جامعة الموصل
كلية الزراعة والغابات

التشخيص المصلي والجزيئي لبعض فايروسات الجنس *Allium* ومقاومتها إحيائيا.

فرحان جاسم صران الشمري

رسالة ماجستير
وقاية النبات

بإشراف

الدكتور
حميد حمود علي
أستاذ مساعد

1443هـ
2022م

الخلاصة:

أجريت هذه الدراسة للتحري عن أهم الفايروسات التي تصيب محاصيل الجنس *Allium* spp. إذ تم إجراء المسح الحقلي لموسم عام 2021 في أغلب مناطق زراعة تلك النباتات في محافظة نينوى ، ضمت أربع مناطق رئيسة مشهورة بزراعة محاصيل البصل والثوم والكراث هي (ربيعة ، الحمدانية ، بعشيقة ، قضاء الموصل). عبر الزيارات الحقلية وشوهدت مظاهر الإصابة الفايروسية وبصورة متكررة على نباتات الجنس *Allium* spp. وتباينت تلك الأعراض ودرجة وضوحها باختلاف النباتات ، فقد سجلت على نباتات البصل أعراض اصفرار عام على الأوراق مصحوبة بتشوهها الاوراق والتفافها مع تخططها وتقزمها ، أما نباتات الكراث والثوم فأهم أعراضها كانت متمثلة باصفرار عام مع تخططها .

ولقد أكد الاختبار المصلي الاليزا الثنائية DAS-ELISA بأن الأعراض المذكورة انفاً مرتبطة مع الإصابة بفايروس اصفرار وتقزم البصل *Onion yellow dwarf virus* ، وبفايروس التخطط الأصفر على الكراث *Leek yellow strip virus* إذ أوضحت نتائج الاختبار المصلي للعينات الفردية والانتقائية على المحاصيل الثلاثة (بصل ، ثوم ، كراث) إصابة 107 عينة من إجمالي 385 عينة مختبرة بالاليزا بفايروس اصفرار وتقزم البصل، ولقد وصلت نسبة الإصابة مجتمعة إلى 27.7 % على مستوى المحافظة. ووصل أعلى تركيز لفايروس *Onion yellow dwarf virus* في نباتات البصل، إذ سُجلّ أعلى معدل للامتصاصية الضوئية O.D لثلاث قراءات بجهاز spectrophotometer بلغ 0.490 مقارنة بقراءة الامتصاصية لعينة السيطرة المصابة 0.130 نانوميتر، في حين وصلت نسبة الإصابة مجتمعة في الأنواع الثلاثة (البصل والثوم والكراث) بفايروس الاصفرار المخطط على الكراث إلى 18.1% ، وعلى مستوى مناطق المسح سجلت إصابة 70 عينة من إجمالي 385 عينة مختبرة بالاليزا بفايروس الاصفرار المخطط على الكراث ، وسجلت أعلى نسبة للإصابة بهذا الفايروس على الثوم 23.7 % .

تم عزل الحامض النووي الرايبي الـ RNA لفايروس *Onion yellow dwarf virus* بنجاح من أوراق نباتات (البصل والثوم والكراث) ومن بصيلات نبات البصل المصابة بالفايروس بنجاح ، إذ تم الحصول على كمية مناسبة من الحامض النووي تراوحت بين 459.7 – 2780.2 نانوغرام/مايكروليتر، وبنقاوة وصلت إلى 1.76– 1.8 ، وقُدّرت نقاوته باستعمال Nanodrop technique. وأثبتت طريقة العمود اللاقط Spin column بالاعتماد على أعمدة تحوي على أغشية من السليكا silica membrane في كفاءتها العالية في عملية ربط المادة الوراثية المستهدفة، تمكنت تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل ذا النسخ العكسي RT-PCR على عينات ال

RNA بعد تحويلها إلى المتمم الدنا cDNA والمستخلصة من أوراق نبات (البصل والثوم والكراث) وبصيلات نبات البصل المصابة بفايروس *Onion yellow dwarf virus* مع البادئات المصممة للكشف عن فايروس *Onion yellow dwarf virus* التي تعمل على مناطق مستهدفة من الجين الفايروسي وهي منطقة الغلاف البروتيني (CP) ومنطقة الأجسام الضامة النووية (Nib) .

ولقد بينت نتائج تحليل التباين الوراثي بأن فايروس اصفرار وتقزم البصل كان أكثر الفايروسات شيوعا في عينات الجنس *Allium* المدروسة، وبلغت نسبة التشابه الوراثي بين سلالة الفايروس المحلية والسلالات العالمية عالية جدا ، وذلك عبر نتائج التحليل الوراثي وأن هذا التشخيص أكد أن العلاقة الوراثية عالية جدا ما بين السلالة العراقية والسلالات العالمية الأخرى ، أذ توافق التحليل الوراثي مع هذا التشخيص عبر وضع الفايروس في نفس الفرع ومشاركته نفس النسب مع العديد من السلالات الأخرى التي تعود إلى الفايروس نفسه بشكل رئيس.

لوحظ تفوق معاملة فسق البصل البكتريا *B. subtillis* ولمدة تعريض 60 دقيقة وذلك بزيادة أطوال النباتات مقارنة بالنباتات غير المعاملة بالبكتريا وغير المعداة بالفايروس، إذ وصلت متوسط أطوال النباتات إلى 49.5 سم ، كذلك وجدت فروق معنوية بينها وبين المعاملة بالبكتريا *P. fluorescens* ولمدتي المعاملة بها سواء 30 أو 60 دقيقة ، ولقد سببت العدوى بفايروس اصفرار وتقزم البصل على نباتات البصل خفضاً في ارتفاع النبات مقارنة بتلك التي عوملت فسقها بالبكتريا ولكلا النوعين حيث كانت أطوال النباتات المعداة بالفايروس 26.23 سم. في حين حققت معاملة فسق البصل بالبكتريا *P. fluorescens* إلى أفضل زيادة في الوزن الجاف والرطب للمجموع الخضري للنباتات، مقارنة بالنباتات التي لم تعامل بالبكتريا ولم تلقح بالفايروس، إذ بلغ الوزن الجاف والرطب في النباتات النامية من فسق معاملة بالبكتريا *P . fluorescens* ولمدة تعريض 60 دقيقة إلى 0.162 ، 2.5 غم على التوالي ، أما في النباتات التي لم تعامل فسقها بالبكتريا والمعداة بالفايروس فلقد وصل متوسط معاملات الوزن الجاف إلى 0.12 غم في حين وصل الوزن الرطب إلى 0.67غم.

Summary

This study was conducted to investigate the most important viruses that infect crops of the genus *Allium* spp. As a field survey was conducted for the 2021 season in most of the areas of cultivation of these plants in Nineveh Governorate, which included four main areas famous for the cultivation of onions, garlic and leeks (Rabea, Hamdaniya, Bashiqa and Mosul district).

Through field visits, manifestations of viral infection were repeatedly observed on plants of the genus *Allium* spp. These symptoms and their degree of clarity varied according to different plants. On onion plants, symptoms of general yellowing of the leaves were accompanied by distortion of leaves and corrugated with streaks and dwarfing. As for leek and garlic plants, the most important symptoms were represented by general yellowing and streaks. The serological test DAS-ELISA confirmed that the aforementioned symptoms are associated with infection with *Onion yellow dwarf virus* OYDV, and *leeks yellow streak virus* LYSV.

A total of 385 samples was tested by DAS-ELISA with *Onion yellow dwarf virus*, the level combined infection rate reached 27.7% at the governorate. The highest concentration of OYDV virus in onion plants was recorded, as the highest rate of optical absorbance O.D was recorded for three readings with a spectrophotometer to 0.490 compared to the absorbance reading for the infected control sample 0.130 nm. While the combined infection rate of the three types (onion, garlic and leeks) with the *leek yellow stripe virus* was reached 18.1% and at the level of the survey areas, where 70 samples out of a total of 385 samples tested at DAS- ELISA were recorded with the *leek yellow stripe virus*, as the highest percentage of infection with this virus was recorded on Garlic 23.7%.

The RNA of OYDV virus was successfully isolated from leaves of plants (onions, garlic and leeks) and from onion bulbs infected with the virus.

Its purity is estimated using Nanodrop-test. The spin column method, based on columns containing silica membranes, proved its high efficiency in the process of binding the target genetic material. Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) technology was able to convert RNA samples to cDNA extracted from leaves of plants (onions, garlic and leeks) and onion bulbs infected with OYDV virus with primers designed to detect OYDV virus that act on target areas of the viral gene is the protein coat region (CP) and the region of the nuclear inclusion bodies (Nib). The results of the phylogeny analysis showed that the onion yellow dwarf virus was the most common virus in the studied samples of the genus Allium, and the percentage of genetic similarity between the local strain of the virus and the global strains was very high, through the results of the genetic analysis, and that this diagnosis confirmed that the genetic relationship is very high between The Iraqi strain and other international strains, where the genetic analysis agreed with this diagnosis by placing the virus in the same branch and sharing the same proportions with many other strains that mainly belong to the same virus.

It was noted that the treatment of onion rot with *Bacillus subtillis* and for an exposure period of 60 minutes resulted in an increase in plant heights compared to plants not treated with bacteria and not infected with the virus. Either 30 or 60 minutes, and infection with *Onion yellow dwarf virus* on onion plants caused a decrease in plant height compared to those treated with bacteria and for both types, where the lengths of plants infected with the virus were 26.23 cm. While the treatment of onion rot with *Pseudomonas fluorescens* achieved the best increase in the dry and wet weight of the vegetative total of plants, compared to plants that were not treated with bacteria and were not inoculated with the virus, as the dry and wet weight reached in plants grown from seeds treated with bacteria *P. fluorescens* for an exposure period of 60 minutes to 0.162 and 2.5 g, respectively, while in plants whose seeds were not

treated with bacteria and infected with the virus, the average treatments of dry weight reached 0.12 g, while the wet weight reached 0.67 g.

University of Al Mosul
College of Agriculture and Forestry

Serological and Molecular of some viruses infected *Allium* spp. and their bilogical resistance.

Farhan Jassem Saran Al-Shamary

M.S.C Thesis
Plant Protection

Supervised By
Dr. Hameed Hamoud Ali
Assist. Prof.

2022 A.D. **1443 A.H**