الكشف عن الفيروسات التي تصيب محصول البطاطا في المنطقة الجنوبية من ريف دمشق (سورية)

Detection of Potato Viral Diseases in Southern Parts of Rural Damascus/Syria

م. ميادة أديب حاج علي[2-1] د. هدى قواص [2] د. يوسف أبو أحمد[3]

Mayadah Adib Hajali H. Kawas Y. Abu-Ahmad

(2-1) الهيئة العامة للتقانة الحيوية، دمشق، سورية. mayyada.hajali@gmail.com

(2) قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة دمشق، دمشق، سورية.

(3) الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، دمشق، سورية.

الملخص

أجري مسح حقلي في ست مناطق لزراعة محصول البطاطا في محافظة ريف دمشق(سورية) خلال موسم 2013/2012، جُمعت خلاله 98 عينة نباتية مصابة ظاهرياً. اختُبرت العينات النباتية مصلياً باستخدام اختبار الادمصاص المناعي المرتبط بالانزيم (ELISA) تجاه أمصال فيروس التفاف أوراق البطاطا Potato leaf roll virus (PLRV، جنس ***Polerovirus***، فصيلة Luteoviridae)، وفيروس البطاطا Potato virus YY (PVY، جنس ***Potyvirus***، فصيلة Potyviridae)، وفيروس البطاطا Potato X virus X (PVX، جنس ***Potexvirus***، فصيلة Alfaflexiviridae)، وفيروس البطاطا Potato virus S (PVS، جنس ***Carlavirus***، فصيلة Betaflexiviridae)، وفيروس البطاطا Potato virus AA (PVA، جنس ***Potyvirus***، فصيلة Potyviridae)، وفيروس البطاطا Potato virus MM (MVP، جنس ***Carlavirus***، فصيلة Betaflexiviridae).

بلغت النسبة المئوية للإصابة 81.6 % ، في حين لم تبد 18 عينة أي تفاعل تجاه الأمصال المختبرة، وسجلت أعلى نسبة مئوية للإصابة في منطقة زاكية وبيت سابر والكسوة وبلغت 92.9 %، وأدناها في منطقة سعسع (64.2 %). وبلغت النسبة المئوية للإصابة بفيروسات البطاطا PVY وPVX و PLRV 63.3% و34.7% و20.4 % على التوالي، وكانت العينات المختبرة سلبية التفاعل تجاه أمصال فيروسات PVS و PVS و PVM. كما أبدت معظم العينات إصابةً مزدوجةً بأكثر من فيروس.

يعزى انتشار الفيروسات إلى استخدام بذار غير معتمد، ويوصى بإجراء المزيد من المسوحات، والاعتماد على إنتاج أمصال من سلالات فيروسية محلية وتحسين طرائق الكشف عن الفيروسات.

الكلمات المفتاحية : فيروسات البطاطا، ELISA, PVM, PVS, PVA, PVX, PVY, PLRV.

Abstract

A field survey was conducted in 6 potato growing regions in Rural Damascus Province during 2012 / 2013. 98 Collected morphologically infected samples were examined depending on serological tests (ELISA) using Potato leaf roll virus (*Polerovirus*: Luteoviridae, PLRV), Potato virus Y (*Potyvirus*: Potyviridae,PVY), Potato virus X (*Potexvirus*: Alfaflexiviridae,PVX),Potato virus S (*Carlavirus*: Betaflexiviridae, PVS), Potato virus A (*Potyvirus*, Potyviridae, PVA) and Potato virus M (*Carlavirus*: Betaflexiviridae, PVM) antisera. The infection percentage was 81.6%, whereas 18 samples didn't give any reaction toward these antisera. Viral disease percentage was high in Zakia, Beat-Saber and

©2015 The Arab Center for the Studies of Arid Zones and Dry Lands, All rights reserved.

ISSN:2305 - 5243

Keswa (92.9%), whereas, Sa'sa' had the lowest viral percentage (64.2%). PVY (63.3%), PVX (34.7%) and PLRV (20.4%) were the most prevalent viruses in almost all potato samples, while PVA, PVS and PVM weren't prevalent. Almost all samples were infected via complex infection with more than one virus. Moreover, mixed virus infections were observed in some of collected samples. Viral infection occurrence may be due to the use of non-certified potato seeds, so, extra surveys are recommended, working on antisera produced from local viral strains and improve of viral detection methods.

Keywords: Potato viruses, PLRV, PVY, PVX, PVA, PVS, PVM, ELISA.

المقدمة

تُعد الأمراض الفيروسية من الأسباب الرئيسة التي تقف وراء انخفاض إنتاج محصول البطاطا في سورية، ويشغل فيروس PLRV المرتبة الثانية من حيث الخطورة والضرر بعد فيروس البطاطا Y،وينتقل كلا الفيروسين بوساطة حشرات المنّ (Srinivasan وAlvarez، 2007) التي تعد من الآفات المهمة التي تسبب أضراراً على محصول البطاطا، وتتجلى خطورة هذه الحشرات في نقل الإصابة بالفيروس، وإحداث الإصابة الأولية في بداية الأمر، ثم العدوى الثانوية عند الانتشار الوبائي للفيروسات بوساطة حشرات المن الحاملة للفيروس، إلا إن الخسارة الاقتصادية تصل لأعلى مستوياتها عندما تصاب النباتات بالمعقد الفيروسي الناتج من الإصابة بفيروس PLRV مع الفيروس PVX أو مع الفيروس PVY (Singh وزملاؤه، 1988 Choueiri وزملاؤه، 2004).

يصاب محصول البطاطا حقلياً بما يزيد عن 37 فيروساً (Beemster وDe Bokx، 1987). ويُعد فيروس التفاف أوراق البطاطا Potato leaf roll virus (PLRV، جنس ***Polerovirus***، فصيلة Luteoviridae) من أهم الفيروسات التي تصيب البطاطا في العالم، إذ لوحظت أعراضه في حقول البطاطا في محافظة ريف دمشق سنوياً منذ عام 2011، وازدادت نسبة تردده في بعض الحقول مترافقاً ذلك بوجوده بصورة معقد فيروسي مع فيروس البطاطا X (PVX، جنس ***Potexvirus***، فصيلة Alfaflexiviridae). سُجلت عدة فيروسات على محصول البطاطا في العديد من الدول العربية ومنها سورية، أهمها PLRV وPVY وPVX، وفيروس البطاطا A (PVA، جنس ***Potyvirus***، فصيلة Potyviridae)، وفيروس البطاطا S (PVS، جنس ***Carlavirus***، فصيلة Betaflexviridae)، وفيروس البطاطاM (PVM، جنس ***Carlavirus***، فصيلة Betaflexiviridae) (حاج قاسم وزملاؤه، 1997؛ حاج قاسم ورفاعي، 2011؛ قواص، 2009؛ منصور وزملاؤه، 2008). دُرس تأثير العوامل التي تشترك في تطور الأوبئة مثل العامل الممرض و المضيفات النباتية وتأثير الظروف البيئية في زمن معين، لأن فهم وبائيات المرض تمكن من التنبؤ بتطورها، فاقترحت العديد من الطرائق للحد من انتقال وانتشار الفيروسات، ووضعت برامج إكثار البذار وإنتاج مواد نباتية خالية وموثقة مع تطبيق بعض الطرائق الزراعية، والعمل على التخلص من النباتات المصابة، ومعرفة المحاصيل المجاورة، كما استُخدمت المعالجة الحرارية لدرنات البطاطا وزراعة الأصناف المقاومة ومكافحة الأعشاب الضارة ومكافحة الحشرات الناقلة كالمن (Saied وزملاؤه،2005؛ Khan وزملاؤه، 2009؛ Wang وزملاؤه،2011؛ بشير وزملاؤه، 2014).

ونظراً لقلة الدراسات المحلية حول فيروس التفاف أوراق البطاطا، وبهدف تنقيته وانتاج المصل المضاد والتعريف والتوصيف الجزيئي للعزلات، اتجه هذا الجزء من البحث نحو إجراء مسح حقلي للتعرف على أهم الأمراض الفيروسية الموجودة في محافظة ريف دمشق، وحفظ العينات لاستخدامها للأهداف الأخرى.

مواد البحث وطرائقه

المسح الحقلي وجمع العينات:

أجري مسح حقلي في 6 مناطق رئيسة لزراعة محصول البطاطا بمحافظة ريف دمشق في موسم 2013/2012 جُمع خلاله 98 عينة من نباتات بطاطا تبدو عليها أعراض الإصابة بالأمراض الفيروسية (الجدول 1)، وتم حفظ العينات مباشرةً على درجة حرارة 4 درجة مئوية.

عزل وتشخيص الإصابات الفيروسية:

فُحصت جميع العينات في مختبر الفيروسات في كلية الزراعة بجامعة دمشق (سورية)، ومختبرات الهيئة العامة للتقانة الحيوية، باستخدام اختبار الادمصاص المناعي المرتبط بالإنزيم اليزا (ELISA) وفق الطريقة الموصوفة من قبل Clark وAdam (1977) للكشف عن فيروسات البطاطا: PLRV وPVY وPVX وPVS وPVA وPVM ، وباستخدام المصل المضاد الخاص المنتج من قبل شركة Bioreba، يُعد التفاعل إيجابياً والعينة مصابةً عندما تكون قراءة الامتصاصية الضوئية عند طول موجه 405 نانومتر لمتوسط مكررين أعلى من قراءة الشاهد السلبي مضافاً لها ثلاثة أمثال قيمة الانحراف المعياري Standerd deviation (De Savigny وVoller، 1980).

الجدول 1. أعداد عينات البطاطا التي ظهرت عليها أعراض توحي بإصابة فيروسية، من ضمن العينات المجموعة من مختلف حقول المزارعين خلال الموسم الزراعي 2013/2012 في ريف دمشق/سورية.

المنطقة	عدد الحقول	عدد العينات المختبرة
الكسوة	3	14
بيت جن	3	12
بيت سابر	3	15
خان الشيح	1	5
زاكية	5	24
سعسع	5	28
المجموع	20	98

النتائج والمناقشة

بين المسح الحقلي انتشار فيروسات PLRV وPVY و PVX التي تقف وراء انخفاض إنتاج محصول البطاطا في سورية، كما بين عدم انتشار PVA، PVM، PVS بناءً على الاختبارات المصلية.

بينت نتائج الاختبار المصلي لعينات البطاطا المصابة ظاهرياً (98 عينة) إصابة 19 من 20 حقلاً ، بحيث سجلت العينات المختبرة من حقول زاكية وبيت سابر والكسوة أعلى نسبة إصابة بالفيروسات. و ترافقت الإصابة بظهور مختلف أعراض الإصابة الفيروسية من الموزاييك والشحوب واصفرار والتفاف الأوراق وتقزم نباتات العينات المصابة عند درجات الحرارة المرتفعة وبوجود حشرات المنّ، ولاسيما منّ الدراق الأخضر *Myzus persicae*، وكانت نسبة الإصابة بفيروس PVY الأعلى ، تلتها الإصابة بفيروس PVX ، وحل فيروس PLRV ثالثاً. بينما لم يتم الكشف عن فيروسات البطاطا PVA و PVM و PVS لأسباب قد تعزى لقلة ترددها خلال الموسم، أو لانخفاض تركيزها في العينات إلى ما دون عتبة التشخيص باختبار اليزا.

الجدول 2. نتائج الاختبارات المصلية لعينات البطاطا التي ظهرت عليها أعراض توحي بإصابة فيروسية، المجموعة خلال الموسم الزراعي 2013/2012 في ريف دمشق/سورية.

المنطقة	عدد العينات المختبرة	عدد العينات المصابة	نسبة الإصابة (%)
الكسوة	14	13	92.8
بيت جن	12	8	66.6
بيت سابر	15	14	93.3
خان الشيح	5	4	80.0
زاكية	24	23	95.8
سعسع	28	18	64.2
المجموع	98	80	81.6

تبين في هذا البحث أن فيروسي البطاطا PVY و PVX هما الأكثر انتشاراً في المنطقة الجنوبية من محافظة ريف دمشق، حيث انتشرت الإصابة في 19 حقلاً بإصابة 80 عينة (81.6%) من أصل 98 بإصابة فيروسية على الأقل بفيروس واحد من الفيروسات الستة المختبرة (الجدول 2)، في حين لم تبد 18 عينةً أي تفاعل تجاه جميع الأمصال المضادة. وسجلت العينات المصابة في زاكية وبيت سابر والكسوة نسباً تجاوزت 92.8 %، تلتها عينات خان الشيح بنسبة بلغت 80 %، في حين بلغت نسب الإصابة في بيت جن وسعسع نحو 65 %، وبلغت النسبة المئوية للإصابة بفيروس PVY (63.3 %)، وفيروس PVX (34.7 %)، وفيروس PLRV (20.4 %) (الجدول 3)، في حين لم تظهر أي إصابة بفيروسات البطاطا PVM، PVS، PVA (الجدول 3)، و تم تشخيص وجود إصابة مفردة بفيروس واحد فقط في 42 عينةً فقط: 32 عينة مصابة فقط بفيروس PVY، و9 عينات مصابة فقط بفيروس PVX، في حين لم يتم تشخيص إصابة مفردة بفيروس PLRV سوى في عينة واحدة مجموعة من خان الشيح (الجدول 4).

الجدول3. نتائج الاختبارات المصلية لعينات البطاطا المشتبه بإصابتها بفيروس التفاف أوراق البطاطا PLRV، المجموعة خلال الموسم الزراعي 2013/2012 في محافظة ريف دمشق/سورية*.

المنطقة	عدد العينات المصابة/ الكلي	عدد العينات المتفاعلة إيجابياً مع الأمصال المضادة لـ:					
		PVY	PLRV	PVX	PVA	PVS	PVM
الكسوة	14/13	9	2	6	0	0	0
بيت جن	12/8	5	2	2	0	0	0
بيت سابر	15/14	11	7	6	0	0	0
خان الشيح	5/4	3	1	0	0	0	0
زاكية	24/23	20	3	10	0	0	0
سعسع	28/18	14	5	10	0	0	0
المجموع	98/80 %(81.6)	62 (63.3%)	20 (20.4%)	34 (34.7%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

*: الأرقام بين الأقواس تعبر عن النسبة المئوية للإصابة بكل فيروس بشكل عام سواء في الإصابة المفردة بفيروس واحد أو في الإصابة المختلطة بأكثر من فيروس.

الجدول 4. توزع العينات المتفاعلة إيجابياً مع الأمصال المضادة في الإصابات المفردة والمختلطة للعينات الورقية للبطاطا المجموعة خلال الموسم الزراعي 2013/2012 في ريف دمشق / سورية*.

المنطقة	عدد العينات المصابة	الفيروسات التي تم تشخيصها في العينات الورقية للبطاطا					
		PVY	PLRV	PVX	PLRV + PVY	PVY + PVX	PLRV + PVX
الكسوة	13	6	0	3	1	2	1
بيت جن	8	4	0	2	1	0	1
بيت سابر	14	4	0	0	4	3	3
خان الشيح	4	2	1	0	0	1	0
زاكية	23	11	0	2	2	7	1
سعسع	18	5	0	2	3	6	2
المجموع	80	32 (40%)	1 (1.25%)	9 (11.25%)	11 (13.75%)	19 (23.75%)	8 (10%)

*: الأرقام بين الأقواس تعبر عن النسبة المئوية للإصابة بكل فيروس بشكل عام سواء في الإصابة المفردة بفيروس واحد أو في الإصابة المختلطة بأكثر من فيروس.

كما تم الكشف عن إصابات مزدوجة بفيروسين في 38 عينة ورقية: 19 عينة ذات اصابة مزدوجة (PVY+PVX)، و11 عينة مصابة بفيروسي (PLRV+PVY)، بينما أبدت ثماني عينات إصابةً مزدوجةً بفيروسي (PLRV+PVX)، ولم تظهر نتيجة الاختبار إصابة أي عينة بأكثر من فيروسين (الجدول 4). وهذا يتفق مع دراسة أجريت في المنطقة الشمالية من سورية من قبل حاج قاسم ورفاعي (2011)، وتوافقت مع نتائج Singh وزملائه (1988) و Choueiri وزملائه (2004).

اختلفت نتائج هذا البحث نسبياً عن دراسة أجريت في المنطقة الجنوبية خلال الفترة من 1997 إلى 2008، حيث سُجل وجود فيروسات البطاطا PLRV و PVY و PVX و PVS و PVA و PVM، وفيروس الاصفرار الغربي للشوندر BWYV، وفيروس الذبول البقعي للبندورة TSWV ، وفيروس موزاييك الخيار CMV، وفيروس موزاييك الفصة AMV (قواص،2009).

إن النسبة المئوية المرتفعة لعينات الكسوة وبيت سابر وزاكية قد تعزى إلى الظروف البيئية المناسبة لانتشار حشرات المنّ، الأمر الذي يؤدي لانتشار PLRV و PVY بسهولة من نبات لأخر ومن حقل لآخر (Eastop، 1953) بوساطة حشرات المنّ بالطريقة غير المثابرة (Kennedy وزملاؤه، 1962؛ Khan وزملاؤه، 2009؛ Wang وزملاؤه،2011)، كما تعزى إلى أن المناطق الكسوة وبيت سابر وزاكية تزرع البطاطا وبكثافة أكبر وباستمرارية سنوية أكثر من المناطق الأخرى باستخدام بذار غير معتمدة أو من بذار مصابة من الموسم السابق، كما أن النشاط البشري بالانتقال ضمن حقول البطاطا يساعد على انتشار فيروس PVX بسهولة بالاحتكاك وبمختلف العوامل الميكانيكية (Beemster وRozendaal، 1972) وعبر التربة الملوثة بالفيروس أو دون نواقل حيوية (Koenig، 1986؛ Robert وزملاؤه، 2000، Papko وزملاؤه، 2001؛ Saied وزملاؤه، 2005).

الاستنتاجات والمقترحات

- بين المسح الحقلي لمناطق زراعة محصول البطاطا في محافظة ريف دمشق انتشار ثلاثة فيروسات: التفاف أوراق البطاطا PLRV، وفيروس البطاطا Y، وفيروس البطاطاX، وتمثل المسببات الفيروسية المهمة التي تؤدي إلى خفض إنتاج محصول البطاطا في سورية، ولذلك يوصى بتوسيع المسح الحقلي ليشمل مناطق زراعة البطاطا في سورية وزيادة عدد العينات المختبرة.
- أدى عدم تطبيق أي من استراتيجيات الإدارة المتكاملة، ولاسيما مكافحة حشرات المن وهي العامل الرئيس في انتقال وانتشار العديد الفيروسات في حقول البطاطا في ريف دمشق إلىانتشار فيروسات البطاطا، ولاسيما PLRV وPVY.
- أدت زراعة بذار بطاطا غير معتمد من بلدان الجوار أو من بذار الموسم السابق من قبل المزارعين أنفسهم إلى تراكم الإصابات الفيروسية وارتفاع نسبة الإصابة الثانوية، لذلك يوصى بزراعة بذار بطاطا سليم، وتشجيع برامج إكثار بذار البطاطا المحلي والخالي من الفيروسات، واستخدام برامج التنبؤ في رصد نشاط النواقل الحشرية وتطبيق الاجراءات في المواعيد المناسبة للحد من نشاطها، وبالتالي تقليل انتشار الفيروسات.
- العمل على تحسين طرائق تشخيص الإصابة للكشف عن السلالات المحلية وإنتاج المصل المضاد لها، مما يسمح بالفحص الروتيني للفيروس كجزء من الفحص الروتيني لفيروسات البطاطا المنتجة محلياً أو حتى المستوردة .
- التعمق في دراسة النواقل الحيوية لسلالات فيروس التفاف أوراق البطاطا بدءاً من فرد واحد لتحديد كفاءة أنماط وأنواع المن في النقل الحيوي ولتوصيف هذه السلالات وتحديد قدرتها الإمراضية.

المراجع

- بشير،عبد النبي وهدى قواص وخالد العسس ودعاس عز الدين. 2014. إدارة الآفات. 463 صفحة، منشورات جامعة دمشق.
- حاج قاسم، أمين عامر، سعيد الحسن ورهف شيخ أمين. 1997. حصر أهم الفيروسات التي تصيب البطاطا في شمال سورية. مجلة الباسل لعلوم الهندسة الزراعية، 3: 96-91.
- حاج قاسم، أمين عامر، وأم التقى غفران الرفاعي. 2011. التعرف على أهم الفيروسات التي تصيب البطاطا في سورية. مجلة وقاية النبات العربية، مجلد 29، عدد 2: 170 - 165.
- قواص، هدى.2009 . الأمراض الفيروسية على البطاطا في جنوب سورية. المؤتمر العربي العاشر لعلوم وقاية النبات. 26 - 30 تشرين الأول/ اكتوبر 2009 بيروت ، لبنان.
- منصور، عقل، أمين عامر حاج قاسم، نداء سالم، ايليا شويري، يوسف أبو جودة، جبر خليل ونبيل عزيز.2008. الفيروسات التي تصيب محصول البطاطا/البطاطس. في: الأمراض الفيروسية للمحاصيل الزراعية المهمة في المنطقة العربية. خالد محي الدين مكوك، جابر ابراهيم فجلة وصفاء غسان قمري (مؤلفون). الجمعية العربية لوقاية النبات، دار النهضة العربية، بيروت ، لبنان. الصفحات 273 - 308.
- Beemster, A.B.R. and J.A. De Bokx. 1987. Survey ofproperties and symptoms. In: Viruses of Potatoes and seed-potato production. J.A.De Bokx and J.P.H. van der Want (eds.). Wageningen, Netherlands. PUDOC: 84 - 113.
- Beemster, A.B.R. and A. Rozendaal. 1972. Potato viruses: properties and symptoms, In: Viruses of potatoes and seed potato production. de Bokx, J. A., (Ed.). Pudoc, Wageningen. : 115 - 143.
- Choueiri, E., S. El-Zammar, F. Jreijiri, D. Mnayer, R. Massad, A.T. Saad, L. Hanna and C. Varveri. 2004. Phytosanitary status of potato in Bekaa valley in Lebanon. EPPO Bulletin, 34: 117 - 121.
- Clark, M.F. and A.N. Adams. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. Journal of General Virology 34: 475 - 483.
- De Savigny, D. and A. Voller. 1980. The communication of ELISA data from laboratory to clinician. Journal of Immunoassay, 1: 105 - 128.
- Eastop, E.F. 1953. Notes on East African aphids: 11 polyphagous species. East African Agricultural and Foresty Journal 18: 184 - 186.
- Kennedy, J.S., M.F. Day and V.F. Eastop. 1962. A Conspectus of Aphids as Vectors of Plant Viruses. Wallingford, UK: CAB INTERNATIONAL.
- Khan. S. A.;M.M. Mahmood, K. Farooq, S. Riaz and M. Reman. 2009. Evaluation of (TPS) true potato seed tuber lets sizes for yield grades at Potato Research Station, Sailkot. PJST 2(13 - 14): 25 - 29.
- Koenige, R. 1986. Plant viruses in rivers and lakes. Adv. Virus Res. 31, S. 321 bis 333.
- Papko, I.O., M.A. Keldysh, L.I. Vonza and O.N. Chervyakova. 2001. On distribution of viruses in soil ecosystems in the MBG RAS. The Main Botanical Garden, Russian Academy of Science Moscow, Russia: 127 - 133.
- Robert, Y., J.A.T. Woodford and D.G. Ducray-Bourdin. 2000. Some epidemiological approaches to the control of aphidborne virus diseases in seed potato crops in northern Europe. Virus Research 71: 33 - 47.
- Saied, H.; I.G. Grove, P.S. Kettlewell and N.W. Hall. 2005. Potato root and shoot growth under different water management strategies. Aspects of Applied Biology 73:85 - 91.
- Singh, M.N.; S.M.P. Khurana, B.B. Nagaich and H.D. Agrawal. 1988. Environmental factors influencing aphid transmission of potato virus Y and potato leafroll virus.Potato Research 31: 501 - 509.
- Srinivasn, R. and J.M. Alvarez. 2007. Effect of mixed viral infections (Potato virus Y-Potato leafroll virus) on biology and preference of vectors *Myzus persicae* and *Macrosiphum euphorbiae* (Hemiptera:Aphididae). Journal of Economic Entomology 100: 646 - 655.
- Wang, B.; Y. Ma, Z. Zhang, Z. Wu, Y. Wu, Q. Wang and M. Li. 2011. Potato viruses in China. Crop Protection. 30(9):1117- 1123.