 1975-1982).

[15]. Noordam, D. 1973. Identification of plant viruses, Methods and experiments. Center for Agric. Publ. and Doc. Wageningen.

[16]. Sambrook, J. and Russell, D. W. 2001. Molecular Cloning-Sambrook and Russel-Vol. 1, 2, 3. Cold Springs Harbour Laboratory Press.

[17]. Van Regenmortel, M. H. V. 1982. Serology and immunochemistry of plant viruses. Academic Press, New York, USA.

[18]. Zitter,T. A. and Gonsalves, D. 1991. Differentiation of psuedorecmbinants of two cucumber mosaic virus strains by biological properties and aphid transmission. Phytopathology. 81: 139-143.

Isolation and identification of virus causing mosaic symptoms on tomato crop in AL-Lusayta - Al Jabal Al-Akhdar- Libya.

Anwar Omar Mousa, Eissa Ali Abogharsa and Omar Mousa Elsanousi

Dept. of pl. protection Faculty of Agriculture / University of Omar Al-Mukhtar /ElBeida-Libya

Abstract \

This study was conducted for the diagnosis of the pathogen causing mosaic disease on tomato plants according to biological properties (host range and transmission methods), serological study using antisera and Polymerase chain reaction (PCR) that interact with certain chain of virus nucleic acid. In this study several fields of tomato crop in Alwsyta area in Al-Jabal Al-Akhdar-Libya were visited . Eleven samples of infected leaves showed mosaic symptoms were collected from four field cultivated with tomato crop. Using of tobacco *Nicotiana glutinosa* as indicator host showed mosaic on nine samples. Four isolates each represent one field of tomato crop were studied. Inoculation of several plant hosts revealed the appearance of mosaic symptoms, leaf deformation on *Nicotiana glutinosa* and mosaic symptoms on tomato plants cultivars Mona and Dana, but no symptoms on cultivar Nada. Mosaic symptoms on tobacco *N. tabacum* cv. White Burley and Xanthi , *Solanium nigrum* , pepper *Capsicum annum* and Datura plant *Datura metel.* These isolates did not infected tested cucurbitate plants, cucumber *Cucumis sativus,* Watermelon *Citriullus lamatus* and Cantaloupe *Cucumis melon,* tested legume plant Broad bean *vicia faba* , pea *Pisum satvuim* and Chickpeas *Glycine max* and also did not infected *Chenopodium amaranticolor.* Study the transmission of these isolates by the aphid *M. persica* revealed that all of these isolates can be transmitted in nonpersistent manner by this species of the aphid. The serological test, using enzyme linked immunesorbent assay with sera of *cucumber mosaic virus*, *potato virus* Y and *tobacco mosaic virus* showed that all isolates reacted with *cucumber mosaic virus* antiserum. Using primers reacted with RNA sequences of cucumber mosaic virus in polymerase chain reaction (PCR) resulted in formation of a band of 704 bp. These results indicated that all of these isolates belong to *cucumber mosaic virus.*

Keywords: cucumber mosaic virus, tomato, aphids, Elisa