أمراض النبات غير الفطرية (الفيروسية)

المحاضرة النظرية الأولى

مدخل إلى علم الفيروسات

د. رامز الشامي

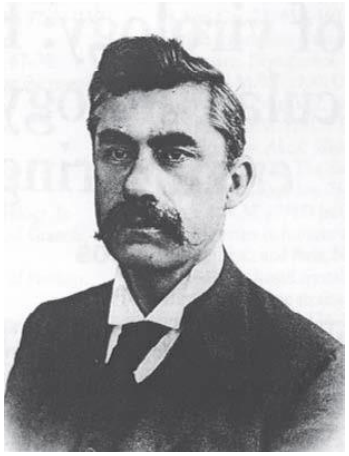
تطور علم الفيروسات الممرضة للنبات

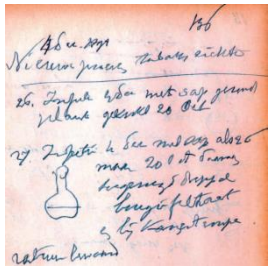
لمحة تاريخية:

- بدأ هذا العلم كملاحظات عابرة كالقطعة الشعرية التي كتبتها الإمبراطورة اليابانية كوكين عام ٧٥٢م تصف فيها ورقه صفراء مبرقشه من نبات زينه *Eupatorium chinensis*
- في القرن السابع عشر خرج الرسامون الهولنديون بلوحات جميله تصف تقطع ألوان زهره التوليب والي كانت الأغلى سعراً، وتشير بعض المراجع العلمية إلى أن أغلى مهر كان عباره عن بصله توليب تعطي هذا النوع من الأزهار ولم يعرف حقيقة أمرها حتى عام ١٩٢٦م أن المسبب فيروس تقطع وتعدد ألوان زهرة التوليب

تطور علم الفيروسات الممرضة للنبات

- درس أدولف ماير عام ١٨٨٦ في هولندا الطبيعة المعدية لمرض موزاييك التبغ وانتقاله بالعصارة النباتية وقدرته على المرور عبر أوراق الترشيح العادية.
- في عام ١٨٩٢كرر ايفانوفسكي في روسيا أعمال ماير وأثبت انتقال مرض موزاييك التبغ عبر أدق المرشحات البكتيرية ورسم البلورات الموجودة ضمن الخلايا النباتية المصابة.
- عام ١٨٩٨ أثبت بيجرنيك في هولندا أن المسبب المرضي لموزاييك التبغ قادر على الانتشار عبر بيئة الآجار الصناعية وبالتالي هو ليس بكتيريا مع قدرته على التضاعف ضمن الخلايا النباتية، وأطلق عليه اسم Virus وتعني باللاتينية السم





تطور علم الفيروسات الممرضة للنبات

- بين عامي ١٨٩٤-١٨٩٥ لاحظ هاشيموتو في اليابان أن مرض التقزم في نبات الأرز يمكن نقله من نبات مصاب إلى نبات سليم بوساطة نوع من النطاطات الحشرية.
- عام ١٩٢٦ قام هولمز بتشخيص الأمراض الفيروسية باستخدام النباتات الدالة.
- عام ١٩٣٥ تمكن ستانلي من استخلاص وعزل فيروس موزاييك التبغ على شكل بلورات نقية.
- تم التقاط أول صورة بالمجهر الالكتروني لفيروس موزاييك التبغ عام ١٩٣٩.
- تم في عام ١٩٦٦ تشكيل اللجنة الدولية لتصنيف الفيروسات (ICTV).

الأهمية الاقتصادية للفيروسات الممرضة للنبات

تسبب الفيروسات النباتية خسائر اقتصادية كبيرة للأشجار المثمرة والمحاصيل الحقلية والخضار ونباتات الزينة لما تتمتع به من خصائص ومنها:

- المدى العوائلي (Host Rang) الواسع الذي تتطفل عليه الفيروسات.
- الانتشار الجغرافي الواسع للفيروسات وبظروف مناخية متباينة.
- وجود فيروسات وسلالات فيروسية كامنة (Latent) تتضاعف ضمن النباتات دون أن تظهر أعراض الإصابة عليها، ويمكن أن تنتقل إلى نباتات حساسة وتسبب خسائر كبيرة.
- كثرة النواقل (Vector)الحقلية للفيروسات (حشرات، نيماتودا، فطريات، أكاروسات، بذور، انتقال ميكانيكي...)
- عدم وجود مبيدات فيروسية بعد حدوث الإصابة الفيروسية.

الأهمية الاقتصادية للفيروسات الممرضة للنبات

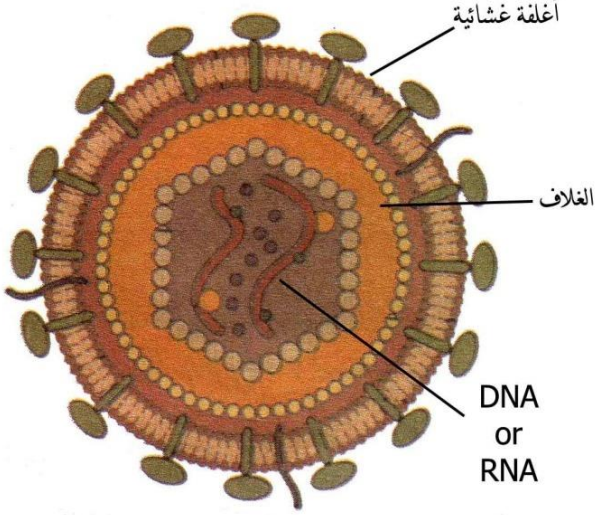
من الأمثلة عن الخسائر التي تسببها الأمراض الفيروسية في بعض المحاصيل الزراعية:

- **في سوريا وقبرص ومعظم دول حوض المتوسط يسبب فيروس اصفرار وتجعد أوراق البندورة (TYLCV) الذي ينتشر بوساطة ذبابة التبغ البيضاء، خسائر جسيمة للبندورة الحقول والبيوت المحمية تصل إلى ٣٠-٤٠% من الإنتاج.**
- **تسبب فيروس تدهور الحمضيات في البرازيل (CTV) في القضاء على سبعة ملايين شجره حمضيات مطعمه على أصل الزفير ما بين عامي ١٩٣٦ و١٩٤٦م، ولا يزال هذا الفيروس يشكل تهديداً خطيراً لبساتين الحمضيات في العالم.**
- **تسبب فيروس التفاف أوراق البطاطا بخسائر في أمريكا قدرت بـ ٦٥% من الإنتاج.**

هناك بعض الفوائد للفيروسات النباتية:

١. **استخدام بعض الفيروسات في تحسين مواصفات بعض نباتات الزينة كاستخدام فيروس تقطع وتعدد ألوان زهره التوليب (TBV) في الحصول على أزهار توليب جميلة. واستخدام فيروس موزاييك الكرنب (TuMV) في تحسين ألوان زهرة المنثور.**
٢. **استخدام بعض السلالات الفيروسية الضعيفة لتحصين النباتات ضد الإصابة بالسلالات الشرسة للفيروس نفسه بما يعرف بالمقاومة بالتضاد Cross-protection.**

تسمية الفيروسات وتصنيفها



- **تعريف الفيروس:**

الفيروسات هي منظومة مكونة من جزء أو أكثر من حمض نووي واحد، محاط بمعطف/غطاء بروتيني، وأحيانا بغلاف بروتيني خارجي قد يدخل في تركيبه البروتين الدهني، وهي قادرة على التضاعف وزيادة العدد، ويتم هذا التضاعف حكماً في الخلايا الحية للعائل النباتي المناسب، وفي تلك الخلايا يتمركز الفيروس، ويعتمد في تضاعفه على جهازي تناسخ الأحماض النووية واصطناع البروتينات النباتية في الخلايا المتطفل عليها.(Matthews 1981)

- **يعتبر الفيروس صلة الوصل ما بين الحياة واللا حياة.**

تسمية الفيروسات وتصنيفها

الخصائص التي تميز الفيروسات عن غيرها من المسببات المرضية خاصة تلك الشبيهة بالفيروس كالفيروئيدات والبلازما النباتية والريكتيسيا :

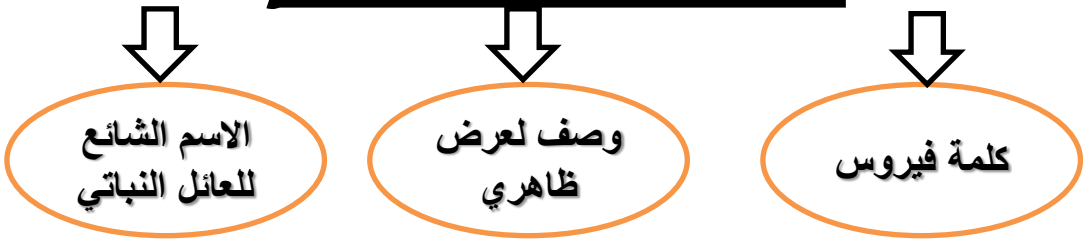
١. **الفيروسات هي جسيمات تحت ميكروسكوبية ولا ترى إلا بمساعدة المجهر الإلكتروني**
٢. **تتألف الفيروسات من حمض نووي واحد RNA أو DNA وليس من الأثنين معاً، والحمض النووي إما وحيد السلسلة أو ثنائي السلسلة، كامل أو مجزأ.**
٣. **يحاط الحمض النووي للفيروس بغطاء بروتيني، وعند بعض الفيروسات الأخرى قد يحاط بغلاف خارجي قد يدخل في تركيبه البروتين الدهني.**
٤. **يعتمد الفيروس في تضاعفه على مكونات الخلية النباتية التي يتطفل عليها.**

تسمية الفيروسات وتصنيفها

- تتم تسمية الفيروسات النباتية وهي الطريقة الشائعة، بذكر الاسم الشائع للعائل النباتي (host) الذي اكتشف عليه الفيروس لأول مرة، متبوعاً بوصف لأهم عرض/أعراض ظاهرية مميزة للمرض ومنتهياً بكلمة فيروس (Virus)

- مثال: ١ – فيروس موزاييك التبغ ***Tobacco mosaic virus***

٢- فيروس تجعد واصفرار أوراق البندورة ***Tomato yellow leaf curl virus***



تسمية الفيروسات وتصنيفها

الصيغة الرمزية للفيروس Virus Cryptogram:

تم إضافة الصيغة الرمزية للفيروس إلى التسمية السابقة ويمكن من خلال قراءة مدلولات رموزها معرفة بعض الخصائص الهامة للفيروس في المجموعة التصنيفية .

تعريفها:
هي عبارة عن أربعة أزواج من الرموز، يفصل بين الرمز والاخر في الزوج الواحد خط مائل/، ويفصل بين الزوج والأخر في الصيغة الرمزية نقطتان فوق بعضهما:

تسمية الفيروسات وتصنيفها

الصيغة الرمزية لفيروس موزاييك التبغ TMV

	S/O	E/E :	2/5 :	R/1 :
الرمز	1 2	1 2	1 2	1 2
الزوج	الرابع	الثالث	الثاني	الأول

الصيغة الرمزية لـ TMV

الزوج الأول يشير إلى الحمض النووي وعدد سلاسله (R=RNA, D=DNA)

الزوج الثاني يشير إلى الوزن الجزيئي للحمض×١٠٦ بالنسبة للرمز الأول ،
أما الرمز الثاني فيشير إلى النسبة المئوية % للحمض النووي قياساً بكتلة الفيروس

الزوج الثالث: يشير الرمز الأول إلى الشكل الظاهري للجسيم الفيروسي والرمز الثاني يشير للشكل الظاهري للكبسولة النووية وفي هذا المثال الشكل عصوي (E=Elongated)

الزوج الرابع: يشير الرمز الأول لنوع العائل (S = نباتات بذرية)، والرمز الثاني لنوع الناقل الذي ينتقل بواسطته الفيروس (O = الانتقال من غير ناقل).

تسمية الفيروسات وتصنيفها

تصنيف الفيروسات الممرضة للنبات:

قامت اللجنة الدولية لتصنيف الفيروسات (ICTV)بوضع أسس للتصنيف:

١- الحمض النووي للفيروس: نوعه (DNAأو RNA) عدد السلاسل (وحيد أو ثنائي) كامل أو مجزأ وهل الحمض النووي RNA سالب أو موجب.

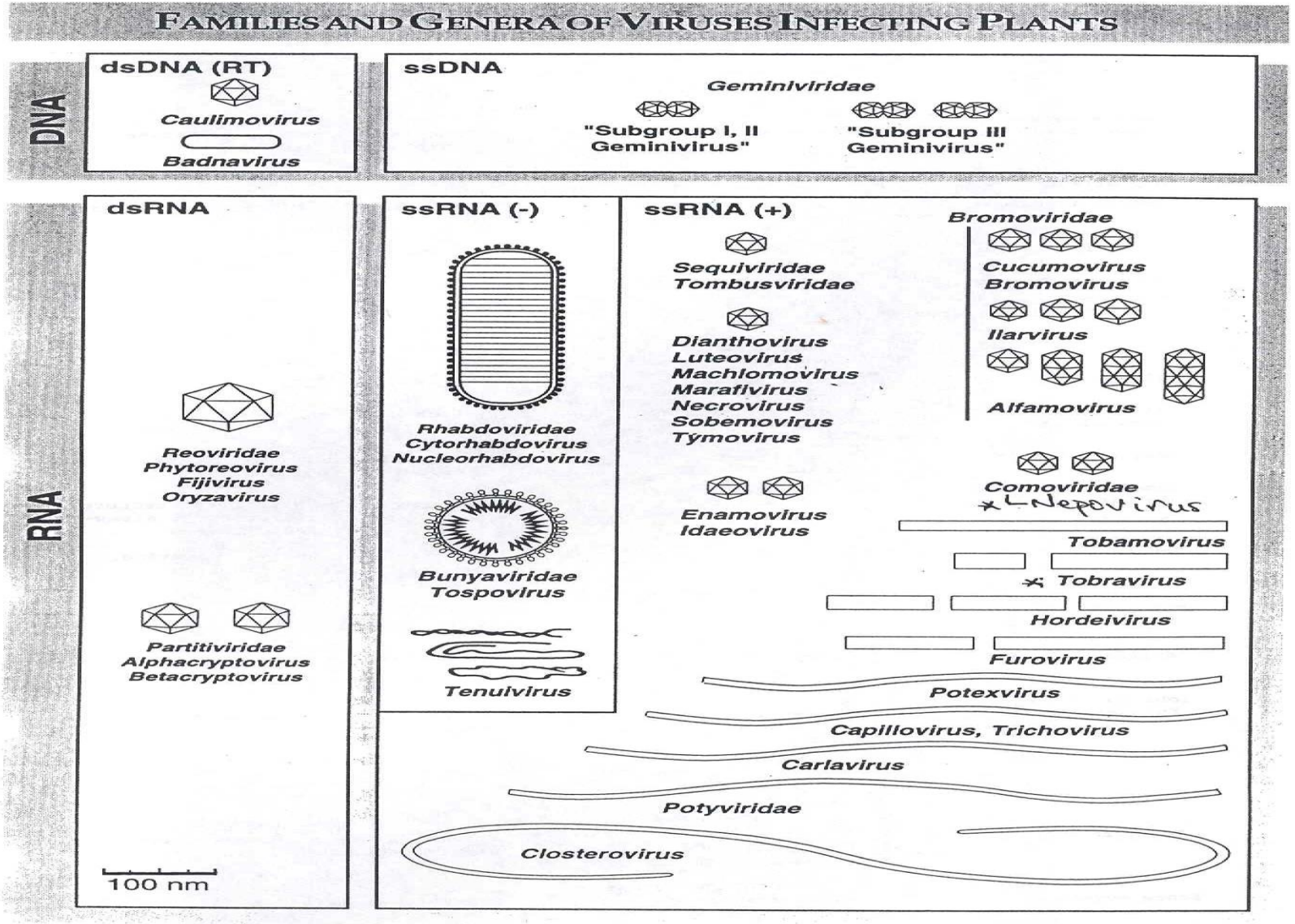
٢- الشكل الظاهري للجسيم الفيروسي: كروي مفرد (مغلف أو غير مغلف)، كروي مزدوج، عصوي مستقيم، عصوي مرن، خيطي.

٣- ظهور أو عدم ظهور أعراض الإصابة الظاهرية على النبات.

٤- النواقل الحيوية للفيروس

٥- أماكن تضاعف الفيروس داخل الخلية النباتية المصابة: في النواة أم في السيتوبلازم.

تسمية الفيروسات وتصنيفها



تصنيف الفيروسات الممرضة للنبات في فصائل وأجناس، تبعاً لأشكاله الظاهرية، ونوع الحمض النووي وعدد السلاسل المكونة له

تسمية الفيروسات وتصنيفها

العوائل الفيروسية حسب تصنيف :(ICTV)

- **عائلة Rhabdoviridae: الفيروسات التابعة لها عصوية مستقيمة ومغلفة وتتكون من الحمض النووي RNA وحيد السلسلة وتضم الجنسين *Nucleorhabdovirus* و *Cytorhabdovirus*.**
- **عائلة Potyviridae : الفيروسات التابعة للعائلة شكله الظاهري خيطي مرن وتحتوي الحمض النوويRNA وحيد السلسلة وتضم الأجناس *Potyvirus, Bymovirus, Ipomovirus, Rymovirus***
- **عائلة Bromoviridae: الفيروسات التابعة لها شكلها الظاهري كروي وتحتوي الحمض النووي RNA وحيد السلسلة وتضم الأجناس: *Alfamovirus, Bromovirus, Cucumovirus, Ilavirus***
- **عائلة Tombusviridae: الفيروسات التابعة لها شكله الظاهري كروي وتحتوي الحمض النووي RNA وحيد السلسلة وتضم الجنسين: *Carmovirus, Tombusvirus***
- **عائلة Sequiviridae: الفيروسات التابعه لها كروية الشكل وحمضها النووي RNAوحيد السلسلة وتضم الجنسين: *Sequivirus, Waikavirus***

تسمية الفيروسات وتصنيفها

العوائل الفيروسية حسب تصنيف :(ICTV)

- **عائلة Banyaviridae: الفيروسات التابعة لها شكلها الظاهري كروي مغلفة بغلاف خارجية عليه أشواك تحتوي الحمض النووي RNA وحيد السلسلة وتضم الجنس *Tospovirus* والذي تنتقل الفيروسات التابعة له بوساطة حشرات التربس**

- **عائلة Comoviridae: الفيروسات التابعة لها كروية الشكل وتحتوي الحمض النووي RNA وحيد السلسلة وتضم الجناس: *Comovirus, Fabavirus, Nepovirus***

- **عائلة Partitiviridae: الفيروسات التابعة للعائلة شكلها الظاهري كروي تحتوي الحمض النووي RNA ثنائي السلسلة وهو مجزأ على عدد من الجزاء وتضم جنسين: *Lphacryptovirus, Betacryptovirus***

- **عائلة Reoviridae: الفيروسات التابعة لها شكله الظاهري كروي تحتوي الحمض النووي RNA ثنائي السلسلة وهو مجزأ إلى حوالي ١٠ أجزاء ضمن جسيم فيروسي واحد، وتضم الأجناس التالية: *Figivirus, Oryzavirus, Phytoreovirus***

- **عائلة Geminiviridae: الفيروسات التابعة لها شكله الظاهري كروي مزدوج (توأمية) تحتوي الحمض النووي DNA وحيد السلسلة وتضم الأجناس: *Bigeminivirus, Hyprigiminivirus, Monogeminivirus***

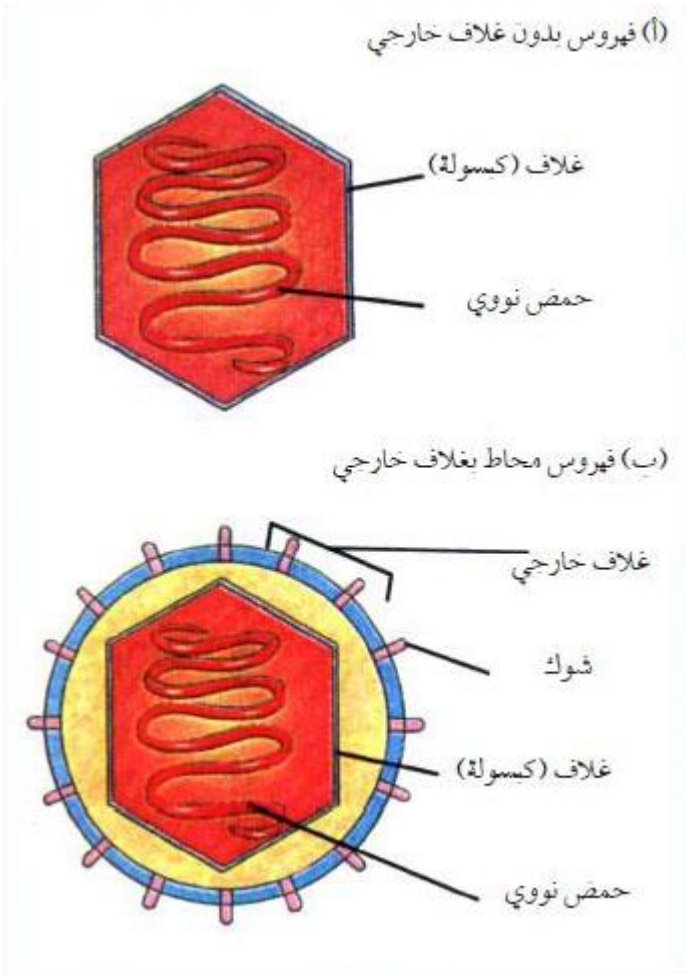
- **هناك بعض الأجناس الفيروسية التي لم تصنف ضمن فصائل مثل الأجناس: *Tobamovirus* وهو عصوي الشكل وحمضه النووي RNA موجب وحيد السلسلة، والجنس *Tobravirus* عصوي الشكل حمضه النووي RNA وحيد السلسلة، والجنس *Potexvirus* الفيروسات التابعة له عصوية خيطية وحمضها النووي RNA**

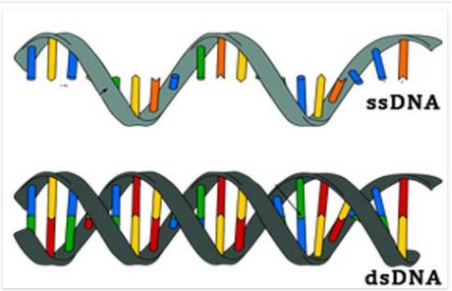
بنية الفيروس وتركيبه الكيميائي

- يتكون الفيروس من:

١- الحمض النووي Nucleic acid يتكون الفيروس من أحد الحمضين النوويين RNAأو DNA وليس من الأثنين معاً ويطلق على الحمض النووي في الفيروس اسم جينوم Genome يكون الحمض النووي الفيروسي

- كاملاً أو مجزأ إلى أقسام تتواجد جميع الأجزاء في جسيم فيروسي واحد أو في جسيمات فيروسية متعددة.
- أحادي السلسلة أو ثنائي السلسلة، سالب أو موجب.

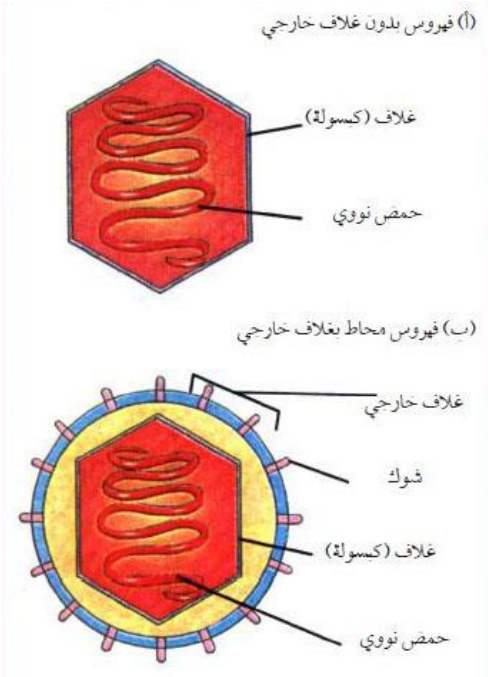


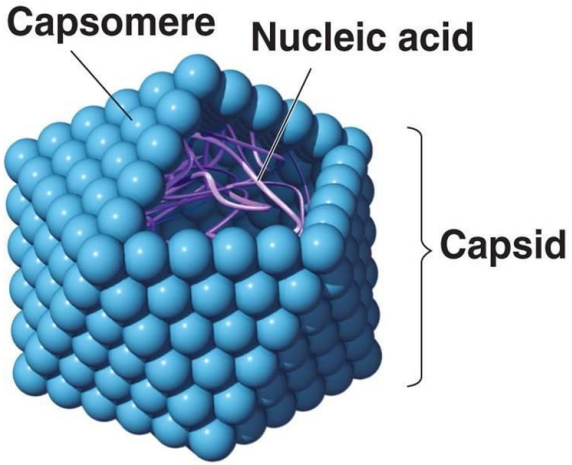


بنية الفيروس وتركيبه الكيميائي

- **وظائف الحمض النووي في الفيروس:**
- الحمض النووي هو الجزء المعدي في الفيروس لإحداث الإصابة.
- الحمض النووي هو المادة الوراثية الحاملة للمعلومات اللازمة لإعادة اصطناع جسسيمات فيروسية جديدة تحمل مواصفات الفيروس الأصل.

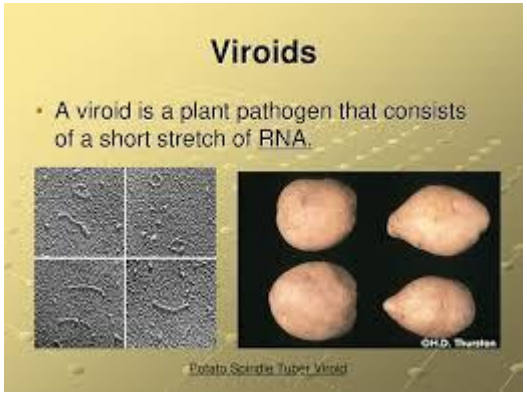
بنية الفيروس وتركيبه الكيميائي





٢-البروتين Protein:

- يغلف الحمض النووي الفيروسي غطاء من البروتين يعرف باسم Capcid، وهو من البروتينات البسيطة ذات وزن جزئي عالٍ. تترتب الوحدات البروتينية حلزونياً حول الحمض النووي في الفيروسات العصوية، بينما تأخذ ترتيباً خاصاً في الفيروسات الكروية.
- بعض الفيروسات تمتلك غلافاً خارجياً من البروتين الدهني مثل الفيروسات العصوية المستقيمة المغلفة (فصيلة Rhabdoviridae والكروية المغلفة Bunyaviridae
- عند غياب الغلاف البروتيني يسمى الحمض النووي السائب فيروئيد Viroid مثل فيروئيد الدرنة المغزلية في البطاطا.



بنية الفيروس وتركيبه الكيميائي

- **وظائف البروتين الفيروسي:**

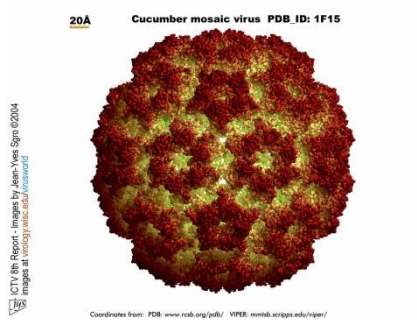
١. حماية الحمض النووي من المؤثرات الخارجية والأنزيمات.
٢. يشكل البروتين الفيروسي مولدات الضد Antigens عند تحضير الأمصال الفيروسية للكشف عن الفيروسات.
٣. إعطاء الشكل المورفولوجي للفيروس
٤. رفع كفاءة الحمض النووي في إحداث الإصابة
٥. لبروتينات بعض الفيروسات دور هام في تحديد النواقل الحيوية للفيروس.

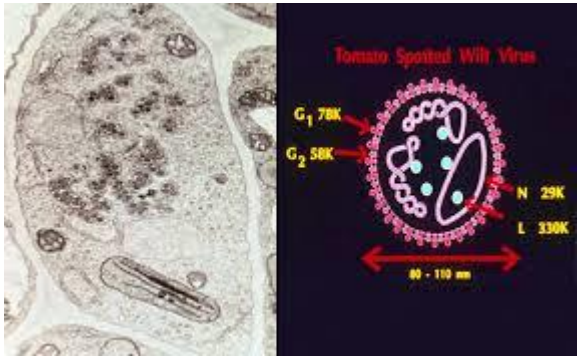
بنية الفيروس وتركيبه الكيميائي

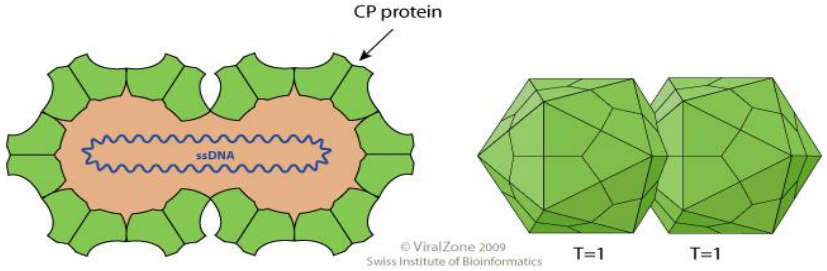
٣- مركبات كيميائية أخرى قد تدخل في تركيب بعض الفيروسات:

- **الماء يمكن أن يشكل الماء ٥٨% من بلورات فيروس موزاييك واصفرار الكرنب (TYMV)**
- **الكربوهيدرات توجد على شكل جليكوبروتين في الفيروسات المغلفة فهي تشك حوالي ٧% من كتلة فيروس الذبول المتبقع على البندورة (TSWV)**
- **الدهون: تدخل في تركيب بعض الفيروسات المغلفة بنسبة ١٥-٢٠% من كتلة الفيروس**
- **تحتوي بعض الفيروسات على شوارد وعناصر معدنية كالكالسيوم والصوديوم والمغنزيوم، وجدت مرتبطة إما بالبروتين أو بالحمض النووي أو في الأثنين معاً. كما قد يتواجد أنزيمات مثل أنزيم Polymerase-RNA في فيروس اصفار وتماوت الخس (LNYV)**

الخواص الفيزيائية للفيروسات







شكل الفيروس Virus Morphology:

أ- مجموعة الفيروسات الكروية الشكل Spherical Viruses تتراوح أقطارها مابين ١٢- ٧٠ نانومتر، تضم:

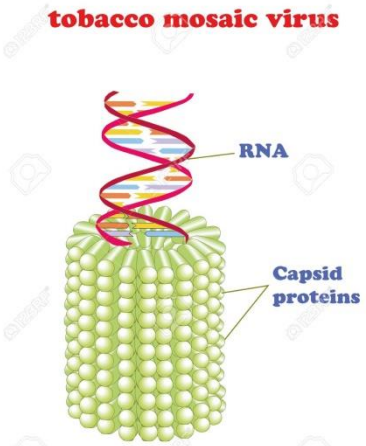
١- فيروسات كروية غير مغلفة مثل الفيروسات التابعة لفصيلة Bromoviridae ومنها فيروس موزاييك الخيار (CMV).

٢- فيروسات كروية مغلفة مثل فصيلة Bunyaviridae مثل فيروس الذبول المتبقع في البندورة (TSWV).

٣- فيروسات كروية مزدوجة (توأمية) مثل فصيلة Geminiviridae مثل فيروس اصفرار وتجعد أوراق البندورة (TYLCV).

الخواص الفيزيائية للفيروسات

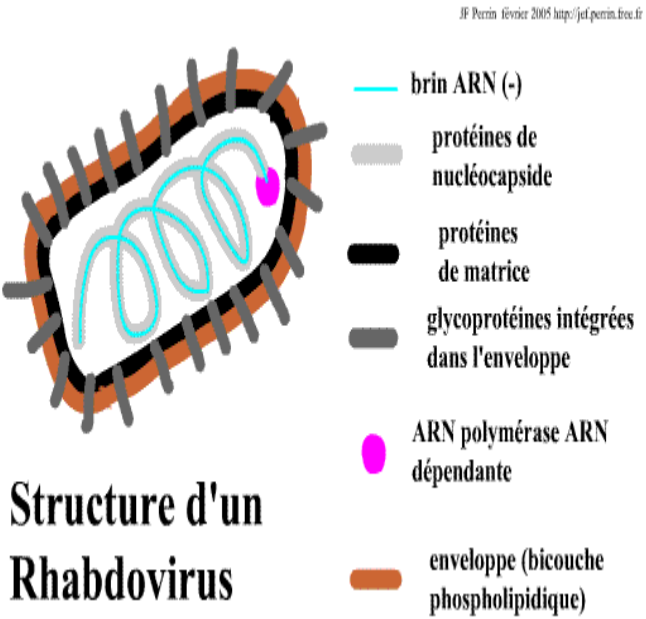
شكل الفيروس Virus Morphology:



ب- مجموعة الفيروسات العصوية تتراوح أقطارها مابين ١٠-٤٠× ١٠٥-٥٠٠٠ نانومتر، وتقسم إلى:

١-الفيروسات العصوية المستقيمة غير المغلفة مثل فيروس موزاييك التبغ (TMV) الذي يبلغ طوله ٣٠٠ نانومتر وعرضه ١٥-١٨ نانومتر.

٢- الفيروسات العصوية المستقيمة المغلفة مثل فيروس الموزاييك المخطط في القمح (WSMV).

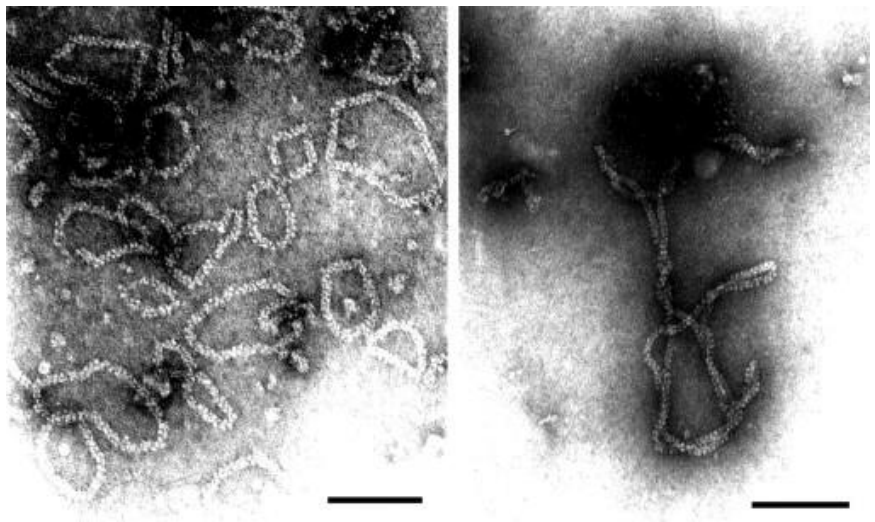


الخواص الفيزيائية للفيروسات

ب- مجموعة الفيروسات العصوية وتقسم إلى:

٣- الفيروسات العصوية المرنة تتميز بصغر قطرها ١٠-١٣ نانومتر وطولها حوالي ٤٠٠-٥٠٠ نانومتر، مثل فيروس واي البطاطا (PYV).

٤ الفيروسات الخيطية المرنة تتميز بجسيماتها الخيطية الدقيقة جداً والتي يصعب اخذ مقاساتها تحت المجهر الألكتروني لتكتلها ودقتها المتناهية، مثل فيروس تريستيزا الحمضيات (CTV)



الخواص الكيميائية للفيروسات

يمكن دراسة الخواص الكيميائية للفيروسات باستخدام إحدى الطرق التالية:

- ترسيب الفيروس: يمكن ترسيب الفيروس بواسطة الكيماويات التي ترسب البروتينات مثل استخدام الأمونيوم أو الكحول.
- تقدير تركيز الفيروس بالطرائق الكيميائية مثل كلداهل في تقدير الآزوت.
- دراسة التركيب الكيميائي للفيروس مثل استخدام الرحلان الكهربائي عن طريق هجرة البروتينات الفيروسية نحو القطب السالب حسب شكل وحجم البروتين الفيروسي والكروماتوغرافي لفصل البروتينات الفيروسية على ورق الكروماتوغرافي.
- الرحلان الكهربائي لفصل المكونات أفقياً بين القطبين.
- اختبارات التلوين للبروتينات والكربوهيدرات: مثل اختبار البيوريت للكشف عن الروابط الببتيدية، واختبار موليش للكشف عن الكربوهيدرات.

خواص الفيروس في العصير الخلوي الخام

١- درجة الحرارة المثبطة/المميتة للفيروس Thermal Inactivation Point (TIP)

هي أخفض درجة حرارة التي اذا ما سخن إليها العصير الخلوي الخام المحتوي على الفيروس لمدة ١٠ دقائق فقد الفيروس قدرته على إحداث الإصابة في العائل النباتي المناسب، وتعكس هذه الخاصية درجة ثبات الجسيمات الفيروسية وتأثرها بدرجات الحرارة المرتفعة وهي خارج الكائن الحي.

٢- درجة التخفيف النهائية Dilution End Point (DEP)

هي أعلى تخفيف أو أقل تركيز للعصير الخلوي الخام المحتوي على الفيروس يحتفظ عندها الفيروس بقدرته في إحداث الإصابة في العائل انباتي المناسب. وتعكس هذه الخاصية درجة تركيز الفيروس في اللقاح الفيروسي وانعكاسها على قدرته في إحداث الإصابة.

٣- فترة تعمير الفيروس في العصير الخلوي Longevity In Vitro (LIV)

هي اطول مدة زمنية يحتفظ خلالها الفيروس بقدرته على إحداث الإصابة في العائل النباتي المناسب عند حفظ العصير الخلوي على درجة حرارة الغرفة ٢٠-٢٢ مئوية. وتعكس هذه الخاصية درجة ثبات الفيروس وهو خارج الكائن الحي وتأثرها بدرجة الحرارة العادية والمؤثرات الخارجية ونشاط مكونات العصير الخلوي.

خواص الفيروس كمولد ضد Antigen

تطلق كلمة مولد ضد على المواد البروتينية التي إذا ما حقنت في جسم حيوان ثدي مناسب يتكون نتيجة ردة فعل الحيوان أجسام مضادة لها صفة الدخول معها في تفاعل.

وكون معطف الفيروس Coat أو غلافه Envelope يتكون من بروتين، فحقنه في جسم حيوان ثدي مناسب يؤدي لإعطاء أجسام مضادة تستخدم في الكشف عن الفيروس باستخدام الطرائق المصلية السيرولوجية مثل اختبار الإليزا.