مجلة اكاديمية الجبل للعلوم الاساسية والتطبيقية
Al-Jabal Academy Journal of Pure and Applied Sciences
03 (2): 39-46, 2025
pISSN: 2958-857X; eISSN: 2958-8588
Journal Homepage: https://lajak.edu.ly/journals/index.php/aajpas/index

A Study on Bean Yellow Mosaic Virus (BYMV) infecting Faba Bean (*Vicia faba* L.) in El-Gouba Region

Anwar Omar Mousa*, Aboubakr Mansour Faraj, Abdulkhalig Moftah Omar, Abdallah Khalil

Department of Plant Protection, faculty of Agriculture, University of Omar Al-Mukhtar, Elbieda, Libya.

DOI: https://doi.org/10.58309/hgwpx217

KEYWORDS:
Bean yellow mosaic virus (BYMV)
Faba bean
Viral properties
Aphid transmission
Electron microscopy
Inclusion bodies.

A B S T R A C T:

Bean Yellow mosaic virus (BYMV) was obtained from naturally infected Faba bean plants, showing mosaic symptoms, grown in El-Gouba region. The identification was based on serological tests, biological tests, and examination of sections under an electron microscope. The results show that the virus react to the anti-yellow bean mosaic virus serum. The results also show that the thermal inactivation point of the virus isolate was between 55-60 C, the dilution end point was between 10^{-3} – 10^{-4}, and longevity in vitro was 2 days. BYMV isolate was transmitted by *Aphis faba* and *Myzis persicae* in non-persistent manner. The purified virus had an ultraviolet absorption spectrum typical of a nucleoprotein; the yield of purified virus was 8.8 mg/100g of infected leaf tissues. Electron microscopy of infected faba bean tissues revealed pinwheel, bundle-shaped, and crystalline inclusions. These diagnostic structures confirm infection by a member of the Potyviridae family, such as *Bean Yellow Mosaic* Virus (BYMV).

دراسة على فيروس الموزاييك الأصفر للفاصوليا (BYMV) Bean yellow mosaic virus على نباتات الفول *Vicia faba* L. في منطقة القبة

أنور عمر موسى، بوبكر منصور فرج، عبد الخالق مفتاح عمر، عبدالله محمد خليل

قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا.

المستخلص:

تَمَّ الحصول على عزلة فيروس موزاييك الفاصوليا الأصفر (BYMV) من نباتات فول *Vicia faba* L. مصابة طبيعياً في منطقة القبة خلال موسم نمو 2021 – 2022، والتي ظهرت عليها أعراض الموزاييك. تم التعرف على الفيروس بناء على الاختبارات السيرولوجية والبيولوجية وفحص قطاعات تحت المجهر الالكتروني. النتائج أوضحت تفاعل الفيروس مع المصل المضاد لفيروس موزاييك الفاصوليا الاصفر. أظهرت النتائج ايضا أن درجة الحرارة المثبطة للفيروس تتراوح بين 55-60 درجة مئوية، ونقطة التخفيف النهائية بين 10^{-3} – 10^{-4}، بينما بلغت فترة التعمير معملياً يومين. كما انتقلت عزلة الفيروس بواسطة مَنّ الفول (*Aphis fabae*) ومَنّ الخوخ الأخضر (*Myzus persicae*) بطريقة غير باقية. أظهر الفيروس المُنقى طيف امتصاص للأشعة فوق البنفسجية نموذجياً للبروتينات النووية، وبلغت إنتاجية الفيروس المُنقى 8.8 مجم 100 جرام من أنسجة الأوراق المصابة. كشف الفحص بالمجهر الإلكتروني لأنسجة الفول المصابة عن وجود أجسام مروحية، وحزمية، وأجسام بلورية؛ وهي تراكيب تشخيصية تؤكد الإصابة بأحد أعضاء عائلة Potyviridae، مثل فيروس موزاييك الفاصوليا الأصفر (BYMV).

الكلمات المفتاحية:

فيروس الموزاييك الأصفر للفاصوليا، الفول، خصائص الفيروس، النقل بالمنّ، المجهر الالكتروني والاجسام الداخلية.

*Corresponding author:E-mail addresses:

المقدمة

يُعد الفول (*Vicia faba* L.) من أهم محاصيل الخضراوات والبقوليات في العالم عام 2017، بلغت المساحة المزروعة بالفول عالميًا حوالي 2.57 مليون هكتار، وبلغ إنتاجه 5.4 مليون طن في 38 دولة حول العالم (FAOSTAT 2020). يُزرع بشكل أساسي كغذاء سهل الهضم وغني بالبروتين للاستهلاك البشري وكعلف للحيوانات. بالإضافة إلى استهلاكه كخضار (قرون كاملة)، كما يُحسّن الفول جودة التربة ويُساعد على تحقيق الزراعة المستدامة من خلال تثبيت النيتروجين الجوي (70–223 كجم نيتروجين/هكتار) بشكل تكافلي مع بكتيريا الريزوبيوم (بكتيريا التربة) (Dhull وأخرون، 2022؛ Etemadi وأخرون، 2024). تُعدّ العدوى الفيروسية النباتية من أبرز التحديات الزراعية التي تؤثر سلبًا على الإنتاجية والجودة (Abdelkader و Hafez، 2020). تتميز بعض الفيروسات النباتية بنطاق عوائل واسع وآليات انتقال متعددة (Mishra وآخرون، 2022) مما يُعقّد عملية المكافحة ويُسبّب خسائر كبيرة في العديد من المحاصيل (Scholthof وآخرون، 2011). يُعدّ فيروس الموزايك الأصفر الفاصوليا (BYMV) من أبرز الفيروسات النباتية التي تُصيب أكثر من 60 نوعًا من البقوليات وغير البقوليات (Chatzivassiliou، 2021). وُجد أن الإصابة به تُسبب انخفاضًا في مساحة الأوراق وإنتاج الأزهار، بالإضافة إلى اصفرار النباتات وظهور التبرقش والتبقع وانحناء الأوراق، مما قد يؤدي إلى خسائر في المحاصيل تصل إلى 30% (Moury و Desbiez ، 2020). إضافةً إلى ذلك، تُشكّل طرق انتقال الفيروس المتعددة تهديدًا اقتصاديًا كبيرًا لإنتاج المحاصيل. وتُصاحب الفاصوليا المصابة بفيروس BYMV أعراض التبرقش والنخر والتبقع. ويمكن أن ينتشر الفيروس عن طريق حشرات المن والبذور والتلقيح الميكانيكي (Ismail وAtef، 1998 وHelaly-El وأخرون، 2016)، ونظراً لعدم إجراء أي دراسة سابقة للفيروسات التي تصيب الفول في منطقة القبة، والتي لها امتداد جغرافي كبير ورقعة زراعية واسعة، حيث لوحظ في العديد من الحقول إصابة نبات الفول بالعديد من الاعراض المشابهة للإصابة الفيروسية المتمثلة في الموزاييك والاصفرار

مما أدى الى خفض إنتاجية هذا المحصول، لذلك فإن هذه الدراسة هدفت الى الكشف عن الفيروس او الفيروسات المسببة لهذا المرض ودراستها.

المواد وطرق البحث

جُمعت أوراق الفول (*Vicia faba* L.) التي أظهرت أعراضًا مشابهة لفيروس تبرقش الفاصوليا الصفراء (BYMV) من حقل مفتوح في منطقة القبة الشكل (1) وفُحصت العينات للكشف عن وجود الفيروس باستخدام مجموعة اختبار الإليزا المناعي المرتبط بالإنزيم (DAS-ELISA) الكاملة (DSMZ، RT-0717) كما وُصف سابقًا (Clark و Desbiez، 1977). ثم لُقحت أوراق الفول المصابة التي أظهرت تفاعلًا إيجابيًا في اختبار DAS-ELISA ميكانيكيًا على أوراق نبات الكينوا (*Chenopodium amaranticolor*) لتحفيز ظهور علامات التبقع الموضعي (Abdelkhalek وآخرون، 2018 و Hafez وأخرون، 2011). حُفظ الفيروس المعزول في نباتات الفول والتي استخدمت بعد ذلك مصدرًا للفيروس لأجراء الدراسات اللاحقة عليه (Xu و Nie، 2006).

شكل (1) أعراض موزايك على نبات فول مصاب طبيعياً في الحقل عينة 11 القبة

1. 1. مصدر الأمصال المضادة: أستخدمت الامصال المضادة لفيروس الموزاييك الأصفر للفاصوليا ***Bean yellow mosaic virus*** (BYMV) وفيروس تلون بذور الفول ***Broad bean stain virus*** (BBST) وفيروس الموزايك الحقيقي للفول ***Broad bean true mosaic virus*** (BBTMV) وفيروس تبرقش الفول ***Broad bean mottle virus*** (BBTMV) من شركة بيوريبا (سويسرا).

2. اختبار اليزا غير المباشر: أُجري اختبار إليزا غير المباشر كما وُصف سابقًا (Clark و Adams، 1977)، باستعمال الامصال الأربعة السابقة، طُحنت مستخلصات من عينات نباتات مصابة وسليمة (شاهد) بمحلول منظم (كربونات 0.05 مولار، درجة حموضة 9.6) بنسبة 1:10. أُضيف 100 ميكرو ليتر من العصارة (وزن/حجم) إلى حفرة طبق اليزا وحُضنت لمدة ساعتين عند درجة حرارة 37 درجة مئوية أو طوال الليل عند درجة حرارة 4 درجات مئوية. شُطفت الأطباق ثلاث مرات، كل مرة بمحلول الغسيل **Phosphate puffer saline tween (PBS-T)** بـ. لتقليل التفاعلات غير النوعية، خُفِّف الطبق بعد ذلك أضيفت 100 ميكروليتر من الامصال المضادة محضرة في محلول المصل **PBS-T** يحتوي على **Polyvinylpyrrolidone (PVP)** و **Bovine serum albumin (BSA)** لكل حفرة من الطبق وحُضّنت على درجة حرارة 37 مئوية لمدة ساعتين، ثم غُسل الطبق بنفس الطريقة السابقة، أُضيف بعد ذلك **IgG (Goat anti rabbit gamma globulin)** المُرتبط بأنزيم الفوسفاتيز القاعدي **Alkaline phosphatase.** المُخفف في محلول المصل بنسبة 1:1500 الذي أضيف بواقع 100 ميكروليتر إلى كل حفرة من حفر الطبق ثم حُضّن على درجة حرارة 37 مئوية لمدة ساعة واحدة، ثم غُسل الطبق بنفس الطريقة السابقة قبل أضافة 100 ميكروليتر من مادة تفاعل الانزيم (**0.5 mglml Paranitrophenyle phosphate in 10% diethanoleamine buffer PH 9.8**) وهي المادة الخاضعة للانزيم محضرة في 10% من المحلول المنظم، ثم يتم تحضين الاطباق لمدة 30 دقيقة عند درجة حرارة الغرفة وسُجلت قراءات التفاعل بواسطة جهاز قارئ أطباق اليزا **Bio-Rad ELISA Reader** عند الموجة 405 نانوميترا، ثم أوقف نشاط الانزيم بأضافة 50 ميروليتر من مادة هيدروكسيد الصوديوم

© 2025 The Author(s). This open access article is distributed under a CC BY-NC 4.0license.

(3M NaOH)، وتم تسجيل شدة اللون المتكون بأستخدام جهاز قارئ اليزاء اعتُبرت قيم الامتصاص التي تزيد عن ضعف قيمة العينة السليمة إيجابية.

3.الإعداء الميكانيكي وإثبات الإمراضـــــية على نباتات الفول ونباتات الزربيح *C. amaranticoclor* بعزلة القبة:

1.3. تحضير اللقاح: أُحضرت أجزاء من العينة النباتية التي أعطت تفاعلاً ايجابياً للمصـــل المضـــــاد لفيروس الموزاييك الأصــفر للفاصــوليا، وتم بعد ذلك تحضــير اللقاح بإضــــافة محلول منظم فوســـفاتي **(Phosphate buffer KH2PO4** عياريته 0.1 مولار عند **PH (7)**، على الأجزاء النباتية المراد تحضير اللقاح منها بواقع (1 مل الى 1 جم) بأستخدام مهراس وتم هرسـها بواسـطة مدق وتم بع ذلك تصـفيه العصـير الناتج خلال طبقتين من الشـاش المعقم للتخلص من الالياف النباتية **(Abdelkhalek** وأخـــرون، 2018 و **Hafez** وأخـــرون، 2011).

2.3. الإعداء الميكانيكي: حُفظت نباتات الفول ***V. faba*** والزربيح ***C.amaranticoclor*** المراد اعدائها في الظلام قبل العدوى لمدة 48 ســـاعة **Gibbs** و **Harisson**، 1976 وتم إجراء عملية العدوى الميكانيكية بواسـطة اصـبع السـبابة وذلك بالمسح برفق على أسطح الأوراق المُعفرة بمسحوق الكاربوراندم **Carborandum 600 mesh** المراد اعدائها وإكثار الفيروس عليها وغســلت الأوراق الملقحة بالماء مباشــرة **(Noordam**، 1973) وحفظت في الصوبة لملاحظة ظهور الاعراض.

4. خصائص الفيروس في العصارة الخام: حددت درجة الحرارة المثبطة لنشاط الفيروس **Thermal inactivation point (TIP)** ونقطة التخفيف النهائية **EDP)End dilution point)** ومدة تعمير الفيروس في المعمل **Longevity in vitro (LIV).** أجريت عدوى ميكانيكية لنباتات الاختبار بعصارة نباتات أعطت تفاعلاً ايجابياً للمصل المضاد لفيروس الموزاييك الأصفر للفاصوليا ومن ثم أجريت عليها اختبارات خصائص الفيروس في العصير الخام حسب ما وصفة **Noordam (1973)** وتم تلقيح أربع نباتات متجانسة من ***C. amaranticolor*** مع ترك نبات في كل معاملة بدون تلقيح كشاهد للمقارنة وتمت متابعة ظهور البقع الموضعية خلال أسبوع من التلقيح

5. اختبار نقل الفيروس بحشرات المن: تحصلنا على نوعين من حشرات المنّ من على نباتات فول في الحقل وهي منّ الفول الاسود ***Aphis fabae*** ومنّ الخوخ الأخضر ***Myzus persicae*** وتمت تربيتهما على نباتات فجل ثم نُقلت الى نبتات فول ملقحة بعزلة الفيروس وذلك حسب الطريقة التي وصفها **(Walkey**، 2012)، حيث غُطيت هذه النباتات بأقفاص مانعة لدخول الحشرات كل على حدة مع مراعاة توفير التهوية، وتُركت الحشرات تتغذى على نباتات الفول وذلك بفارق خمسة دقائق بين كل معاملة وأخرى وكان أجمالي مدة التغذية 40 دقيقة، ثم بعد ذلك نُقلت الحشرات الى نباتات فول سليمة للتغذي عليها بواقع خمسة حشرات (لكل نبات) لدة 24 ساعة، ثم قُتلت الحشرات بواسطة مبيد حشري ثم بعد ذلك تم تسجيل الاعراض وتكشفها على طول الفترة من 15 – 20 يوم.

6. التنقية: بعد إكثار الفيروس من عزلة الدراسة أُجريت تنقية الفيروس حسب الطريقة الموصوفة بواسطة **Huttinga (1973)** مع بعض التعديلات جُمعت 100 جم من أوراق ***V. faba* L.** المصابة جهازيًا بعد 21 – 25 يومًا من التلقيح. وضعت الانسجة المصابة في خلاط لطحن الأوراق في 500 مل من محلول الاستخلاص **(0.1 M tris puffer PH 9& 0.1 %2-** **mercaptoethanol)** رُشّح الخليط باستخدام قماش موسلين، وخُلط الناتج بنسبة 1:1 مع كلوروفورم ورابع كلوريد الكربون لمدة 30 دقيقة على درجة حرارة 4مْ. أجري طرد مركزي بطئ للمستحلب 9000 د. ق لمدة 10.د باستخدام روتر **Roter (Beckman Sigma 3K #)**، يتم التخلص من الراسب والاحتفاظ بالمعلق ويتم تعريضه لطرد مركزي سريع 24000 د.ق لمدة 90 .د، يتم التخلص من المعلق ونضيف للراسب محلول منظم **0.1 tris** مولار عند أس هيدروجيني 9 ويوضع في المقلب ليلة كاملة في الثلاجة عند درجة حرارة 4مْ.تُعرض المعلق لطرد مركزي على سرعة 8000 د.ق لمدة 10.د، يتم التخلص من الراسب والاحتفاظ بالمعلق كفيروس نقي جزئياً. تمت إذابة الراسب الأخير في 2 مل من المحلول المنظم ثم تم تسجيل طيف الامتصاص للأشعة فوق البنفسجية للفيروس المُنقى عند مسح الأطوال الموجية من 220 إلى 320 نانومتر بفاصل 20 نانومتر باستخدام المطياف الضوئي للأشعة فوق البنفسجية. وتم تقدير النسب **A260/280** و **A280/260** و **Amax/min** بالإضافة إلى تركيز الفيروس. حيث حُسب تركيز الفيروس باعتماد معامل الامتصاص النوعي **(E260nm 0.1%)** بقيمة 5.2 **(Noordam**، 1973).

7. التغيرات الداخلية: تم تحضير قِطَع من أوراق نبات الفول ***vicia faba* L.** المُصابة لفحصها بالمجهر الإلكتروني النافذ **(TEM)** وفقاً للإجراءات القياسية الموضحة من قِبَل **(Martelli** و **Russo**، 1984). وباختصار، قُطعت العينات المخصصة للمجهر الإلكتروني النافذ من أوراق الفول المُصابة، وثُبِّتت فوراً في محلول جلوتارالدهيد 3% بمحلول فوسفاتي 50 ملي مولار (الأس الهيدروجيني 7.2)، وحُفظت طوال الليل على درجة 4 مئوية. بعد ذلك، غُسلت العينات في نفس المحلول المنظم، ثم خضعت للتثبيت التالي في محلول **osmium tetroxide (OsO4)** 1% في نفس المحلول المنظم ولمدة ساعتين في درجة حرارة الغرفة.تَلَت عملية التثبيت بالأوسميوم **osmium** عملية تجفيف للعينات باستخدام سلسلة من التراكيز المتزايدة من الأسيتون. ثم طُمِرت العينات المجففة في خليط من **Epon araldite** **(medina** وأخرون، 2003) قُطعت مقاطع رقيقة بسمك 1 ميروليتر (70–90 نانومتر) باستخدام مِجهَر القطع الدقيق **(Reicher"t, Milton Keynes, UK"** وسكاكين ماسية **(Diatome, Bienne, Switzerland)**. بعد ذلك، ثُبِّتت المقاطع بشكل روتيني للتحميل والتلوين على شبكات نحاسية (مقاس 200 شبكة) المطلية بالفورمافار **(Aldrich, Dorset, UK).FORMAVAR** ثم لُوِّنت المقاطع المُثبتة على الشبكات والتي يظهر عليها لون ما بين الفضي والذهبي في قطرات من اليورانيل اسيتيت **uranyl acetate 4.5%**. وبعد المعالجة، غُسلت الشبكات في ماء خالٍ من الأيونات **(dH2O)** ولُوِّنت أيضاً في قطرات من سترات الرصاص لرينولد **(Roland** و **Vian**، 1991). وتم الفحص باستخدام المجهر الإلكتروني النافذ **(JEOL JEM –CX100)**، بكلية العلوم، جامعة الإسكندرية، مصر.

النتائج

1. الاختبارات المصـــلية: أظهرت نتائج اختبار إليزا التي أجريت على عزلة القبة تكون اللون الأصـــفر الناتج من تفكك مادة التفاعل لفعل إنزيم الفوســـفاتيز القلوي عن وجود فيروس واحد على نباتات الفول المصابة طبيعياً وهو فيروس الموزاييك الأصفر للفاصوليا **Bean yellow mosaic virus (BYMV)** وبمقارنة قراءات الشـاهد مع العينة المصـابة حيث كانت قراءة العينة اربعة أضعاف الشاهد. جدول (1)

© 2025 The Author(s). This open access article is distributed under a CC BY-NC 4.0license.

جدول (1) نتائج تفاعل مستخلص أوراق الفول المصابة من عزلة القبة ضد المصل المضاد لـ **BYMV** و **BBSV** و **BBMV** و **BBTMV** بواسطة اختبار اليزا غير المباشر.

مستخلص أنسجة فول		الامتصاصية عند 405 نانوميتر			
		BYMV	BBSV	BBMV	BBTMV
المصابة	I	1.21	0.38	0.38	0.32
السليمة	H	0.31	0.32	0.34	0.30

2. الأعداء الميكانيكي (إثبات الإمراضـــية): تبين من إعداء نباتات الفول ***Vicie faba*** **L.** ونباتات ***C. amaranticolor*** بعزلة القبة أن الفيروس ينتقل ميكانيكيا بعصـارة النبات ويحفز نفس الاعراض التي تبدوا على نباتات الفول في الحقل ونفس الاعراض التي يحفزها فيروس الموزاييك الأصـفر للفاصـوليا على نباتات التبغ وذلك كما هو موضح بالشكل (2)

شـــكل (2) أعراض الموزايك على نبات فول **Vicia faba L**. المُعدى بعزلة القبة

3. خصائص الفيروس في العصارة الخام:

1.3. درجة الحرارة المميتة المثبطة لنشاط الفيروس: أظهرت نتـائج الاختبـارات التي أُجريـت على نبـاتـا الزربيح ***C. amaranticolor*** بعد أسـبوع من العدوى بعزلة القبة أن درجة الحرارة المثبطة لنشاط الفيروس عند التسخين لمدة عشر دقائق كانت مابين 55–60 مْ جدول (2).

جدول (2) العلاقة بين درجة الحرارة المميتة وعدد البقع الموضعية

درجة الحرارة مْ **Temperature (0° C)**	استجابة العوائل عدد البقع الموضعية **No. of local lesions**
40مْ	12*
45مْ	9
50مْ	5
55مْ	3
60مْ	0
65مْ	0
70مْ	0
75مْ	0

* عدد البقع الموضعية

2.3. نقطة التخفيف النهائية: أظهرت نتائج الاختبارات التي أُجريت على نباتات الزربيح ***C. amaranticolor*** بعد أسـبوع من العدوى بعزلة القبة أن نقطة التخفيف النهائية للفيروس كانت مابين 10^{-3} – 10^{-4} جدول (3).

جدول (3) مدة التعمير لعزلة الفيروس من عينة القبة:

التخفيف **Dilution**	عدد البقع الموضعية الناتجة على العوائل المختبرة **No. of local lesions**
العصارة الخام	13*
10^{-1}	8
10^{-2}	5
10^{-3}	2
10^{-4}	0
10^{-5}	0
10^{-6}	0

* عدد البقع الموضعية

3.3. مـدة تعمير الفيروس في المعمـل: أظهرت نتـائج الاختبارات التي أجريت نباتات الزربيح ***C. amaranticolor*** بعد سـتة أيام من العدوى بعزلة القبة أن مدة تعمير الفيروس يومان عند درجة حرارة الغرفة. جدول (4)

جدول (4) نقطة التخيف النهائية لعزلة الفيروس من عينة القبة

مدة تعمير الفيروس بالمعمل عند درجة حرارة الغرفة(أيام) **Period of storage (hours) Room temperature**	أستجابة العوائل عدد البقع الموضعية **No. of local lesions**
يوم	**11**
يومان	**7**
ثلاثة أيام	**0**
أربعة أيام	**0**
خمسة أيام	0
ستة أيام	0

4. اختبـار النقـل بحشـــرات المنّ: أثبتت النتـائج أن عزلـة الفيروس من عينة القبة يصـيب الفول يُنقل بسـهولة بواسـطة نوعين من حشرات المنّ وهي منّ الفول الأسود ***Aphis fabae*** ومنّ الخوخ الأخضـــر ***Myzus persicae*** الى نباتات الفول بطريقة غير باقية **Non persistent**، وأن حشـرات منّ الخوخ الأخضـر كانت أكثر كفاءةً حيث استطاعت نقل الفيروس بعد فترة تغذية وصـلت الى 20 دقيقة مقارنةً بحشـرات منّ الفول الأسـود التي نقلت الفيروس عند فترة تغذية 15 دقيقة، كذلك فإن عدد النباتات المصابة كانت مع حشرات منّ الخوخ أكثر من عدد النباتات مع حشرات منّ الفول. جدول (5)

© 2025 The Author(s). This open access article is distributed under a CC BY-NC 4.0license.

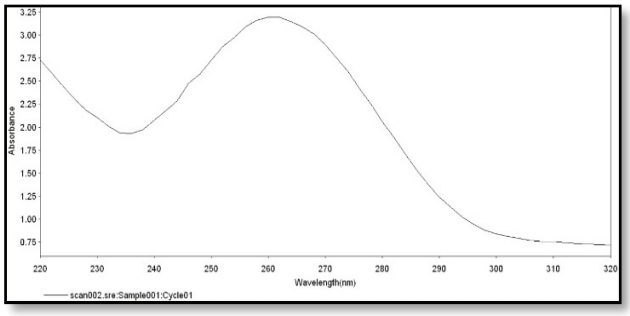
جدول (5) يبين مقدرة حشرات المَنّ في نقل الفيروس على فترات زمنية مختلفة

مدة التغذية بالدقيقة	*Myzus persicae*	*Aphis fabae*
0	10/0**	10/0**
5	10/9	10/6
10	10/7	10/5
15	10/5	10/3
20	10/4	10/4
25	10/0	10/0
30	10/0	10/0
35	10/0	10/0
40	10/0	10/0

*حشرات منّ / نبات

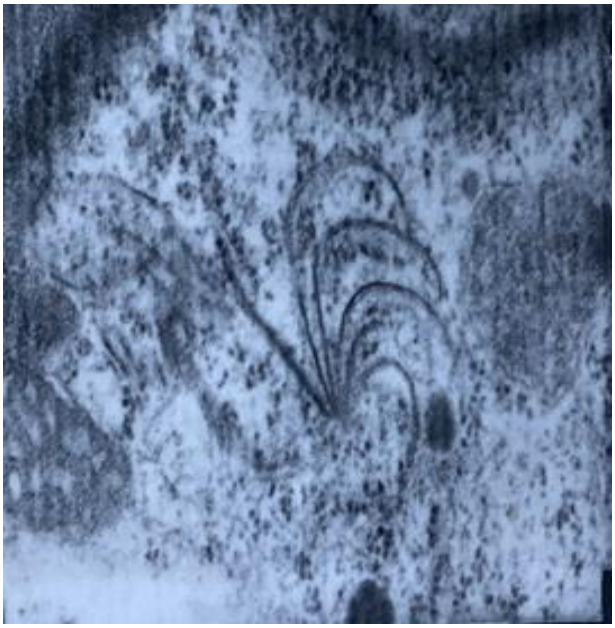
**عدد النباتات المصابة/ عدد النباتات المُعداة

5. نتائج التنقية: بأستخدام الطريقة الموصوفة بواسطة **Huttinga** (1973) تم الحصول على الفيروس بطريقة نقية، حيث كان طيف الاشعة فوق الاشعة البنفسجية للفيروس المنقى مطابقا للنيكليوبروتين الشكل (3) مع أدنى امتصاص عند 240 نانوميتراً وأعلى أمتصاص عند 260 نانوميتراً وكانت نسبة أمتصاص (**A max / A min**) و (**A 260 / A 240**) **1.47** و **1.62** على التوالي شكل (3) وكان ناتج التنقية للفيروس النقي 8.8 مليجرام / 100 جرام أنسجة فول مصابة.



شكل (3) منحنى امتصاص الأشعة فوق البنفسجية لفيروس **BYMV** المُنقى من نباتات الفول الملقحة بعزلة القبة.

6. الاعراض (التغيرات) الداخلية: أظهرت نتائج الدراسات السيتولوجية باستخدام المجهر الالكتروني التي أجريت على قطاعات رقيقة من انسجة فول عزلة القبة وجود أنواع من الاجسام المحتواة (**Inclusion bodies**) داخل سيتوبلازم خلايا العائل المصاب، والتي ظهرت على هيئة اشكال مروحية مكونة مجموعة أذرع منحنية **Pin–wheels** شكل (4). وهذه الاجسام صفة تشخيصية لكل فيروسات عائلة بوتي **Potyviridae** التي ينتمي اليها فيروس الموزاييك الأصفر للفاصوليا **BYMV** كذلك لوحظ تكون أجسام على شكل حزم كثيفة (**Dense bands**) واجسام شكلها كروية أو بيضاوية شكل (5).



شكل (4) قطاع عرضي في الاجسام المحتواة والتي تظهر مروحية **Pin– wheels** في سيتوبلازم أوراق نباتات فول مُعداة بعزلة الفيروس من عينة القبة

شكل (5) جزء من الخلية نشاهد فيه تكون أجساممحتواة أبرية وبللورية مُستحثة نتايجة الإصابة الفيروسية

المناقشة

تُظهر النتائج الحالية نجاح عزل فيروس موزايك الفاصوليا الأصفر (**BYMV**) من حقول الفول في منطقة القبة خلال موسم نمو 2021 – 2022، وهو ما يتفق مع التوجهات العالمية التي تؤكد أن هذا الفيروس لا يزال يمثل تهديداً رئيسياً لمحاصيل البقوليات في منطقة حوض المتوسط (**Tagele** وأخرون، 2021).

حيث ارتبط ظهور أعراض الموزاييك على نبات الفول في منطقة القبة بالإصابة بفيروس الموزاييك الأصفر للفاصولياء الذي وجد مصاباً به طبيعياً في الحقل، وتم تعريف الفيروس على نباتات الفول في منطقة الدراسة بواسطة الاختبارات

© 2025 The Author(s). This open access article is distributed under a CC BY-NC 4.0license.

السيرولوجية (اختبار اليزا غير المباشر)، طرق النقل، الخصائص الطبيعية للفيروس في العصارة الخام، واختبار دراسة التغيرات الخلوية (السيتولوجية) باستخدام المجهر الالكتروني.

جُمع خلال هذه الدراسة عدد (11) عينة نباتية من الفول تظهر عليها اعراض الإصابة الفيروسية الموزاييك والتبرقش. حيث اشارت نتائج الاختبارات السيرولوجية التي تعتبر من أكثر الاختبارات استعمالا في الكشف عن الفيروسات النباتية (**Abd El-Aziz**، 2019) المتمثلة في اختبار اليزا غير المباشر الذي استخدمت في أربعة من الأمصال المضادة للفيروسات التي تصيب الفول طبيعياً وهي: فيروس الموزاييك الأصفر للفاصوليا ***Bean yellow mosaic virus*** **(BYMV)** وفيروس تلون بذور الفول ***Broad bean stain virus*** **(BBST)** وفيروس الموزاييك الحقيقي للفول ***Broad bean true mosaic virus*** **(BBTMV)** وفيروس تبرقش الفول ***Broad bean mottle virus*** **(BBTMV)** من خلال تكون اللون الأصفر الناتج عن تفكك الركيزة **P-nirtophyenyl phosphate** نتيجة لفعل أنزيم الفوسفاتيز القلوي إلى وجود فيروس واحد على نباتات الفول المصابة في الطبيعة والتي جمعت من أماكن الدراسة وهو فيروس الموزاييك الأصفر للفاصوليا ***Bean yellow mosaic virus*** **(BYMV)** وذلك في العينات رقم 6 ، 7 ، 8 ، 11 وهذه النتيجة متفقة مع ما ذكره **El-attar** وآخرون (1971) و **Shagrun** (1973) و **Makkouk** وآخرون (2022) في أن هذا الفيروس يعتبر أهم الفيروسات الممرضة للفول في منطقة شمال أفريقيا وغرب اسيا.

يُعزى أنتشار هذا الفيروس الى وجوده على عوائل من العائلة البقولية، حيث أن منطقة القبة يسودها مناخ معتدل وغطاء نباتي أغلب فترات السنة مما يشكل بيئة مناسبة لنشاط حشرة المنّ التي تلعب دوراً هاماً في أنتشار هذا الفيروس في ظل غياب المكافحة لهذه الحشرة، وربما يُعزى انتشار هذا الفيروس الى زراعة بذور غير معتمدة من بلد المنشأ بشهادة خلو من الامراض الفيروسية. بالنسبة للعينات التي لم تتفاعل ايجابياً مع اختبار اليزا قد يكون ذلك راجعاً الى أن الأعراض الظاهرة على هذه العينات هي ليست أعراض فيروسية والتي ربما تكون ناتجة عن نقص عناصر غذائية أو نتيجة لظروف بيئية غير ملائمة من درجات حرارة أو رطوبة، أو يكون تركيز جسيمات الفيروس في هذه العينات منخفضاً. وربما تكون ناتجة عن فيروسات لم تستخدم لها أمصال للكشف عنها. تم اختيار العينة رقم 11 والتي أعطت أعلى قراءة عند إجراء اختبار اليزا غير المباشر عليها جدول رقم (1) مع المصل المضاد لفيروس الموزاييك الأصفر للفاصوليا، حيث أجريت عليها اختبارات النقل الميكانيكي والحشري، وخواص الفيروس في العصارة الخام، والتنقية، ودراسة التغيرات الخلوية (السيتولوجية)، حيث أظهرت هذه الدراسة أن عزلة فيروس الموزاييك الأصفر للفاصوليا تُنقل بسهولة بواسطة الأعداء الميكانيكي الى نباتا الفول ونبات الزربيح ***Chenopodium amaranticolor*** الذي ظهرت عليه بقع موضعية شاحبة بعد أربعة أيام الى أسبوع من العدوى وتطابق هذا ما هو منشور عن فيروس الموزاييك للفاصوليا (**Bos**، 1970 و **Shagrun**، 1973 ؛ زيدان وآخرون، 2002؛ فضل، 2001). وبدراسة الخصائص الطبيعية في العصارة الخام لعزلة القبة جدول رقم (2) حيث كانت درجة الحرارة المميتة لنشاط الفيروس ما بين 55-60 مْ وهذا النتيجة تتطابق مع ما نشره زيدان و آخرون (2002) ويتعارض مع ما وجده **Shagrun** (1973) الذي انها كانت ما بين 60 – 62 مْ و **Younes** وآخرون (1992) الذين أوضحوا ان درجة الحرارة المميتة للفيروس ما بين 62-64 مْ ، وأن نقطة التخفيف النهائية لعزلة القبة كانت تقع ما بين(10^{-3} – 10^{-4}) وهذا ما تطابق مع ما هو منشور عن فيروس الموزاييك الأصفر للفاصوليا **Bos** (1970) حيث كانت (10^{-3} – 10^{-4}) ومع ما وجده و زيدان وآخرون (2002) و **Younes** وآخرون (1992) حيث كانت (10^{-3} – 10^{-4}) وتعارض مع ما وجده **Shagrun** (1973) حيث كانت 10^{-2}. وكذلك فأن مدة تعمير الفيروس لعزلة القبة خارج خلايا العائل كانت يومان، وهذا يتطابق مع ما وجده زيدان وآخرون (2002)، ويتعارض ما وجده **Shagrun** (1973) حيث كانت يوما واحدً، ومع ما وجده **Younes** وآخرون (1992) حيث كانت ثمانية أيام ويمكن تفسير هذا التباين في نتائج الأبحاث بسبب تنوع واختلاف العزلات الفيروسية أو الاختلاف في العوائل التي أجريت عليها التجارب.

التحضيرات التي استخدمت في تنقية فيروس الموزاييك الأصفر للفاصوليا هي المحلول المنظم (**0.1 M tris buffer, pH 9**) يحتوي 2- ميركابتوايثانول، واستعمل في هذه الطريقة سرعات مختلفة من الطرد المركزي المنخفضة والعالية، وكان طيف امتصاص الاشعة فوق البنفسجية للفيروس المنقى مطابقاً للنيكلوبروتين مع أعلى امتصاص وأدنى امتصاص، وكمية الفيروس المنقى المتحصل عليها كانت 8.8 مليجرام/ 100 جرام أنسجة فول مصابة، وهذه القراءة ضمن معدل ما هو منشور عن فيروس الموزاييك الأصفر للفاصوليا (**Kheder** وآخرون 2002).

وبدراسة الأعراض الداخلية لوحظ وجود أنواع من الاجسام المحتواة **(Inclusion bodies)** داخل سيتوبلازم أنسجة فول ملقحة بعزلة الفيروس من منطقة القبة شكل (4) التي تحمل فيروس الموزاييك الأصفر للفاصوليا وهذه الاجسام كانت على هيئة اشكال مروحية مكونة من أذرع منحنية ملتفة حول مركز واحد تسمى دواليب الهواء **(pin-wheels)** وهذا النتيجة تتوافق مع ما وجده **Matsumoto** وآخرون (1999) من تكون أجسام مستحثة في سيتوبلازم خلايا نبات فول مصاب بالفيروس على شكل أجسام مروحية ولوحظ كذلك وجود أجسام على شكل حزم كثيفة **(Dense band)** واجسام بللورية وكروية نتيجة الإصابة بالفيروس شكل (5)، وهذا ما يتوافق مع ما وجده **Weintraub** و**Ragetli** (1968) و **Matsumoto** وآخرون (1999) و **Lecoq** و **Katis** (2024) وهذه الاجسام تعزز نتائج الاختبار السيرولوجي في أن الفيروس من عائلة فيروسات بوتي **potyviridae**.

كذلك اثبتت تجارب النقل الحشري نقل عزلة الفيروس من عينة القبة بواسطة نوعين من حشرات المنّ هما ***Aphis fabae*** و ***Myzus persicae*** بطريقة غير باقية خلال مدة من 5- 20 دقيقة، ان حشرات منّ الخوخ الأخضر كانت أكثر كفاءة في نقل عزلة الفيروس من حشرة منّ الفول الأسود، وهذه النتيجة تتطابق مع ما هو منشور عن نقل فيروس الموزاييك الأصفر للفاصوليا بحشرات منّ الفول الأسود ومنّ الخوخ الأخضر بطريقة غير باقية (**Bos**، 1970؛ **Shagrun**، 1973؛ **Younes** وآخرون، 1992).

المراجع:

زيدان، فاتح، جبر خليل جبرومحمد شقرون. 2002. تحديد أولي لبعض فيروسات البازلاء في ليبيا. مجلة وقاية النبات العربية 19(2): 73-79.

فضل، سليمان (2001): حصر وتعريف الفيروسات التي تصيب الفول (*Vicia faba* **L.**) بالمنطقة الغربية من ليبيا. رسالة ماجستير قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة طرابلس، ليبيا. 90 صفحة.

© 2025 The Author(s). This open access article is distributed under a CC BY-NC 4.0license.

Martelli, G. P., & Russo, M. (1984). Use of thin sectioning for visualization and identification of plant viruses. In K. Maramorosch & H. Koprowski (Eds.), Methods in Virology (Vol. 8, pp. 143–224). Academic Press.

Matsumoto, J., Terasaki, E., & Honda, Y. (1999). Comparison of the ultrastructure of inclusion bodies induced by three bean yellow mosaic virus (BYMV) isolates. Journal of General Plant Pathology, 65(3), 239–246.

Medina, V., Rodrigo, G., Tian, T., Juarez, M., Dolja, V. V., Reed, R., & Falk, B. W. (2003). Comparative cytopathology of Crinivirus infections in their plant hosts. Journal of General Virology, 84(6), 1623–1633.

Mishra, A. K., Kumari, S., Sahu, K., Singh, R., & Kumar, S. (2022). Viral diseases of field crops: Appearance, impact, and management strategies. In A. Kumar & R. K. Singh (Eds.), Viral Diseases of Field Crops: Diagnosis and Management (pp. 45–68).

Moury, B., & Desbiez, C. (2020). A history of plant virology. Applied Plant Virology, 1–13.

Noordam, D. (1973). Identification of plant viruses: Methods and experiments. Center for Agriculture Publishing and Documentation.

Roland, J. C., & Vian, B. (1991). General preparation and staining of thin sections. In J. L. Hall & C. Hawes (Eds.), Electron Microscopy of Plant Cells (pp. 1–66). Academic Press.

Scholthof, K. B. G., Adkins, S., Hammond, J., Gergerich, R., Lommel, S. A., Whitfield, A. E., ... & Foster, G. D. (2011). Top 10 plant viruses in molecular plant

Etemadi, F., Hashemi, M., & Zandvakili, O. R. (2024). Faba Bean (Vicia faba L.): A multi-purpose crop for sustainable food systems. Agronomy, 14(1), 85.

FAOSTAT. (2020). Food and Agriculture Organization of the United Nations. http://www.faostat.fao.org.

Gibbs, A., & Harrison, B. (1976). Plant virology: The principles. Oxford University Press.

Hafez, E., El-Morsi, A. A., & Abdelkhalek, A. A. (2011). Biological and molecular characterisation of the fig mosaic disease. Molecular Pathogens, 2, 10–14.

Huttinga, H. (1973). Properties of viruses of the potyvirus group: 1. A simple method to purify bean yellow mosaic virus, pea mosaic virus, lettuce mosaic virus and potato virus YN. Netherlands Journal of Plant Pathology, 79(4), 125–129.

Ismail, M. H., & Atef, N. M. (1998). Studies on some factors affecting the infectivity and spread of bean yellow mosaic virus (BYMV). Egyptian Journal of Phytopathology, 26(1), 31–43.

Kheder, A. A., Shalaby, A. A., & El-Demerdash, M. E. (2002). Purification and serology of some viruses infecting faba bean in Egypt. Egyptian Journal of Virology, 21(1), 15–28.

Lecoq, H., & Katis, N. (2024). Control of plant virus diseases: Seed-propagated crops. Advances in Virus Research, 114, 125–178.

Makkouk, K. M., Kumari, S. G., & Sarker, A. (2022). Legume viruses in the Mediterranean region: A century of research. Phytopathologia Mediterranea, 61(1), 5–45.

© 2025 The Author(s). This open access article is distributed under a CC BY-NC 4.0license.

pathology. Molecular Plant Pathology, 12(9), 938–954.

Shagrun, M. (1973). Investigations on bean yellow mosaic virus (BYMV) in Libya: I. Identification and properties of the virus. Libyan Journal of Agriculture, 2, 11–18.

Tagele, S. B., Gebre, T., Mohammed, A., & Abraham, A. (2021). Identification and characterization of viruses infecting faba bean (Vicia faba L.) and their impact on yield. Plant Pathology, 70(6), 1450–1462.

Walkey, D. G. (2012). Applied plant virology. Springer Science & Business Media.

Weintraub, M., & Ragetli, H. W. J. (1968). Intracellular characterization of bean yellow mosaic virus-induced inclusions by differential enzyme digestion. The Journal of Cell Biology, 38(2), 316–328.

Xu, H., & Nie, J. (2006). Identification, characterization, and molecular detection of alfalfa mosaic virus in potato. Phytopathology, 96(1), 1237.

Younes, H. A., Shagrun, M., & Khalil, J. A. (1992). Isolation of Bean yellow mosaic virus from broad bean in Libya. Libyan Journal of Agriculture, 13, 115–123.

© 2025 The Author(s). This open access article is distributed under a CC BY-NC 4.0license.