مسح لبعض الفيروسات التي تصيب الفاصولياء واللوبية مسلات في لبنان

عصمت عزام وخالد مكوك

كلية العلوم الزراعية والغذائية، الجامعة الاميركية في بيروت والمجلس الوطني للبحوث العلمية، بيروت، لبنان. العنوان الحالي للباحثين: ايكاردا، ص.ب. ٥٤٦٦، حلب، سوريا.

الملخص

عزام، عصمت وخالد مكوم. ١٩٨٥. مسح لبعض الفيروسات التي تصيب الفاصولياء واللوبية مسلات في لبنان. مجلة وقاية النبات العربية ٣: ٧٦ - ٨٠.

لقد جرى مسح لتحديد الفيروسات التي تصيب الفاصولياء (*Phaseolus vulgaris*) واللوبية مسلات (*Vigna unguiculata*) في لبنان حيث جمعت ٣٣٤ عينة عليها أعرض الاصابة الفيروسية من ١٣ موقع خلال الموسم الخريفي لعام ١٩٨٤. حفظت العينات عند درجة حرارة - ٢٠ م° لحين فحصها باختبار الاليزا. لقد تم فحص العينات لمعرفة مدى وجود الفيروسات التالية: فيروس موزاييك اللوبية مسلات، فيروس موزاييك واصفرار الفاصولياء، فيروس موزاييك اللوبية مسلات، فيروس موزاييك واصفرار الفاصولياء، فيروس موزاييك الفاصولياء العادي، وفيروس موزاييك الخيار. في التجارب الأولية تبين أن أفضل محلول لاستخراج العينة من أجل فحصها باختبار الاليزا كان المحلول المنظم ار. جزيء من الفوسفات + ١, ٠ جزيء ذات حموضة ٧,٤. أعطى هذا المحلول نتائج أفضل بكثير من المحلول الذي يستعمل عادة لاستخراج العينات، وبالتالي فإن جميع العينات التي فحصت لاحقاً تم استخراجها بهذا المحلول. أوضحت نتائج الاختبارات بأن حوالي ٥٠٪ من العينات كانت مصابة بفيروس موزاييك اللوبية مسلات، بينما الاصابة بالثلاث فيروسات الأخرى المذكورة أعلاه تتراوح بين ٢ و٤٪. يضاف إلى ذلك بأن فيروس موزاييك اللوبية مسلات وجد في عشرة من المواقع التي مسحت بينما انتشار الفيروسات الثلاثة الأخرى كان أقل. بعض النباتات في الحقل كانت مصابة بأكثر من فيروس واحد. في ٣٥٪ من العينات لم نتمكن من تحديد الفيروس المسبب مما يؤكد بأن هناك فيروسات أخرى تصيب الفاصولياء غير تلك التي أشير إليها في هذه الدراسة.

المقدمة

إن محصول الفاصولياء (لانتاج القرون الخضراء أو الحبوب الجافة) يعتبر من حيث الأهمية رابع محصول بقولي في لبنان بعد العدس والبازلاء والحمص (١٢). إن أهم المناطق التي تزرع فيها الفاصولياء في لبنان هي الساحل اللبناني، وسط وجنوب سهل البقاع، المنطقة الوسطى من جبل لبنان وسهل عكار. كان أول إشارة لاصابة هذا المحصول بفيروس موزاييك الفاصولياء العادي سنة ١٩٦٧ (٩)، تلاها دراسات حول إصابة الفاصولياء بفيروس موزاييك واصفرار الفاصولياء وفيروس موزاييك الخيار (٥، ٦). يضاف إلى ذلك بأنه في دراسة قدمت حديثاً عرف فيروس آخر عزل من الفاصولياء في لبنان ذو قرابة شديدة لكل من فيروس موزاييك اللوبية مسلات، فيروس موزاييك الفاصولياء العادي (السلالة NY-15) وفيروس موزاييك الفاصولياء أزوكي (٧). بينت هذه الدراسة بأن هذا الفيروس له صفات خاصة مميزه به تفرقه عن الفيروسات الثلاثة الآنفة الذكر، إلا أن القرابة كانت أشد لفيروس موزاييك اللوبية مسلات عنه للفيروسين الآخرين. وبناء عليه فإننا مبدئياً في هذه الدراسة اعتبرنا بأن هذا الفيروس هو فيروس موزاييك اللوبية مسلات.

إن الاصابة بالفيروسات هي أحد العوامل التي تقلل من إنتاج الفاصولياء في المنطقة لذلك وجدنا من المفيد اجراء مسح عام لتحديد ماهية الفيروسات التي تصيب الفاصولياء واللوبية مسلات في لبنان.

مواد وطرق البحث

إن مصادر الأمصال المضادة للفيروسات المختلفة التي استعملت في الفحوص السيرولوجية في هذه الدراسة كانت على الشكل التالي: (أ) المصل المضاد لفيروس موزاييك الخيار كان قد انتج سابقاً في مختبرنا، (ب) المصل ضد فيروس موزاييك اللوبية مسلات كان تقدمة من الدكتور هـ. جـ. فاتن، المانية الاتحادية، (جـ) المصل المضاد لفيروس موزاييك واصفرار الفاصولياء كان تقدمة من الدكتور جـ. راندلز، اوستراليا، (د) أما المصل المضاد لفيروس موزاييك الفاصولياء العادي فكان تقدمة من الدكتور جـ. مينك، الولايات المتحدة الامريكية.

استعمل اختبار الاليزا في الكشف عن الفيروسات بطريقة كلارك وآدامز (١) باستثناء استخراج العينات بواسطة محلول ٠,١ جزيء محلول فوسفات المنظم مضافاً إليه ٠,١ جزيء EDTA وذلك بدلاً من محلول الاستخراج القياسي المستعمل عادة في هذه الطريقة. استخدمت الأجسام المضادة بتركيز : ١ ميكروجرام/ مل وذلك عند الكشف على فيروسات موزاييك اللوبية مسلات، موزاييك واصفرار الفاصولياء وموزاييك الخيار. أما عند الكشف عن فيروس موزاييك الفاصولياء العادي فلقد استعمل تركيز ١٠ ميكرجرام/ مل.

بالنسبة للأنزيم المرتبط بالأجسام المضادة فقد استعمل تخفيف ١/١٦٠٠ عند الكشف عن فيروسات موزاييك اللوبية مسلات، وموزاييك واصفرار الفاصولياء وموزاييك الخيار وتخفيف ١/١٨٠٠ عند الكشف عن فيروس موزاييك الفاصولياء العادي. أما المادة التي يفككها الانزيم لانتاج مادة ملونة (صفراء) فلقد استعملت بتركيز ٠,٥ ملجم/مل. جرى تقييم التفاعل باستعمال قارىء الاليزا من إنتاج شركة تيرتك.

تم جمع ٣٣٤ عينة من الفاصولياء واللوبية مسلات والتي تحمل أعرض الاصابةؤ الفيروسية في خريف ١٩٨٤ من ١٣ موقع كما هو مبين بالشكل ١. حفظت العينات في الثلاجة عند درجة حرارة ـ ٢٠°م لحين فحصها. تم استخراج العصير النباتي من أوراق العينات باستعمال هاون حيث اضيف ٣ مل من محلول الاستخراج لكل ١ جم من النسيج النباتي. اعتبرت العينة مصابة بفيروس معين عندما كان امتصاص الضوء ذو الموجة ٤٠٥ نانو متر للعينة يفوق امتصاص الشاهد السليم (الغير مصاب) + ثلاثة أضعاف الانحراف القياسي (Standard deviation).

النتائج

عند استعمال محاليل مختلفة لاستخراج العصير النباتي من العينات المراد فحصها للكشف عن وجود فيروسات موزاييك اللوبية مسلات، موزاييك واصفرار الفاصولياء وموزاييك الخيار تبين بأن المحلول المنظم الذي يحتوي ٠,١ جزيء فوسفات + ٠,١ جزيء EDTA وحموضة ٧,٤ هو أفضل من المحلول القياسي الذي يستعمل عادة لاستخراج العينات لفحصها باختبار الاليزا (جدول١). وبالتالي فقد استعمل هذا المحلول المنظم لاستخراج جميع العينات التي جمعت من الحقول.

وجد فيروس موزاييك اللوبية مسلات في عشرة مواقع من أصل ١٣ موقع التي شملها المسح، كما أن ٥٠٪ من العينات التي فحصت وجدت بأنها تحتوي على هذا الفيروس (جدول ٢). يضاف إلى ذلك أن هذا الفيروس وجد فقط في عينات الفاصولياء التي فحصت ولم يوجد في عينات اللوبية مسلات أما فيروس موزاييك الفاصولياء العادي فقد وجد في أربعة مواقع وكانت نسبة وجوده في العينات التي فحصت هي ٤٪. ولقد أكدت الاختبارات السيرلوجية وجود سلالتين من هذا الفيروس هما NY-15 و NL-3 ولقد وجد فيروس موزاييك واصفرار الفاصولياء في موقعين من المواقع الثلاثة عشرة التي شملتها الدراسة وكانت نسبة وجوده في العينات التي فحصت هي ٣,٨٪. كما أن هذا الفيروس وجد في الفاصولياء واللوبية مسلات. ولقد وجد فيروس موزاييك الخيار أيضاً في الفاصولياء واللوبية مسلات وكانت نسبة وجوده في العينات التي فحصت هي ١,٧٪ وذلك في سبعة مواقع. يضاف إلى ذلك بأن ١٠٪ من مجموع العينات التي فحصت كانت تحتوي أكثر من فيروس واحد.

المناقشة

أكدت هذه الدراسة وجود فيروسات موزاييك الفاصولياء العادي، موزاييك واصفرار الفاصولياء وموزاييك الخيار في لبنان كما أشير إلى ذلك في دراسات سابقة جرت في لبنان ومنطقة الشرق الأدنى (٢، ٣، ٨، ١٠، ١١). إلا أن هذه الدراسة تكشف لأول مرة عن وجود فيروس شديد الشبه بفيروس موزاييك اللوبياء مسلات في لبنان والمنطقة المجاورة، وفي حال تأكيد ماهية هذا الفيروس فإن هذا التقرير يكون أول إشارة عن إصابة الفاصولياء به.

إن جميع الفيروسات التي أشارت إليهم هذه الدراسة ينتقلون بواسطة البذور، وبما أن كثير من المزارعين في لبنان يحتفظون بجزء من البذور المنتجة ويزرعونها في الموسم التالي فإن زيادة انتشار هذه الفيروسات هو احتمال وارد. لذلك فإن إنتاج وتوزيع بذور خالية من الاصابة الفيروسية، وخاصة الأصناف المحلية، هو الخطوة الأولى للحد من انتشار فيروسات الفاصولياء. إن استعمال محلول ٠,١ جزيء فوسفات + ٠,١ جزيء EDTA لاستخراج العينات من أجل فحصها باختبار الاليزا ادى إلى زيادة حساسية الاختبار بالمقارنة بالمحلول القياسي الذي يستعمل عادة في مثل هذا الاختبار (١) وهذه النتائج مشابهة لما حصل عليه آخرون في دراسات نشرت حديثاً (١٣,٤).

هناك فيروسات تصيب الفاصولياء في لبنان غير تلك التي أشير إليها في هذه الدراسة إذ اننا لم نتمكن من الكشف عن ماهية الفيروس الموجود في ٣٥٪ من العينات التي فحصت. إلا أن الدراسات متواصلة ونأمل من تحقيق ذلك في المستقبل القريب.

شكل ١ ـ المواقع التي جمعت منها عينات من الفاصوليا واللوبية مسلات وتحمل أعراض الأمراض الفيروسية.

Figure 1. Locations surveyed for the occurrence of viruses on dry bean and cowpea in Lebanon.

جدول ١ ـ تأثير ثلاثة محاليل لاستخراج العينات على حساسية اختبار الاليزا في الكشف عن بعض فيروسات الفاصولياء.

Table 1. Effect of three extraction buffers on the sensitivity of ELISA for dectecting some dry bean viruses.

عينة الاختبار Sample tested	المصل المضاد[أ] المستعمل Antiserum used[a]	محلول الاستخراج القياس Standard extraction buffer	امتصاص الضوء دو الوجة ٤٠٥ نانومتر عند استعمال Absorbance (405 nm) upon using ٠,١ جزيء فوسفات + ٠,١ جزيء EDTA ذات حموضة ٧,٤ O.1M phosphate + 0.1M EDTA PH 7.4	٠,٥ جزيء فوسفات ذات حموضة ٧,٤ 0.5M phosphate PH 7.4
فاصولياء سليمة Healthy bean	B1CMV	0.141	0.079	0.070
فاصولياء مصابة بفيروس موزاييك اللوبية مسلات B1CMV-infected bean	B1CMV	0.302	2.203	2.193
فاصولياء سليمة Healthy bean	B YMV	0.121	0.114	0.064
فاصولياء مصابة بفيروس موزاييك واصفرار الفاصولياء BYMV-infected bean	BYMV	2.114	2.124	2.147
دخان سليم Healthy tobacco	CMV	0.039	0.068	0.077
دخان مصاب بفيروس موزاييك الخيار CMV-infected tobacco	CMV	1.911	2.134	2.040

a- B1CMV = black eye cowpea mosaic virus

BYMV = bean yellow mosaic virus

CMV = cucumber mosaic virus

أ فيروس موزاييك اللوبية مسلات =

فيروس موزاييك واصفرار الفاصولياء =

فيروس موزاييك الخيار =

جدول ٢ ـ مدى اصابة الفاصولياء واللوبية مسلات بفيروس موزاييك اللوبية مسلات، فيروس الفاصولياء العادي، فيروس موزاييك واصفرار الفاصولياء وفيروس موزاييك الخيار منفردة أو مجتمعة في ١٣ موقع جرى مسحها خلال خريف ١٩٨٤ في لبنان.

Table 2. Incidence of Blackeye cowpea mosaic virus (B1CMV), bean common mosaic virus (BCMV), bean yellow mosaic virus (BYMV) and cucumber mosaic virus (CMV) singly or in mixed infections on dry bean and cowpea grown at 13 different locations in Lebanon.

الموقع Location	النوع النباتي Plant species	مجموع العينات التي فحصت Total No. of samples tested	عدد العينات المصابة بفيروس No. of samples infected with							
			B1CMV	BMCV	BYMV	CMV	BCMV + CMV	BYMV + CMV	BCMV + C MV	CMV + B1CMV	BCMV + BICMV + CMV
طبرجا Tabarja	فاصولياء Dry bean	30	19	—	—	1	5	1	—	—	—
نهر ابراهيم Nahr Ibrahim	فاصولياء Dry bean	13	3	—	—	1	2	6	—	—	—
عقبة Aquaibe	فاصولياء Dry bean	21	17	—	—	—	—	—	—	3	—
حالات Halate	فاصولياء Dry bean	19	13	—	—	—	—	1	—	1	1
عمشيت Amchit	لوبية مسلات Cow pea	8	—	—	—	—	—	1	—	—	—
	فاصولياء Dry bean	28	15	—	—	—	—	—	—	—	—
باروك Barouk	فاصولياء Dry bean	19	9	—	—	—	—	—	—	1	—

تابع جدول ٢

رياق Rayak	فاصولياء Dry bean	7	—	1	—	—	—	—	—	—	—
دير زنون Deir Zanoun	فاصولياء Dry bean	16	—	1	1	—	—	—	—	—	—
	لوبية مسلات Cow pea	37	—	5	11	2	—	4	2	—	—
مريجات Mrayjat	فاصولياء Dry bean	16	15	—	—	—	—	—	—	—	—
شريفات Choueifat	فاصولياء Dry bean	74	48	—	—	2	6	1	—	1	—
الباعمة El-Nahme	فاصولياء Dry bean	29	—	5	—	—	—	—	—	—	—
الورهانية Warhania	فاصولياء Dry bean	12	8	2	1	—	—	—	—	1	—
بصيل Bossayl	فاصولياء Dry bean	5	3	—	—	—	—	—	—	1	—

Abstract

Azzam, O.I. and K.M. Makkouk. 1985. A survey of viruses affecting dry bean and cowpea in Lebanon. Arab J. Pl. Prot. 3: 76 - 80.

A survey was conducted to identify viruses affecting dry bean (*Phaseolus vulgaris*) and cowpea (*Vigna unguiculata*) in Lebanon. Three hundred and thirthy four samples exhibiting virus-like symptoms were collected from 13 different locations during the fall growing season of 1984. Samples were stored at -20°C until they were tested by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the presence of blackeye cowpea mosaic virus (BlCMV), bean yellow mosaic virus (BYMV), bean common mosaic virus (BCMV) and cucumber mosaic virus (CMV). In preliminary tests, the extraction buffer 0.1M phosphate + O.1M EDTA, pH 7.4, was found to be far better than the standard extraction buffer and, accordingly, was used for virus extraction for all field samples. Results obtained indicated that around 50% of the bean samples tested were infected with BlCMV. Incidence of BCMV, BYMV and CMV in the samples tested was 4,4 and 1.7%, respectively. BlCMV was detected in 10 locations, whereas, BYMV, BCMV and CMV were found in 1,4 and 4 locations, respectively. Mixed infections such as BCMV+ BlCMV, BCMV+CMV, BYMV + CMV and BlCMV+BCMV+CMV were detected. In 35% of the samples assayed, the causal virus was not identified.

References

المراجع

1. Clark, M.F. and A.N. Adams. 1977. Characteristics of microplate method of enzyme-minked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. J. Gen. Virol. 34: 475 - 483.

2. Eid, S.A. and M.A. Tolba. 1979. Studies of some ciruses isolated from broadbeans (*Vicia faba*) in Egypt. FABIS Newsletter 1:26.

3. Eldin, A.S.G., M. El-Hammade, H.M. Mazyad, A.A. El-Amerty and F.T. Morsy. 1980. Isolation and identification of cucumber mosaic virus from cowpea in Egypt. Agr. Res. Rev. 58: 232 - 240.

4. Gonsalves, D. and M. Ishii. 1980. Purification and serology of papaya ringspot virus. Phytopathology 70: 1028 - 1032.

5. Haddad, N.A. 1983. **Detection and identification of three viruses affecting french bean, faba bean, and cowpea in Lebanon.** Master of Science Thesis. Faculty of Agricultural and Food Sciences. American University of Beirut, Lebanon. 73 pages.

6. Makkouk, K.M., D.E. Leseman and N.A. Haddad. 1982. Bean yellow mosaic virus from Lebanon: incidence, host range, purification, and serological properties. Zeitschrift fur Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz 89: 59 - 66.

7. Makkouk, K.M., D.E. Lesemann, H.J. Vetten and O.I. Azzam. 1986. Host range and serological properties of two potyvirus isolates from *Phaseolus vulgaris* in Lebanon. In: **Proceedings of an international symposium on viruses of rice and leguminous crops in the tropics.** Tsukhba, Japan, Oct. 1 - 5, 1985.

8. Mills, P.R. and A.H. Ahmed. 1984. Host range and properties of cucumber mosaic virus (CMV- SV) infecting *Vicia faba* in Sudan. FABIS Newsletter 9:31 - 33.

9. Nienhaus, F. and A.T. Saad. 1967. First report on plant virus diseases in Lebanon, Jordan, and Syria. Zeitschrift fur Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz 74: 459 - 471.

10. Russo, M., A.A. Kishtah and M.A. Tolba. 1981. A disease of lentil caused by bean yellow mosaic virus in Egypt. Plant Disease 65: 611 - 611.

11. Rudolph, K. and N. Baykal. 1977. Diseases of bean (*Phaseolus vulgaris*) in South and West Turkey. Annual. Report of the Bean Improvement Cooperatives 20: 5 - 47.

12. Solh, M. 1983. Bean production in Lebanon. pp 48 - 56. In: **Proceedings of a regional workshop,** ICARDA. Aleppo, Syria.

13. Tawil, M.A. and D. Gonsalves. 1982. Serological grouping of isolates of blackeye cowpea mosaic and cowpea aphid borne mosaic viruses. Phytopathology 72: 583 - 589.