الفايروسات Viruses

جسيمات (Particles) تتركب من مادة وراثية قد تكون DNA او RNA محاطة بغلاف بروتيني يدعى Capsid و يتركب هذا الغلاف من وحدات تسمى Capsomers التي تظهر على سطح جسيمة الفايروس عند فحصها بالمجهر الالكتروني, تتراوح احجام الفايروسات بين 20-300 نانوميتر.

تكتسب بعض الفايروسات عند اغشية الخلايا سواء في السايتوبلازم او النواة تركيب يتكون من بروتينات و كاربوهيدرات و دهون يدعى Envelop (غشاء يحيط بالغلاف البروتيني للفايروس كما في فايروس اصفرار و تقزم البطاطا Potato yellow dwarf virus) الذي يحتوي على بروزات تمتد الى السطح الخارجي تسمى الاشواك (Spikes) و يطلق على التركيب بأكمله الفايرون (Virion).

<u>يتكون الفايروس من:</u>

1. **الحامض النووي The Nucleic Acid**

تحتوي الفايروسات على نوع واحد من الحامض النووي الذي اما ان يكون DNA (Deoxyribonucleic acid) او RNA (Ribonucleic acid) يكون موقع الحامض النووي داخل جسيمة الفايروس و محاط من جميع جوانبه بالغلاف البروتيني.

توجد اربعة انواع للأحماض النووية الفايروسية هي:

أ. حامض نووي DNA مزدوج الشريط ds-DNA (Double-Stranded DNA)
كما في فايروس موزائيك القرنابيط Cauliflower mosaic virus

ب. حامض نووي DNA مفرد الشريط ss-DNA (Single-Stranded DNA)
كما في فايروس تجعد و اصفرار اوراق الطماطة Tomato yellow leaf curl virus

ت. حامض نووي RNA مزدوج الشريط ds-RNA (Double-Stranded RNA)
كما في فايروس تقزم الرز Rice dwarf virus

ث. حامض نووي RNA مزدوج الشريط ss-RNA (Single-Stranded RNA)
كما في فايروس اصفرار البنجر Beet yellow virus

المادة الوراثية للفايروس Genome ذات عدد جينات محدود (3-10-100 جين) مقارنة بالكائنات الخلوية في الانسان 100000 جين و الخميرة 6000 جين.

2. **الغلاف البروتيني Capsid**

يتكون الكابسيد (capsid) من وحدات بروتينية تدعى كابسوميرات (Capsomers), قد تكون مفردة او وحيدة الجزيئة Monomers او ثنائية Dimers او ثلاثية Trimmers او خماسية Fentamers او سداسية Hexamers.

وظيفة البروتين الفايروسي حماية الحامض النووي من الانزيمات المحللة و خاصة انزيمات تحليل الحوامض النووية (Nuclease) و لأجل ان يكون الغلاف فعالا يجب ان يكون مقاوم لأنزيمات تحليل البروتين و التي تدعى (Proteolytic enzymes) المتواجدة في خلايا الكائنات الحية, كذلك الحماية من التغيرات البيئية, كما يعطي الشكل الخارجي الثابت للفايروس وله اهمية فيعتبر كوسيط في آلية الاصابة الفايروسية (Infection), و عامل محدد في تخصص الفايروسات بالمضيف خلال عملية التصاق (Attachment) جزيء الفايروس بمواقع الاستقبال (Receptors) المتواجدة على اسطح خلايا المضيف (ماعدا الفايروسات التي تصيب النبات).

3. مكونات اخرى

تحتوي بعض الفايروسات على تركيب غشائي خارجي يدعى Envelop يتكون من البروتينات و الدهون و الكاربوهيدرات, تدعى الفايروسات التي تحتوي على غلاف بالفايروسات المغلفة (Enveloped) اما الفايروسات التي لا تحتوي على غلاف تدعى بالفايروسات غير المغلفة (Non-Enveloped) او (Naked).

كما قد تحتوي بعض الفايروسات على بعض الانزيمات مثل انزيم النسخ و انزيم التضاعف و انزيم التحلل.

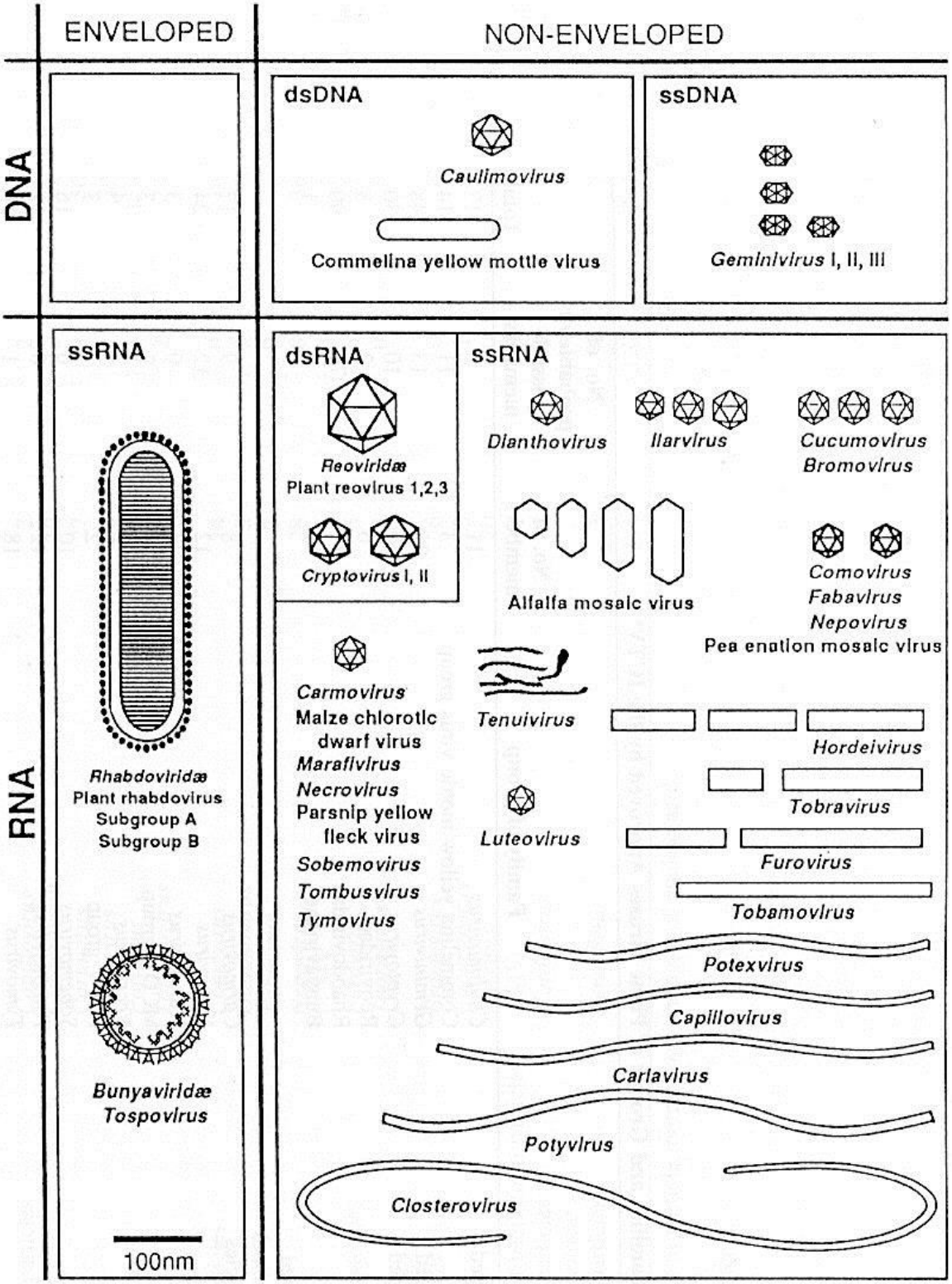
<u>اشكال الفايروسات</u>

اولا: <u>الفايروسات المغلفة</u>

1. كروي او مكعبي Spherical- Cubic
   مثل فايروس الذبول المتبقع في الطماطة (Tomato spotted wilt virus)
2. لشكل عصوي Rod- Shaped
   مثل فايروس موزائيك المخطط في الحنطة (Wheat striate mosaic virus)

ثانيا: <u>الفايروسات غير المغلفة</u>

1. شكل عصوي صلب Rigid rod- Shaped
   كما في فايروس موزائيك التبغ Tobacco mosaic virus
2. شكل عصوي مرن Flexible- rods
   مثل فايروس البطاطا واي (Potato virus Y)
3. شكل عصوي Bacilli- Form
   مثل فايروس موزائيك البرسيم الحجازي (Alfalfa mosaic virus)
4. شكل كروي Spherical او متساوي الاضلاع Isometric
   مثل فايروس موزائيك الخيار (Cucumber mosaic virus)



شكل 1: اشكال الفايروسات المغلفة وغير المغلفة

حفظ الفايروسات

تتغاير الفايروسات النباتية في الطبيعة مع مرور الزمن و اثناء التجارب مختبريا و حقليا, مما يؤدي الى فقدان العزلة الفايروسية او تلوثها. لذا يجب حفظ الفايروسات بصورتها الاصلية التي وصفت بها لأول مرة, الغاية من حفظ الفايروسات هو بقائها فاعلة اطول فترة ممكنة بحيث تحتفظ بقدرتها على احداث العدوى و صفاتها المصلية (السيرولوجية) و هناك عدة عوامل لغرض حفظ المواد النباتية الحاوية على الفايروس.

1. تهيئة المواد الحاوية على الفايروس لغرض نقلها مثل العينات الحقلية Field samples التي تجمع اثناء المسح الحقلي.
2. الخزن المؤقت: لغرض اجراءات لاحقة مثل فحص العينات الداخلة للتشخيص او لأجراء ابحاث اخرى. ان الاحتفاظ بالمواد المخزونة الحاوية على الفايروسات يساعد في الرجوع الى العينة الاصلية عند حدوث تلوث او فقدان الفايروس اثناء البحث او الفحص.
3. الحفظ الدائم: عند وصف سلالة او فايروس يجب ان تحفظ العينة للسماح بدراستها و التأكد من صحة التشخيص عند الحاجة و يجب مراعاة العوامل التالية عند حفظ العينات الاصلية.

أ. يجب ان تحفظ العزلة الفايروسية بحالة فاعلة قادرة على العدوى لدراسة حيويتها و قدرتها على احداث العدوى و ظهور الاعراض و من ثم القياس مع عزلات اخرى.

ب. تحفظ العزلة الفايروسية بحالة محطمة لأغراض الدراسة المصلية اذ يمكن بقاء الصفات المصلية للفايروسات في المواد النباتية المحفوظة على الرغم من فقدان قدرتها على احداث العدوى.

ت. الخزن الدائمي لفايروسات نباتية مشخصة او عزلة من الفايروسات التي تم اجراء دراسات و بحوث عليها من قبل الباحثين.

ث. دراسة اللقاح الفايروسي لأغراض التأكد من عدم تغير القدرة على العدوى.

ج. انتاج المواد لغرض التوزيع التجاري كما هو الحال في انتاج الفايروسات لغرض تحضير مصول مضادة تجارية لأغراض التشخيص او انتاج لقاح فيروسي لمعاهد تربية النبات و المعاهد المنتجة للأصناف لأغراض اختبار الانتخاب الطبيعي و انتاج محاصيل مقاومة للفايروس.

تقسم طرق حفظ الفايروسات الى:

اولا: حفظ الفايروسات بحالة فاعلة

1. حفظ الفايروس في العائل النباتي الحي

اذ يتم حفظ الفايروسات على عوائلها الاصلية في البيت الزجاجي و بمعزل عن النواقل الفايروسية مثل الحشرات.

2. حفظ الفايروس في جزء من النبات

تستخدم اعضاء التكاثر الخضري مثل الابصال و الدرنات و غيرها في حفظ الفايروسات, عندما تكون هذه الاجزاء في طور السكون يتم عن طريق حفظ هذه الاعضاء الخضرية بالتبريد و تستخدم هذه الطريقة في الولايات المتحدة الامريكية لحفظ فايروسات البطاطا, يتم ادامتها بزراعة درنات البطاطا الحاوية على الفايروس في بيوت محمية لمنع وصول الحشرات اليها.

3. حفظ الفايروسات في البذور

تشمل حفظ الفايروسات التي تنتقل عن طريق البذور خاصة تلك التي توجد في اجنة البذور و يمكن حفظ الفايروسات بهذه الطريقة لدة طويلة مع حيوية البذور التي قد تصل الى عشرة سنوات تحت ظروف رطوبة واطئة و برودة قليلة ويتم الحصول على الفايروس مرة اخرى عن طريق زراعة البذور.

4. حفظ الفايروسات في نواقلها

يمكن حفظ الفايروسات النباتية التي تنتقل بواسطة الفطريات داخل السبورات الساكنة (Resting spore) للفطريات التي تنقلها و لمدة سنوات عدة في التربة و بقايا الجذور او حفظ الفايروسات التي تنتقل بالحشرات.

5. حفظ الفايروسات باستخدام تقانات الزراعة النسيجية.

استخدمت تقانات الزراعة النسيجية في حفظ الفايروسات النباتية سواء في نسيج نباتي مأخوذ من نسيج مصاب او نسيج حشرة ناقله للفايروس حاوية على الفايروس.

مميزات طرق حفظ الفايروس بحالة فاعلة

1. تستخدم في حفظ الفايروسات التي لا تنتقل ميكانيكيا و جميع الفايروسات الاخرى.
2. بقاء الفايروس قادر على احداث العدوى لذلك لا تتطلب عملية اختبار للعدوى.
3. بعض هذه الطرق سهلة التطبيق مثل الحفظ في البذور.
4. مدة الخزن في بعض الطرق تكون طويلة مثل طريقة الحفظ في الفطريات و البذور.
5. يمكن متابعة الفايروس و دراسة صفاته اثناء عملية الخزن.

عيوب طرق حفظ الفايروس بحالة فاعلة

1. حدوث تغاير للفايروس نتيجة لعملية العدوى المتكررة.
2. حدوث ثلوث للعزلة الفايروسية.
3. تتاج وقت كبير لتربية العوائل النباتية.
4. عملية اعادة العدوى عملية مجهدة و مكلفة.
5. مدة الحفظ في بعض الطرق قصيرة نسبيا مثل حفظ الفايروس في العائل النباتي و حفظ الفايروس في الناقل الحشري.
6. تتطلب خبرة و مهارة خاصة, خاصة طرق الحفظ باستخدام تقانات الزراعة النسيجية.

ثانيا: حفظ الفايروسات بحالة غير فاعلة (خاملة)

أ. حفظ الفايروسات في الانسجة الطرية

1. التبريد

تحفظ عينات النبات الحاوية على الفايروس بدرجة حرارة 4 م° لمدة قصيرة لا تتجاوز عدة ايام.

2. التجميد

تستخدم لحفظ الفايروسات لمدة لا تتجاوز الاسابيع عند الحفظ بدرجة حرارة صفر مئوي.

3. التجميد العالي

تستخدم في حفظ الفايروسات ما بين الاشهر الى سنة واحدة وفقا لنوع الفايروس, وقد تصل الى عشر سنوات و تتراوح درجة الحفظ ما بين -20 م° الى -80 م°, و في النايتروجين السائل تصل الى -196 م°.

ب. حفظ الفايروسات في الانسجة الجافة.

وصفت هذه الطريقة لأول مرة في عام 1935 عندما وجد ان فايروس موزائيك التبغ Tobacco mosaic virus (TMV) احتفظ بقدرته على العدوى بعد تجفيف اوراق تبغ حاوي على الفايروس و استمرار احداث العدوى لمدة من 3-5 سنوات. و تشمل:

1. طريقة التجفيف باستخدام وعاء تجفيف
2. طريقة التجفيف باستخدام مواد كيميائية

لاحظ العالم Mckinney عام 1945 هناك عدة فايروسات نباتية يمكن ان تحفظ في المواد النباتية بعد تقطيعها الى قطع صغيرة و تجفيفها بمواد كيميائية مثل كلوريد الكالسيوم ($Cacl_2$) و كبريتات الكالسيوم ($CaSo_4$). في وعاء تجفيف او طبق بتري و تستمر عملية التجفيف لمدة اسبوع في درجة حرارة 4 م° لتقليل تأثير الانزيمات على الفايروس, و يفضل استخدام السيليكا جل (Silica gel) مع كبريتات الكالسيوم لإعطاء دليل على حدوث عملية التجفيف و يتحول لون هذه المادة من الازرق الى الوردي بوجود الرطوبة.

3. طريقة التجميد الجاف Freeze-drying

تجفف الاوراق المصابة بالفايروس او العصير الخام الحاوي على الفايروس في تفريغ هوائي و على درجة حرارة منخفضة, اذ يجمد النموذج المراد تجفيفه باستخدام النايتروجين السائل على درجة حرارة -70 م° ثم يوضع في جهاز يعد لهذا الغرض. تضاف الى الصبغات مواد مثبتة و حافظة للفايروس مثل البيتون بنسبة 0.7% ثم توضع في عبوات زجاجية و تجرى عملية التجفيف بعدها.

خصائص الفايروسات النباتية في العصير الخام

منذ عدة سنوات استخدم المشتغلون بعلم الفايروسات ثلاث اختبارات بسيطة للحصول على اي مؤشر على بقاء الفايروس فاعلا على احداث العدوى في العصير النباتي اضافة الى تركيز هذا الفايروس في النبات و كذلك استخدمت هذه الاختبارات في تشخيص الفايروسات و فصل الفايروسات النباتية عن بعضها عند وجودها في نفس العائل و في تحديد افضل طريقة لتنقية الفايروس, وهذه الاختبارات هي:

اولا: درجة التخفيف المنهية للفعالية (Dilution End point)

تعرف بانها درجة التخفيف التي يفقد فيها الفايروس قدرته على العدوى في عصير النبات المصاب. وتحدد عادتا بين تخفيفين الاول هو اعلى تخفيف يؤدي الى ظهور الاعراض و التخفيف الثاني يليه و الذي لا يؤدي الى ظهور الاعراض.

يمكن فصل فايروسين مختلفين على نفس النبات باستخدام نقطة التخفيف المنهية فمثلا يسبب فايروس البطاطا واي (PVY) و فايروس البطاطا اكس (PVX) اعراض موزائيك على نبات البطاطا عند عدوى كل منهما على حدة و اعراض تغضن عند وجودهما معا, فاذا اردنا عزل الفايروسين عن بعض نقوم بتخفيف العصير النباتي المستخلص من النبات المصاب بالفايروسين معا الى حد تخفيف 10^{-6} و من ثم نقوم بإجراء عدوى ميكانيكية على نبات بطاطا سليم فنحصل على فايروس (PVX) دون فايروس (PVY) بسبب ان فايروس (PVX) نقطة التخفيف المنهية له (DEP) تبلغ 10^{-5} - 10^{-6} و فايروس (PVY) تبلغ نقطة التخفيف المنهية له (DEP) 10^{-2} – 10^{-3} . و يجري الاختبار بالشكل التالي:

نأخذ عدة انابيب اختبار و يوضع في كل منها 9 مل ماء مقطر او محلول فوسفاتي, يضاف الى الانبوبة الاولى 1 مل من العصير النباتي المصاب بالفايروس بواسطة ماصة ثم يمزج المحلول جيدا, ثم يؤخذ من المحلول الناتج 1 مل و يضاف الى الانبوبة الثانية و يمزج جيدا وهكذا تكرر نفس العملية حتى الانبوبة الاخيرة. ثم تؤخذ محتويات كل انبوبة وتلقح ميكانيكيا بها عدد متساوي من نباتات الاختبار و تسجل النتائج بعد فترة مناسبة و متابعة ظهور الاعراض.

ثانيا: درجة حرارة التثبيط (Thermal Inactivation point)

تعرف بانها درجة الحرارة التي يفقد فيها الفايروس قدرته على العدوى عند تعريض عصير النبات المصاب لتلك الدرجة لمدة عشر دقائق. ان فقدان الفايروس على العدوى لقدرته على العدوى لا تعتمد على درجة الحرارة فحسب بل تتأثر بعوامل اخرى منها تركيز الفايروس في العصير الخام و تركيز ايونات الهيدروجين (pH) و وجود مواد ومركبات اخرى في العصير. و بالنظر لاختلاف هذه العوامل باختلاف النبات المستعمل كمصدر للفايروس لابد من التأكيد على ان نتائج هذه الاختبارات هي ارقام تقريبية و ليست ارقام دقيقة مطلقة.

لإجراء الاختبار :

1. تحضير مستخلص من نبات مصاب و ترشيحه بورق ترشيح.
2. نأخذ 2 مل من العصير النباتي (المستخلص) ونضعه في انابيب اختبار رقيقة الجدران مع مراعاة عدم تلويث جدران الانابيب الداخلية بالمستخلص.

3. توضع كل انبوبة في حمام مائي مثبت على درجة حرارة معينة لمدة عشر دقائق, بحيث يرتفع الماء بمقدار 3 سم عند مستوى العصير, تكون المعاملات الحرارية بمعدل 5 درجات بين معاملة واخرى ابتداءا من 45 م الى 95 م.
4. تحدد درجة الحرارة الملائمة باستخدام محرار يغمر بجانب الانبوبة لتثبيت درجة الحرارة.
5. ترفع كل انبوبة وتبرد بالماء الجاري او توضع في الثلج.
6. يؤخذ العصير النباتي المعامل بهذه الطريقة و تلقح به نباتات اختبار معينه و تكون درجة الحرارة التثبيط او المميتة هي الدرجة التي لا يسبب العصير المعامل بها عدوى على النباتات الملقحة به.

ثالثا: قدرة الفايروس على التعمير في العصير (Longevity in vitro)

هي الفترة التي يبقى فيها الفايروس محتفظا بقدرته على العدوى بعصير النبات المصاب لدى حفظ العصير في وعاء مغطى بدرجة حرارة (20-22 م). يجري الاختبار بأخذ عينه من العصير بفترات تحدد عادتا على اساس متواليه عددية (2, 4, 8, 16, ... الخ) و تكون اما بالساعات او الايام حسب نوع الفايروس. يلقح بها عدد من نباتات الاختبار و تؤخذ النتائج بعد فترة مناسبة. من الضروري ذكر درجة الحرارة التي حفظ فيها العصير اذا اكانت اكثر او اقل من (20-22 م) و النبات المستخدم كمصدر للفايروس و النبات المستخدم للاختبار.

اعراض الامراض الفايروسية Symptoms of virus disease

اولا: الاعراض الخارجية الكبيرة (External (macroscopic symptoms

أ. **الاعراض الموضعية Local**

تتميز هذه الاعراض بانها جروح موضعية متباعدة و مفصولة عن بعضها البعض, تظهر عند موضع دخول الفايروس على الاوراق المصابة طبيعيا او صناعيا. فان اشكال الجروح الموضعية الناتجة تختلف في انواعها كما يلي:

1. شاحبة الخضرة Chlorotic

اذ قد تكون بيضاء تماما او ذات ظل باهت من اللون الاخضر (اخضر باهت) مثل تبرقش بنجر السكر Sugar beet mosaic virus.

2. خضراء Green

تكتسب البقع او الجروح الخضراء التي تظهر على الاوراق المصابة مزيدا من اللون الاخضر اكثر من الانسجة المحيطة بها كما هو الحال في فايروس تقزم الطماطة الشجيري Tomato bushy stunt virus.

3. تنخر Necrotic

عادتا ما تكون خلايا هذه الجروح الموضعية متميزة بان خلايا تموت, ومن ثم فأنها تعطي جروحا تقرحيه, او انها تتأكل و تنخر الانسجة و تختلف هذه الجروح بالحجم. مثل فايروس تنخر التبغ Tobacco necrosis virus.

4. بقع حلقية Ring- spot

هذه البقع الموضعية تتكون من مجموعة مركزية من الخلايا الميتة قريبا من السطح المحقون و بعد ذلك تنشأ واحدة او اكثر من الحلقات المركزية Concentric من خلايا ميتة يتبادل معها فيما بينها انسجة خضراء عادية. مثل فايروس التبقع الحلقي في الطماطة Tomato ring spot virus.

5. الجروح النشوية Starch lesions

هذه الجروح او البقع الموضعية لا يمكن ان ترى بالعين المجردة على الاوراق المصابة التي تبدو ظاهريا كأنها سليمة, لكن عند حفظ هذه الاوراق في الظلام لمدة ليلة كاملة ثم تحطيم الكلوروفيل فيها بواسطة الكحول فأنها تصطبغ باللون الازرق او الازرق البنفسجي عند اضافة اليود اليها. مثل الاوراق الفلقيه للخيار المصابة بفايروس تبرقش التبغ Tobacco mosaic virus.

ب. الاعراض الجهازية Systemic

يطلق على الاصابة الجهازية اسم الاصابة الجاهزية العامة Generalized و ذلك لان الاعراض لا تكون عادة محصورة في اماكن دخول الفايروسات.

1. تبرقش Mosaic

ظهور مساحات خضراء داكنة وخضراء فاتحة على الاوراق المصابة, كما انه قد يتميز بزيادة الكلوروفيل في مساحات غير منتظمة عن مساحات اخرى على الورقة نفسها. مثل فايروس تبرقش التيوليب Tulip mosaic virus.

2. اصفرار Yellows

تتلون جميع او بعض اوراق النبات باللون الاصفر او قد تتلون حواف الاوراق فقط. كما في فايروس اصفرار البنجر Beet yellow virus.

3. بقع حلقية Ring- spot

تظهر البقع الحلقية كموجات من الدوائر ذات شحوب يخضوري او ميتة, كما انها قد تكون بسيطة او متحدة. مثل فايروس التبقع الحلقي في التبغ Tobacco ring spot virus.

4. تنخر Necrosis

يعني النخر موت الخلايا او الاعضاء و قد ينشأ النخر كمساحات صغيرة منتظمة او غير منتظمة من الانسجة الميتة, كما انها قد تسير مع العروق كلما انتقل الفايروس وتحرك. مثل فايروس البطاطا واي Potato virus Y.

5. تقزم النمو Stunting of growth

يعني التقزم Dwarfing اختزالا كبيرا في معدل النمو. يؤدي التقزم الى اختزال حجم الاوراق و الازهار و الثمار و قصر الاعناق و السلاميات, فتتقارب كثيرا بحيث يكون النبات قريبا من سطح الارض. مثل فايروس التبرقش الاصفر المتقزم في الذرة Maize yellow dwarf mosaic virus.

6. بعض انواع النمو الشاذ Other growth abnormalities

أ. تجعد الاوراق Leaf curl
ب. انتفاخ الساق Stem swelling
ت. التثألل Enation
ث. السرطان Tumors (الدرنات Galls)
ج. الورقة الخيطية Filiform leaf
ح. تشوه الثمار Distortion of fruits

ثانيا: الاعراض الداخلية (المجهرية) Internal (microscopic symptoms)

يقصد بالأعراض المجهرية تلك الاعراض التي تحدث داخل النبات و لا ترى بالعين المجردة, لكنها اصابات و اعراض خلوية ونسيجية تشمل التركيب الدقيق الداخلي للأنسجة و الخلايا و المحتويات الخلوية.

1. **قلة انقسام الخلايا Hypoplasia**

يعني النقص في اعداد الخلايا بالأوراق التي تظهر عليها اعراض تبرقش وتظهر غالبا في خلايا المناطق الصفراء او الخضراء الباهتة.

2. **زيادة الخلايا Hyperplasia**

تسبب بعض الفايروسات زيادة شاذة في اعداد الخلايا, مثلا فايروس تضخم الساق في الكاكاو Cocoa swollen shoot virus ينتج كميات شاذة من انسجة الخشب Xylem لكن تركيب الخلايا يبدو عاديا.

3. **تضخم الخلايا Cell enlargement**

يحدث في بعض انواع الاصابات الفايروسية ان تتضخم الخلايا القريبة من العروق بطريقة غير عادية, مما يؤدي الى حدوث ظاهرة تسمى روقان العروق Vein clearing.

4. **الشذوذ الخلوي Cytological abnormalities**

مثال ذلك تغير حجم حبيبات النشأ و عددها في خلايا الورقة, يوجد عادتا كميات اقل من النشأ مقارنة بالنباتات غير المصابة, و على الرغم من ذلك فان فايروس التفاف الورقة في البطاطا Potato leaf roll virus يسبب تراكم حبيبات النشأ بصورة مفرطة.

5. **تغيرات في البلاستيدات الخضراء Alterations of chloroplasts**

تؤدي بعض الفايروسات الى التأثير على البلاستيدات الخضراء حيث تؤدي الى توزيع ستروما Stroma البلاستيدات الخضراء و تشتتها اولا, ثم تتأثر بعدها الكرانا Grana و الصفائح الغشائية Lamellae التي تصبح محببة مؤدية الى تحلل البلاستيدات الخضراء.

6. **تغيرات في النواة Alteration of nucleus**

قد تؤدي بعض الفايروسات الى اختفاء النواة.

7. **تغيرات في السايتوبلازم Alteration of cytoplasm**

يشمل ذلك تجمع المحتويات السايتوبلازمية, ويصبح السطح البيني Interface بين السايتوبلازم و الفجوة غير واضح.

8. تكوين الاجسام المحتواة Developing of inclusion bodies

تبدو هذه الاجسام بالمجهر الضوئي اما كأجسام محببة او كأجسام متبلورة, تعرف الاجسام (المحتويات) الداخلية بانها مكونات غريبة نشأت نتيجة للإصابة الفايروسية. يتراوح حجم الاجسام المحتواة بين 5-30 مايكرومتر و توجد في السايتوبلازم او في النواة فقط او في كليهما, توجد على اشكال مختلفة كالصفائح السداسية و بلورية مغزليه و ابرية و انبوبية و متساوية الاضلاع, كما يتوقف تكوين الاجسام المحتواة على الفايروس المسبب اكثر من اعتماده على العائل المصاب, مثال ذلك تكوين هذه الاجسام في خلايا النبات المصاب بفايروس تبرقش التبغ TMV في حين تعذر رؤيتها في النبات نفسه عند اصابته بفايروس تبرقش الخيار CMV على الرغم ان مظاهر الاصابة الخارجية تكون متشابهة لكلا الفايروسين.

وسائل و طرق نقل و انتشار فايروسات النبات

اولا: النقل الميكانيكي Mechanical Transmission

يحدث النقل الميكانيكي في الطبيعة عندما تحتك اوراق النبات المصاب في الحقل بأوراق النباتات السليمة المجاورة, و ذلك اما بتأثير حركة الرياح او مرور المزارعين او الحيوانات من خلال الحقل كذلك استخدام الادوات الزراعية الملوثة (المكائن و الآلات الزراعية). اذ ان احتكاك النباتات مع بعضها البعض في الحقل يؤدي الى حدوث خدوش و جروح بعضها يكون مدخلا مناسبا لدخول الفايروسات من النبات المصاب او من ملابس المزارعين الملوثة او من فراء الحيوانات الملوثة وحدوث العدوى.

قد يحدث النقل الميكانيكي في الحقل ايضا عندما تحتك جذور النباتات المصابة بجذور النبات السليم. كذلك عند نقل شتلات الخضر مثل الطماطة و الفلفل, فاذا كانت ايدي العمال ملوثة بالفايروسات فأن الفايروس سينتقل الى الشتلات بواسطة ايديهم.

ان الفايروسات التي تنتقل ميكانيكيا تتميز بانها تصيب خلايا البشرة, تكون بتراكيز عالية في الانسجة المصابة, كما تكون مستقرة لا تتأثر كثيرا بالظروف البيئية خارج خلايا النبات. من الامثلة على هذه الفايروسات, فايروس موزائيك التبغ Tobacco mosaic virus (TMV) و فايروس البطاطا أكس Potato virus X (PVX) و فايروس موزائيك الطماطة Tomato mosaic virus (ToMV).

التلقيح الميكانيكي Mechanical Inoculation

يعرف التلقيح الميكانيكي بانه العملية التي يتم بواسطتها ادخال الفايروسات في انسجة و خلايا الكائن الحي, بصورة اصطناعية لأحداث العدوى. يمكن اجراء التلقيح الميكانيكي كما يأتي:

بعد تحضير اللقاح من النبات المصاب, ينثر الكاربوراندم (Carboraundum) على الاوراق المراد تلقيحها بطبقة خفيفة بواسطة مملحة ذات ثقوب دقيقة, ثم يغمس اصبع السبابة من اليد اليمنى في اللقاح و يمسح سطح الورقة بضغط خفيف. و يفضل ان تسند الورقة من الاسفل بواسطة راحة الكف اليسرى او قطعة مقوى. و بعد الانتهاء من التلقيح يغسل سطح الورقة بالماء مباشرة لفترة قصيرة لا تتجاوز العشرين ثانية.

بعض العوامل المؤثرة على كفاءة التلقيح الميكانيكي

1. المواد المثبطة (Inhibitors) يتضمن العصير المستخلص من النبات المصاب على مختلف المواد المصنعة داخل خلايا النبات. وقد وجد ان بعض هذه المواد مثبطة لعملية العدوى. من اهم هذه المواد هي مركبات حامض التانيك (Tannins) و الفينولات المؤكسدة و بعض الانزيمات.
2. المواد الخادشة (Abrasives) اثبتت التجارب ان استعمال مواد خادشة في عملية التلقيح الميكانيكي قد زاد من كفاءة العملية زيادة كبيرة قد تصل الى (140) ضعفا. من اهم المواد الخادشة المستعملة هي: الكاربوراندم (Carboraundum) و يستعمل بنثره على اوراق النبات قبل تلقيحها او يضاف الى محلول التلقيح, و السيلايت (Celite) وغيرها من المواد. ان عمل هذه المواد هو احداث اكبر عدد ممكن من الجروح التي تدخل منها الفايروسات الى الخلية اثناء عملية مسح اللقاح على سطح الورقة المراد تلقيحها وبذلك يزداد احتمال حدوث العدوى.
3. محلول الفوسفات المنظم (Phosphate Buffer): عند تحضير لقاح فايروسي من اوراق النبات المصاب نستخدم محاليل منظمة (Buffer) ان اكثر هذه المحاليل المنظمة شيوعا هو محلول الفوسفات و بتركيز ايونات الهيدروجين (pH) بين 7-8. و تأثير المحلول المنظم هو (قدرته على المحافظة على تركيز ايونات الهيدروجين في اللقاح ضمن مدى مناسب و بذلك يحافظ على الفايروس في المستخلص و كذلك يؤثر على عملية التئام الجروح التي تحدث عند التلقيح و يعتقد انه يساعد على انتشار جسيمات الفايروس في اللقاح).

ويفضل رش النباتات بعد التلقيح الميكانيكي بالماء

1. لزيادة التئام الجروح ولتعويض النبات الماء المفقود نتيجة الجروح
2. لإزالة بقايا الكاربوراندم وعدم زيادة الجروح وبالتالي موت النباتات.
3. لمعادلة حموضة العصير.
4. والتخلص من أملاح البفر المترسبة على الأوراق المحقونة وذلك عند غسل النباتات بعد التلقيح.

من الممكن عدم نجاح التلقيح الميكانيكي

1. قد لا يتحمل الفيروس عمليات الطحن لتحضير العصير المعدي.
2. قد يكون تركيز الفيروس في العصير المعدي أقل من التركيز المطلوب لأحداث العدوى.
3. قد تحتوى النباتات على بعض المواد المثبطة للفيروس والتي تنشط نتيجة لدخوله وتؤدى لتثبيط تضاعفه بالخلية.

أمثلة للفيروسات التي تنتقل ميكانيكيا :

- فيروس البطاطس اكس Potato virus X.
- فيروس موزيك التبغ Tobacco mosaic virus.
- فيروس موزيك الخيار Cucumber mosaic virus.

ثانيا: النقل عن طريق التكاثر الخضري

التكاثر الخضري هو اكثار النباتات باستعمال مختلف اجزاء النباتات ماعدا البذور. لذا فان التكاثر الخضري يشمل التطعيم و المدادات و الدرنات و الكرومات و الابصال و الرايزومات و الفسائل و السرطانات. فهناك فايروسات يصعب نقلها بالوسائل الميكانيكية الاعتيادية و ذلك اما لأنها لا تتكاثر في خلايا البشرة او انها غير مستقرة (Unstable) خارج انسجة النبات التي تتكاثر فيه او لأسباب اخرى غير معروفة. لذلك يلجأ الباحث الى استعمال التطعيم لنقل هذه الفايروسات من نبات الى اخر.

ثالثا: النقل بواسطة الحشرات

تعتبر الحشرات من اهم الوسائل التي تقوم بنقل ونشر الفيروسات التي تسبب امراضا في النبات في الطبيعة. فهي تقوم بنقل الفايروسات من نبات مصاب الى نبات سليم بواسطة اجزاء فمها اثناء تغذيتها على النباتات و تساعد على انتشارها من منطقة الى اخرى عند طيرانها. من الحشرات المعروفة بنقلها للفايروسات: المن و القفازات و الذبابة البيضاء و الثربس و البق الدقيقي و بعض الحشرات القارضة كالجراد و الخنافس.

1. **النقل بواسطة حشرة المن Transmission by *Myzus persicae***

تعتبر حشرات المن من اهم ناقلات الفايروسات التي تسبب امراضا في الطبيعة و مما ساعد على ذلك هو ملائمة اجزاء فمها لنقل الفايروسات من نبات الى اخر, حيث تمتلك الحشرة خرطوما رفيعا جدا تستخدمه لغرزة في نسيج النبات الذي تتغذى عليه, و عن طريق غرز الخرطوم في خلايا نسيج النبات تتغذى عليه و كذلك تقوم بنفس الوقت بنقل الفايروسات من النبات المصاب الى النبات السليم.

مما سبق يمكن تلخيص طرق نقل فايروسات النبات بواسطة الحشرات بما يلي:

أ. الفايروسات الباقية (Persistent viruses) تنتقل بواسطة الحشرات التي لها اجزاء فم ثاقبة ماصة مثل حشرات المن. تكون مدة بقاء الفايروسات في الحشرات الناقلة لها طويلة تتراوح من بضعة اسابيع الى بضعة اشهر, قد تبقى طوال فترة حياة الحشرة.
ب. الفايروسات غير الباقية (Non-persistent viruses) تنتقل بواسطة الحشرات التي لها اجزاء فم ثاقبة ماصة. تكون مدة بقاء الفايروسات في الحشرات الناقلة لها قصيرة تتراوح من بضعة دقائق الى بضعة ساعات.
ت. الفايروسات شبه الباقية (Semi-persistent viruses) تنتقل بواسطة الحشرات التي لها اجزاء فم ثاقبة ماصة. و تكون مدة بقاء الفايروسات في الحشرات الناقلة لها بين القسمين المذكورين اعلاه.
ث. الفايروسات المتكاثرة (Propagative viruses) تتميز بانها تتكاثر في الحشرات الناقلة لها. تكون هذه الفايروسات عادة من الفايروسات الباقية (persistent) من حيث الفترة التي تحتفظ الحشرات بقدرتها على نقلها.
ج. الفايروسات التي تنتقل على فكوك الحشرات القارضة كالجراد و الخنافس, تعتبر طريقة النقل هذه ميكانيكية.

2. النقل بواسطة القفازات Transmission by leaf hoppers

تعتبر القفازات ثاني اهم مجموعة حشرية بعد حشرات المن بالنسبة لأهميتها في نقل فايروسات النبات في الطبيعة و ان الفايروسات التي تنقل بواسطة القفازات اعتياديا تسبب امراض التفاف الاوراق و الاصفرار. تتغذى هذه الناقلات بصورة رئيسية على انسجة اللحاء في النبات حيث تتركز الفايروسات التي تقوم بنقلها.

و تنقل القفازات فايروسات النبات بنفس الطرق التي تم شرحها بالنسبة لحشرات المن وهي: باقية و شبه باقية و متكاثرة و لا توجد فايروسات غير باقية بالنسبة لهذه الحشرات. و يمكن الاستدلال على تكاثر الفايروسات فيها بالطرق التالية:

أ. طريقة الاختبار المباشر و ذلك بالنقل المتعاقب من حشرة لحشرة اخرى.
ب. مرور الفايروسات من الحشرات الى اجنتها.
ت. رؤية الفايروسات داخل جسم الحشرة الناقلة.

مثل فايروس التفاف القمة في البنجر Beet curly top virus

3. النقل بواسطة حشرة الذبابة البيضاء Transmission by Whitefly

تمتاز حشرة الذباب الابيض بقابليتها العالية على التكاثر و الانتشار في المناطق الاستوائية و شبة الاستوائية و الاكثر اعتدالا اضافة الى اتساع مداها العائلي (500 نوع نباتي), الامر الذي ساهم في زيادة الاضرار الاقتصادية الناتجة عن فايروسات النبات, تزداد كفاءة الحشرة في نقل الفايروس باستمرارية التغذية على نبات مصاب اضافة الى زيادة

تركيز الفايروس و نوع النبات المصاب. تنقل الفايروسات بطريقة باقية فقط. مثل فايروس تجعد و اصفرار اوراق الطماطة Tomato yellow leaf curl virus.

4. النقل بواسطة الثربس و البق الدقيقي Transmission by Thrips and mealy bugs

تعتبر ذات كفاءة محدودة في النقل غير أن هناك بعض الفايروسات تنتقل بهذه الحشرات مثل فايروس الذبول المبقع في الطماطة Tomato spotted wilt virus

5. النقل بواسطة الحشرات القارضة Transmission by Beetles

وجد ان مجموعة من الفايروسات تنتقل من نبات الى اخر بواسطة بعض الحشرات القارضة كالجراد و الخنافس و بعض الافراد الاخرى من رتبة غمديه الاجنحة و مستقيمة الاجنحة. قد وجد ان هذه الطريقة من نقل الفايروسات ليست الا عملية ميكانيكية تحدث بالتصاق الفايروسات على فكوك الحشرات المذكورة اثناء تغذيتها على النبات المصاب ثم تنقل الى النبات السليم اثناء تغذية الحشرة على انسجتها. مثل فايروس TMV

وعند الحديث عن النقل الحشري يجب ان نتعرف على بعض المصطلحات مثل الاكتساب والتلقيح و فترة الحضانة:

1- **فترة الاكتساب للفيروس** : Acquisition feeding period : هي الفترة من الوقت التي تتعرض فيها الحشرة الغير حاملة للفيروس لنبات مصاب مصر الفيروس ثم بعدها تصبح معدية أي حاملة للفيروس.

2- **فترة تلقيح الفيروس** Inoculation feeding period : هي الفترة من الوقت التي تتعرض فيها الحشرة المعدية لنبات الاختبار ويتم بعدها تلقيحه بالفيروس بحيث تظهر الإصابة به فيما بعد.

3- **فترة نقل الفيروس** Transmission Time : هي أقل فترة تحتاجها الحشرة حتى تكتسب الفيروس ثم تحقنه في النبات السليم (فترة تلقيح الفيروس + فترة اكتساب الفيروس).

4- **فترة الحضانة** Incubation Period : هي الفترة من الوقت التي تقضيها الحشرة الناقلة بعد اكتسابها للفيروس حتى تصبح معدية viruliferous

رابعا: النقل بواسطة البذور Transmission by Seed

تحدث اصابة الجنين بإحدى الطرق الاتية

1. اصابة الجنين عن طريق حبوب اللقاح
2. اصابة الجنين نتيجة غزو الفيروس للبويضة الموجودة في النبات الام
3. الاصابة عن طريق الاختراق المباشر للجنين

لعوامل التي تمنع مرور الفيروس خلال البذور

يوجد عدة تفسيرات

1. عدم قدرة الفيروس على اختراق البيوضة او الجنين.
2. ان يفقد الفيروس بعد الدخول او يحدث له تثبيط او يحدث توقف لنشاط الفيروس في الجنين.
3. قد يكون الفايروس مميتا للأمشاج و بذلك يسبب العقم في بعض الحالات.
4. قد لا يكون الفايروس قادرا على اصابة الامشاج (حبوب اللقاح و البويضة) بسبب مقاومة هذه الانسجة له.

مثل فايروس موزائيك الفاصوليا الاعتيادي Bean common mosaic virus (BCMV)

خامسا: النقل بواسطة الديدان الثعبانية Transmission by Nematodes

يتم نقل الفيروسات من خلال تغذية النيماتودا الناقلة من جذور النباتات المصابة بالفيروسات ثم تتغذى على جذور النباتات السليمة وبالتالي تقوم بنقل الفيروسات إليها من النباتات المصابة.

ويجب الانتباه إلى أن النيماتودا لا تستطيع نقل الفيروسات إلا إذا قامت بأخذ الغذاء من المصادر الفيروسية النباتية و تنقلها إلى النباتات الأخرى. وتنفرد الأجناس التالية: *Trichodorus* spp. *Longidorus* spp. – *Xiphinema* spp. من بين النيماتودا المتطفلة على النباتات بقدرتها على نقل العديد من الفيروسات النباتية.

مثل فايروس التبقع الحلقي في الطماطة Tomato ringspot virus

سادسا: النقل بواسطة العناكب و الحلم Transmission by Mites

هناك مجموعة من الحلم والعناكب تعرف بقدرتها على نقل بعض الفايروسات التي تسبب امراضا للنبات. مثل فايروس موزائيك الخوخ Peach mosaic virus الذي ينقله *Eriophyes* spp.

سابعا: النقل بواسطة الفطريات Transmission by Fungi

ينتقل عدد قليل من الفايروسات بواسطة الفطريات سواء كانت عن طريق الفطر نفسة او سبورات الفطر. مثل فايروس موزائيك الحنطة Wheat mosaic virus الناقل له فطر *Olpidium brassica*.

ثامنا: النقل بواسطة الحامول Transmission by Dodder

اذا كان احد النباتات مصاب بالفايروس فينتقل الفايروس بواسطة الحامول من النبات المصاب الى النبات الاخر السليم الذي يتطفل عليه الحامول, لذا يمكن استخدام الحامول كجسر بايلوجي بين النباتات. و تستعمل هذه الطريقة لنقل الفايروسات التي لا تنتقل ميكانيكيا, كذلك تستعمل هذه الطريقة لفصل الفايروسات المختلفة الموجودة على نبات واحد عن بعضها البعض كما هو الحال في مرض White clover mosaic الذي يتسبب عن فايروسين احداهما فايروس Pea mosaic virus و فايروس الذي يمكن نقله بواسطة الحامول *Cascuta campestris* و الفايروس الاخر Pea wilt virus الذ لا ينتقل بواسطة الحامول.

تاسعا: النقل بواسطة حبوب اللقاح Transmission by pollen

العديد من فايروسات النبات تنتقل من نبات مصاب الى نبات سليم بواسطة حبوب اللقاح. مثل فايروس موزائيك الفاصوليا الاعتيادي على الفاصوليا Bean common mosaic virus.