

الباب الثالث

## سلالات فيروسات النبات

Plant Virus Strains

oboeikandi.com

## سلالات فيروسات النبات

## PLANT VIRUS STRAINS

للفيروس - مثل جميع الكائنات - خاصية التوارث، ويؤكد ذلك نجاح الفيروسات في المحافظة على صفات وأشكال الأمراض الفيروسية خلال فترة طويلة من التاريخ. فمثلاً فيروس موزايك التبوليب الذى يسبب زركشة خاصة على بتلات الأزهار وينتشر بكثرة فى الوقت الحاضر - وجد مرسوماً بأيدي أحد الهولنديين فى القرن السادس عشر، Daniel Rabel. 1575 ويرتبط ثبات الصفات الخاصة بالفيروس إلى حد ما بثبات ظروف معيشتها؛ فزراعة التبوليب فى هولندا معروفة منذ زمن بعيد، ولم يطرأ على أسس زراعته تغير كبير إذ إن بيولوجى هذا النبات لم يتعرض لآى تغيير جذرى فى مدة الأربع قرون الماضية.

ويعتبر الفيروس أكثر مسببات الأمراض قابلية للتغيير، وهذا الاستعداد لسرعة التغيير هو نتيجة لتركيبه البسيط نسبياً ولسرعة تضاعفه واختلافه الكبير فى طريقة معيسته عن باقى المسببات المرضية. وتعطى هذه الصفة للفيروس خاصية إصابة عدد كبير من العوائل، فيمكن القول بأن فيروس موزايك الخيار رقم ١/ ١ ينجح فى عدوى نباتات ١٩١ جنساً تمثل ٤٠ عائلة، وفيروس موزايك الدخان TMV يصيب ٢٣٦ جنساً تتبع ٣٣ عائلة، كما أن فيروس نيكروزيس الدخان TNV له عدد كبير من العوائل ذات الفلقتين، ومن ذات الفلقة الواحدة. ويكون نتيجة لهذا أن تظهر لمعظم الفيروسات النباتية المدروسة سلالات مختلفة.

وقد بدأ باحثو الفيروسات النباتية منذ سنة ١٩٢٥ فى ملاحظة الاختلافات بين السلالات الفيروسية. وكان ماكينى Mckinney 1926 أول من تمكن من فصل سلالة الموزايك الأصفر Yellow mosaic، عن الطراز العادى لفيروس موزايك الدخان، إذ قام بحقن ٤٠٠ نبت دخان بفيروس الموزايك العادى وحفظها على درجة ٢٥°م، ولاحظ بعد ٣-٦ أسابيع ظهور مناطق صفراء، دقيقة، يتراوح قطرها بين ١-٥ ملليمتر على الأوراق المحقونة لأربعة نباتات فقط. ثم قام ماكينى Mckinney بإجراء مزيد من البحث على هذه

السلالة الجديدة، توصل من خلاله إلى حقيقتين مهمتين، هما:

الأولى: ظهور البقع الصفراء على نباتات الدخان المحقونة بفيروس موزايك الدخان العادى، يكون بدرجة أكثر وضوحاً عند استخدام عصير مخفف من الفيروس العادى.

الثانية: وجد أن تركيز السلالة الجديدة الصفراء يكون مرتفعاً جداً فى المناطق الصفراء، ويقل فى الأنسجة المحيطة بها.

ثم أعاد عمليات العزل والتنقية عدة مرات؛ حتى تمكن من الحصول على سلالة الموزايك الأصفر Yellow mosaic من الموزايك العادى للدخان.

وقد فسر ماكينى Mckinney أن هذه السلالة الجديدة قد نشأت من فيروس موزايك الدخان العادى؛ نتيجة لحدوث طفرة فى إحدى جزيئات الفيروس الأصلية، وقد تمكن بعد ذلك من عزل بقية السلالات، والتي قال عنها بأنها كلها نشأت نتيجة حدوث طفرات للفيروس، وتمكن العالم Koch, 1933 من عزل سلالتين جديدتين من فيروس موزايك البطاطس، أطلق على إحداهما التبقع الحلقي Potato Ring spot virus والأخرى سلالة التبقع Mottle virus. وقد تمكن هذا العالم من عزل هذه السلالات والتمييز بينها وبين سلالة تحزم العروق Potato vein Banding.

كما تمكن Price (١٩٣٤) من عزل سلالة جديدة لفيروس موزايك الخيار، تعطى مناطق صفراء لامعة على نباتات الدخان المصابة، وقد تمكن من الحصول على هذه السلالة بإجراء عديد من التمريرات للفيروس الأسمى خلال نبات الفاصوليا، وفى النهاية أمكنه الحصول على سلالة جديدة لا تعطى نقطاً محلية فقط، ولكنها تتبع بإصابة عامة على عكس الفيروس الأسمى، والذي يعطى على نبات الفاصوليا نقطاً محلية فقط.

وقد تمكن Price بعد ذلك من عزل ٧١ سلالة أخرى من موزايك الخيار، ووجد أدلة كثيرة تشير إلى حدوث الطفرة كعامل مهم فى الفيروسات النباتية، تحدث داخل العائل المصاب فقط.

وفى عام ١٩٣٧ تمكن جنسن Jensen. من عزل ١٢ سلالة لفيروس موزايك الدخان

العادى، وذلك بعد أن قام بإجراء عديد من عمليات العزل، التى وصل عددها إلى ٥٥ عزلاً، وفسر جنسن Jensen نشوء هذه السلالات نتيجة حدوث طفرات للفيروس الأصى .

وبقدم عام ١٩٤٠ أجمعت النتائج التى توصل إليها العلماء على أن السلالات الفيروسية تنشأ من الفيروس الأصى نتيجة حدوث طفرات .

ثم تفتح المجال بعد ذلك، واتسعت آفاقه، وظهر الكثير من الحقائق عن السلالات الفيروسية فى النباتات .

وفى عام ١٩٥٥ تمكن لارسون وآخرون Larson et al, 1955 من إحداث طفرة فى فيروس موزايك البطاطس (X) ، وذلك نتيجة لتعريض النباتات المصابة إلى بخار Nitrogen mustard وهذا معروف أنه عامل مولد للطفرات .

وتمكن فرانكل كونرات Frankel Connrat وآخرون ابتداء من عام ١٩٥٦ من إحداث طفرات فى فيروس موزايك الدخان (التبغ) TMV .

### الاختلافات الطبيعية والكيمائية بين سلالات فيروس الدخان :

ترتكز الصفات البيولوجية للسلالات الفيروسية على تغيير فى الخواص الطبيعية الأساسية وفى التركيب الكيمائى لها .

وبنيت التفرقة قديماً على الفروق فى مظهر الإصابة وبعض الخواص الطبيعية الأخرى، فقد فرق Mckinney 1926 سلالة الموزايك الأصفر عن الفيروس الأصى لموزايك الدخان بما تسببه من مظهر لمنطق صفراء على الأوراق المحقونة . إلا أن Koch, 1933 فرق بين سلالتى التبغ الحلقي والتبغ العادى وسلالة تحزم العروق فى البطاطس بمظهر الإصابة الخارجى وبالنقل الحشرى؛ إذ وجد أن السلالتين الأولىين لا تنتقلان بواسطة المن، بينما تمكن من نقل السلالة الثالثة (تحزم العروق) فى البطاطس بواسطة نوعين من المن، *Myzus persicae*، كذلك فرق بينهما بالخواص الطبيعية ومقاومتهما لبعض المواد الكيمائية وبسرعة انتقالهما من مكان الحقن إلى قمة النبات .

ووجد Price, 1954 فى دراسة معملية مقارنة لحوالى ٣٥ سلالة لفيروس موزايك الدخان

TMV والفيروس الأصلي اختلافات في النقط التالية:

- ١ - القدرة على تكوين المناطق الصفراء على الدخان التركي .
  - ٢ - القدرة على تكوين نقط محلية ( حساسية الأصناف ) على *N. sylvestris* .
  - ٣ - إنتاج النقط الحلقيه على الدخان التركي .
  - ٤ - القدرة على إصابة الفاصوليا *Phaseolus vulgaris* .
  - ٥ - إنتاج نقط محلية كبيرة على *N. glutinosa* .
  - ٦ - إنتاج أوراق صغيرة على الدخان التركي .
- أى الاختلافات فى مظهر الإصابة - كما وجد أن مورفولوجى الفيروس يتغير قليلاً .
- كما لوحظ أن بعض سلاسلات فيروس موزايك الدخان تختلف فى سرعة حركتها فى الصبغات أثناء عملية فصل التحضيرات الفيروسية من عصير النبات .
- وظهرت درجات حرارة مميتة بالنسبة لبعض سلاسلات فيروس X البطاطس تختلف عن درجة الحرارة المميتة بالنسبة للفيروس الأصيل .
- ولوحظ أيضاً أن فيروس X البطاطس يختلف اختلافاً بسيطاً فى مقاومته لعمل إنزيم التربسين عن بعض سلاسلاته، بينما يوجد فرق مؤكد فى طول الجزيء بين الفيروس وسلاسلته .
- وكتب Knight, 1954 يقول إنه على الرغم من طرق التحليل المحدودة فإنه بناء على تحليل ١٣ سلالة لفيروس موزايك الدخان، يمكن استخلاص الآتى :
- ١ - يصحب الطفرات للفيروس اختلافات مؤكدة فى تركيب البروتين، وهذه الاختلافات تحدث عامة فى نسبة الأحماض الأمينية الموجودة، ويمكن أن تحدث الاختلافات أيضاً فى الشكل Type لان إحدى سلاسلات الفيروس Rib grass strain وجد أنها تحتوى على حامضين أميين هيسثيدين ومثيونين Histidine and Methionine ، وهما لا يوجدان بتاتاً فى سبع من السلالات الأخرى .
  - ٢ - وجد أن السلالات المتقاربة فى أصلها أكثر تشابهاً فى تركيبها .

٣ -- الخلف فى تركيب البروتين بين السلالات لا تحدده أحماض أمينية محددة بالذات، حيث وجد أن ١٣ سلالة من موزايك الدخان تحتوى على ١٥ حامضاً أمينياً من الثمانية عشرة .

ويظهر أن الأحماض الأمينية، السيستين والليوسين والبرولين Cysteine & Leucine and Proline هى الثابتة بالنسبة لجميع السلالات .

ولم ينجح فى عمل علاقة بين التغير ومظاهر الإصابة التى تنتج عن هذه أو تلك السلالة . فمثلاً سلالة B<sub>4</sub> تظهر على الدخان مظاهر إصابة يصعب تفريقها عما تظهره السلالة الأصلية TMV ولكن يظهر اختلاف كيمائى ملحوظ فى محتويات الثيونين Therionine والفالين Valine وحامض الأسباراجين Asparagin .

ومن ناحية أخرى فإنه بين سلالة S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub> اختلاف واضح فى مظاهر الإصابة، علماً بأنه لم يلاحظ خلاف يذكر فى الأحماض الأمينية .

ولخص كونكل Kunkel الخواص التى يمكن عن طريقها التمييز بين السلالات الفيروسية فى ١٩ خطوة، وهى :

الأعراض، شدة المرض، القدرة على الإصابة، مدة البقاء قادرة على الإصابة، درجة التخفيف النهائية، درجة الحرارة المثبطة للفيروس، كمية ونوع الأحماض الأمينية، المدى الحرارى لتضاعف الفيروس، سرعة الحركة فى أنسجة العائل، ومدى تحولها إلى إصابة جهازية، نوع البقع المحلية الأولية والثانوية، التوزيع الجغرافى، مدى الانتشار، التأثير على كمية الفيروس فى العائل، المدى العوائلى، الناقل الحشرى المختص، مدى حدوث الطفرات والتفاعل السيروولوجى .

### نشوء السلالات ( الطفرات )

لقد اقترحت عدة نظريات عن تضاعف الفيروس وتكوين الطفرات، إلا أن أحداً منها لم تثبت صحته، كما لم تمثل إحداها الكلمة الأخيرة فى ذلك الموضوع، ولكن هناك نظرية واحدة من السهل تصورها، وهى نظرية Triplate theory .

وتفترض هذه النظرية أن مجموعة من النيوكليوتيدات مكونة من ثلاث قواعد، يمكنها

العمل على إنتاج حمض أميني واحد، وبذلك يمكن أن تكون هناك ٦٤ شفرة، كل منها يتكون من ٣ حروف كالاتي:

AAA	TAA	GAA	GAA
AAT	TAT	GAT	CAT
AAG	TAG	GAC	CAG
AAC	TAC	GAC	CAG
ATA	TTA	GTA	CTA
ATT	TTA	GTT	CTT
ATG	TTG	GTG	CTG
ATC	TGA	GGA	CGA
AGT	TGT	GGT	CGT
AGG	TGG	GGG	CGT
AGC	TGC	GGC	CGG
ACA	TCA	GCA	CCA
ACT	TCT	GCT	CCT
ACG	TCG	GCG	CCG
ACC	TCC	GCG	CCC

Nucleotide Sequences of RNA Codons and Corresponding Amino Acids

ترتيب نيوكليوتيدات حمض RNA والأحماض الأمينية

1st Base	2nd Base				3rd Base
	U	C	A	G	
U Leu	phe	Ser	Tyr	Cys	U
	phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	Ochre	**	A
	Ser	Amber	Trip	G	
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Keu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	LLeu	Thr	Asn	Ser	U
	LLeu	Thr	Asn	Ser	C
	LLeu	Thr	Lys	Arg	A
	Met	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

From Crick. Cold Spring Harbor Symposia 31.1: 1966.

## فيروسات النبات

وبناء على ذلك وضع ما يعرف بقاموس، أمكن بواسطته أن يترجم لحمض النووى ذو الأربع قواعد إلى لغة ذات عشرين حرفاً، وهى الأحماض الأمينية أى إن الشفرة التى ينشأ عنها حمض أمينى واحد هى عبارة عن قالب Triplate مكون من ٣ قواعد يسمى أيضاً Codon .

ويبين القاموس التالى ترتيب القواعد الثلاث والأحماض الأمينية المقابلة لكل شفرة .

### قاموس الشفرة الثلاثية

**Three latter genetic cod-word dictionary Sigel et al, 1965.**

Amino acid	RNA	Code words		
Alanine	CCG	UCG*	UCG*	
Arginine	CGC	AGA		
Asparagine	ACA	AUA		
Aspartic acid	GUA			
Cysteine	UUG*			
Glutamic acid	GAA	AGU*		
Glutamine	ACA	AGA	AGU*	
Glycine	UGG	AGG		
Histidine	ACC			
Isoleucine	UAU	UAA		
Leucine	UUG	UNG	UNA	umu <sup>(a)</sup>
Lysine	AAA	AAG*	AAU	
Methionine	IGA*			
Phenylalanine	UUU			
Proline	CCC	CCU*	CCA*	CCG*
Serine	UCU	UCC	UGG'	
Therionine	CAC	CAA		
Tryptophan	GGU			
Tyrosine	AUU			
VaLine	UGU			

\* Un Certain whether code is uuG or GGU

\*\* Nred for u uncertain

(a) Codes preferentially for phenylalanine

. Need for G and U uncertain

o Need for uAG uncertain

من هذا يتضح كيف أن مجموعة بسيطة من ثلاث نيوكليوتيدات تقرر نوع الحمض الأميني المتكون. وإذا تصورنا أن خيط الحمض النووي مكون من ٦٥٠٠ نيوكليوتيدة، يمكننا أن نستنتج كم نوع من البروتين يمكن تكوينه بارتباط عدد من الأحماض النووية.

وقد يكون أحد هذه البروتينات إنزيمًا ضروريًا لإنتاج زيادة من حمض النواة، والآخر ربما يكون هو البروتين الذي سيعطى حمض النواة ويكون جزيئًا جديدًا من الفيروس.

ومن ذلك أيضاً يمكن التنبؤ بأن أى تغير فى وجود أى قاعدة بسلسلة الحمض النووى سيؤدى إلى انحراف Complementary deviation (طفرة mutation) فى ترتيب الأحماض الأمينية للبروتين المقابل، ويمكن أن تحدث مثل هذه الطفرات فى الحالات التالية:

١ - إذا ما حلت قاعدة محل أخرى، أى تغيير فى وضع ال-Code- Triplate sequences.

٢ - إذا أضيفت قاعدة أو أخذت، من سلسلة الحمض النووى.

وحديثاً أمكن تغيير طبيعة النيوكليوتيد كيميائياً، وكانت هناك حالة مثيرة لبساطتها، وهى عبارة عن استبدال مجموعة أمين ن يد٣ بمجموعة أيدروكسيل (أيد) فى قاعدة، حيث أجرى Frankel-Conrat تجربة استعمل فيها حمض النتروز Nitrous acid؛ إذ بواسطته تمكن من طرد مجموعة الأمين من السيتوزين واحلال مجموعة الأيدروكسيل محلها، وبذلك أصبح الموجود اليوراسيل بدلاً من السيتوزين، وهذا يعتبر تغييراً فى نيوكليوتيدة واحدة.

وإذا افترضنا إضافة كمية قليلة من حمض Nitrous acid إلى جزيئ حمض النواة فى فيروس موزايك الدخان بكل احتراس، فإن واحداً أو اثنين من السيتوزين واليوراسيل يمكن إدخالهما فى الجزيئ.

وإذا تصورنا أن جزيئ حمض النواة فى فيروس موزايك الدخان يتكون من ٦٥٠٠ نيوكليوتيدة. وأن هذا التغيير يتم فى مجموعة واحدة Triplate مثل GAC التى تصبح GAU. وعلى هذا فعندما يترجم هذا إلى ما يقابله من بروتين بناء على القاموس النظرى، فلا يلاحظ وجود الحمض الأميني برولين Proline، ولكن يوجد بدلاً عنه حمض ليوسين

Leusine حيث إن GAU هي أساس لليوسين. وبذلك يتغير الشكل المميز لنيوكليوتيدة واحدة، وبذلك فإنه يمكننا التحكم فى إنتاج البروتين الذى يحتوى على ليوسين فى مكان منه، حيث كان يوجد البرولين وبعبارة أخرى يمكن إنتاج طفرة للفيروس.

وهذا ما أجراه فعلاً فرانكل - كونرات Fraenkel - Conrat وآخرون، حيث عزلوا حمض النواة للفيروس موزايك الدخان، وعاملوه بحمض النيتروز Nitrous، وجعلوا حمض النواة المتغير يكون غلاًفاً جديداً من البروتين.

إلا أنه ليس من السهل عملياً إنتاج طفرة فيها نيوكليوتيدة واحدة من ٦٥٠٠ متغير، إلا أن الذى حدث فعلاً هو حالة فيها حوالى أربعة متغيرات فى كل السلسلة، ومن ثم فقد أكدت هذه الدراسة حدوث كثير من الطفرات.

ومن هذه التغيرات أمكن تغيير أو استبدال البرولين بالليوسين، وتطبيقاً لهذا فإنه من المعروف أن فيروس موزايك الدخان يحتوى على برولين قرب الطرف، وأن وجود البرولين فى هذا المكان يجعل الفيروس أكثر مقاومة لإنزيمات النبات التى ربما تثبط من نشاطه. ولهذا يمكن أن يلاحظ عند عمل تغير دقيق كيميائى فى حمض النواة للفيروس TMV تخلق سلالة أخرى للفيروس، التى تتميز بكونها أقل ثباتاً less stable من الفيروس الأصيل.

العوامل التى تؤدى إلى تغيير الفيروس - أو إلى إنتاج سلالات فيروسية:

١ - تغير الفيروس أثناء مروره خلال جسم عائله:

إنتاج الفيروس يتم داخل خلايا العائل، وبالتبعية فإن الوسط الذى يعيش فيه الفيروس يتغير من عائل لآخر. وفى خلايا النباتات التى تتبع بعض الأجناس فإن الفيروس يقابل ظروفاً تجعله يتغير. ويأخذ هذا التغير مظاهر عدة، منها:

أ - تغير الفيروس الذى يسبب إصابة محلية فتصبح إصابة عامة:

فمثلاً فيروس موزايك الخيار / ١ فى مروره الأول بنبات اللوبيا *Vigna sinensis* يسبب نقطاً محلية، وفى ثامن أو عاشر تمريرة بواسطة النقط المحلية يظهر على الأوراق بقع صفراء، حيث تحتفظ الخلايا بحيويتها، ويتبع هذا مرض عام قد يأتى على حياة النبات. وإذا استمر

فى التميرير فإن الفيروس يتعرض إلى تغير يقلل من درجة تأثيره وأن المرض يصبح موزايك خفيف أقل ضرراً (Price, 1934)، وهذا التغيير مرتبط بتأقلم adaptation الفيروس نحو العائل الجديد .

ب - يظهر التغير بوضوح إذا ما استعمل سلالة قوية **Virulent** :

فمثلاً بتميرير السلالة العادية من TMV خلال نبات *N. gluca* أو خلال *N. sylvestris* تتعرض للتغير معطية فى الأول سلالة جديدة أكثر شدة (Couxov & Vovk, 1959) **more virulent** وبعد حقن أوراق *N. glutinosa* بالفيروس بعد التميرير السابق فإنه يعطى نقطاً محلية (نيكروز) كبيرة وتأثيرها قوى، وذات قطر ٣-٤ مرات أكبر مما يعطيه الفيروس قبل تميريره .

ج - ربما يفقد الفيروس صفة تطفله على العائل الأصلي :

إذا ما مرر فى عوائل جديدة: فمثلاً الاستمرار فى تميرير فيروس X البطاطس فى نباتات الدخان يؤدى إلى أن يفقد الفيروس قدرته على إصابة عائله الأول وهو البطاطس . وقد وجد Matthews, 1949 أن تكاثر بعض سلالات هذا الفيروس فى نباتات الدخان لمدة ١٨ شهراً قلل درجة إصابتها للبطاطس، وأن تكاثرها لمدة ٣٠ شهراً يفقدها نهائياً صفة إصابة البطاطس . ولقد حصل أيضاً Black, 1953 على تأكيد النتائج السابقة بالنسبة لبعض سلالات فيروس اصفرار وتقزم البطاطس، فوجد أن هذا الفيروس ينتشر فى الطبيعة بواسطة حشرة Cicadae، ويتضاعف أيضاً فى جسمها كتكاثره فى عائله النباتى، وأثبت بالتجربة أن زراعة سلالة واحدة لمدة ١٢ عاماً وأخرى لمدة ١٦,٥ عاماً فقط فى النبات يفقد السلالتين قدرتهما على إصابة الحشرة عند تغذيتها على نباتات مصابة . وهذا نتيجة لأن السلالتين فقدتا صفة إصابتها للحشرة نظير تطفلها هذه المدة الطويلة على النباتات فقط .

٢ - تغيير الفيروس نتيجة لفعل الحرارة :

تغير الفيروس بفعل الحرارة واضح، فى عام ١٩٣٤ وجد Holmes أنه بزراعة سلالة قوية **Virulent** من فيروس موزايك الدخان فى قطع من ساق طماطم، وحفظها لمدة ١٥ يوماً فى

جو رطب على  $34^{\circ}\text{C}$ ، وجد أن الفيروس تعرض لتغير كان نتيجته أن عزل سلالة جديدة ضعيفة جداً في درجة إصابتها لنباتات الدخان، فلم تعط أي مظهر إصابة خارجي فسامها سلالة متخفية *masked strain*، كما أنها ذات صفة مقاومة الحرارة فتتكاثر في عقل ساق الطماطم على درجة  $30^{\circ}\text{C}$ ، وهي درجة أعلى من الدرجة القصوى لتكاثر السلالة الأصلية.

ولقد فسر في ذلك الوقت (1934) ظهور السلالة المتخفية والمقاومة للحرارة بأنه نتيجة للانتخاب، فالسلالة المتخفية توجد في مخلوط الفيروس الأصلي، وأن حفظ القطع المصابة من ساق الطماطم على درجة  $34,5^{\circ}\text{C}$  يقلل من تكاثر السلالة الأصلية، ويساعد على تكاثر السلالة المتخفية. إلا أن التجارب المستمرة لكابتزا Kapitsa عام 1954 أثبتت أنه تحت تأثير ارتفاع الحرارة يتغير الفيروس، كما لاحظ فوفك Vovk, 1954 أيضاً سلوك التغير على فيروس موزايك الخيار رقم 2 نتيجة لتأثير ارتفاع الحرارة. وفي هذه الحالة ظهرت سلالة جديدة تتميز بضررها الشديد، فتسبب على نباتات الخيار موزايك أبيض وناصعاً، مع الموزايك الأخضر المميز للسلالة الأصلية.

### ٣ - التغير بتأثير الإشعاع **Radiation**:

عند تعريض أوراق الدخان المصابة بفيروس موزايك الدخان العادي إلى اشعة إكس بمقدار 1200-1400 يسبب تغيير الفيروس، وفي ظل هذه الظروف عزلت ثلاث سلالات جديدة. لوحظ أيضاً تغير الفيروس عندما تعرضت نباتات الدخان قبل حقنها، وفي هذه الحالة يلاحظ أن سبب التغيير يكون نتيجة لتغيير في ميتابوليزم النباتات التي عرضت، كما وجد أن التأثير يمكن أن يفسر بالتأقلم *adaptation*.

### ٤ - التغيير نتيجة الحقن بمزيج من الفيروسات:

أولاً: يمكن القول بأن أهم عامل لتغيير فيروس النبات، هو إصابة النبات بمخلوط سواء أكان لفيروسات ذات أصل واحد أم لفيروسات تختلف وراثياً. فمثلاً لوحظت إصابة بمظاهر إصابة مختلطة، بتكوين مناطق متفرقة بالأنسجة لوحظت فيها مظاهر إصابة لسلالتين جديدتين ظهرت كنتيجة لتغير طراً على السلالتين الأصليتين.

وتتميز السلالات الأربع باختلاف المحتويات داخل الخلايا الخاصة بكل سلالة، فالسلالة الأولى تكون داخل الخلايا بلورات سداسية فقط، أما السلالة الثانية (التخطيطية) فتكون محتويات بلورية مستديرة داخل الخلايا والسلالتين الجديدتين: إحداهما سلالة عقدية أى تسبب محتويات عقدية موزعة بكل الخلية، والثانية سلالة خيطية تكون داخل الخلايا بلورات سداسية صغيرة، ومعظم المحتويات الأخرى باراكريستال خيطية.

وإثبت تحليل المحتويات كيميائياً أن السلالة العقدية ناتجة عن سلالة الموزايك المخططة، أما السلالة ذات المحتويات الخيطية فهي ناتجة عن سلالة الفيروس الأصلية. كما وجد أن السلالتين الجديدتين بعد فصلهما وتنقيتهما في مزارع نقية وجد أنهما تحتفظان بخواصهما.

يمكن القول بأن التغيير بسبب الحقن بالخليط من السلالات يكون سببه تغير في ميتابوليزم النبات.

ولقد لوحظ أنه في حالة الحقن بخليط من السلالتين يظهر في الأنسجة المحتويات الخاصة بالسلالتين، أما المحتويات ذات الأشكال الجديدة فإنها تكون قليلة، وربما لا يتعرف عليها إذا ما فحصت بسرعة ودون دقة. ويتضح أنه لا بد من وجود علاقة وطيدة بين هذه الفيروسات حيث إنه نتيجة العمل المتبادل بينهما تتكون فيروسات جديدة.

ثانياً: ويمكن أن يتم التغيير أيضاً في حالة ما إذا كانت محتويات مخلوط الحقن من فيروسات ليست ذات أصل واحد. ولقد حصل Couxov & Kapitza, 1956 على نتيجة تؤكد ذلك، عندما استعملوا مخلوطاً للحقن مكوناً من سلالة لفيروس X البطاطس ( $X_2$ ) latent، وسلالة من فيروس موزايك الدخان لم تعط أي مظاهر إصابة عند إصابة نباتات البطاطس، ونادراً ما تظهر نقط صفراء على الأوراق العليا وفي حالة الحقن بمخلوط السلالتين (سلالة  $X_2$  مضافاً إليها سلالة موزايك الدخان)، فإن مظاهر الإصابة بالنسبة للموزايك كانت أكثر وضوحاً، وتكونت على الأوراق نقطاً ممتدة صغيرة نيكروزية، وأمكن بعد فصل هذه النقط وحقتها في أوراق نبات الداتورا الحصول على سلالة جديدة، عرفت كسلالة (Virulent  $X_2$ ) ذات صفة الشدة بالنسبة لعلاقتها بالدخان والدااتورا.

وبعمل دراسة سيتولوجية لنبات الدخان المصاب بمخلوط الفيروسين، ثبت أن صفات المحتويات داخل الخلية لكل منهما دائماً ما تختلط في الخلايا.

فسلالة موزيك الدخان تكون بلورات سداسية وسلالة X2 تكون محتويات مستديرة (أجسام X مستديرة). وفي أول فترة الإصابة فإن المحتويات المتكونة تحتفظ بتشكيلها المميز لها، ولكن بعد ذلك تذوب أجسام X بشدة، وكذلك تتحول البلورات السداسية إلى أشكال غير بلورية، وغالباً ما تصبح أجزاء صغيرة.

وتعتبر هذه التغيرات كمظهر خارجي للتأثير المتبادل بين محتويات مخلوط الحقن التي تؤدي إلى تغير سلالة X2.

وتؤدي النتائج السابقة إلى القول بأن الحقن بمخلوط محتوياته ليست ذات أصل واحد، وفي بعض الحالات، يمكن أن تستعمل كعامل من عوامل تغير الفيروس. ومثل هذا المخلوط يوجد بكثرة في الطبيعة، ولذلك يصح التفكير في أن هذا العامل يلعب دوراً كبيراً في تغير وتطور نمو الفيروسات.

#### ٥ - معاملة الفيروس بواسطة المواد المطفرة Mutagenic agents :

استخدم الكثير من المواد الكيميائية والتي ثبت تأثيرها المطفرة على كائنات أخرى لمعرفة تأثيرها على الفيروسات، ومن هذه المواد الكيميائية :

#### أ - حمض النتروز: Nitrous acid

من أكثر المواد الكيميائية التي درس تأثيرها على الفيروسات النباتية وخاصة فيروس موزايك الدخان، ويرجع تأثير هذا الحامض على مجاميع الأمين، ونتيجة لذلك يتحول الأدينين إلى هيبيوكسانثين Hypoxanthine والجوانين إلى Oxanthine ويتحول السيتوزين إلى يوراسيل. وعند تناسخ الحامض النووي فإن الأكسانثين يرتبط مع السيتوزين (مثل الجوانين) أما الهيبيوكسانثين فلا يرتبط مع اليوراسيل (مثل الأونيين) وإنما يرتبط مع السيتوزين - اليوراميل يرتبط مع الأدينين.

وقد استخدمها Mundry 1959، و Sigel, 1960 حيث عامل الأخير تحضيراً من فيروس

موزايك الدخان TMV بحمض النتروز، ثم حقن به نباتات *N.glutinosa* ثم حقن من نقط محلية منفصلة نباتات دخان صغيرة ليختبر وجود الطفرات. فوجد ٤٢ طفرة ناتجة من الحقن بواسطة ١٥٤ نقطة محلية، بينما وجد طفرتان من ١٠٥ نقط محلية في حالة عدم استعمال حمض النتروز. وبهذا فإن حمض النتروز يشجع تكوين الطفرات بقدر ١٤ مرة في المتوسط.

#### ب - ٥ فلوروراسيل : 5 flourouracil

وجد أنه عندما يعامل النبات الذى يتكاثر فيه فيروس موزايك الدخان بهذا المركب، أنه يدخل فى تكوين جزء كبير من RNA المتكون. وقد وجد أن هذا المركب يحل محل اليوراسيل فى جزئ RNA، وخلال تناسخ RNA فإن هذا المركب يرتبط مع الجوانين؛ خاصة عندما يكون على الصورة الاينولية بدلاً من السيتوزين.

#### ج - هيدروكسيل أمين : Hydroxylamine

يؤثر هذا المركب على RNA الفيروس ويرجع أثره إلى مهاجمته للسيتوزين، وتحويله إلى مركبات شبيهة باليوراسيل تسلك سلوك اليوراسيل.

وهناك مواد أخرى تستخدم بكثرة فى تخليق سلالات صناعية مثل N. bromosucci- و Propylene namide- وغيرها من المواد الكيماوية التى لها تأثير مطفر على الفيروسات.

#### د - كذلك استعمال Nitrogen Mustard :

شجع تكوين سلالات لفيروس X البطاطس عند تعريض الأوراق المحقونة لبخاره.

#### طرق الحصول على سلالة نقية :

لدراسة تغير الفيروس يجب أولاً استخلاص سلالة ذات أصل واحد وحفظها فى مزرعة نقية. وأحسن طريقة تؤدي نتائج لاختبار سلالة ذات أصل واحد، هو استخلاص الفيروس من نقط محلية متكونة نتيجة لإصابة أوراق بعض النباتات، وتتلخص طريقة النقط المحلية فى الآتى :

يستخلص العصير المحتوى على الفيروس من الأنسجة، ثم يخفف بالماء إلى نسبة عالية

(١:١٠٠٠٠٠ أو ١:١٠٠٠٠٠٠) ويحقن به أوراق النبات التي تتفاعل مع الإصابة مكونة نقطاً محلية. ونتيجة لتخفيف المستخلص إلى نسبة عالية، يظهر في الخلية المحقونة عدد غير كبير من جزيئات الفيروس، أو ربما منفردة تتكاثر في الخلية المحقونة، وتمر إلى الخلايا المجاورة خلال البلازموديزما.

وقد تبدأ الخلايا المصابة في الموت بعد ٣-٤ أيام، مكونة نقطاً محلية.

وتمثل كل نقطة محلية وسط تكاثر جزئى منفصلاً عن الفيروس، أو عدداً من الجزيئات غير كبير دخلها عن طريق الحقن. فإذا فصلت بقعة محلية وحضر منها مستخلص فإنه يحتوى على سلالة فيروس من جنس واحد.

ولقد أثبتت الاختبارات الخاصة أنه يمكن عزل سلالات نقية من تحضير لمزيج من السلالات الفيروسية، وذلك بطريقة النقط المحلية التي تظهر على نباتات مخصوصة نتيجة لحقنها بالمستخلص بعد تخفيفه. وربما تحتفظ بعض النقط المحلية بخليط من سلالات الفيروس، ولذلك تكرر عملية الحقن من نقطة محلية مرة أخرى أو مرتين للتأكد من الحصول على سلالة نقية.

ويحتفظ بالبقع المحلية التي تفصل من النبات في آخر ترميره، ومن نسيج كل نقطة محلية يحضر مستخلص منفصل يحقن به نبات يعطى إصابة عامة. ويحتفظ بهذه النباتات كمزرعة نقية للسلالة تستعمل في التجارب التالية.

وتستعمل هذه الطريقة عند دراسة الفيروسات، التي تؤدي إلى ظهور نقط محلية على نباتات خاصة، مثل فيروس موزايك الدخان الذي يسبب البقع المحلية على أوراق نبات *N. glutinosa* ونباتات بعض أصناف الفاصوليا ونباتات *Datura sp.*، وكذلك فيروس Y البطاطس الذي يسبب النقط المحلية على أوراق نباتات *Lycium barbarum*.

ومن الواضح أنه لا توجد لكل الفيروسات عوائل معروفة تعطى نقطاً محلية. ولذلك ففي بعض الحالات يحسن لعزل سلالة نقية:

١ - أن يحقن النبات بتخفيف عالٍ ultra filtration من مادة الحقن.

٢ - وأحياناً يستعمل طريقة الحقن بواسطة إبرة تغمس مرة واحدة في محلول الحقن، ثم يجرح بها ورقة نبات جرحاً واحداً Single pin-puncture وهكذا.

٣ - تثبيط الفيروس جزئياً ببعض الكيماويات Partial inactivation with various chemicals.

٤ - التثبيط الجزئي بالحرارة المرتفعة high temperature.

٥ - التجميد أو التعريض للأشعة فوق الحمراء-Sub freezing or exposure to ultraviolet light.

### التفسير الكيميائي للتطفر:

وجد أن اصفرار بنجر السكر SBY-V بطول ١٣٧٠٠ أنجستروم أو أطول قليلاً قادر على الإصابة، بينما يفقد هذه القدرة بالنسبة للجزيئات التي تقل في الطول  $100 \text{ \AA}$ . الوزن الجزيئي لهذا الفيروس هو  $2 \times 10^6$ ، وهو يعادل الوزن الجزيئي لفيروس موزايك الدخان الذي يفقد القدرة على الإصابة، إذا ما أزيل منه حوالي ٥٠-١٥٠ نيوكليوتيدة.

إن عدد النيوكليوتيدات في حمض موزايك الدخان واللازمة لإحداث الإصابة هو أقل من ٦٠٠٠ نيوكليوتيدة. وحديثاً ظهر أن فيروس تبقع الفول BBNV يفقد القدرة على الإصابة إذا فقد ١٣٠-٣٦٠ نيوكليوتيدة. وأن وزن جزيء فيروس تبقع الفول BBNV هو  $5,2 \times 10^6$ ، ووزن حمض النواة به هو  $1,1 \times 10^6$ ، ويحتوى الفيروس على ٣٤٠ نيوكليوتيدة.

أما فيروس بروم جراس brome grass وزنه الجزيئي  $1 \times 10^6$ ، ويحتوى على حوالي ٣٤٠٠ نيوكليوتيدة.

ومن الممكن اعتبار أن عملية الشفرة الوراثية genetic code هي الوحدة العاملة في سلسلة حمض RNA الفيروسي، وأن السيسترون cistron يتكون على الأقل من مئات النيوكليوتيدات، وهذه كافية كشفرة لتكوين البروتين. وهذا يجعل احتمال أن هناك أكثر من سيسترون لتكوين الفيروس.

ويمكن القول أن:

يتضاعف الفيروس داخل عائلة نتيجة لتداخل اثنين من الجينوم المستقلين: جينوم الفيروس مع جينوم العائل. إذ إن خلية العائل لا يمكنها إنتاج فيروس، طالما لم يدخلها جينوم الفيروس وكذلك الفيروس لا يمكنه التضاعف إذا لم يتوافق معه جينوم العائل.

منذ أن عرف أن حمض ريبونيو كليك RNA فيروس موزايك الدخان هو الذى يحتوى على معلومات الإصابة، أخذ تركيب وخواص هذا الحمض الاهتمام الأول، فوجد أنه يحتوى على ٦٥٠٠ نيوكليوتيدة بوزن جزيئى كلى  $2 \times 10^6$  (كما وجد جزيئات فيروسية صغيرة فى العائل المصاب إلا أنها غير قادرة على إحداث الإصابة).

ومنذ ذلك عرف أنه لا بد من وجود سلسلة بطول معلوم Original length لضمان الإصابة وتضاعف الفيروس. وأكد عمل Ginoza W. 1958 من أن انفصال رابطة فوسفودياستير Phosphdiester bond من ٦٠٠ رابطة ينتج عنه فقدان صفة القدرة على الإصابة. يوضح هذا أيضاً أن التواصل أو الترابط بشكل معين لسلسلة البولينيوكليوتيدات Polynucleotide chain ضرورى لعملية الإصابة.

ويظل سؤال إلى أى مدى تتعامل كل القواعد basis فى السلسلة فعلاً مع المعلومات الوراثية، وإذا ما فقد جزء صغير من طرف سلسلة النيوكليوتيدات تصبح غير قادرة على إحداث الإصابة يحتاج إلى إجابة؟؟ وسيظهر أن المعلومات الوراثية الموجودة فى سلسلة البولينيوكليوتيد لفيروس معين معقدة.

وقد يقترح بناء على ذلك أن أغلب السلسلة تحمل معلومات ضرورية للإصابة، إلا أن بعض المناطق ربما تكون غير ضرورية لهذه العملية. وأن التغيير فى مثل هذه المناطق ربما يكون له تأثير على بعض العمليات دون التأثير على قدرة الإصابة. وستظهر الوقائع أن المعلومات الوراثية الموجودة فى البولينيوكليوتيدات لفيروس معين معقدة - ولمعرفة إلى أى مدى تكون النيوكليوتيدات لحمض النواة حاملة للمعلومات الوراثية، لا بد وأن يعرف من الملاحظات الخاصة بالطفرات، كما يحدث عند فقدان القدرة على

ويمكن الحصول على التأثيرين السابقين تلقائياً بمعاملة فيروس موزايك الدخان TMV بواسطة حمض النيتروز nitrous acid؛ إذ ينتج عنها فصل Deamination لمجموعة الأمين لتتحول إلى مجموعة هيدروكسيل hydroxyl، دون التأثير على تكامل باقى خيط حمض دن أ الفيروس .

ويوجد فى خيط حمض RNA فيروس موزايك الدخان حوالى ٤٥٠٠ قاعدة.

وربما يؤدي التأثير deamination على مجموعة واحدة من الأمين aminogroup إلى فقدان القدرة على الإصابة. من الممكن إجراء ٣٠٠٠-٣٥٠٠ عملية deamination من ٤٥٠٠ عملية ممكنة، وربما يؤدي إلى هذا التأثير رغماً عن أن ١٢٠٠-١٥٠٠ مجموعة أمين يمكن فيها الفصل deamination، وأن بعضاً من هذه العمليات deamination ربما يؤدي إلى الطفرات. وأن عملية deamination واحدة تكون كافية لإحداث الطفرة. ولقد وجد أن ثمة عملية أخرى تدخل فى هذه العملية وهى عملية إنتاج طفرات خاصة التى تسبب نقطاً نيكروزيس أكثر من كلوروسيس (الشكل البرى Wild type) دخان جافا Java، ويدخل فى هذه العملية حوالى ١٨٠-٢٠٠ قاعدة أمينية كل واحدة تتسبب عنها طفرة تسبب نيكروزيس.

وقد وجد أن سرعة التطفر الكلية للفيروس تعادل ٨ مرات سرعة تكوين الطفرات، التى تسبب نيكروزيس. وهذا يوضح أن deamination لـ ١٤٠٠-١٦٠٠ قواعد أمينية مختلفة ربما تكون مطفرة. ويتلاءم هذا الرقم مع فكرة أن معظم - إن لم يكن كل - القواعد الأمينية فى حمض فيروس موزايك الدخان تحمل معلومة وراثية ظاهرة. وتأكدت هذه المعلومة بأن وجد أن كل deaminat يكون مؤثراً للخواص البيولوجية للفيروس.

وكانت نتيجة تجربة معاملة حمض RNA فيروس موزايك الدخان بحامض النيتروز أن تكونت الطفرات. وظهرت أو تأكدت الآراء فى جانب الانتخاب Selection أكثر من الإنتاج الكيميائى للطفرات.

يتكون البروتين من حوالي ٢٠ حمضاً أمينياً. بعض النيوكليوتيدات ضروري لتقرير مكان (وضع) حمض أميني واحد في سلسلة عديد النيوكليوتيدات، وأن الترتيب الطولي للحمض الأميني يقرره تتابع النيوكليوتيدات في حمض النواة.

يتكون الحمض الأميني الواحد بواسطة وحدة شفرية يمثلها ثلاث نيوكليوتيدات.

وحيث إنه يوجد أربع نيوكليوتيدات فيمكن أن تكون  $4^3 = 64$  شفرة (كما سبق).

ويتكون الحمض الأميني بواسطة أكثر من شفرة مختلفة، وذلك في حالة الشفرة غير الكاملة degenerate، أما في حالة الشفرة الكاملة non degenerate فإن عدد الشفرات المختلفة يساوي عدد الأحماض الأمينية المختلفة الموجودة في البروتين المتكون.

ويستدل على أن الشفرة غير كاملة non degenerated بطبيعة الحمض الأميني الموجود في الغلاف البروتيني لسلسلة فيروس موزايك الدخان المتكون نتيجة لتأثير حمض النيتروز.

تتكون النيوكليوتيد من وحدات شفرية ثلاثية، والذي اقترح حديثاً أنها Curious غريبة - كل وحدة تحتوي على الأقل على قاعدة حمض residue-uradylic acid يوراديليك، وبذلك إذا كانت كل شفرة ثلاثية بها قاعدة يوراسيل U واحدة، وأن كل شفرة U حمض فيروس نيكروزيس الدخان المساعدة يحتاجها لتكوين الغلاف البروتيني للفيروس. الجزء المتبقى من حمض النواة فهو خالٍ من حمض U يوراسيل، وبالتبعية لا يحتوي على معلومات خاصة بالبروتين. ويقترح هذا الرأي وغيره أن تواجد اليوراسيل في كل شفرة ثلاثية ليست لها القدرة على التمثيل mandatory، وحديثاً نشر عن تجارب حمض RNA المكون للبروتين بواسطة العمل في أنبويه اختبار *in vitro*، ووضع قاعدة وهي أن تواجد حمض أميني incorporation في سلسلة بيبتيديات لا يعتمد على قاعدة اليوراسيل في كل شفرة.

وحديثاً ظهر أن الشفرة تتكون من اثنين أو أكثر من النيوكليوتيدات، في شفرة واحدة يكون هناك overlapping إذا ما شاركت نيوكليوتيدة واحدة في عمل أكثر من حمض أميني

واحد فى سلسلة البيبتيدات .

لا تنتج الطفرات دائماً من تغييرات فى تكوين الحمض الأميني المكون للغلاف البروتيني، حتى ولو أظهرت مظاهر إصابة على العائل تغييراً مميزاً. وإذا حصل تبادل متغير فى الحمض الأميني فيلاحظ عادة تغير واحد وليس متجاورين، وقد سجل أن حمض النيتروز أظهر تبادلاً فى القواعد ١٦ أو ١٧ قواعد الحمض الأميني المكون لغلاف الفيروس البروتيني .

إن المعلومات الموجودة فى حمض RNA الفيروس ربما تكون معقدة، إذ أنها ربما تتكون من جينات أو سيسترونات genes or cistrons، ولقد وضع وجود جينات على حمض النواة فى البكتريوفاج، وذلك بواسطة تجارب إعادة التركيب recombination . أما أحماض الريبو لفيروسات النبات فيظهر أنها تحتوى أيضاً على جينات، رغم أن معرفة ذلك أخذ طريقاً مختلفاً عن سابقه .

إن فكرة أن خيط حمض ريبوموزايك الدخان يحتوى على عديد من الشفرات cistra تؤكدتها الحقيقة التى تقول إن ٢٠٠-٤٥٠ قاعدة أمينية، تشترك فى عمل نيكرزيس على دخان جافا Java . إن التطفر ربما يغير صفة واحدة بينما تظل الصفات الأخرى غير متغيرة . وهذا يبين أن خواص سلالة واحدة لفيروس موزايك الدخان، وربما أيضاً لفيروسات نباتات أخرى تحددها سيسترونات cistrons على الحمض RNA . وإذا قبلنا فكرة أن الشفرة ثلاثية، وإذا أخذنا أيضاً فى الاعتبار أنه لا يحصل خلط overlapping، فإن وحدة البوليببتيد لشفرة فيروس موزايك الدخان  $3 \times 158 = 474$  نيوكليوتيدة للسيسترون الذى يقرر تكوين التركيب البنائى .

لابد من تصور أن السلالات العديدة لفيروسات النبات تعكس أشياء مفيدة لتجارب إعادة التركيب Recombination، التى صممت لتحديد الجينات على خيط RNA . ولسوء الحظ لا توجد ظاهرة واضحة لتبين أن إعادة التركيب تكون بين السلالات القريبة related لفيروسات النبات، رغمًا عن أن بعض الملاحظات على فيروسات Tom. Spot W V. وفيروسات TNV, PVX تبين إعادة التركيب .

## توابع الفيروس Satellite Agents :

عند تنقية الفيروسات المعزولة من النباتات المصابة، قد يظهر في التحضيرات النقية نوع من الحمض النووي RNA مغاير للحمض النووي الخاص بجينوم الفيروس. وبعض من هذه الأحماض النووية تسمى تحت الوحدات الجينومية Subgenomic RNA. وبالإضافة إلى ذلك فإن بعض العزلات من بعض الفيروسات النباتية تحتوي على عامل أو عوامل تابعة Sat- elite agents. ويمكن تمييز نوعين من هذه العوامل على أساس مصدر الغلاف البروتيني المستخدم في تغليف الحمض النووي RNA؛ أولاً الفيروسات التابعة Satellite Viruses، نجد أن الحمض النووي يحمل الشفرة الخاصة بتكوين الغلاف البروتيني Coat protein. وثانياً في الـ RNA التابع Satellite RNAs فإن الحمض النووي يغلف بقشرة بروتينية تتركب من البروتين المغلف للفيروس المساعد. وعموماً فإن الفيروس التابع أو الحمض النووي التابع Satellite virus or RNAs يتميز بالخصائص التالية:

١ - المادة الوراثية لهما تتركب من حمض نووي رايبوزي وحيد الخيط SSRNA جزيئاته صغيرة الحجم، ولا يكون الحمض النووي RNA جزءاً من جينوم الفيروس المساعد Helper Virus، ولكنه عادة ما يكون محدوداً في تشابهه مع الفيروس المساعد في التتابع النيوكليدي.

٢ - يعتمد تضاعف RNA على وجود فيروس مساعد خاص.

٣ - هذا العامل يؤثر على أعراض المرض على الأقل في بعض العوائل.

٤ - تضاعف الفيروس التابع يتداخل لحد ما مع تضاعف الفيروس المساعد.

٥ - الفيروسات أو الأحماض النووية التابعة Satellite تتضاعف في السيتوبلازم بفضل الحمض النووي الذاتي.

وفي السنوات الأخيرة ظهر أن عديداً من الفيروسات التابعة Satellite المصاحبة لمجموعة من الفيروسات تشبه الفيرويدات في الخصائص التركيبية، واطلق عليها اسم الفيروسيديات Virusoides، ولكن هذا الاصطلاح سرعان ما عدل عن استخدامه.

## الفيروسات التابعة النباتية Satellite plant Viruses :

لقد تأكد وجود ثلاثة فيروسات نباتية تابعة مع مثالين آخرين، يحتمل كونهما فيروسات تابعة. وهذه الفيروسات التابعة هي أصغر الفيروسات المعروفة حتى الآن. وكان أكثر هذه الفيروسات دراسة هو الفيروس التابع نيكروزيس الدخان (STNV) Satellite tobacco necrosis V.، وهو المثال الذى نتناوله بالتفصيل هنا.

الفيروس المساعد Helper لنيكروزس الدخان (TNV) عبارة عن جسم صغير ايكوزاهيدرال بقطر حوالى ٣٠ نانوميتر. ويتضاعف ذاتياً دون الحاجة إلى فيروسات أخرى، ويصيب فى العادة جذور النبات فى الحقل. بعض التحضيرات من TNV يحتوى على كميات ضعيفة من جزيئات شبة فيروسية بقطر حوالى ١٨ نانوميتر، وتعتمد فى تضاعفها على الفيروس الأكبر. ولقد وجد أن هناك تخصصاً واضحاً فى العلاقة بين الفيروس المساعد والفيروس التابع Helper Virus and Satellite virus، ولقد أمكن عزل سلالات كلا الفيروسين، ولقد وجد أن بعضاً فقط من هذه السلالات الخاصة بالفيروس المساعد Helper، يمكنها أن تنشط سلالات معينة من الفيروس التابع Satellite.

وقد وجد أن كلا الفيروسين التابع والمساعد لنيكروزس الدخان تنتقل بواسطة الجراثيم السابحة Zoospore للفطر *Olpidium brassicae* ويعتمد نجاح هذا النقل على توافر عدة عوامل أهمها، هى: سلالة كل من الفيروس المساعد والتابع، وسلالة الفطر، ونوع العائل.

وكان التحديد الكامل للتتابع النيوكليتيدي فى جينوم الفيروس التابع STNV هو من أوائل الفيروسات التى تم فيها تحديد هذا التتابع، ثم تم تحديد تتابع الأحماض الأمينية فى الغلاف البروتينى استنتاجاً من التتابع النيوكليتيدي، ثم بعد ذلك أمكن إثبات ذلك بتحديد التتابع مباشرة فى الغلاف البروتينى للفيروس التابع STNV. ولقد بينت تلك النتائج أن الفيروس التابع يحمل شفرة لجين واحد، هو المسئول عن تكوين الغلاف البروتينى.

كما وجد أن الفيروس التابع STNV لا يحوى أى تشابه معنوى فى التتابع النيوكليوتيدى مع فيروس TNV، كما وجد أن الحمض النووى للفيروس التابع STNV يتمتع بخاصية الثبات الملحوظ داخل العائل؛ حيث وجد أنه يمكنه البقاء فى الأوراق المحقونة

لمدة عشرة أيام في غياب الفيروس المساعد Helper. وهذه الخاصية تسمح للفيروس التابع بالبقاء حياً لفترة داخل الخلية دون الغلاف البروتيني، أى قبل أن تصبح الخلية مصابة بالفيروس المساعد.

ولكن الاعتقاد السائد أن الحمض النووي RNA للفيروس التابع STNV يتضاعف مستعيناً بالحمض RNA وإنزيم RNA Polymerase المشفر على الأقل في جزء منه بواسطة الفيروس المساعد Helper Virus. وتضاعف الفيروس التابع لحد ما يعوق تضاعف الفيروس المساعد TNV، ولهذا فمن الممكن أن يحدث تنافس بينهما للحصول على إنزيم Repli-case، حيث ظهر أن حجم النقط المحلية Local lesion يقل في حالة وجود الفيروس التابع في اللقاح، ويعتقد البعض أن ذلك يعود إلى النقص في تضاعف الفيروس TNV.

ولقد أمكن نقل الفيروس التابع STNV لكل من النباتات، سواء ذات النواة الحقيقية أو غير الحقيقية eukaryotic & prokaryotic.

#### الحمض النووي التابع Satellite RNA:

وكان فيروس موزايك الخيار (CMV) Cucumber mosaic Virus، والذي غالباً ما يؤدي إلى ظهور مظهر الريشة Fern leaf في الطماطم أول من أظهر حمضاً نووياً SRNA تابعاً تم عزله من الطماطم المصابة بفيروس CMV، والتي كانت تظهر عليها أعراض النيكرورس بجانب مظهر الريشة Fern leaf حيث كان وجود الـ RNA التابع والذي أطلق عليه (CMVRNS) هو المسئول عن زيادة شدة المرض؛ حيث إنه من المعروف أن بعض سلالات فيروس موزايك الدخان وفيروس موزايك الخيار تعطي مظهر الريشة Fern leaf في الطماطم المنزرعة في الحقل.

وبعد ذلك ظهر وجود الـ RNA التابع في تحضيرات عديد من الفيروسات المنتمية لمجموعات Nepovirus: Cucumovirus, Sobemovirus & Tombusvirus. ولقد أمكن حصر ٣٣ حمضاً نووياً تابعاً Satellite مصاحبة لعدد ٢٩ فيروساً، ولكنها لا تؤدي دائماً إلى زيادة شدة المرض. وتختلف الأحماض النووية التابعة عن الفيروسات التابعة Satellite في أنها لا تحمل شفرة الغلاف البروتيني.