تقييم انتقال فايروس موزائيك الطماطة (ToMV) *Tomato mosaic virus* بواسطة التربة في محافظة نينوى/ العراق

رغد نايف مهيدي [1] نبيل عزيز قاسم [2]

مدرس استاذ

[1] قسم وقاية النبات / كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل

[2] قسم وقاية النبات / كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل

البريد الالكتروني : zrnaif20055@yahoo.com

المستخلص:

هدفت الدراسة هذه الى ان العزلة الفايروسية التي جلبت من حقول الطماطة في محافظة نينوى في موسم 2011 والتي اظهرت اعراض الموزائيك الاخضر والاصفر وتشوه الاوراق على نباتات الطماطة ، والتي كانت لفايروس موزائيك الطماطة (ToMV) *Tomato mosaic virus* على محصول الطماطة والذي شخص باختبار الاليزا ذو الاحتواء المزدوج DAS-ELISA الى نقل هذا الفايروس بالتربة في محافظة نينوى.

وباستعمال المصل المضاد للفايروس المذكور والمجهز من قبل شركة نيوجين Neogene الاسكتلندية . بينت النتائج ان فايروس موازئيك الطماطة (ToMV) موجود في الترب الطبيعية التي اخذت من الحقل في محافظة نينوى وتحديدا من الترب المحيطة بجذور النباتات المصابة حيث تم الكشف عن وجوده فيها بالطريقتين الحيوية والمصلية حيث استعملت نباتات طماطة صنف Packmore IMP كنبات صائد لفايروس موزائيك الطماطة (ToMV) والتي اعطت اعراض الموزائيك الواضح عند زراعتها في الترب الطبيعية المنقولة بالبيت البلاستيكي ، فيما تم في الثانية الكشف عنه بطريقة الاليزا ذات الاحتواء المزدوج DAS-ELISA. ويعتبر هذا اول تسجيل لوجود ونقل هذا الفايروس في تربة حقول محافظة نينوى/ العراق. كذلك اوضحت نتائج دراسة نقل فايروس موزائيك الطماطة (ToMV) تجريبياً في الترب الملوثة صناعيا به تبين نقله بالتربة الملوثة ، حيث وصلت نسبة الاصابة لفايروس موزائيك الطماطة (ToMV) الى 40% وذلك عند تلويث التربة بعصير الاوراق المصابة الماخوذة من العزلة القياسية للفايروس لشتلات الطماطة Pack more IMP وعند زراعة بذور الطماطة لنفس الصنف في التربة الملوثة بعصير الاوراق المصاب وصلت الى 30%. فيما وصلت نسبة الاصابة لفايروسي موزائيك الطماطة (ToMV) الى 40% وذلك عن استخدام بذور طماطة صنف Pack more IMP بترب ملوثة ببقايا النباتات المصابة بالفايروس ، فيما ارتفعت الى 60% عند استعمال شتلات الطماطة لنفس الصنف وذلك عند زراعتها في ترب ملوثة ببقايا النباتات المصابة.

الكلمات المفتاحية : فايروس موزائيك الطماطة – النقل بالتربة **البحث مستل من اطروحة دكتوراه للباحث الاول**

Evaluation Transmission viruses *Tomato mosaic virus* (ToMV) by Soil on Nineveha Governorate / Iraq

Raghd Naif M. AlGwaree[1] **Nabil Aziz Kassem**
Lecturer **Professor**
[1]Department of Plant protection,College of Agriculture and Forestry, University of Mosul.
E- mail address : zrnaif20055@yahoo.com

Abstract:

The aim of This study was to evolution transmission of viral isolates brought from tomato fields in Ninewah governorate in 2011 season showed the symptoms of the severe mosaic with green and yellow colors, the deformation of tomato leaves and moderate mosaic symptoms with slight yellowing the veins accompanied by mottle tomato plant, the *Tomato mosaic virus* (ToMV), isolates were diagnosed using DAS-ELISA (Double antibody sandwich - ELISA) .

The study demonstrated that the *Tomato mosaic virus* (ToMV) exist in the natural soils collected from the field in Nineveh governorate particularly from the soil that surrounds the roots of the infected plants the (ToMV) was identified using the biological and the serological methods. In the first method the tomato plant (Packmore IMP) species were used as a biat plant of (ToMV) which manifested the symptoms of mosaic when cultivated in the natural soils transferred from a plastic house. In the second, it was detected using the DAS ELISA and this detection is considered first record of these two viruses in the soil of fields of Ninewah governorate / Iraq.

In experiment of evolution the transmission of the ToMV in the soils artificially contaminated with it separately, it was shown that it was transferred with the contaminated soil. The percentage of infection with ToMV was (30 %) and (40 %) when contaminating the soil by the sap of the infected leaves.

The infection percentage of ToMV reached (40 %) when using tomato seeds (pack more IMP CV.) in soils contaminated with debris of the virus infected plants, and the percentage increased to (60 %) when tomato seedlings of the same cultivar planted in the same soils .

Keywords : Tomato mosaic virus ,ToMV, Transmission by soil

المقدمة :

تم تسجيل انتقال عدد قليل من أنواع فايروسات النبات عن طريق التربة الملوثة بدون ناقل والتي اطلق عليها مصطلح (Soil – borne viruses without vectors)،اذ تبدا الاصابة في الجذور او الاجزاء النباتية الارضية الملامسة للتربة ومن ثم ينتقل جهازيا الى بقية اجزاء النبات ويرجع سبب انتقال وانتشار هذا النوع من الفايروسات الى جملة من الاسباب اهمها انها فايروسات ثابتة قادرة على تحمل الظروف البيئية حيث تحمل على حبيبات التربة وتدخل الى الجذور عن طريق الجروح الميكانيكية او الطبيعية التي تحدث اثناء بزوغ الجذور

الجديدة من الجذور الاكبر ، او عن طريق عمليات الري ولا تنقل هذه الفايروسات بناقلات اذ تقطن التربة منها انواع من النيماتودا والفطريات ، اذ يوجد اللقاح الفايروسي فقط في بقايا النباتات المصابة المتحللة في التربة (19 ، 27 ، 3، 13) .

وقد اظهرت الدراسات العالمية التي اجريت في السنوات الاخيرة ان هناك العديد من الفايروسات الخطرة المؤثرة على الانتاج النباتي تنقل عن طريق التربة الملوثة والتي بلغت 12 نوعا فايروسيا اهمها فايروسي موزائيك الطماطة (ToMV) *Tomato mosaic virus* والبطاطا اكس (PVX) *Potato virus x*، حيث لم يكن معروفا ان الفايروسات تنقل عن هذا الطريق باستثناء بعض البحوث غير المؤكدة والتي اعطت اشارات الى احتمالية هذا النقل، ويعتقد ان بقائها في التربة يكون عن طريق استقرارها في الاغشية المائية المحيطة بحبيبات التربة او في النظام الغروي لحبيبات الطين (5، 7، 32) . ونظرا لعدم وجود أي دراسة في العراق عن الفايروسات المحمولة بالتربة ولخطورة فايروس موزائيك الطماطة (ToMV) وانتشاره في حقول محصول الطماطة في محافظة نينوى / العراق فقد اختير في هذه الدراسة وذلك لاحتمال نقله عن طريق التربة كونه من الفايروسات الثابتة وغير المنقولة بناقل . وهو ينتمي الفايروس إلى الجنس Tobamovirus والعائلة المستقلة Virgaviridae ، علما بانه مسجل في معظم الدول العربية ومنها مصر(28) ولبنان (26) والأردن (4) واليمن(1) وسلطنة عمان (29) وتونس (6) والجزائر (30) والسودان (17) والعراق (3) وفي العديد من دول العالم (8، 36) . جسيمة الفايروس عصوية صلدة يبلغ طولها بحدود 300 وقطرها 18 (أما جينوم الفايروس هو حامض نووي رايبي أحادي الخيط موجب التوجه وحيد القطعة ss RNA (+) Monopartite) بحجم 6384 نكلوتايدة ويمثل 5% من كتلة الفايروس ويتكون الكابسيد من نوع واحد من البروتين والوزن الجزيئي لوحدته 17 كيلو دالتن (21، 16).

المواد وطرائق العمل :

جمع العينات الورقية المحتمل اصابتها بفايروس موزائيك الطماطة (ToMV) *Tomato mosaic virus* وعينات التربة وحفظها

جمعت العينات الورقية من نباتات الطماطة المصابة التي تتميز باعراض الظاهرة على اوراق الطماطة بشكل موزائيك اصفر واخضر مع تشوه طفيف للاوراق وتقزم النباتات لغرض الحصول على فايروس موزائيك الطماطة (ToMV) *Tomato mosaic virus* ، واختبرت لهذا الغرض البيوت البلاستيكية المخصصة لانتاج الطماطة في كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل وذلك في فصل الربيع للعام 2011 وكانت الاعراض وكما مبين في (الشكل1).

الشكل 1: اعراض الموزائيك وتشوه الاوراق على نباتات الطماطة التي عزل منها فايروس موزائيك الطماطة ToMV.

وضعت عينات الاوراق في اكياس من البولي اثيلين وحفظت في الثلاجة تحت درجة حرارة 4 مْ لحين تنفيذ اجراءات التشخيص . جمعت خلال الزيارات المذكورة عينات تربة من وحول جذور النباتات التي اظهرت اعراض اصابة وذلك بعد ازالة الطبقة السطحية حول النباتات وبعمق 5سم ثم استمر اخذ العينة لغاية عمق 20 سم ومن كافة مناطق جمع العينات المصابة وكانت التربة رطبة عند اخذ العينات وضمن السعة الحقلية ثم حفظت عينات التربة في اكياس من البولي اثيلين وفي الثلاجة لحين اجراء الاختبارات اللاحقة عليها وبواقع 5 عينات في كل منطقة كما اخذت عينات التربة بنفس الطريقة المذكورة من اطراف البيت البلاستيكي والبعيدة عن النباتات المزروعة لغرض المقارنة .

دراسة تشخيص فايروس موزائيك الطماطة (ToMV) باختبار الاليزا ذو الاحتواء المزدوج DAS- ELISA

اخذت عينة ممثلة للاوراق التي جمعت من البيوت البلاستيكية (الفقرة1-1) والمحفوظة في الثلاجة عند درجة 4 مْ ، واجري عليها الاختبار المصلي وباستعمال اختبار الاليزا ذو الاحتواء المزدوج DAS-ELISA Double Antibudy Sandwich- Enzyme Linkd Immunosorbent Assay ، على وفق الطريقة التي ذكرها Clark و Adams (1977) والمحورة من قبل الجهة المنتجة وهي شركة نيوجين الاسكتلندية Neogene Scotland ، وكما مبين (الشكل 2) .

الشكل 2: الطقم التشخيصي المزود من قبل نيوجين الاسكتلندية لفايروس موزائيك الطماطة ToMV

أ. قناني المواد الكيمياوية المجهزة من الشركة والمحلول المترابط للفايروس

ب. اطباق البوليسترين المعاملة مسبقا بالمصل المضاد بالفايروس والمجهز من قبل الشركة

وكما مبين في الخطوات التالية :

1. حضر محلول الاستخلاص Extraction buffer بتركيز 10% بمزج 10 مل منه مع 90 مل ماء مقطر للحصول على 100 مل في بيكر زجاجي معقم سعة 100 لتر موضوع في حمام ثلجي عند 4 مْ .

2. حضر عصير الاوراق المصابة بالفايروس المراد تشخيصه بوزن 2غم من انصال الاوراق وسحقها في هاون خزفي معقم مع اضافة 10 مل من محلول الاستخلاص بتركيز 10% والمحضر في الفقرة اعلاه . رشح العصير خلال طبقة مزدوجة من قماش الموسلين في بيكر معقم سعة 100مل .

3. اضيف الى حفر طبق البوليسترين Polystyrene Microtiter Plate المسبق التغطية بالمصل المضاد للفايروس من قبل الشركة المنتجة مقدار 100 مايكروليتر لكل حفرة من حفر العمود الاول المخصص للعينات المصابة وباستعمال الماصة الدقيقة Micropippete، واضيف الى حفر العمود الثاني نفس المقدار من المحلول الفايروسي القياسي المجهز من قبل شركة نيوجين Neogene الاسكتلندية للمقارنة، ثم اضيف الى حفر العمود الثالث عصير الاوراق السليمة القياسي المزود من قبل الشركة المنتجة للمصل (تم استعمال اربع حفر من كل عمود).

4. حضن الطبق على درجة حرارة 4مْ ولمدة 24 ساعة في الثلاجة .

5. غسل الطبق بمحلول الغسل الدارئ Washing buffer ثلاث مرات بواسطة الماصة الدقيقة وبفاصلة امدها خمس دقائق بين الغسلة والاخرى ، مع قلب الطبق وتفريغه في محلول الغسل في كل مرة .

6. اضيف لكل حفرة مستعملة 100 مايكروليتر من المحلول الدارئ المترابط Conjugate buffer والمكون من المحلول الدارئ و الجلوبيولين المناعي النقي نوع IgG المرتبط بانزيم الفوسفاتيز القاعدي Alkaline phosphatase.

7. حضن الطبق على درجة 37مْ لمدة اربع ساعات في حاضنة .

8. غسل الطبق كما في الفقرة (6).

9. اضيف 100 مايكروليتر من محلول المادة الاساس P-nitro phenyl phosphate وهي مادة كاشفة عديمة اللون تتحول الى اللون الاصفر بفعل انزيم الفوسفاتيز القاعدي والمحضرة بتركيز 5 ملغم من المادة اعلاه / مل من المحلول الدارئ للمادة الاساس .

ترك الطبق عند حرارة الغرفة (25 ± 2مْ) لمدة 1-1,5 ساعة وبمكان مظلم ثم اوقف التفاعل باضافة 50 مايكروليتر من محلول هيدروكسيد الصوديوم NaOH تركيز 3 مولر الى كافة الحفر المستعملة وتم ملاحظة النتائج بصريا .

حفظ عزلة فايروس موزائيك الطماطة (ToMV) *Tomato mosaic virus*

اخذت اوراق طماطة من نفس النبات الذي اجري عليه التشخيص المصلي باختبار الاليزا ذو الاحتواء المزدوج DAS-ELASA وسحقت الوريقات بعد ازالة العرق الوسطي منها في هاون خزفي معقم مع كمية من المحلول الدارئ الفوسفاتي KH2PO4 بنسبة 1: 2 وزن : حجم، (اوراق : محلول دارئ) وبتركيز 0,01 مولر وباس هيدروجيني 7,6 ، ثم رشح المستخلص عبر طبقتين من قماش الموسلين، واستعمل الراشح في التلقيح الميكانيكي لعشرة نباتات طماطة صنف Pack more IMP اختيرت كنباتات حفظ لعزلة الفايروس بمرحلة نمو 4-6 اوراق وباستعمال مادة الكاربوندم 600 مش كمادة خادشة ، وحفظت النباتات في البيت البلاستيكي مع مراعاة السقي والتسميد المنتظمين وكذلك رشت بالمبيدين الفطريين الرادوميل والبينوميل بتركيز 2غم /لتر ماء وذلك لمنع حدوث الاصابات الفطرية ، وكذلك رشت بالمبيد العناكبي Vertimc بتركيز 0,5 مل لكل لتر ماء ومبيد الايكون بتركيز 6 مل لكل 10لتر ماء لمنع حدوث الاصابات المحتملة بالحشرات وخاصة الذباب الابيض . تم تجديد العزلة كل شهرين على نباتات طماطة جديدة وبذات الصنف وبالطريقة المبينة اعلاه بعصير محضر من اوراق النباتات التي حفظت عليها العزلة.

دراسة وجود فايروس موزائيك الطماطة (ToMV) في التربة

اثناء عملية جمع العينات الورقية لنباتات الطماطة المصابة بالفايروس في موسم 2011 جمعت عينات تربة من اطراف البيت البلاستيكي وبعمق 25 سم وكما مبين في الفقرة (1-1) حفظت العينات في اكياس من البولي اثيلين في الثلاجة عند 4مْ ، وخضعت هذه العينات لتجارب الكشف عن الفايروس بالطريقتين الآتيتين :

دراسة الكشف عن وجود الفايروس باستعمال طريقة Soil-bait

اخذت كمية من التربة بعد تنعيمها وتحسينها بالسماد العضوي المعقم وتوزيعها في عشرين اصيص وبقطر 25سم للاصيص الواحد ، وخصص عشرة منها لزراعة شتلات طماطة صنف Packmore IMP وبواقع شتلتين وبمرحلة نمو (3-4 اوراق) ، خفت فيما بعد الى شتلة واحدة /اصيص ، فيما خصصت الاصص العشرة الاخرى لزراعة بذور طماطة ولنفس الصنف وبعد الانبات خفت الى بادرة واحدة /اصيص وحفظت في البيت البلاستيكي لمدة شهر وتم مراقبة الاعراض الجهازية عليها بدقة مع مراعاتها بالسقي والتسميد والرش بالمبيدات الوقائية كما في الفقرة (1-3-1). كررت ذات الاجراءات وبنفس العدد من الشتلات والبذور التي زرعت وباستعمال التربة التي جمعت من اطراف البيت البلاستيكي (المقارنة).

دراسة الكشف عن وجود الفايروس باختبار الاليزا ذو الاحتواء المزدوجDAS-ELISA

تم اختبار وجود الفايروس في عينات التربة بعد تهيئتها وتنعيمها للكشف عن الفايروس فيها وذلك بعمل معلق التربة حسب الطريقة التي ذكرها Filhart واخرون (1998) وذلك بوزن 1 غم من التربة ومزجها مع 5مل من محلول الاستخلاص Extraction buffer بتركيز 10% والمحضر مسبقا والمزود من قبل شركة نيوجين Neogene الاسكتلندية ، الفقرة (1-2) ثم وزع المستخلص في اربعة انابيب صغيرة (ابيندورف) Eppendorf tubes سعة 1,5 مل .

ثم رجت يدويا لمدة دقيقة واحدة مع التقليب لضمان تجانس المعلق ثم عرضت الانابيب الى انتباذ واطئ على سرعة 250 دورة / دقيقة ولمدة 15 دقيقة ، اخذ رائق الانابيب الاربعة ووضع في بيكر صغير معقم وحفظ عند درجة حرارة 4مْ في حمام ثلجي ولمدة 24 ساعة وبعدها عرض المعلق الى انتباذ واطئ اخر بنفس السرعة والفترة الزمنية اعلاه . ثم اخذ منه بواسطة ماصة دقيقة 100 مايكروليتر وحقن في حفر طبق الاليزا ذو الاعمدة المتحركة باستعمال عمودين من الطبق واختبر وجود الفايروس في هذا المعلق بواسطة اختبار الاليزا DAS-ELISA.

دراسة نقل فايروس موزائيك الطماطة (ToMV) *Tomato mosaic virus* بالتربة الملوثة صناعيا

اختيرت تربة مزيجية وخلطت مع الخث (البيتموس) بنسبة 3: 1 ثم عقمت بالفورمالين 4% ولمدة 15 يوم في اكياس بلاستيكية مقفلة وعرضت للتهوية لنفس المدة واستعملت هذه التربة في الدراسة واجريت التجربة وفق طريقتي التلويث التاليتين.

دراسة نقل فايروس موازئيك الطماطة (ToMV) بتلويث التربة ببقايا النباتات المصابة

مزجت التربة يدويا مع اوراق الطماطة المصابة بالفايروس والماخوذة من نباتات الطماطة المستعملة لحفظ عزلة الفايروس والتي قطعت جيدا بالخلاط الكهربائي لعدة ثواني وبنسبة مزج 100 غم لكل 5 كغم تربة . وزعت

بعدها التربة الملوثة في 20 اصيص وخصصت الاصص العشر الاولى لزراعة خمس بذور طماطة صنف Pack more IMP CV. ثم خفت بعد الانبات الى بادرة واحدة لكل اصيص وخصصت الاصص العشر الثانية لزراعة الشتلاك وبواقع شتلة طماطة واحدة لكل اصيص من الصنف المذكور اعلاه واجريت تجربة المقارنة بنفس العدد من الاصص للشتلات والبذور التي زرعت في تربة غير ملوثة ببقايا النباتات . حفظت بعدها الاصص في البيت البلاستيكي لمدة شهرين من التلويث وتم مراقبة النباتات لملاحظة ظهور الاعراض الجهازية عليها وتم مراعاة عمليات السقي والتسميد والرش بالمبيدات الفطرية والحشرية والعناكبية خلال فترة التجربة كما في الفقرة (1-3-1).

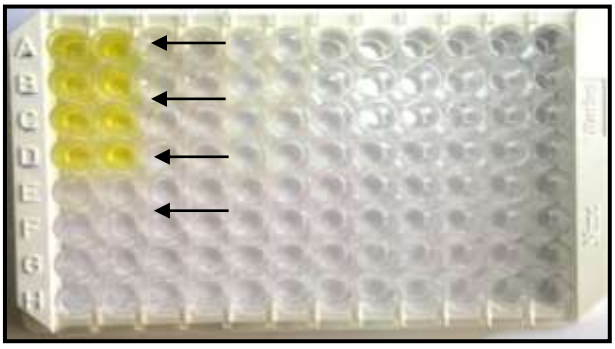
دراسة نقل فايروس موزائيك الطماطة (ToMV) بتلويث التربة بعصير النبات المصاب

حضر العصير النباتي الخام من اوراق طماطة مصابة ظهرت عليها اعراض الموزائيك والتي اخذت من نباتات الطماطة التي حفظت فيها العزلة القياسية لفايروس موزائيك الطماطة (الفقرة 1-3-1) ، وزعت كمية من التربة المهيأة اعلاه في 20 اصيص بقطر 25سم وبواقع 5كغم لكل اصيص . وتم سقي كل اصيص بمقدار 40 مل من العصير الخام المحضر في اعلاه أي بنسبة 1 مل عصير / 125 غم تربة ، وكانت تربة الاصص رطبة وضمن السعة الحقلية عند اضافة العصير ، وبعد السقي مباشرة زرعت الاصص العشر الاولى بخمسة بذور طماطة صنف Pack more IMP CV. ثم خفت بعد الانبات الى بادرة واحدة لكل اصيص . خصصت الاصص العشر الاخرى لزراعة شتلات طماطة وبنفس الصنف وبواقع شتلة واحدة لكل اصيص ، حفظت الاصص بعد ذلك في البيت البلاستيكي لمدة شهرين من التلويث وتم مراقبة النباتات لملاحظة ظهور الاعراض الجهازية عليها مع مراعاة عمليات السقي والتسميد والرش بالمبيدات الفطرية والعناكبية كما في الفقرة (1-3-1) . اجريت تجربة المقارنة بنفس العدد من الاصص للشتلات والبذور التي زرعت في تربة غير ملوثة بالعصير النباتي .

النتائج والمناقشة:

تشخيص فايروس موزائيك الطماطة (ToMV) *Tomato mosaic virus* باختبار الاليزا ذو الاحتواء المزدوج DAS-ELISA

أظهرت نتائج التشخيص وباستعمال اختبار الاليزا ذو الاحتواء المزدوج للعينات الورقية لنباتات الطماطة التي جلبت من الحقول (الفقرة 1-1) DAS-ELISA ، ظهور اللون الاصفر الواضح للعين في حفر عينات طبق الاليزا والذي يعني وجود جسميات الفايروس ToMV في العينات الورقية وعدم ظهوره في عينات المقارنة السالبة (عصير النبات السليم) ، كما ظهر ايضا في العمود المخصص لعينات المقارنة القياسي (المقارنة الموجبة) (الشكل 4).



شكل 4: الكشف عن فايروس موزائيك الطماطة ToMV باختبار الاليزا ذو الاحتواء المزدوج DAS-ELISA في حفر عينات طبق الاليزا بدلالة اللون الاصفر الواضح في عمودين عينات المقارنة والمقارنة الموجبة

بينت النتيجة ان الفايروس المعزول من عينات اوراق الطماطة التي جلبت من الحقل والتي اظهرت اعراض الموزائيك الاخضر والاصفر وحالات تشوه مختلفة على الاوراق ، وهو فايروس موزائيك الطماطة (ToMV) *Tomato mosaic virus* .

ان هذا الفايروس منتشر في حقول الطماطة في محافظة نينوى حيث تم تسجيله على هذا المحصول من قبل الجيرو (2010) علما انه فايروس واسع الانتشار على محصول الطماطة عالميا ومسجل عليها اينما زرعت (23، 3، 35) ، ولغرض تشخيصه استعملت طرق عديدة ، الا ان اكثرها استعمالا حاليا واسرعها في اظهار النتائج وفي موثوقيتها هي اختبارات ELISA ذو الاحتواء المزدوج DAS-ELISA حيث استعملت هذه الطرق المصلية في تشخيصه بكفاءة كونه من الفايروسات التي توجد بتركيز عالي في الانسجة النباتية المصابة وانه محفز مناعي جيد للحيوانات المنتجة للاضداد (11) واستعمل اختبار الاليزا من قبل عدد كبير من الباحثين وبكفاءة في الكشف عن هذا الفايروس ومنهم (10،14، 15، 34، 20).

وجود فايروس موزائيك الطماطة (ToMV) *Tomato mosaic virus* في التربة الطبيعية

الكشف عن فايروس موزائيك الطماطة(ToMV)*Tomato mosaic virus* في التربة الطبيعية باستخدام طريقة (Soil bait)

أظهرت نتائج الكشف عن الفايروس في التربة الطبيعية الملوثة به والتي جمعت من منطقة جذور نباتات الطماطة المصابة بعمق 5-25سم ومن البيوت البلاستيكية المخصصة لزراعة الطماطة في كلية الزراعة والغابات - جامعة الموصل وكما مبين في الجدول (1) وجود الفايروس في هذه العينات وبنسبة نقل وظهور للفايروس قدرها70% في حالة زراعة شتلات الطماطة صنف PackMore IMP بمرحلة نمو 3-4 اوراق ، وبنسبة 50% في حالة زراعة التربة ببذور الطماطة ولنفس الصنف المذكور. فيما كانت نسبة نقل وظهور الفايروس في النباتات التي زرعت في تربة بعيدة عن منطقة زراعة الطماطة في الحقل ، هي صفر % لكل من الشتلات والبذور المزروعة بهذه التربة.

الجدول 1: نسب نقل فايروس موزائيك الطماطة (ToMV) بالتربة الملوثة طبيعيا

نوع المعاملة	% النقل وظهور الفايروس
زراعة شتلات في تربة منطقة الجذور	70
زراعة بذور في تربة منطقة الجذور	50
زراعة شتلات في تربة غير مزروعة بالطماطة	صفر
زراعة بذور في تربة غير مزروعة بالطماطة	صفر

ظهرت الاعراض على النباتات المصابة بعد 15-20 يوما من زراعة الشتلات فيما تاخرت مع النباتات النامية من البذور لغاية شهر من الانبات ، ولم تظهر اية اعراض على شتلات الطماطة والنباتات النامية من البذور المزروعة في تربة اخذت من اطراف البيت البلاستيكي (المقارنة). ويعتبر هذا اول تسجيل لوجود ونقل فايروس موزائيك الطماطة ToMV بالتربة في العراق .

تدل هذه النتائج على قدرة فايروس موزائيك الطماطة ToMV على البقاء فعالا في التربة المحيطة بجذور نباتات الطماطة المصابة معد قدرته على الاصابة عن طريق الجذور ويفسر وجوده في التربة المحيطة وعدم وجوده في الترب البعيدة عن النباتات المصابة بانه ربما قد خرج عن طريق الجروح الميكانيكية من النباتات المصابة مع نضج الجذور الى منطقة التربة المحيطة Rhizospher وانه بقي مرتبطا بفاعلية مع حبيبات الطين في الاغشية المائية المحيطة فيها وبتراكيز كافية لاحداث الاصابة خاصة ان هذا الفايروس يعد من الفايروسات الثابتة ولها القدرة على البقاء لفترات طويلة خارج النسيج النباتي ، كما انه ينقل ميكانيكيا بسهولة عن طريق تلامس جسيماته مع الجروح غير المميتة في النبات ويمتاز بخواصه الفيزياوية المتطرفة حيث تبلغ درجة الحرارة المتلفة له Thermal inactivation point (TIP) بين 85- 90مْ ، وتتباين درجة التخفيف المنهية لفعاليته Dilution end point (DEP) بين 10-5 – 10-6 وقدرته على التعمير في العصير الخام Longevity in vitro (LIV) بحدود 500يوم (21، 11) وهي خواص تمنحه قدرة تحمل الظروف البيئية في التربة لفترة زمنية طويلة وبقاء قدرته المعدية للنباتات ودخوله اليها عن طريق جروح الجذور.

اظهرت النتائج ارتفاع نسبة الاصابة بفايروس الطماطة ToMV في الشتلات المزروعة في التربة الملوثة حيث وصلت الى 70% مقارنة بنسبة 50% عند زراعة البذور ، وقد يعزى ذلك الى ان جذور الشتلات وفرت مداخل للفايروس اكثر مما في جذور البادرات النامية من البذور وذلك عن طريق الجروح الميكانيكية الاضافية والتي حصلت خلال عملية الشتل .

تتفق هذه النتائج مع نتائج البحوث التي اكدت وجود فايروس موزائيك الطماطة ToMV فعالا في الترب الطبيعية حيث اشار(31) الى وجود الفايروس طبيعيا في عينات التربة التي تم فحصها ، واشار (2 ، 33) الى

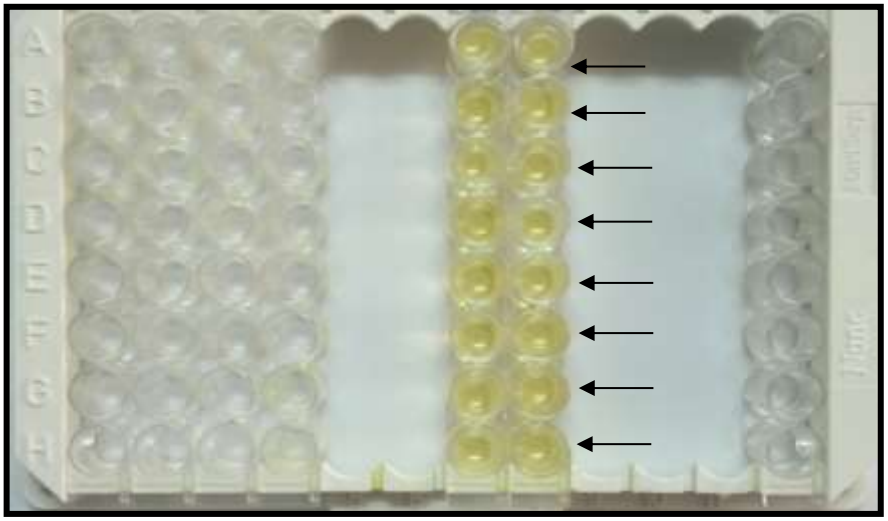
بقاء عدد من فايروسات النبات بالتربة ووجد ان فترة بقائها تتناسب طرديا مع زيادة رطوبة التربة وانخفاض درجة حرارتها . واشار (25) الى بقاء الفايروسات النباتية في التربة ضمن نظام حيوي معقد وبالتالي تعد التربة بيئة مناسبة لعدد في الفايروسات القادرة على البقاء فيها وانها تدمص على حبيبات التربة .

واستعمل (18) النباتات الصائدة في الكشف عن فايروس موزائيك الطماطة (ToMV) المحمول في التربة في العينات التي جمعها من ترب بعض الغابات الامريكية حيث استعمل نباتات الرغيلة *Chenopodium quinoa* كنبات صائد للفايروس واستعمل ايضا الطرق المصلية للتاكد من وجوده في هذه الترب .

واستعمل (9) النباتات الصائدة في الكشف عن الفايروسات المنقولة بالتربة التي تعود الى لاجناس Necrovirus و Potexvirus و Tobamovirus و Potyvirus في عينات التربة التي جمعها من ترب الغابات في ثلاث مواقع في المانيا .

الكشف عن وجود فايروس موزائيك الطماطة (ToMV) في التربة الطبيعية باختبار الاليزا ذو الاحتواء المزدوج DAS-ELISA

اظهر اختبار الاليزا ذو الاحتواء المزدوج DAS-ELISA وجود فايروس موزائيك الطماطة (ToMV) في عينات التربة التي جمعت والتي حضر معلقها وفق الطريقة المبينة في الفقرة (2-1-) ، وذلك بدلالة اللون الاصفر الذي ظهر في حفر العينات في العمود المخصص لها في طبق الاليزا وعدم ظهوره في حفر عينات التربة التي اخذت من اطراف البيت البلاستيكي ، وكما مبين في الشكل (5) .



الشكل 5: الكشف عن فايروس موزائيك الطماطة ToMV باختبار الاليزا ذو الاحتواء المزدوج DAS-ELISA لعينات التربة في حفر طبق الاليزا بدلالة اللون الاصفر الواضح في حفر العينات

تدل هذه النتيجة على وجود الفايروس في التربة المحيطة بالجذور وتؤكد النتائج التي تم الحصول عليها في الفقرة السابقة . استعملت العديد من الطرق المصلية والجزيئية في الكشف عن هذا الفايروس في التربة فقد كشف (31) عن فايروس موزائيك الطماطة ToMV مصليا في التربة . واستعمل (24) اختباري DAS-ELISA و TAS-ELISA للكشف عن الفايروسات المحمولة بالتربة.

نقل فايروس موزائيك الطماطة (ToMV) *Tomato mosaic virus* في التربة الملوثة صناعيا

أظهرت نتائج نقل فايروس موزائيك الطماطة(ToMV)*Tomato mosaic virus* بالترب الملوثة ببقايا نباتات الطماطة المصابة بالعزلة القياسية للفايروس ،نجاح بقاء وفاعلية فايروس موزائيك الطماطة (ToMV) في التربة وقدرته على اصابة نباتات الطماطة عن طريق الجذور ، وذلك بدلالة نسب الاصابة والاعراض الجهازية المتمثلة بالموزائيك والتي ظهرت على نباتات الطماطة الكاشفة الصائدة والتي زرعت في التربة الملوثة به حيث اظهر الجدول (2) ان نسبة نقل الفايروس وصلت الى 40% عند تلويث التربة ببقايا النباتات المصابة وزراعتها بالبذور فيما ارتفعت الى 60% عند زراعة الشتلات في هذه التربة . فيما لم تظهر اية اعراض على نباتات الطماطة التي زرعت في التربة الملوثة ببقايا النباتات المصابة ولكل من البذور والشتلات.

الجدول 2: نسبة اصابة نباتات الطماطة بفايروس موزائيك الطماطة صنف PackmorelMP والمزروعة في التربة الملوثة صناعيا

نوع المعاملة	% للاصابة	
	زراعة بذور	زراعة شتلات
تلويث التربة ببقايا النباتات المصابة	40	60
تلويث التربة بالعصير الخام للنباتات المصابة	30	40
تلويث التربة ببقايا النباتات السليمة (المقارنة)	صفر	صفر
تلويث التربة بالعصير الخام للنباتات السليمة(المقارنة)	صفر	صفر

كما اظهرت النتائج ايضا عدم ظهور الاعراض على بادرات وشتلات الطماطة المزروعة في التربة غير الملوثة ببقايا نباتات الطماطة المصابة او بالعصير النباتي للنباتات المصابة (المقارنة). تدل هذه النتائج على زيادة قدرة في الفايروس في تحقيق الاصابة بزيادة الجروح الميكانيكة حيث ازدادت مع الشتلات عنها في البذور بسبب ماتوفره جذور الشتلات من مداخل محتملة اضافية للفايروس متمثلة بالجروح الطبيعية الناشئة في الجذور نتيجة بزوغ او خروج الجذور الثانوية من الرئيسية فضلا عن الجروح الميكانيكية الناتجة من عملية الشتل مما يزيد من عدد المداخل الاضافية المحتملة للفايروس ، بينما لاتوفر النباتات الناتجة من البذور الا الجروح

الطبيعية فقط والتي يدخل عن طريقها الفايروس . كما ازدادت نسبة الاصابة في تجربة التلويث ببقايا النباتات المصابة عن تجربة التلويث بعصير اوراق النباتات المصابة وقد يعزى ذلك الى ان بقايا النباتات المصابة توفر بيئة افضل لبقاء الفايروس وخروجه فعالا منها عند تحلل الخلايا النباتية المصابة ، وبالتالي عدم تعرضه لفترات طويلة الى ظروف التربة غير المناسبة وخصوصا الحرارة والجفاف والتي تؤدي الى اتلافه ، بينما تزداد هذه الاحتمالات السلبية على الفايروس عند وجوده بشكل جسيمات حرة في العصير النباتي والذي هو اكثر عرضة لهذه المؤثرات مقارنة بوجوده داخل الخلايا ، وهذا يفسر زيادة نسب الاصابة في النباتات الكاشفة عند تلويث التربة ببقايا النباتات مقارنة بتلويثها بالعصير . اظهرت النتائج قدرة فايروس موزائيك ToMV على البقاء والاصابة في التربة الملوثة ببقايا النباتات المصابة ونقله منها الى النباتات السليمة عن طريق الجروح الميكانيكية والطبيعية للجذور الملامسة لحبيبات التربة التي يبقى الفايروس فيها مدمصا على الاغشية المائية المحيطة بها وانه يدخل الى الجذور بنفس الالية التي يستعملها عند دخوله الى الاوراق بواسطة التلقيح الميكانيكي ومما يساعد هذا الفايروس على البقاء في التربة لانه من الفايروسات الثابتة التي لها القدرة على البقاء خارج النسيج الحي لفترات طويلة حيث يمتاز خواصه الفيزياوية المتطرفة حيث تبلغ الحرارة المميتة له بين 85-90مْ والتخفيف المنهية لفعاليته يبن 10-5-10-6 وتصل مدة تعميره في العصير الخام الى 500 يوم (21، 11) . تدل النتائج على خطورة بقايا النباتات المصابة وبقائها في التربة في ادامة وجود الفايروس في الحقل وانها تشكل مصدرا مهما للاصابات الاولية في الزراعات الجديدة مما يستدعي الاهتمام بعملية تنظيف الحقل وازالة هذه المتبقيات وخصوصا في البيوت البلاستيكية المخصصة لزراعة الطماطة . اشار (22) الى ان فايروس موزائيك الطماطة ToMV يدمص على الاغشية المائية المحيطة بالتربة وذلك عند الكشف عنه في عينات التربة ومياه الصرف باستعمال النباتات الصائدة .اظهرت نتائج نقل فايروس موزائيك الطماطة ToMV بالترب الملوثة بعصير النبات المصاب ،ان نسبة الاصابة وكما مبين في الجدول (2) كانت 30% وذلك عند زراعة البذور في تربة ملوثة بالعصير فيما ارتفعت الى 40% عند استعمال الشتلات. اظهرت النتائج زيادة نسبة الاصابة عند استعمال الشتلات مقارنة بالبذور وذلك لنفس الاسباب المذكورة في الفقرة السابقة حيث توفر جذور الشتلات مداخل اضافية للفايروس .فيما لم تظهر اعراض على نباتات الطماطة التي زرعت في التربة الملوثة بالعصير ولكل من البذور والشتلات . كما بينت النتائج ان نسب ظهور الفايروس ونقله كانت اعلى في التربة الملوثة ببقايا النباتات المصابة مقارنة بتلك التي حصلت في التربة الملوثة بالعصير النباتي (الجدول 2) ويفسر ذلك بالتاثير المباشر لظروف التربة وكذلك العصير على الجسيمات الفايروسية غير المحمية مما قلل من قدرتها على الاصابة والبقاء ، فيما كان لهذه الظروف تاثيرا اقل على الجسيمات الموجودة في الخلايا النباتية للانسجة الميتة والتي احتفظت بقدرة اكبر على البقاء وقدرة الاصابة .

References :

1. **Abdul Sattar, M.H. and M.N. Haithami (1986)** Disease of major crops in Democratic Yemen and their economic importance. *FAO Plant Protection Bulletin*, 34: 73-76.
2. **Adams, M.J., J.F. Antoni and J. Mullins (2001)** Plant virus transmission by plasmodiophorid fungi is associated with distinctive trans membrane regions of virus encoded proteins. *Archives of Virology*, 146: 1139-1152.
3. **Al Gero. Anaheed waadallah dahaam (2010)**. Diagnosis study for some Tomato viruses in Ninewah governorate, Ph.D. College Agriculture Forestry, University of Mosul.
4. **Al-Musa, A. and A. Mansour (1983)** Plant viruses affecting tomato in Jordan, Identification and prevalence. *Phytopathologische Zeitschrift*, 106: 186-190.
5. **Avgelis, A . D . and V . I . Manios (2005)** Elimination of tomato mosaic virus by composting tomato residues. *European. Journal of Plant Pathology*, 95: 167-170 .
6. **Ben Moussa, A., M. Makni and M. Marrakchi (2000)** Identification of the Principal Viruses Infecting Tomato Crop in Tunisia. Bulletin OEPP, 30: 293-296.
7. **Boben, J . ; K . Petra ; P . Natasa ; C . katarina ; P . Matjaz ; S . Ales and R. Maja (2007)** Detection and quantification of tomato mosaic virus in irrigation waters. **European Journal** of **Plant Pathology**,118:59-71.
8. **Brunt, A. K. Crabtree ; M. Dallwitz ; A. Gibbs and L. Watson (1996)**. Viruses of plants. Descriptions and lists from the VIDE Database. CAB International Cambridge Univ. Press, Cambridge.
9. **Buttner C. and E. Nienhaus (2007)** Virus contamination of soils in forest ecosystems of the Federal Republic of Germany. *European Journal of Forest Pathology*, 19(1), 47-53.
10. **Cherian Shoba, Jomon Joseph, V. Muniyappa and H.S. Savithri (1999)** Characterization of *Tobacco mosaic virus* isolated from tomato in India. Depart. Of Biochemistry, Indian Institute of Science, Bangalore 560012, India, Depart. Of Plant Pathology, Univ. of Agriculture Sciences, GKVK, Bangalore 560065.
11. **Cherian, S. ; J. Joseph ; V. Muniyappa and H.S. Savithr. (2009).** Characterization of Tobacco mosaic virus isolated from tomato in India.
12. **Clark, M. and A. Adams (1977).** Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. **Journal** of **General Virology**, 34: 475-485.

13. **Clover, G.R.G. Ratti, C. Henry, C.M (2001)**.Molecular characterization and detection of European isolates of soil borne wheat mosaic virus. *Plant Pathology*, 50 (6):761-767
14. **Dekker, E.L. Dove, C. Porta and M.H.V.L. Regenmorte (1987)** Conformational specificity of monoclonal antibodies used in the diagnosis of tomato mosaic virus, 94:191-203.
15. **Duarte, M.R. Keila ; Luiz Humberto Gomes ; Jean-Luc Gesztesi ; Jose Daniel Lopes ; and Flavio. C.A. Tavares (2001)**. Monoclonal Antibodies to Identify Tomato Mosaic Tobamovirus (TOMV). Brazilian Journal of Microbiology, 32(3):117-124.
16. **El-Afifi, S.I., A.S. Sadik, M.H. Abdel-Ghaffar and A.M. El-Borollosy (2004)**. Molecular characterization of an Egyptian isolate of tomato mosaic Tobamo virus. *Annals of Agricultural Science*, 49: 467-483.
17. **Elshafie, E., G. Daffalla, K. Gebre and G. Marchoux (2005)**. Mosaic-inducing viruses and virus like-agents infecting tomato and pepper in Sudan. International Journal of Virology, 1: 28.
18. **Fillhart, R.C. ; G.D. Bachand and J.D. Castello (1998)** Detection of infectious tobamoviruses in forest soils. Appl. Environ. Microbiol. 64: 1430-1435.
19. **Fleger,P,F,L andR,G, Zeyen (2008)**Tomato-Tobacco mosaic virus disease . Plant pathology 6 University of Minnesota / Extension , ww-01168.
20. **Hajiabadi ,,Silva, P.P., R.A. Freitus and W.M. Nascimento (2012)** Detection of tomato mosaic virus in tomato seed and treatment by thermotherapy. Page 1:1, ISHS Acta Horticulturae 917: international horticultural International Symposium on Plant Protection.
21. **Holling, M. and H. Huttinga (1976)** Tomato mosaic virus. Descriptions of Plant Viruses, C.M.I / A.A.B. No.85.
22. **Jacobi, V. and D. John Castello (1991)** Isolation of tomato mosaic virus from waters draining forest stands in New York State. Ecology and Epidemiology, Phytopathology, 81: 1112-1117
23. **Jan, F.J. ; C.C. Chen and H.T. Hsu (2003)** Identification of Tomato mosaic virus infection in *Lisianthus* in Taiwan. Plant Disease 87: 1537.
24. **Jezewska, M. and K. Trzmiel (2010)** Studies on cereal soil-borne viruses in Poland. *Journal of Plant Protection Research*, 50: 527-534.
25. **Kimura, M. ; Z. Jia, N. Nakagama and S. Asakawa (2008)**. Ecology of viruses in soils : past, present and future perspectives. Soil Science and Plant Nutrition 54: 1-32.

26. Makkouk, K.M. (1976) Reaction of tomato cultivars to tobacco mosaic and tomato yellow leaf curl viruses in Lebanon. *Polyoprivredna Znanstvena Smotra* (Zagreb), 39: 121-126

27. Martelli, G.P. ; M. Russo and L. Rubino (2001) Tomato bushy stunt virus. *Description of Plant Viruses*, AAB, (382).

28. Mazyad, H.M., K.R. Stino, A.A. radwan and F. Nour El-din (1969) Identification of two strains of *Tobacco mosaic virus* in U.A.R. *Agricultural Research Review*, 47:55 -65.

29. Moghal, S., P. Shivanathan, A. Mani, A.D. Al-Zadjali, T.S. Al-Zadjali and Y.M. Al-Raeesy (1993) Status of pests and diseases in Oman : Series 1: Plant Diseases in the Batinah. Mazzon Printing Press, Directorate General of Agricultural Research, Rumais, Sultanate of Oman. Document.150pp

30. Nechadi, S., F. Benddine, A. Moumen and M. Khedolam (2002) Etatdes Maladies virales de la tomato et strategie de lutte en Algerie. EPPO/OEPP Bulletin, 32: 21-24.

31. Plese , N. Nikola Juretic, Djordje Mamula, Zdenko polak and Mladen krajacic (1995) Plant viruses in Soil and water Forest Ecosystems in Croatia, *Phyton* (Horn, Austria), 36(1): 135-143 .

32. Qassim, Nabel Aziz (2011) Plant viruses , Dar Alola for copy right , Mosul, Iraq, 555P.

33. Schultz, D. and R. French (2009). Soil-borne wheat mosaic virus. Agri. Life Expension, Texas A and M. System.

34. Silva, P.P., R.A. Freitus and W.M. Nascimento (2010) Detection of tomato mosaic virus in tomato seed and treatment by thermotherapy. Page 1:1, ISHS Acta Horticulturae 917: international horticultural International Symposium on Plant Protection

35. Valizadeh ,M. Jafar valizadeh and Majid Jafari (2011) Identification , Distribution and Incidence of important Tomato and cucurbits viruses in the southeast of Iran. *Of Plant Physiology*, 6:242-251.

36. Walkey, D.G.A. (1992). Plant Virus of Yemen and Associated Areas. London, UK : Overseas Deve Abdelsalam lopment Administration 168 pp.