دراسات حيوية وجزيئية وتحليل التتابع الجيني في تشخيص فايروس تجعد واصفرار أوراق الطماطة TYLCV في العراق وسبل مكافحته

أطروحة
مقدمة إلى مجلس كلية التربية
جامعة البصرة وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الدكتوراه
فلسفة في علوم الحياة
(امراض النبات)

من قبل
عبد الكريم قاسم جبر المولى
بكالوريوس علوم زراعية (1980)
ماجستير امراض نبات (1984)

اشراف
ا. د. كاظم جاسم حمادي د. مثنى عكيدي المعاضيدي

1434 هـ 2013 م

الخلاصة

شخص فايروس تجعد واصفرار أوراق الطماطة *Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV)* التابع إلى الجنس Begomoviruses ضمن العائلة Geminiviridae اعتماداً على نوعين من الطرائق أو الخصائص وهي الخصائص الحيوية والمظهرية (الأعراض الخارجية و اختبارات النقل والمجهر الالكتروني) ، والخصائص الداخلية Intrinsic properties (الغلاف ألبروتيني والحامض النووي) وقد أظهرت نتائج دراسة الخصائص الحيوية والمظهرية إن الفايروس يصيب مجموعة من النباتات التابعة إلى العوائل النباتية منها Asclepiadaceae, Solanaceae, Fabaceae في حين أظهرت نتائج الفحص بالمجهر الالكتروني لمستخلص نقى من أوراق نباتات طماطة مصابة بالفايروس أن أبعاد الفايروس 20 x 30 نانومتر ، حيث أجريت عملية التنقية والتصوير بالمجهر الالكتروني في جامعة Leicester في بريطانيا.

أما التشخيص بالاعتماد على الخصائص الداخلية (الغلاف ألبروتيني) فقد استخدمت الطرائق السيرولوجية ELISA للكشف عن الفايروس وأظهرت النتائج وجود الفايروس TYLCV في نباتات الطماطة التي جمعت من الحقل إضافة إلى بعض النباتات الكاشفة المعداة بوساطة الذباب الأبيض *Bemisia tabaci* .

أما الخصائص الداخلية المعتمدة على الحامض النووي فقد استخدمت الوراثة الجزيئية المتمثلة بتقنية الـ Polymerase chain reaction (PCR) لأول مرة في الكشف عن الفايروس TYLCV في العراق إذ استخلص الحامض النووي الـ DNA من أوراق نباتات طماطة مصابة واستعمل كقالب للتضخيم بوساطة تقنية PCR باستخدام زوج من البادئات Primers .

شملت الدراسة تقييم إصابة أصناف مختلفة من الطماطة تظهر عليها أعراض الإصابة بالفايروس من مناطق عديدة من العراق شملت محافظة البصرة وميسان وكربلاء وبغداد باعتماد تقنية PCR للكشف عن الفايروس وقد اظهر الاختبار تفاوت الأصناف المختلفة في إصابتها بالفايروس TYLCV حيث لوحظ ظهور الحزم المتوقعة (400bp ~)

في الأصناف المصابة بالفايروس وسجل الفايروس لأول مرة في محافظة ميسان على أصناف من الطماطة وعلى نبات الحلبلاب *Cynanchum acutum* والبتونيا *Petunia hybrida*.

وبهدف تحليل التتابعات Sequences analysis للحامض النووي الفايروسي فقد أرسلت نواتج الـ PCR المضخمة من نباتات الطماطة المصابة من حقول في محافظة البصرة إلى جامعة Leicester في بريطانيا أيضاً لتحديد التتابع للحامض النووي للفايروس Sequencing بوساطة جهاز Sequencer ومقارنة التتابع الناتج لهذه العزلة مع التتابعات الفايروسية المسجلة باستعمال برنامج BLAST الموجود في National Center for Biotechnology Information(NCBI) واتضح إن هذه العزلة هي عزلة جديدة للفايروس وتسجل لأول مرة في العراق ، ونتيجة لذلك فقد أعطيت اسم .TYLCV-Bsr. أظهرت العزلة الجديدة تقارباً شديداً مع بعض العزلات القريبة جغرافياً وصلت إلى 94-95 % وأنجزت الشجرة الوراثية Phylogenetic tree وتنظيم التتابع Sequence alignment باستخدام طريقة Clustal W .

أجريت تجربة حقلية لاختبار تأثير المعاملة بالمضاد الفايروسي Max3v على تطور مرض تجعد واصفرار أوراق الطماطة وشدة المرض Severity وحدوث المرض Incidence قبل العدوى بالفايروس وبعدها على نباتات طماطة اعديت صناعيا بالفايروس بوساطة الذباب الأبيض *Bemisia tabaci* ، بينت النتائج إن هناك فروقاً معنوية بين النباتات المعاملة بالمضاد الفايروسي ونباتات المقارنة وان هناك فروق معنوية بين رش المضاد الفايروسي قبل العدوى بالفايروس وبين رش النباتات بعد العدوى بالفايروس مما يشير إلى أن المضاد الفايروسي Max3v له تأثير في التقليل من تطور المرض وشدته وحدوثه خاصة في المعاملة قبل العدوى ، كما أشارت النتائج إن الأصناف الأربعة (دلال وهتوف وارليتا واولكا) حساسة للإصابة بالفايروسTYLCV وان الصنف هتوف هو أكثر الأصناف حساسية للإصابة والصنف دلال اقل الأصناف حساسية للإصابة وان أول موعد لظهور الإصابة لكل الأصناف أسبوعان بعد العدوى بالفايروس .