

الفصل السابع

فيروسات مجموعة A

تحت مجموعة ASBVd

١ - مرض ضربة الشمس فى الأفوكادو

Avocado Sunblotch Disease

مقدمة:

يسمى نبات الأفوكادو باللغة العربية الفصحى باسم الزبدية ونظراً لعدم شيوع هذا الاسم العربى فإننا نستعمل الاسم الحرفى الأجنبى وهو افوكادو.

لوحظت أعراض مرض ضربة الشمس فى الأفوكادو سنة ١٩٢٨ وكان يعزى إلى مسبب فيروسى ولقد انتشر فى كاليفورنيا منذ سنة ١٩٣١ ولقد وصف أعراضه Horne & Parker وقالوا إن مرض ضربة الشمس مرض فيروسى خطير يصيب نبات الأفوكادو *Persea americana*. استمرت الأبحاث على هذا المرض لغاية سنة ١٩٦٢ وأكدت الأبحاث أنه مرض يتسبب عن فيروس وإن هذا الفيروس ينتقل بالتطعيم وبالبدور، إلا أنه لم يذكر أية صفة أخرى عن هذا الفيروس ولم يمكن عزله أو دراسة صفاته وذلك لصعوبة العزل وبقاء المسبب حياً. وبقي الحال على ما هو عليه من هذا الاعتقاد حتى سنة ١٩٧٠ حيث ظهرت أعراض لهذا المرض فى استراليا، وفى هذه الفترة كان فجر علم جديد للفيروس قد إفتتح من قبل

العالم Diener فتشكلت ثلاثة مجموعات من العلماء فى استراليا لبحث ودراسة هذا المرض وكانت هذه المجموعات تتكون من :-

المجموعة الأولى Peter Palukaitis et al

المجموعة الثانية J.L. Dale and R. N. Allen

المجموعة الثالثة Mohamed Ali and Wayne Thomas

أجريت الدراسات على مسبب مرض ضربة الشمس فى الافوكادو بأن عزلت جميع الأحماض النووية منخفضة الوزن من الأشجار المصابة والأشجار السليمة، وتبين أن مسبب المرض هو حمض نووى ذو وزن جزيئى (٦ - ٧) $\times 10^4$ دالتون ووصف بأنه ذو شكل دائرى ومقاوم للتشيط بالحرارة، وكان يعزل من بعض الأشجار مع أنها لا تظهر أعراض وسميت حاملة للمسبب Carrier وغير مظهرة للأعراض Symptomless. ولقد تبين أن مسبب مرض ضربة الشمس فى الافوكادو ذو وزن جزيئى أصغر من الوزن الجزيئى لفيروس تقزم الأقحوان وفيروسات الحمضيات وإن التحليل باستعمال طريقة التهجين واستعمال cDNA معلم بالفسفور المشع دل على أن هذا المسبب يتكون من RNA أحادى الخيط ولقد أمكن اكتشاف المسبب بعملية التحليل السابقة. ولقد تأكد أن مسبب المرض موجود فى ١٢ شجرة من الافوكادو حيث أعطت نتيجة إيجابية للفهرسة وللاختبارات البيولوجية لمرض ضربة الشمس. إن العلاقة الكاملة بين مرض ضربة الشمس ووجود مسبب المرض دل على أن إختبار تهجين cDNA يمكن أن يستعمل فى فهرسة هذا المرض وإن إجراءات الكشف هذه تحتاج ٥ أيام، أما إجراءات الكشف بالطرق البيولوجية تحتاج سنتين.

إن مستوى مسبب مرض ضربة الشمس فى مستخلص الأحماض النووية المنقى جزئياً من عدد مختلف من مصادر أوراق الافوكادو المصابة بالمرض يختلف (مثلاً حوالى ١٠٠٠٠ جزء) من ٢٪ إلى 2×10^{-5} ٪ بالوزن وإن الحد المنخفض

الممكن اكتشافه بواسطة إختبار التهجين يقدر بحوالي ١٠-٥٠٪ بالوزن وهذا يساوي على الأقل ٣١٠ أكثر حساسية من اكتشاف المسبب المرضي بواسطة PAGE لمستخلص الحمض النووي من الورقة.

بعد هذه النتائج استطاعت المجموعات الثلاثة المكلفة بدراسة المرض من إثبات أن المرض يتسبب عن فيروس و ذلك سنة ١٩٧٧ وسمى هذا الفيروس باسم فيروس ضربة الشمس في الافوكادو Avocado Sunblutch Viroid ويكتب باختصار (ASBVd).

الأعراض:

تظهر أعراض مرض ضربة الشمس في الافوكادو على السيقان والفروع الخضراء للنباتات المصابة على شكل خطوط صفراء اللون كما تظهر على الثمار خطوط صفراء إلى حمراء اللون. الأعراض التي تظهر على السيقان والثمار هي الشائعة ومن السهل تمييزها. غير أن الأوراق قد يعترها تشوه بسيط و ابيضاض العروق وإصفرار وتظهر في مراحل أخرى من الإصابة أوراق متبرقشة. الأشجار المصابة تتدلى فروعها وتتقزم أحيانا.

ولقد ذكر Thomas & Mohamed سنة ١٩٧٩ أن المرض في استراليا يحدث بمظهرين، المظهر الأول أشجار تظهر عليها أعراض مميزة على الثمرة والقلب وإن نسبة بسيطة ٢ - ٥٪ فقط من ثمار هذه الأشجار يكون فيها بذور تحمل مسبب المرض. أما المظهر الثاني فهو عبارة عن أشجار تكون حاملة للمرض وغير مظهرة للأعراض وتسمى حاملة أو ناقلة بدون أعراض Symptomless Carriers. هذه الأشجار لا يظهر عليها أعراض سواء على الثمرة أو القلب ولكن الأعراض سوف تتكشف على القلم الذي يستعمل طعماً عليها. إن ٨٦ - ١٠٠٪ من الثمار المأخوذة من هذه الأشجار الحاملة بدون إظهار أعراض، تحمل مسبب المرض، ومع ذلك فإن البادرات من هذه البذور تكون أيضاً حاملة للمرض بدون أعراض إلا أنه

عند تطعيمها بقلم سليم (مأخوذ من أشجار سليمة) فإن نموات هذا القلم سوف يتكشف عليها أعراض المرض.

وبشكل عام يمكن تمييز أعراض المجموع الخضري على شكل نوعين من الأعراض المرئية، النوع الأول تبرقش الأوراق وتلونها بدرجات مختلفة من الأخضر حتى الأصفر وهذا العرض يتسبب عن سلالة أو تنوع معين. والنوع الثاني إبيضاض عروق الأوراق حيث يظهر حامل الورقة والعرق الرئيسي والتفرعات الجانبية له بيبضاء وقد يحدث تشوه في قمة الورقة أو قاعدة النصل، وهذا العرض يتسبب أيضاً عن سلالة أو تنوع آخر وسوف نتكلم بالتفصيل عن هذه التنوعات (السلالات) فيما بعد إن شاء الله.

أما بالنسبة للبلاستيدات الخضراء فيظهر فيها عدم تعضى كامل وتوقف تام كلية في المناطق الصفراء أما المناطق الخضراء تستمر سليمة عادية. بالفحص الميكروسكوبى تبين أنه فى المناطق الصفراء ينخفض ترتيب الجرانـ Granas rear- rangement فى نصل الورقة ويظهر إنتفاخ فى العضيات ويتكون فجوات ويتواجد قليل من Paramural bodies فى الخلايا السليمة ولكن يتكون منها الكثير فى المناطق الصفراء ويتغير تعضيتها الداخلى.

تعاقب تكشف الأعراض بعد الحقن بأنسجة مصابة بضربة الشمس:

The Progression of Symptoms Development After Ioculation With Sunblotch - infected Tissues

إن تثبيط إنتشار الفيرويد ضمن نسيج ورقة مظهرة أعراض الابيضاض وارتباطه فى حركة غير محددة فى كل من الأنسجة المبرقشة والحاملة للفيرويد بدون أعراض يؤدى إلى القول باحتمال حدوث إنعزال فى تجمعات الفيرويد وتكوين تنوعات، هذه التنوعات المفترضة لفيرويد ASBVd يمكن أن تكون ظهرت عن طريق التفاعل مع العائل.

إن إنعزال تنوعات ASBVd الذى يحدث فى الافوكادو يمكن أن يكتشف أو يحدد بواسطة أعراض مميزة ومحددة. نظراً لأن إنتقال مرض ضربة الشمس بواسطة مستخلصات الأنسجة بالإضافة إلى الفيرويد النقى صعب جداً ويحصل عليه بصعوبة وغير متوقع، لذا يلجأ إلى استعمال نسيج مصاب ويزرع فى النبات (نوع من التطعيم)، وبالتالي فإن أية تأثيرات تحدث بواسطة تنوعات أو عزلات (أى أنواع للفيرويد) ذات التركيزات المنخفضة من تجمعات ASBVd مثل تنوع ASBVd - B يكون عندها فرصة كافية للتعبير عن نفسها بالأعراض التى تحدثها.

إن دليل نجاح إنتقال الفيرويد بواسطة الطريقة السابقة يكون بواسطة التعريفات المنظورة للأعراض وبواسطة الكشف بطريقة sPAGE وهذه تحدث فى ٣ - ٨ شهور. فى جميع الحالات، بغض النظر عن مصدر اللقاح، فإن أعراض المجموع الخضرى الأولية هى إبيضاض الأوراق، بعد هذا الظهور يمكن أن يستدل بأن تنوع الفيرويد ASBVd - B موجود فى جميع تجمعات الفيرويد حتى عندما تكون مغطاة Masked عند الكشف بواسطة sPAGE بمستويات عالية من تنوعات ASBVd - V و ASBVd - Sc. كلما تقدم نمو الافوكادو المحقون بنسيج مبيض فإن أعراض الإبيضاض تظهر على فترات غير منتظمة.

أما النباتات التى حصل لها حقن من نسيج مبرقش أو نسيج حامل غير مظهر للأعراض، يتكشف أساساً أعراض تبرقش الورقة. إن التحليل بواسطة sPAGE أظهر على أن ASBVd - V يصبح التنوع السائد فى الأشجار المصابة، هذا يكون متوافق مع سيطرة وإنتشار أعراض التبرقش. مع استمرار الإصابة لأكثر من سنة فمن المحتمل إعادة اكتشاف فروع حاملة بدون أعراض تحتوى ASBVd - Sc من سيقان والتى لانزال مظهرة أعراض التبرقش. من هذه الفروع فإن النباتات الحاملة بدون أعراض التى نتجت لم تظهر تعبيرات الأعراض المرضية أبداً حتى مع وجود معيار على من الفيرويد فى نسيج المجموع الخضرى.

يمكن رسم تتابعات الأعراض كالآتي :-

١ - إذا كان اللقاح فيه تنوع B من ASBVd فإن تتابع الأعراض يكون

كالآتي :-

B → Non - Symptomatic → B → Non - symptomatic → B → NS
 ↳ B
 ↳ SC

٢ - إذا كان اللقاح فيه تنوع V أو تنوع Sc من ASBVd فإن تتابع الأعراض

يكون كالآتي :-

← V
 ← Sc → B → NS → V → NS
 ↳ V → NS → V → B
 ↳ NS → NS → NS

ملاحظة إن NS تعنى Non - symptomatic .

مسبب المرض :

يتسبب مرض ضربة الشمس فى الافوكادو عن فيروس ضربة الشمس فى الافوكادو (Avocado Sunblotch Viroid (ASBVd) وكان يكتب قبل سنة ١٩٩٢ بدون حرف d). يتكون الفيروس من ٢٤٧ نيوكليوتيدة ولكن بعض عزلاته أو تنوعاته تصل إلى ٢٥١ نيوكليوتيدة.

إن هذا الفيروس يمتلك موقع فريد بين الفيروسات. من ناحية التركيب فإنه يمتلك تماثل تتابع محدود بالنسبة للفيروسات الأخرى، ومن ناحية وظيفية فإن ASBVd هو الفيروس الوحيد الذى ذكر عنه بأن نسخ ال RNA الخاصة به تتوالد فى المعمل (تنسخ) من كلونات cDNA وقابلة لأن تصنع فى أماكن خاصة فى غياب الأنزيمات. مع أن التتابع المتغير بين العزلات المختلفة من ASBVd قد إقترحت، إلا أن تتابع العزلات الأسترالية فقط من هذا الفيروس هى المعروفة والمحددة جيداً. وقد تحدد تتابعات جميع العزلات الأسبانية من فيروس ASBVd المتحصل عليها من أشجار الافوكادو نوع Fuerte المظهرة أعراض هذا المرض. وسواء فى

تتابعات العزلات الأسترالية أو العزلات الأسبانية فقد تبين أن جميع التتابعات المختلفة لوحظت في العروتين الطرفيتين من الجزئ ولكن ليس في جزئه المركزي والذي يبدو أنه مشمولاً في التجهيز الذاتي لأنواع RNA السالبة والموجبة من الفيروس ASBVd. إن ظهور تماثل تتابع عال يساوي أو أكثر من ٩٨٪ في عزلتين مأخوذتين من أسبانيا وأستراليا (مناطق جغرافية مختلفة) يؤدي إلى القول أو التأكيد بأن الأصل مشترك لكلا العزلتين وأن منشأهما واحد.

فيروس ضربة الشمس في الافوكادو:

لقد وصف فيروس ضربة الشمس في الافوكادو ASBVd بأنه تركيب شبه عصوي من RNA يتكون من ٢٤٧ نيوكليتيده والتي تحدث مجموعة أعراض مرض ضربة الشمس. إن هذا الفيروس يعتبر غير نموذجي وذلك بسبب تتابع نيوكليتيدهات وتركيبه. فإن التركيب الغني بقاعدة U - A وتماثل التتابع المنخفض بالنسبة للفيروسات الأخرى يجعل الفيروس غير نموذجي. وبالتالي يمكن القول بأن ASBVd لا يتناسب مع الإجماع الذي إتفق عليه علماء الفيروس لنموذج تركيب النطاقات الموصوف من قبل العالم Keese & Symons سنة ١٩٨٥. ومما يقلل حدة غضب العلماء على فيروس ASBVd أن Hernandez and Flores قد ذكرا في أبحاثهما الحديثة سنة ١٩٩٢ أن هناك فيروس آخر له صفات لافتة للنظر وقرية جداً من صفات فيروس ASBVd وهذا الفيروس الجديد إسمه فيروس الموزايك الكامن في الخوخ (Peach latent mosaic Viroid (PLMVd) والمستقبل القريب سيكشف لنا الكثير عن هذا الفيروس.

إن المعيار العال إلى حد بعيد من ASBVd والذي أحياناً يصل تركيزات 5 RNA للعائل هذه أيضاً صفة غير عادية بين الفيروسات. كذلك فإن المدى العائلي الضيق جداً والمحدود بشكل خاص في العائلة الغارية Lauraceae وخاصة الجنس *Perea americana* أدى إلى القول بأن هناك علاقة خاصة جداً بين الفيروس وعائلة النباتي.

فى الدراسات التى أجراها Marcos & Flores سنة ١٩٩٢ على تثبيط الفيروس بـ مادة α - amanitin تبين أن بناء RNAs الخاصة بالفيروس ASBVd لم يتأثر باستعمال ١ أو ٢٠٠ ميكوغرام / ملتر من هذه المادة مع أن تركيز ١ ميكوغرام / ملتر يثبط أنزيم RNA Polymerase II أما تركيز ٢٠٠ ميكوغرام / ملتر يثبط أنزيم RNA Polymerase III وهذه الأنزيمات تثبط بتلك التراكيز فى جميع النباتات والحيوانات. إن عدم تأثير تكاثر الفيروس (نسخه وبناءه) بهذه التراكيز يدل على أن نسخه وبناءه لا يعتمد على أى من هذين الأنزيمين، وبالتالي يمكن القول بأنه إما أنزيم RNA Polymerase I أو أنزيم RNA Polymerase غير محدد المعالم لهما نشاط مقاوم لمادة α - amanitin ولهما دور فى تناسخ الفيروس إذن هذان الأنزيمان يؤثران على قالب RNA ويلعبان دوراً فى تناسخ الفيروس ASBVd وهذه صفة جديدة لهذا الفيروس حيث أن جميع الفيروسات المدروسة حتى سنة ١٩٩٢ تستعمل RNA Polymerase II فى تناسخها أما هذا الفيروس فلا يستخدمه.

إن وجود تنوعات للفيروس ASBVd قد استدلت عليها من الاختلافات فى تتابع النيوكليوتيدات وتقديرات حجم الجزيء لعزلات الفيروس. وعلى أية حال فإن هذه السلالات المقترحة أو المفترضة لم يثبت أبداً على أنها تنوعات مميزة بواسطة الاختلاف فى صفاتها البيولوجية.

ينتقل الفيروس بالتطعيم والبذور وإن الطريقة الأساسية لإنتشار المرض هو استعمال أصول حاملة للمرض بدون إظهار أعراض مميزة.

كذلك فإن مقاومة المرض تكون باستعمال الأصول الخالية من وجود الفيروس فيها وتأكيد ذلك بالعوامل التحليلية المختلفة وكذلك استعمال أقلام تطعيم خالية من الفيروس بغض النظر عن وجود أعراض أم لا.

تفايز أعراض المجموع الخضرى فى الأفوكادو المصاب:

لقد وصف مرض ضربة الشمس فى الأفوكادو عن طريق ظهور مجموعة أعراض شديدة الاختلاف، شاملة تخطيط الساق، تلون الثمرة وتبقعها بالإضافة إلى مجموعة أعراض على المجموع الخضرى مختلفة. بالملاحظة المستمرة للأشجار

المصابة تحت ظروف الصوبا الزجاجية لعدة سنوات أصبح من الممكن تعريف نموذجين محددين جيداً ومميزين من الأعراض على المجموع الخضري. هذه الأعراض إما أن تظهر على شكل منطقة شديدة الإصفرار مترافقة مع الأنسجة الوعائية الناقلة (العروق الورقية) أو أن تظهر على شكل تبرقش (درجات مختلفة من تنوع اللون الأخضر) الذي ينتشر خلال الورقة شكل ٨٠. هذه النماذج يمكن أن توجد على الأفرع المختلفة من نفس الشجرة أو على شكل حالات منفصلة على أشجار مختلفة، وبالتالي فإن تفاعلات المجموع الخضري المميزة مع الفيرويد يمكن تقسيمها إلى ثلاثة أنواع أساسية: -

- ١ - إبيضاض (إزالة اللون الأخضر) Bleached ويرمز لها الصفة B.
- ٢ - تبرقش (درجات مختلفة من اللون الأخضر) Variegated ويرمز لها V.
- ٣ - حاملة بدون أعراض (الفيرويد موجود ولكن لا تظهر الأعراض) Symptomless Carrier ويرمز لها Sc.

إن أكثر الأعراض الأساسية شيوعاً لمرض ضربة الشمس في الافوكادو هو ظهور تخطيطات في الساق، إلا أن أولى أعراض المجموع الخضري والمنتشرة كثيراً هي ظهور مناطق صغيرة محددة جيداً خالية من اللون ولها المظهر المبيض. هذا العرض لا ينتشر إلا في منطقة محددة جداً من الفرع وهي القمة النامية المفردة النشيطة ولا ينتشر أبداً في بقية أجزاء الشجرة. إن مجموعة الأوراق التي تظهر هذا العرض، أحياناً يظهر عليها إبيضاض ملحوظ في أعناق الأوراق وإبيضاض في العرق الوسطى مع وجود مناطق مشوهة في قمة الورقة وقاعدتها ملاصقة للعرض الوسطى ذات نسيج مبيض.

في بعض الحالات فإن النموات الجديدة من الفروع المحتوية أوراق مبيضة أيضاً يتكشف عليها نموذج الورقة المتبرقشة الذي يشبه التبرقش الوراثي. في الأشجار المريضة الأخرى يظهر نسيج جديد سليم وغير مظهر للأعراض. من بين الأوراق المتبرقشة من الممكن أن نجد نصف ورقة يوجد عليها أعراض غير منفصلة بوضوح بواسطة العرق الوسطى عن النصف الثاني للورقة المصابة بالفيرويد وغير مظهرة

للأعراض. ولقد وجد أنه من غير الممكن التمييز بين الأوراق غير المظهرة للأعراض والتي تتكشف على فروع عليها أعراض والأوراق السليمة الخالية من الممرض.



شكل رقم ٨٠ :

مقارنة بين ورقة سليمة وثلاثة أوراق مصابة من نبات الافوكادو المصاب بفيروس ضربة الشمس
 a = ورقة سليمة، b = أعراض الايضاض، c = أعراض التبرقش، d = الورقة حاملة للفيروس
 ولكن بدون أعراض.

اكتشاف فيروس ASBVd فى النسيج المصاب:

لاكتشاف الفيروس ASBVd فى النسيج النباتى المصاب، تؤخذ نسيج نباتية من مناطق مختلفة من الشجرة وتجري عليها الإختبارات. ولقد تبين أن المعيار العال من تركيزات ASBVd يكتشف بواسطة طريقة sPAGE والتي فيها حرف (s) يرمز إلى sequential، وهذه الطريقة تكشف الفيروس فى النوعين من الأعراض فى الأنسجة، الأعراض المبرقشة والأعراض المبيضة، وكذلك بهذه الطريقة يمكن اكتشاف الفيروس فى مستخلصات نسيج غير مظهر للأعراض-Symptomless carrier er تابع للسلسلة المبرقشة أما إذا كان تابع للسلسلة المبيضة فإنه يكون بتركيز غير كاف لتعريفه تماماً.

كذلك تستعمل طريقة PCR amplification لزيادة حساسية الكشف من الأنسجة التى أعطت نتيجة سلبية للإختبار باستعمال sPAGE. بهذه العملية يمكن اكتشاف الفيروس من مستخلصات أنسجة من مناطق غير مظهرة للأعراض أو أوراق مبيضة بالإضافة إلى نسيج غير مظهر للأعراض من نموات حديثة على فروع أظهرت مسبقاً أعراض ولكن كان إختبارها سالب لفيروس ASBVd باستعمال sPAGE. يمكن القول بأنه يمكن اكتشاف الفيروس ASBVd بطريقة sPAGE وطريقة PCR amplification فى جميع أنواع الأنسجة المحتوية لفيروس. إن الفيروس ASBVd يمكن اكتشافه فقط بطريقة PCR فى الأوراق غير المظهرة للأعراض الموجودة فى النموات الحديثة من الفروع المحتوية أوراق مبيضة، أما الأوراق غير المظهرة للأعراض التى تكشفت من فروع فيها أوراق مبرقشة، عادة تحتوى معيار عال من الفيروس يكون من السهولة اكتشافه بواسطة sPAGE. كذلك هناك علاقة مشابه بين الفيروس فى الأوراق الحاملة وغير المظهرة للأعراض والأوراق المبرقشة يمكن اكتشافها فى الجزء غير المظهر للأعراض الذى من الورقة المبرقشة، حيث نستطيع اعتباره نوع من النسيج الحامل للفيروس وبدون أعراض.

يمكن اكتشاف الفيروس في البراعم الزهرية في الأشجار المصابة وذلك باستعمال PAGE. تستعمل البراعم الزهرية بدلاً من الأوراق كمصدر للفيروس، وبمقارنة هذه الطريقة مع طريقة استعمال الأوراق نجد الأولى نسبة نجاحها ١٠٠٪، بينما نسبة نجاح طريقة استعمال الأوراق ٥٥٪. أما بالنسبة للوقت فتحتاج إلى ستة ساعات فقط.

تنوعات فيروسية ضربة الشمس في الافوكادو:

Variants of Avocado Sunblotch Viroid

إن تحليل التتابع المقارن لتجمعات الفيروس المتكونة طبيعياً قد شاركت بشكل معنوي في زيادة معرفة هذا الفيروس وعلى أساس هذه الدراسات قد اقترح نموذج للفيروس مقسم إلى نطاقات من حيث التركيب والوظيفة واقترحت مساهمة هذه النطاقات في تطور الفيروس. إن فيروس ضربة الشمس في الافوكادو فيه قليل من تماثل التتابع بالنسبة للفيروسات الأخرى ويعتبر شاذ من هذه الناحية ويوضع في التصنيف في صف منفصل لوحدة من الفيروسات. زيادة على ذلك فإن فيه صفة أخرى لم تشترك معه فيها الفيروسات الأخرى وهي مقدرة نسخ RNA للفيروس بأن تتناسخ في المعمل من كلونات Dimeric cDNA من الخيط الموجب والسالب للفيروس، كذلك صفة الإنشطار الذاتي في مواقع مخصصة في غياب الأنزيمات.

باستعمال طريقة التحليل Fingerprint ثنائية الاتجاه مرتين للفيروس ASBVd المنقى والمهضوم بأنزيم RNase البنكرياسي و T₁ أدى إلى القول بأن هناك تنوعات التتابع موجودة في الفيروس. زيادة على ذلك فإن هذه النتائج قد دعمت بالدنترة الحرارية لـ Profiles من هجين ASBVd RNA : cDNA متماثل وآخر المفترض أن يكون غير متماثل، ولقد تبين وجود عزلتين ذات ٢٤٧ نيوكليوتيدة. ولقد ذكر

Pallas et al سنة ١٩٨٨ وجود عزلة مميزة واضحة بأقل تغيير في القواعد في العروات الطرفية اليمنى واليسرى من الجزئ عند مقارنتها مع التنوع الأصلي للفيرويد والمسمى 1-SB. ولقد ذكر Rakowski & Symons سنة ١٩٨٩ أن هناك ١٦ تنوع جديد من عزلات حصل عليها من ثلاثة أشجار أفوكادو من مناطق متفرقة.

عند تنقية فيرويد ASBVd حسب طريقة Palukaitis & Symons من أوراق أشجار مظهرة أعراض مرضية مختلفة أو حاملة وغير مظهرة للأعراض وجد أن هناك ثلاثة عزلات A، B، C. العزلة A فيها تتابع ٢٣ كلونة كاملة من cDNA ولها تنوعان. أما العزلة B فيها تتابع ١١ كلونة كاملة من cDNA ولها ستة تنوعات أما العزلة C ففيها تتابع ١٧ كلونة كاملة من cDNA ولها عشرة تنوعات. وقد استعملت التحضيرات النقية من الفيرويد لتوليد كلونات cDNA للفيرويد ASBVd من كل عزلة باستعمال إثنين من ال Primers المصنعة من Oligonucleotid. البرايمر الأول فيه ٢٢ قاعدة وهو 5'- d (TCGGAACAGACCTGGTTTCGTC) - 3' والتي تتجهن أطرافه مع مركز ٤٢ - ٦٣. أما البرايمر الثاني الذي يستعمل لتصنيع الخيط الثاني فيتكون من ١٩ قاعدة mer oligonucleotid - 19 وهو 5'- d (CTTCCGACTCTGAGTTTC) - 3' وهذا يتوافق مع الأطراف ٦٤ - ٨٢. ولقد استعمل زوج آخر من البرايمرز الأول لبناء الخيط الأول والثاني لبناء الخيط الثاني من الحمض البادئ الأولى. وهذه البرايمرز هي 3' - d (TCTTCCCTGAAGAGACGA) - 5' والثاني 3' - d (TGGGAAGAACAACACTGATGAG) - 5'.

من بين ٥١ كلونة كاملة لـ cDNA محضرة من ثلاثة عزلات أمكن الحصول على ١٧ تنوع مختلف من ضمنها العزلة الأصلية 1-SB جدول رقم ٥٦ إن تتابع العزلة الأصلية 1-SB - ASBVd وجد في ١٩ من ٢٣ كلونة لـ cDNA محضرة

من عزلة A والأربعة كلونات الباقية من cDNA كانت متماثلة مع بعضها ومختلفة عن تتابع SB-1 عن طريق زيادة A مفردة في المنطقة الممتدة من طرف A بين ١٢٢ - ١٢٨ والتي فيها سبعة A (شكل ٨١، a). جميع كلونات cDNA المحضرة من عزلة B و C تختلف عن تتابع SB-1 بتغيير في النيوكليوتيدات، دخول نيوكليوتيدات أو إزالة على تسعة مناطق ممكنة (شكل ٨١، b، c). إن قاعدة واحدة مفردة $U \rightarrow A$ تغيرت على الطرف ٢٩ كانت موجودة في ثمانية من ٩ كلونات مختلفة من cDNA متولدة من عزلة C ولكن ليست في التنوع من عزلة A و B. إن هذا التغيير $U \rightarrow A$ على أطراف ٣ - ٦ وجدت في جميع كلونات cDNA المتولدة من عزلة B، علاوة على ذلك في إثنين فقط من عزلات C. في كلونات cDNA لكل من عزلات B و C فإن نيوكليوتيدة A المتعددة الموجودة بين طرفي ١٢٢ - ١٢٨ وكذلك U المتعددة والممتدة بين طرفي ٢٣٠ - ٢٣٦ تظهر تنوع في الطول عن طريق إضافة وحذف في الأطراف في (شكل ٨١، c، b).

إن التنوع المتمثل بواسطة كلونات cDNA من عزلات A، B، C يختلف في الحجم من ٢٤٦ إلى ٢٥١ نيوكليوتيدة. هناك إختلافات مماثلة لما في هذا الفيروس تحدث في فيروسات أخرى مثل تنوعات فيروس أكسوكورز الحمضيات (يعني تختلف التنوعات في الأطوال) حيث تنوعاته من ٣٧٠ - ٣٧٥ نيوكليوتيدة، أما تنوعات فيروس الدرنة المغزلية في البطاطس فهي ثابتة الحجم ٣٥٩ نيوكليوتيدة.

إن التركيبات الثانوية المتوقعة للتتابعات المتولدة من عزلة B محتوية $U \rightarrow AA$ وكذلك $UU \rightarrow AAA$ في مراكز خمسة وستة (شكل ٨١، b). هذا سيؤدي إلى الحصول على عروة في اليد اليسرى أوسع من تلك الموجودة في التنوع الأصل SB-1. التركيبات الثانوية المتوقعة لجميع التنوعات تكون بشكل أساسي معتمدة على التنوع SB-1 (شكل ٨١، a).

والمتغيرة وهي Pathogenic and Varialbe Regions. هذه المناطق تكون على أى طرف من المنطقة المركزية المحفوظة فى الفيروسات الشبيهة بالفيروس PSTVd ولكنها غير موجودة فى ASBVd.

إن عزلات B و C تتكون من مخلوط معقد من التنوعات بالمقارنة مع عزلة A التى فيها تنوعين فقط قد عرفا فى تتابع ال ٢٣ كلون من cDNA (شكل ٨١). من كلونات cDNA المتولدة من عزلات B و C هناك أكثر من النصف تمثل تنوعات مختلفة ومواقع متشابهة وجدت مع عزلتين فقط من عزلات CEVd والذى ذكر وصفه بإسهاب فى حالة عزلة J - CEVd. هناك تسعة تنوعات وجدت فى تتابع ١١ كلون كامل من cDNA، بينما أربعة تنوعات وجدت فى تسعة كلونات كاملة من cDNA من عزلة CEVd - DE 30.

ومن المهم أن نذكر أنه من بين ال ٤١ موقع المتغير فى ١٦ تنوع بالنسبة لتتابع العزلة الأصلية 1 - SB فإن إثنين فقط لم تدخل فى الحذف أو الإحلال من U و / أو A. إن تنوعات 9 - C تحوى G → A أما تنوع 10 C فيحوى G → U (إحلال)، بينما مواقع C لم تدخل فى أى تعديلات. إن إحلال U → A تحور سائد فى ٢٢ من ٤١ موقع تغيير.

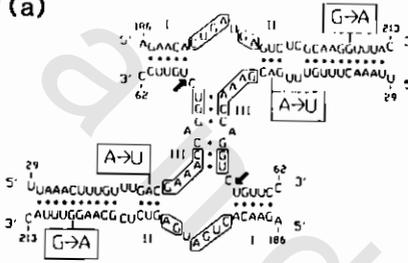
إن تنوعات عزلة C تحتوى نيوكليوتيدات متغيرة فى المنطقة المحددة بالبوادئ المستعملة لتحضير أول مجموعة من كلونات cDNA. هذه النتيجة تؤكد ضرورة تتابع المناطق دائماً تحت البرايمرز فى حالة حدوث عدم موافقة. هذه الاختلافات تحدث ضمن تتابع التركيبات الثانوية لرأس المطرقة الموجب والسالب المزدوج والذى هو ضرورى للانشطار الذاتى فى جزئ ASBVd فى المعمل شكل ٨٢، ولكن لاتتضمن تلك القواعد المحفوظة بشكل كامل بين إنشطار ذاتى آخر ل RNAs محتوية تركيب رأس المطرقة.

بالنسبة لتنوع 10 - C فإن تغير النيوكليوتيدات G → U على موقع ٧٠ يكون على مكان الانشطار الذاتى للخييط السالب RNA (شكل ٨٢، b). وعلى أية حال فإن نشاط عملية الإنشطار الذاتى خلال النسخ ل RNA سالب للتنوع 10 - C كان

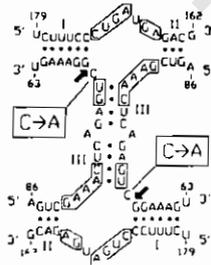
مشابهاً ٥٥٪ تقريباً للنسخ للخييط السالب RNA في SB - 1 باستعمال كلونات cDNA Dimeric.

ومن المسلم به أن أى من هذه التنوعات يمكن أن يكون نتيجة لحدوث نسخ خطأ أثناء بناء cDNA، لأننا لو أردنا أن نتأكد عملياً من ال ٥١ كلونة المنسوخة من cDNA باختبار كل واحدة على حدة لاحتاج الأمر إلى سنتين أو أكثر. وبالنسبة لتنوع C - 16 و C - 17 فإن الإنشطار الذاتى فى المعمل هو نتيجة للعمل ولكن يمنعها من تمثيل تنوع التابع الذى يحدث طبيعياً نظراً لأن الإنشطار الذاتى يعتبر بأنه يلعب دوراً هاماً فى تناسخ ASBVd. واعتماداً على أبحاث Semancik سنة ١٩٩٤ فإن تنوع ASBVd - Sc يشابه ASBVd - SB1.

(a)



(b)



شكل رقم ٨٢:

نموذج تركيب ثانوى لرأس المطرقة المضاعف لمواقع الانشطار الذاتى الموجبة والسالبة فى SB - 1 ASBVd وتغير القاعدة المفردة الموجود فى تنوعات C - 9 الموجب (a) و C - 10 السالب (b). إضافة روابط هيدروجينية محيطية جانبية تربط الساق فى مراكز ٢٩ - ٤٠. التحول من A → G يتغير فى موقع ٢٠٨ مشمولاً فى شكل (a). النيوكليوتيدات الموضوعة فى مستطيلات هى المحفوظة بين جميع RNAs ذاتى الانشطار المشابهة. أما أرقام I، II، III والأسهم فإنها تدل على الروابط الهيدروجينية التى تربط السيقان ومواقع الانشطار وهذا أيضاً محفوظ بين التركيبات لشبه المطرقة فى التابع السالب، فى نفس رقم ومركز النيوكليوتيدة تكون محتجرة كما فى التابع الموجب.

جدول ٥٦: توضيح مختصر لتغير النوكليوتيدات في التنوعات المتحصل عليها من عزلات فيروسات ضرية الشمس في اللافوكادو A، B، C بالمقارنة مع العزلة الأصلية SB-1.

عزلة الفيروس	تنوع التتابع	عدد كلونات cDNA التي لها نفس التتابع	أرقام النوكليوتيدات التي في العزلة الأصلية SB-1 والتي يحدث لها تغير	عدد النوكليوتيدات في تنوع التتابع
٢٤٧	A-1	١٩	—	—
٢٤٨	A-2	٤	١٢٢ - ١٢٨ +A	٢٤٨
٢٤٩	B-1	١	٣ U→A ٥ U→AA	٢٤٩
٢٥١	B-2	١	٢٣٠ - ٢٣٦ +U ٣ U→A ٥ U→AAA	٢٥١
٢٥١	B-3	١	١٢٢ - ١٢٨ +A ٢٣٠ - ٢٣٦ +U ٣ U→A ٥ U→AA	٢٥١
٢٤٨	B-4	٥	١٢٢ - ١٢٨ +2A ٢٣٠ - ٢٣٦ +U ٣ U→A	٢٤٨
٢٤٩	B-5	٢	٥ - ٦ UU→AAA ٣ U→A	٢٤٩
٢٤٩	B-6	١	٥ - ٦ UU→AAA ٢٣٠ - ٢٣٦ +U ٣ U→A	٢٤٩
٢٤٨	C-1	١	٥ - ٦ UU→AAA ١٢٢ - ١٢٨ +A	٢٤٨
٢٤٧	C-2	٤	١٢٢ - ١٢٨ +A ٢٩ U→A	٢٤٧
٢٤٨	C-3	٢	٢٩ U→A	٢٤٨
٢٤٦	C-4	١	١٢٢ - ١٢٨ +A ٢٩ U→A	٢٤٦
٢٤٩	C-5	٢	١٢٢ - ١٢٨ -A ٢٩ U→A	٢٤٩
٢٤٨	C-6	٣	١٢٢ - ١٢٨ +2A ٢٩ U→A	٢٤٨
٢٤٩	C-7	١	٢٣٠ - ٢٣٦ +U ٢٩ U→A	٢٤٩
٢٤٧	C-8	١	١٢٢ - ١٢٨ +A ٢٣٠ - ٢٣٦ +U ٣ U→A	٢٤٧
٢٤٨	C-9	١	٢٩ U→A ٤٣ A→U	٢٤٨
٢٤٧	C-10	١	١٢٢ - ١٢٨ +A ٢٠٨ G→A ٣ - ٤ UA→AU ٢٩ U→A ٧٠ G→U	٢٤٧

اكتشاف فيروس ضربة الشمس في الافوكادو في البلاستيدات الخضراء فى الأوراق:

هل بكتيريا البناء الضوئى همزة وصل بين الفيرويدات والنباتات؟؟

لقد صنف فيريد ضربة الشمس فى الافوكادو فى تحت مجموعة خاصة من الفيرويدات وذلك لصفاته المميزة الفريدة عند مقارنته مع الفيرويدات معروفة التابع. إن التابع الموجود فى فيروس ASBVd يظهر تماثل منخفض بالنسبة للفيرويدات المعروفة الأخرى، بالإضافة إلى أن الخيوط الموجبة والسالبة من RNA الفيرويدى عندها القابلية لأن تخضع لتفاعلات الانشطار الذاتى فى المعمل خلال تركيب رأس المطرقة. إن عملية التحلل الذاتى والتي من المحتمل أيضاً أن تكون فعالة أو مؤثرة فى ميكانزم التضاعف فى الطبيعة لهذا الفيرويد، فإنه يتشارك فيها أو يشترك معه فقط فيروس الموزايك الكامن فى الخوخ (PLMVD) Peach Latent Mosaic Viroid وغير موجودة فى أى من الفيرويدات النموذجية الأخرى مثل PSTVd وغيره. إن تجارب تفريق الجزيئات تحت الخلوية (أصغر من الخلية) قد أظهرت موقع PSTVd فى الأنوية وخاصة فى أجزاء النوية فى أوراق الطماطم المصابة، هذه الملاحظة تأكدت بواسطة طريقة التهجين فى الموضع Situ - hybridization والتحليل بواسطة Confocal laser scanning microscopy of the fluorescent Signals للمواد المنتجة بواسطة PSTVd فى الأنوية المعزولة. كذلك فإن فيروسات أخرى تشترك بتماثل تتابع عال مع PSTVd تظهر أيضاً فى ترافق مع الأنوية، وفى بعض الحالات مع مكونات الغشاء، وعلى أية حال عندما درس إنتشار الفيرويد ASBVd فى الأجزاء تحت الخلوية (أقل من خلية) فوجد الفيرويد بشكل أساسى مترافقاً مع البلاستيدات الخضراء و / أو الشبكة الاندوبلازمية أو مع السيتوبلازم هذا يدل على أن ASBVd يبدو أيضاً أنه فيريد فى هذه الناحية وهذه إضافة جديدة لصفاته الفريدة.

إن تتابعات RNA فى تخضيرات النسيج يمكن أن تتمركز فى وضع معين عن طريق إتحادات فى التهجين فى الموضع والميكروسكوب الالكترونى ونظراً لأن هذه الطريقة أقل عرضة أو ميلاً للتكاثر الصناعى منها فى إجراءات التفريق فلقد

استعملت لغاية ١٩٩٤ فى حالة الفيروسات. ولقد كانت هناك دراسة لاستكشاف كفاءتها عن طريق إعادة الإختبار لمعرفة تركز ASBVd فى الأجزاء تحت الخلوية.

طريقة الكشف عن مكان تواجد الفيروس:

أخذت أجزاء ورقة من نبات افوكادو *Persea americana* سليمة وأخرى مصابة ولكنها غير مظهرة للأعراض بفيروس ASBVd العزلة الأسبانية وثبتت فى مثبت Karnovsky المحور والذى يتكون من-2% Paraformaldehyde, 2% glutaraldehyde, 2% glutaraldehyde in 50 mM cacodylate buffer pH 7.2, with 5mM CaCl₂ وأجرى لها عملية dehydrated خلال سلسلة ايثانول على درجة (- ٢٠م) وغمرت فى LRGold على درجة حرارة (- ٢٠م) تحت الأشعة فوق البنفسجية. حملت مقاطع ذهبية اللون على شبكات نكل ١٥٠ ميش (mech) مغطاة بغطاء Formvar. أجرى التهجين كما فى طريقة McFadden G.1 سنة ١٩٩٠ باستعمال منقّب RNA معلم بمادة داى جوز جنين وموجه ضد الخيط الموجب من RNA (وهو الفيروس المعدى والمسيطر من RNA الفيرويدي) تحت ظروف شديدة (٦٠م، ٥٠٪ فورماميد Formamide) لمدة ٣ ساعات. صنع المنقّب عن طريق النسخ فى المعمل لـ linearized plasmid محتويًا على وحدة كاملة الطول مغروزة فى ASBVd باستعمال T₇ RNA Polymerase و- 11 Digoxigenin - UTP. تفحص الشبكات فى الميكروسكوب الالكترونى JEOL JEM 100C. كانت تجرى عملية تقدير المناطق المشغولة بواسطة عضيات الخلية على طابعات بتكبير ٥٠٠٠ باستعمال Area Meter موديل LI - 3100 (LI - COR) وهذا النموذج معروف فى أمريكا.

فى التهجين فى الموضوع كان التقدير يتم عن طريق عد الأجزاء الذهبية الغروية التى كانت ملاحظة باستمرار فى البلاستيدات الخضراء، بعد عد هذه الأجزاء الصغيرة تبين أن معظم البلاستيدات الخضراء فى النسيج المصاب بالفيروس ASBVd تحتوى بمعدل ١٢ حبيبة والتى تمثل ٧٠ - ٨٠٪ من عدد الحبيبات الكلى جدول ٥٧.

بقية الحبيبات تظهر في السيتوبلازم والفجوة. أما بقية مكونات الخلية الأخرى مثل الميتوكوندريا، الأنوية وجدر الخلية كانت لا تحتوى شئ يذكر. نفس الشئ لوحظ في العدد المطلق للحبيبات في العضية الواحدة، ذكرت أيضاً عندما كانت كثافة الحبيبة لكل وحدة مساحة في كل عضية محسوبة. عندما قورنت هذه القياسات بين نباتات الكنترول والنباتات المصابة كان هناك زيادة معنوية أكثر من عشرة أضعاف يمكن أن تكتشف في البلاستيدات الخضراء المعلمة والسيتوبلازم من الخلايا المصابة بالفيروس ASBVd. في تجارب إضافية أخرى على الكنترول نفسه باستعمال نسيج مصاب بالفيروس ASBVd ومنقب موجه ضد الخيط الموجب لفيروس اكسوكورتز الحمضيات (هذا الفيروس يختلف كثيراً في تتابعه عن فيروس ASBVd) فإن معدل حبيبة واحدة لكل عضية قد لوحظت في العدد (باستثناء الميتوكوندريا) وهكذا كانت القيمة أقل بعشرة أضعاف في CEVd.

إن اكتشاف الفيروس ASBVd في البلاستيدات الخضراء chloroplasts عن طريق التهجين في الموضع أكد جزئياً مناقشات سابقة عن تمركز ASBVd في البلاستيدات الخضراء أو الشبكة الاندوبلازمية مبنياً على معلومات محددة حصل عليها عن طريق التفريق بألة الطرد عن المركز وهذا ما ذكره Mohamed & Thomas سنة ١٩٨٠، ومن ناحية ثانية فإن دراسات متقنة عن أجزاء الخلية التي تهاجم بالفيروس ASBVd ذكرت أن الفيروس موجود في السيتوبلازم وكميات أخرى توجد في البلاستيدات الخضراء وهذا ما ذكره Marcos J.F. سنة ١٩٩٠.

نستطيع أن نقرر الآن بأن قليل جداً من الفيروس ASBVd يمكن أن يوجد في السيتوبلازم، إلا أن معظم الفيروس يكون مترافقاً مع البلاستيدات الخضراء. إن تمركز الفيروس ASBVd في البلاستيدات الخضراء آثار استفسارات هامة وكثيرة ومنتظر من الأبحاث المستقبلية الإجابة عليها.

إن مركز تجمع الفيروس ASBVd يختلف عن المركز تجمع فيروس PSTVd وبعض الفيروسات المماثلة هذا يدل على تفاعلات متميزة بين خلية العائل

والفيروس في هذين المقعنين. ومن المهم أن نعرف أنه إذا كان فيروس PLMVd وهو الفيروس الوحيد الآخر المعروف والذي يشارك فيروس ASBVd في عملية التحليل الذاتي لسلاسل RNA، هل هو أيضاً يتركز في البلاستيدات الخضراء؟؟ فإذا كانت الإجابة نعم فيكون هناك مجموعة جديدة من الفيروسات لها صفات معينة ولها مجال جديد في التمرکز، إلا أنه لسوء الحظ فإن هذا الفيروس الجديد يتواجد بمستويات منخفضة جداً تجعل هذه الدراسة صعبة، إلا أن العلم ليس عليه حاجة صعبة فالمستقبل القريب سيجد حلاً لهذه المشكلة ونعرف الكثير عن الشقيق الجديد PLMVd.

ومن ناحية أخرى (سبق أن ذكرنا ذلك) فإن تناسخ الفيروس ASBVd قد تبين بأنه غير حساس للمستويات العالية من α -amanitin هذا يؤدي إلى القول بأنه إما أن أنزيم النواة والذي يسمى RNA - Polymerase like 1 أو لنشاط أنزيم RNA Polymerase - غير معروف أيضاً مقاوم لمادة α -amanitin تعمل على قالب RNA وتلعب دوراً في تناسخ ASBVd. وبالتالي يمكن القول بأن تناسخ ASBVd يمكن أن يساعد Catalyzed by بواسطة الأنزيم المسمى RNA Polymerase like 1 في الأنوية مع الفيروس ثم ينتقل إلى البلاستيدات الخضراء، أو يكون هناك بديلاً يمكن أن يتناسخ فيه وهو البلاستيدات الخضراء نظراً لأن نشاط أنزيم RNA - Poly-merase لهذه العضية يكون غير حساساً لمادة α -amanitin.

أخيراً فإنه من المؤكد أن ASBVd وبعض الفيروسات الأخرى تتكاثر أيضاً في البلاستيدات الخضراء، هذا يؤدي إلى القول باحتمالية أن بكتيريا البناء الضوئي يمكن أن تكون واحدة من الحلقات بين الأجداد العليا للفيروس والنباتات وإشارات على احتمالية وجود RNAs شبيهة بالفيروسات في بدائيات النواة والنباتات الأولية.

هذه الفقرة الأخيرة تكون جواباً للسؤال الذي كان موضوع عنواناً لهذا البحث.

جدول ٥٧: تقدير الشكل القياسي للمناطق المشفولة بواسطة العضيات الخلية المختلفة ونتائج التعليم المنيع للذهب immunogold بعد التجهين في الموضع باستعمال منقّب cDNA موجه ضد الخيط الموجب من ASBVd في أنسجة ورقة أفوكادو مصابة بالفيرويد وأخرى سليمة.

أجزاء الذهب المعدودة		متوسط مساحة المنطقة Um^2			العضيات المعدودة في		الجزء المختبر في الورقة		
لكل Um^2	لكل عضية				أوراق سليمة أوراق مصابة				
سليمة مصابة	سليمة مصابة	% سليمة	% سليمة	% سليمة	سليمة	مصابة			
٣,٢٨	٠,٢٨	٤٠	١٧,٧	٢٥٤	٧,٦	١٤٢,٨	٢٩	٧١	بلاستيدات خضراء
٠,٢	٠,٠١	٩	٢٥,٤	٣٦٥,٧	٤٦	٨٦٤,٩	١٠	٢٧	سيتوبلازم
٠,٣٥	٠,٢٨	٤	٠,٧	٩,٨	٠,٥	٨,٦	٣٠	٨١	ميتوكلندريا
٠,٠٣٤	٠,٠٢٦	٢٥	٥٠,٦	٧٣٧,٣	٤٣,٦	٨١٨,٥	١٠	٢٠	فجوة
٠,١٠١	٠,١٥٢	٩	٥,٦	٨١,٢	٢,٣	٤٣,٤	٦	٢٣	نواة

ملاحظة:

حلت ١٠ خلايا سليمة من خلايا ميزوفيل الأفوكادو و ٢٧ خلية ميزوفيل مصابة بالفيرويد.

ملخص أبحاث العالم Semancik عن فيروس ضربة الشمس في الأفوكادو:

إن الميكانيكية التي بواسطتها ينعزل الفيرويد أو يتوزع بدون إنتظام ضمن أنسجة العائل من الأشجار الخشبية هي غير مفهومة جيداً، فمثلاً مخلوطات فيرويدات الحمضيات والذي يبقى فيها الفيرويد ثابتاً لعدة سنوات في البرتقال الحلو-Citrus si-nensis أو السترون C. medica غالباً ما تنعزل إلى عدة نماذج في الكريب فروت C. paradisi C. reticulata. إن نقص الفيرويدات المتخصصة من المخلوط يحدث عادة مع مخلوط من فيرويدات غير متقاربة. إن معيار الفيرويد وشدة الأعراض لا يبدو أنها عوامل كمفاتيح في نقص المكونات من المخلوط.

إن التوزيع المتناقض الذي يظهر أثناء الكشف عن الفيروس ASBVd يؤدي إلى فحص جميع أجزاء النبات وتحديد أماكن توزيع هذا الفيروس. هذا الفيروس الذي يستطيع أن يتجمع إلى معيار عال جداً وجاهز للكشف، في كثير من الحالات من المستحيل كشفه في الأنسجة غير المظهرة للأعراض من الأشجار التي سبق إختبارها بنتيجة إيجابية لمرض ضربة الشمس. هذا يؤدي إلى القول بالتوزيع غير المنتظم للفيروس في أنسجة العائل أو التجمع المتمركز لتنوعات مميزة للفيروس. إن الخفض أو المنع أو إبعاد الفيروس من الأجزاء غير المظهرة للأعراض في الورقة التي هي مظهرة أعراض قد ذكر في كثير من الأبحاث.

إن إختلافات حجم الجزئ بين التنوعات قد أستدل عليه بواسطة استعمال التحليل بـ PAGE تحت ظروف غير مدنترة وارتبطت مع وجود أو غياب الأعراض، هذه الفرضية سنة ١٩٨٤ لا تؤيد بالأبحاث الحديثة سنة ١٩٩٤.. إن إختلاف حجم الجزئ في التنوعات يمكن اكتشافه في الأجزاء المظهرة أعراض والتي تبين أعراض إما إبيضاض أو تبرقش. لا يوجد حجم غير متماثل قد اكتشف بواسطة sPAGE بين تنوعات ASBVd من مستخلص أنسجة حاملة بدون أعراض (Sc) أو ذات أعراض تبرقش (V).

عندما تعرف إنعزالات فيروس عن طريق ظهور أعراض معينة يحدث زيادة كبيرة في اكتشاف تتابع تنوع معين. من هذا أصبح من الممكن إختيار أنسجة بالمنظر والتي تحتوى تنوعات تتابع مميزة من تجمعات بتنوعات مثل B - ASBVd و V - ASBVd و Sc - ASBVd.

ولدعم الدليل على حدوث إنعزالات لتجمعات فيروس محددة ضمن أنسجة يمكن أخذها من الحركة المحددة بشكل كبير لـ B - ASBVd من المناطق المظهرة للأعراض إلى المناطق غير المظهرة للأعراض في أوراق مفردة مظهرة أعراض الإبيضاض. نظراً لأن الإبيضاض هو عرض المجموع الخضري الأولى لمرض ضربة الشمس، فإن الدور الأولى في الإنتقال نستطيع أن نستنتجه بأنه سيظهر

B - ASBVd وبالتالي فإن الحيوية النوعية Specific infectivity المنخفضة لتحضيرات من مسبب مرض ضربة الشمس في الأفوكادو يمكن أن توضح بواسطة المعيار المنخفض من B - ASBVd. إن تنوع B - ASBVd يمكن أن يكتشف حتى في الزيادة الضخمة من V - ASBVd و Sc - ASBVd وهذا يتميز بظهور الإصابة متأخرة.

إن تجمعات التنوعين السائدين من ASBVd وهما تنوع V و Sc غير مقيدة في أنسجة العائل. وعلى أية حال فإن هذه الأشكال من ASBVd ليست شائعة خلال الأطوار الأولى من الإصابة بضربة الشمس، إنها تظهر كأشكال ثانوية والتي تميل إلى التجمع باستمرار الإصابة.

إن المواقع السائدة في التتابع غير المتماثل في ASBVd هي العروات الطرفية، وإن إختلافات النيوكليوتيدات التي توجد في ثلاثة تنوعات تعكس هذا. وعلى أية حال فإن هذا غير مشابه لأكثر التتابعات حفظاً في نطاقي T₁ و T₂ من الفيروسات الأخرى.

إن النتيجة الإيجابية التي حصل عليها Rakowski & Symons سنة ١٩٨٩ في أبحاثهما على مرض ضربة الشمس في الأفوكادو، وقياسها على أبحاثنا نجد أن تتابع A - 1 الذي ذكره الباحثان ممثل في أبحاثنا في SB - 1 وهو التنوع الأصلي للفيروس. وكذلك فنحن قد وجدنا أن ASBVd - Sc في تتابع نيوكليوتيدات كلوناته مشابه لما هو في ASBVd - SB1. عندئذ يمكن القول أن تتابع A - 1 يماثل تتابع Sc ويمثل تتابع الفيروس الأصلي ASBVd - SB1. إن المعيار العال من عزلة فيروس ضربة الشمس ASBVd - Sc واسع الانتشار خلال أنسجة الأفوكادو (وهذا يؤكد الاستنتاج الذي ذكرناه سابقاً) من المحتمل أن يكون مساوياً للعزلة الأصلية SB - 1.

أما التنوع A - 2 فهو أكبر من A - 1 بنيوكليوتيدة واحدة ويوجد في أربعة كلونات cDNA وهو متطابق مع ASBVd - V تتابع كلون ١٤ في أبحاثنا. جميع

التنوعات الكبيرة بين ٢٤٩ و ٢٥١ نيوكليتيده المذكورة من قبل العالمين السابقين تتمثل بواحد أو اثنين من كلونات cDNA، هذه الكلونات كانت موجودة بتكرار منخفض وهي مشابهة لـ ASBVd - B.

إن التغيرات والإضافات في اليد اليمنى من عروة ASBVd - V يجعلنا نتنبأ بأنها ستؤدي إلى جعل المنطقة الطرفية أوسع أو مفتوحة أكثر. إن التوسع المقترح في تكرار A في العروة اليمنى من ASBVd - B ادخلت محور استثنائي في التركيب مع ضمانات للدور الأولى المقترح لهذا النوع في بدايات مرض ضربة الشمس. لقد اقترح Godman et al سنة ١٩٨٤ أن تناسخ الفيرويد يمكن أن يبدأ عن طريق ربط أنزيم RNA - polymerase II المعتمد على DNA في العروة الطرفية من جزئ الفيرويد وأن هذا التغيير التركيبي يمكن أن يعمل كموقع ربط متخصص.

إن تقدم الأعراض وإنتاج الفيرويد من البدايات لتكشف إصابة ضربة الشمس تظهر مميزات كل من الإصابات الحادة والدائمة. إن الطور الأولى لمرض ضربة الشمس يتميز عن طريق الكشف لتنوع ASBVd - B في تفاعل ذاتي محدد وهذا يكون مشير لشكل إصابة حادة. التعبيرات المرضية تبدأ عن طريق ASBVd - B ثم تتكشف بعد ذلك إلى إصابة دائمة كامنة مع إصابة دورية ولكن يحدث تغييرات غير متكررة تقطعها إما أعراض الإبيضاض أو التبرقش.

وأخيراً فإن مرض ضربة الشمس يكون أفضل وصف له بأنه إصابة مزمنة مع إنتاج معيار عال ومستمر ويمكن تقديره من ASBVd - Sc خلال العائل. إن هذه العلاقة الأخيرة الوطيدة بين العائل والكائن الممرض من الصعب جداً إدراكها بوضوح نظراً لأنها غير متبوعة بأية أعراض. هذا الطور يتميز بخفض كبير في إنتاج الثمار وزيادة كبيرة منسجمة في النقل بالبذرة في بعض الزراعات.

إن المعيار العال من ASBVd - Sc المكتشف فى الأنسجة غير المظهرة للأعراض يدل على تحول فى مسبب مرض ضربة الشمس إلى الشكل الذى يكون فيه مثل non - antagonistic RNA والذى يتواجه مع الأحماض النووية المنظمة فى العائل. برغم ذلك ونظراً لأن المستلخصات من هذه الأنسجة عندها المقدرة على إحداث الشكل الحاد أو المبيض من الإصابة إلا أن ASBVd - B يجب أن تتواجد ولو على أقل مستوى مطلوب وضرورى لإحداث إصابة حتى فى وجود معيار عال جداً من ASBVd - Sc. وبالعكس فإن بعض الأبحاث تفترض وجود ASBVd - Sc فى تجمع حتى يحدث فيه توسيع العروة الطرفية اليمنى فى الجزئ لكى تحدث إعادة تنشيط للعزلة ASBVd - B ويزداد عددها وتحدث إصابة وهكذا.

بهذا التقرير الذى قدمه العالم Semancik سنة ١٩٩٤ يظهر واضحاً الأسباب فى شرح فيروس ضربة الشمس فى الافوكادو، وذكر كل شئ معروف عنه تقريباً.

٢ - فيروسات الخوخ

Peach Viroids

أ - مرض الموزايك الكامن فى الخوخ

مقدمة:

ذكر هذا المرض فى الولايات المتحدة الأمريكية فى أوائل الخمسينات وكان يسمى موزايك الخوخ Peach mosaic وكان يعزى إلى مسبب فيروسى، إلا أن طرق إنتقال الكائن المسبب لم تكن واضحة واستمرت الأبحاث عليه حتى إتضح جيداً أن المرض لا يتسبب عن فيروس.

كان أول ذكر لهذا المرض فى فرنسا سنة ١٩٧٦ بواسطة العالم Desvignes وذكر أن هذا المرض منتشر بشكل كبير جداً فى فرنسا ويهاجم معظم أصناف الخوخ المزروعة. ذكر أيضاً فى اليابان فى نهاية السبعينات وكان يسمى قبل ذلك باسم الموزايك الأصفر فى الخوخ Peach Yellow mosaic.

ينتشر هذا المرض فى فرنسا بشكل كبير جداً، فقد وجد أن ٢٠٪ من زراعات الخوخ القادمة من أمريكا مصابة بهذا المرض وأن ٤٠٪ من الزراعات القادمة من اليابان مصابة بالمرض نفسه. أما فى الأصناف الأمريكية فينتشر المرض بنسبة ٨٨٪ وتصل النسبة فى الأصناف الأسبانية ٩٤٪. يبدو أن هذا المرض عالمى الإنتشار. لقد ذكر أن حوالى ٤٠٠ صنف من الخوخ فى مركز الأبحاث فى فرنسا أنها حاملة للمرض. لقد وجد أن هذا المرض متخصص على الخوخ ولم يمكن نقله أو اكتشافه فى النباتات الخشبية أو الشجيرة.

استطاع العالم Desvignes et al ورفقاه أن يثبتوا بأن هذا المرض يتسبب عن فيروس وليس عن فيرس.

الأعراض:

إن مرض الموزايك الكامن فى الخوخ هو بشكل عام كامن فى أشجار الخوخ *Prunus persica*. تظهر أعراضه على شكل موزايك على قليل من الأوراق فقط. أولى علامات المرض تصبح واضحة على أشجار الخوخ ذات عمر سنتين، يصعب اكتشاف الأعراض قبل هذا العمر. تشمل هذه الأعراض تأخير فى التوريق (إظهار الأوراق) والأزهار والنضج. مدة التأخير هذه تختلف من أسبوع إلى أسبوعين ولكن فى معظم الحالات لا يقل التأخير عن أسبوع. ثانى علامات المرض هو ظهور خطوط متقطعة أرجوانية على بتلات الأزهار ذات اللون الأبيض الوردى وتكون هذه العلامة واضحة فى الجو الدافئ. أما الثمار زيادة عن كونها تتأخر فى النضج يصبح سطحها خشن وذات شكل غير منتظم مسطحة قليلاً ذات لون غير طبيعى يميل إلى الأبيض مع وجود شقوق على خط التحام نصفى الثمرة. يظهر بقع على سطح الثمرة تختلف عن لون جلد الثمرة. تكون الثمرة سهلة الفتح أو تكون مفتوحة قليلاً إلا أن هذا العرض الأخير نادر الحدوث.

تبدو الأشجار وكأنها متقدمة فى السن أكثر من سنها الطبيعى بعدة مرات بعد أن تتخطى خمسة سنوات. يظهر نكروز فى البراعم وتكون الشجرة أكثر حساسية لأضرار الصقيع وأمراض التقرح. يحدث المرض خسائر إقتصادية كبيرة جداً فى بعض الحالات وتكون الأشجار بحالة يرثى لها (شكل ٨٣).

تسبب بعض عزلات الفيروس موزايك على شكل لطم كبيرة وظهور تنقيط ونكروز فى الأوراق، هناك عزلات أخرى تسبب تنقر الساق والتفاف الأوراق. تتقدم السيقان وتكون غليظة ومنتفخة، تتجمع الأوراق فى قمم الفروع على شكل خصلات وتبدو الشجرة ذات نموات حديثة قصيرة وقليلة جداً وتكون كمية

الإثمار منخفضة جداً. الأوراق تكون رفيعة وضيقة بها بقع صفراء وخضراء (شكل ٨٤).

إن هذا المرض اسمه Peach latent mosaic Disease مرض الموزايك الكامن في الخوخ. من هنا ينشأ إستفهام، إذا كان هذا المرض كامن فلماذا تظهر كل هذه الأعراض؟؟. للإجابة على هذا السؤال نقول إن كلمة الكامن (Latent) فى الاسم ادخلت وصفاً للمرض منذ أول ملاحظة له فى فرنسا، حيث لم تلاحظ الأعراض على الأوراق فى البداية. وكذلك يقصد بها أن معظم الأعراض سواء الناتجة طبيعياً أو بالعدوى الصناعية لا تظهر على الأوراق فى البداية وذلك لأن أهم علامات المرض التى ذكرناها سابقاً هى تأخير التوريق والإزهار والنضج وتشوه الثمرة وتشقق الخط الواصل بين نصفي الثمرة وهكذا كما ذكرنا سابقاً وأن الأعراض لا تكون واضحة على الأوراق قبل ٢ - ٣ سنوات، وبالتالي استعملت كلمة الكامن Latent والمقصود بها على الأوراق. ثم بعد أن عرفت جميع أعراض المرض فى مراحل نمو النبات المختلفة ومنها الأوراق لم تحذف الكلمة واستمر استعمالها ولكن بدون مدلول منطقي.

هناك دراسات أجريت فى إيطاليا استمرت لعدة سنوات على ثمار خوخ مصابة بمرض معين فى مناطق البساتين المختلفة وخاصة فى مقاطعة Ravenna. أعراض هذا المرض تكون على شكل دوائر صغيرة واضحة على جلد الثمرة ذات لون أصفر مخضر خفيف. هذه الأعراض تخفض من القيمة التسويقية للثمار. المرض هذا ينتشر فى كثير من المناطق المحددة ومعروف فيها.

إن التحليل بطريقة PAGE لمستخلصات الأحماض النووية للثمار والأوراق أظهرت وجود جزيئات RNA دائرية ذات وزن جزيئى منخفض ولكن لم يحدد (لغاية ١٩٩٢). وكذلك لم يحدد هذا المرض هل هو من عزلة جديدة لهذا الفيروس أم أنه فيروس منفصل.

المسبب:

يتسبب مرض الموزايك الكامن في الخوخ عن فيروس Peach Latent Mosaic Viroid ويكتب PLMVd. لقد درس تتابع هذا الفيروس فوجد أنه يتكون من جزيء RNA دائري به 337 نيوكليتيده والتي تأخذ الشكل المتفرع عندما تنفرد في نموذج أقل طاقة حرارية حرة. يظهر في هذا الفيروس (PLMVd) تماثل محدود بالنسبة للفيروسات الأخرى وكذلك بالنسبة للفيروسات، ولكنه لا يحوى أى من صفات تتابع المركزى المحفوظ لأى من تحت المجموعات النمذجية للفيروسات. وعلى أية حال فإن تتابع جزء من الفيروس حوالى الثلث تقريباً به عناصر مطلوبة لتتشكل فى ال RNAs من كلا القطبين لتركيبات رأس المطرقة وهذه التركيبات هى التى تقوم بعملية الإنشطار الذاتى كما فى فيروس ضربة الشمس فى الأفوكادو ASBVd وفى بعض الفيروسات. إن الخيط الموجب والسالب من RNA الجزئى وكامل الطول من نسخ PLMVd تحتوى تركيبات رأس المطرقة وتظهر الإنشطار الذاتى خلال النسخ وبعد التنقية كما هو متوقع من هذه التركيبات.

إن الدراسات الكاملة على هذا الفيروس أثبتت أن فيروس PLMVd يجب أن يضم إلى تحت مجموعة فيروسات يمثلها ASBVd والتي تتميز أفرادها بمقدرتها على الإنشطار الذاتى فى المعمل وأحياناً فى الطبيعة خلال تركيبات رأس المطرقة. وبالنظر إلى شجرة النشوء فى الفيروسات (هذه الشجرة موجودة فى مراجع تصنيفات الفيروسات) فلقد إقترح فيها أن PLMVd والفيروس ASBVd يمكن أن تمثل حلقة تطور ونشوء بين الفيروسات والفيروسات.

يمكن أن ينقى فيروس PLMVd بعد خطوتين من ال PAGE ويمكن أن يتحصل على 1 - 2 ميكوغرام من الفيروس من كل كيلوغرام ورق خوخ طازج.

كذلك يمكن الحصول على الفيروس ثانية من الثمار الحديثة المجموعة فى نهاية طور الأزهار، ولكن الكمية المتحصل عليها من هذه الثمار تكون أقل منها فى الأوراق. الفيروس لا يهاجم أى من *Cucumis sativus* ، *Gynura aurantiaca* ، *L. esculentum* و *C. morifolium* .

لا يوجد تماثل تتابع مشترك بين فيروس *PLMVd* وفيروس *CEVd* العضو الممثل تحت مجموعة فيروس الدرنه المغزلية فى البطاطس *PSTVd* ولا مع *ASBVd* العضو الممثل لمجموعة *A* فى الفيروسات. ومن ناحية أخرى مع أن *PLMVd* يختلف كلية فى تتابعه عن *ASSVd*، إلا أن الفيروسين يبدو أنهما يشتركان فى قليل من تماثل التتابع. كذلك هناك تماثل تتابع محدود موجود بين *PLMVd* والفيروس *HSVd* .



شكل رقم ٨٣ :

أعراض الإصابة بفيروس *PLMVd* على أشجار الخوخ ذات عمر سبعة سنوات.



نكل رقم ٨٤ :

أعراض إصابة أوراق الخوخ صنف GF - 305 بالسلالة الشديدة من فيروس PLMVd والتي هي 168 - D.

تتابع النيوكليوتيدات فى فيروس PLMVd :

باستعمال تداخلين Overlapping وطول كامل من كلونات cDNA من الفيروس PLMVd إحداهما يحصل عليه بواسطة برايمر (26 - mer) على المواقع بين ١٩٣ و ٢١٨ والثانية حصل عليها بواسطة برايمر (34 - mer) بين المواقع ٩١ - ١٢٤، إختبرت ودرست مواقعها فى الاتجاهين. إن كلونات cDNA الثانوية جعلت من الممكن تصحيح التتابع المتطابق بنهاية 5 للبريمر الأول. إن شكل ٨٥ يظهر التركيب الأولى للفيروس PLMVd والذى هو RNA دائرى يتكون من ٣٣٧ نيوكليوتيدة تتألف من ٩٠ G بنسبة ٢٦,٧% و ٨٧ C بنسبة ٢٥,٨% و ٨٠ A بنسبة ٢٣,٧% و ٨٠ U بنسبة ٢٣,٧%. وبالتالي فإن الفيروس يحتوى من G + C نسبة ٥٢,٥% وهى أقل من تلك الموجودة فى الفيروسات الأخرى حيث تصل ٥٦ - ٦٠% باستثناء فيروس ASBVd حيث تصل فيه ٣٨%.

عند مقارنة تتابع الفيرويد PLMVd مع الفيرويدات النموذجية ومع بعض الفيروسايدات وجد أنه مع أن هذا الفيرويد يشارك تماثلات التتابع مع جميع الفيرويدات النموذجية والفيروسايدات، إلا أن هذه التماثلات تكون محدودة ولا تشمل التتابع عال الحفظ الذى يميز المنطقة المركزية لأفراد تحت مجموعة B₁. وعلى أية حال فإن الخيط السالب والموجب من RNAs للفيرويد PLMVd لا تمتلك التتابع المحفوظ من تركيب رأس المطرقة الذى يحدث فيه الإنشطار الذاتى من RNAs فى الفيرويد ASBVd وفى بعض RNA للفيروسايدات.

التركيب الثانوى المقترح للفيرويد PLMVd:

فى البحوث التى أجريت على التركيب الثانوى للفيرويد PLMVd بأقل طاقة حرة of lowest free energy أدت إلى ظهور تركيب غير متوقع له نقطتى تفرع والذى يخرج منها ٣ - ٥ أذرع، بينما مواصفات التركيب شبه العصى وجدت فى جميع الفيرويدات النموذجية باستثناء الفيرويد الكامن فى حشيشة الدينار hop latent Viroid والذى له تركيب ذو شعبتين أكثر ثباتاً إلى حد ما من الشكل شبه العصى الذى من المفروض الحصول عليه. إن تطبيق نفس الوضع على حالة ASBVd أدى أيضاً إلى تكوين شكل شبه عصى ولكن بشعبة قصيرة على واحدة من نهاياته وهذا يتفق مع النتائج السابقة.

فى التركيب الثانوى المقترح للفيرويد PLMVd فإن تزاوج نيوكليوتيدات تمثل ٧١,٢٪ من المجموع حيث شملت ٥٢,٥٪ G + C و ٤٠,٨٪ A + U و ٦,٦٪ G + U.

تركيب رأس المطرقة للفيرويد PLMVd:

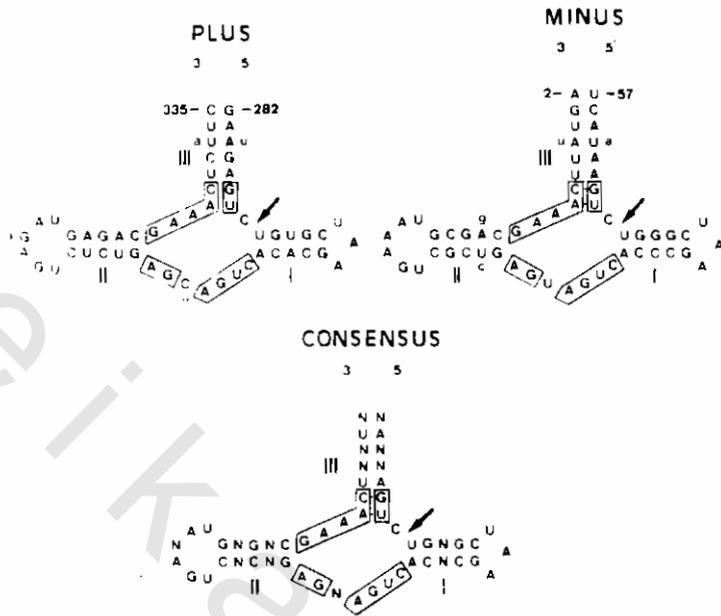
يظهر فى شكل ٨٦ أنه فى PLMVd RNA أن الأقطاب الموجبة والسالبة فيها:

١٣ مركز محفوظ معاً مع عناصر أخرى تميز تركيبات رأس المطرقة المسئول عن تفاعل الإنشطار الذاتي في المعمل في الفيروس ASBVd. إن كلا تركيبى رأس المطرقة للفيروس PLMVd يكون داخلاً فى قطعة تمثل تقريباً ثلث تتابع الفيروس ولها سيقان ثابتة جداً رقم III فى شكل ٨٦ ذراع قصير يتحلق خارجياً فى نهاية ساق I و II مشابهاً فى هاتين الحالتين تركيبات رأس المطرقة فى الفيروسات والمرافقات الفيروية أكثر من تشابهها مع الفيروس ASBVd.

ومن المهم أن نذكر هنا أن استبدال القواعد الموجودة فى الكلونة الثانوية للفيروس PLMVd فى منطقة تركيب رأس المطرقة إما أن لا يؤثر على ثبات ساق II و III أو أنه يتمركز فى العروات. إن التركيب السالب والموجب لرأس المطرقة يشارك كثيراً فى تماثل التتابع.

موقع الفيروس PLMVd بين الفيروسات والفيروسات:

إن شجرة نشوء وارتقاء الفيروسات تنسب الفيروس PLMVd إلى أفراد تحت مجموعة الفيروسات النموذجية حيث أنه ينسب إلى مجموعة ASBVd. ويمكن القول باختصار أن الأصل المشترك المقترض لنشوء الفيروسات والفيروسات يمتد ليشمل PLMVd بالإضافة إلى فيروس Coleus blumei Viroid 1 ويبدو أن PLMVd بعيد عن الفيروسات النموذجية ويكون قريب جداً من ASBVd ويكون قريب بشكل خاص من الفيروس vLTSV حيث أن الحمض النووى فى ASBVd وفى vLTSV له تركيب رأس المطرقة فى كلا القطبين.



شكل رقم ٨٦:

تركيب رأس المطرقة من الموجب والسالب في PLMVd RNAs مع أسهم مشيرة إلى مواقع الإنشطار الذاتي. المواقع المحفوظة في غلب بخط سميك هي التابع المحفوظ في جميع تركيبات رأس المطرقة في مواقع متشابهة. الحروف السفلية تدل على قواعد مستبدلة. N تعنى مواقع غير محفوظة. إن تركيب رأس المطرقة يجمع بين الأفراد السالبة والموجبة من PLMVd وتكون دائماً موجودة. إن زوج القواعد الطرفي في الساق III من تركيب رأس المطرقة من PLMVd RNA الموجب لا يوجد في التابع المأخوذ من كلون PLMVd الثانوى حيث أن C على الموقع ٣٣٥ قد استبدل بـ A.

الصفات العامة للفيروسات:

١ - الصفة الأولى:

إن الصفة الجديدة بالذكر لفيروس PLMVd هي مقدرته على تشكيل تركيب رأس المطرقة والتي هي من مميزات الفيروسات وليكنها لغاية الآن معروفة في فيروس واحد هو ASBVd. إن فيروس PLMVd يستطيع مثل ASBVd أن يتولى القيام

بتركيب رأس المطرقة فى الأحماض النووية RNAs فى كلا القطبين، مع أنه بالنسبة للتركيبات المزدوجة لرأس المطرقة قد إفترض بأنها تعمل فى تفاعلات الإنشطار الذاتى (خاصة فى القطب الموجب) نظراً لأن تركيب رأس المطرقة المفرد فى الفيرويد ASBVd غير ثابت. وعلى العكس من ذلك فإن تركيبات رأس المطرقة فى الفيرويد PLMVd ثابتة وأن الأحماض النووية RNAs تحتوى فقط مجموعات من تتابع PLMVd ذات كفاءة قطبية فى الإنشطار الذاتى خلال النسخ، تدل على أن هناك تفاعلات متماثلة أكثر احتمالاً لأن تقع خلال ميكانيكية تركيب الجزيء. إن تركيبات رأس المطرقة للسالب والموجب فى PLMVd أكثر علاقة وقرباً من بعضها البعض أكثر منها فى أى من تركيبات رأس المطرقة المعروفة الأخرى، هذه الحالة قد لوحظت أيضاً بين تركيبات رأس المطرقة فى الفيروسايد vLTSV. زيادة على ذلك فإن الثلاثة عشر مركزاً المحفوظة من السالب والموجب فى رؤوس المطرقة للفيرويد PLMVd وتمثلها فى مواقع الإنشطار الذاتى (مفصولة بواسطة ٩٦ موقع نيوكليتيدي) تحدث فى مواقع متعاكسة فى التركيب المفترض فى الموجب والسالب من RNAs PLMVd وأيضاً تحدث فى vLTSV، كذلك فإن مواقع الإنشطار الذاتى فى vLTSV تكون مفصولة بستة نيوكليتيديات فقط وإن جزء من نطاقات الإنشطار الذاتى تكون متداخلة. إن التركيبات من أقل طاقة حرة لأى من RNA PLMVd يحتوى تركيبات رأس المطرقة وبناء على ذلك تكون غير متوقعة الإنشطار الذاتى. هذه التكوينات تكون غالباً موجودة فى النسخ النقية الكاملة بالإضافة إلى الفيرويد الدائرى المعدى. إختيارياً فإن التكوينات الفعالة يمكن أن تتشكل خلال النسخ وتحت الإنشطار الذاتى قبل أن يتم بناء RNA وأن معظم التركيبات غير الفعالة الثابتة يمكن أن تتشكل. ومن المهم أن نذكر هنا أن هناك تماثل بين مواقع النيوكليتيديات المشكلة من ساق I و II من تركيبات رأس المطرقة فى PLMVd السالب والموجب، بشكل خاص من تلك التى هى قريبة من العروة مفردة الخيط الداخلية أو الأساسية والمواقع المماثلة من تركيبات رأس المطرقة فى PLMVd (الموجب) والموجب فى فيروسايد البرسيم المنقط والموجب والسالب فى فيروسايد vLTSV.

٢ - الصفة الثانية:

إن الصفة الثانية من صفات PLMVd الجديرة بالاهتمام هي نموذج التركيب الثانوى ذو الطاقة الحرة المنخفضة حيث يظهر فيه نقطتى تفرع، غير مشكلة، بالتالى للتركيبات شبه العصوية التى تميز معظم الفيروسات النموذجية. إن التركيب المتفرع للفيروس PLMVd، يمتلك، مع ذلك، ثبات ضمن المدى لتلك التركيبات شبه العصوية للفيروسات النموذجية كما يستدل من القيم المتحصل عليها بالمقياس $\Delta G / N$. إن هذا النوع من التركيب المتفرع قد ذكر فى بعض الفيروسات والفيروسايدات، مع أنه فى حالة الفيروس PLMVd فإن عدد التفرعات يكون أكبر وهى أطول أيضاً. إن الأهمية الفسيولوجية لهذا التركيب المفترض غير معروفة (١٩٩٤) مع أن الجزء المحتوى للتابع الداخلى فى تركيبات رأس المطرقة يكون ثابت جداً (هناك قطعة مشابهة ثابتة يمكن أن تتشكل فى القطب السالب) وكما قلنا سابقاً من الممكن أن يحفظ جزئيات الفيروس الدائرى من الإنشطار الذاتى.

٣ - الصفة الثالثة:

كما ذكرنا سابقاً فإن فيروس PLMVd يصيب الخوخ *Prunus persica* وإن أكثر السلالات شدة هى D - 168 وإن أكثر الأنواع حساسية للمرض هى شتلات النوع GF - 305. كذلك فإن هذا الفيروس PLMVd يشابه الفيروس ASBVd فى كونه لا يحتوى تتابع GAUUUU المحفوظة فى جميع الفيروسايدات فى موقع مشابه فى تركيبها الثانوى المفترض والذى يمكن أن يلعب دوراً فى تناسخ هذه الفيروسايدات.

٤ - الصفة الرابعة:

إن المدى العائلى المحدود جداً للفيروس PLMVd وهو المسبب لمرض الموزايك الكامن فى الخوخ *Prunus persica* فقط، هذا يذكرنا بالصفة المماثلة فى

فيروسيد ASBVd والذي يسبب ضربة الشمس في الافوكادو فقط *Persea americana* وبعض الأنواع من العائلة الغارية (Lauraceae) كذلك فإنهما يشتركان في إظهار بعض الأعراض المتشابهة. إن فيروسيد PLMVd لا يسبب ظهور الأعراض على الأوراق إلا بعد أن تصل الشجرة لعمر خمسة سنوات وبقية الأعراض تظهر مبكراً. كذلك فإن الأعراض المتكونة بسبب ASBVd على الأوراق لا تكون منتظمة أيضاً، وبعض الإصابات تكون كامنة أو بدون أعراض على الأوراق.

٥ - الصفة الخامسة:

إن التابع في الفيروسيد PLMVd فيه تماثل جزئي بالنسبة للفيروسيدات الأخرى بالإضافة إلى بعض الفيروسسايدات ونتيجة لدراسة شجرة أصل ومنشأ الفيروسيدات (ذكرناها سابقاً) وجد بأن هناك علاقة بين الفيروسيد PLMVd والفيروسسايد vLTSV أيضاً فإن طول تفرع الفيروسيد يكون حقيقة تدل على المنشأ الطويل المنفصل لهذا التابع وعلى الصفات الحيوية التي تثبت بأن هذا الفيروسيد فعلاً يتبع الفيروسيدات وليس الفيروسسايدات، ولكنه يمثل حلقة وصل أو حلقة تطور واضحة جداً بين الفيروسيدات والفيروسسايدات أكثر من دور الفيروسيد ASBVd في تمثيل حلقة الربط هذه.

٦ - الصفة السادسة:

إن فيروسيد PLMVd هو الفيروسيد الثاني من تحت مجموعة الفيروسيدات التي تتميز بأنها تمتلك تركيبات رأس المطرقة المسئول عن الإنشطار الذاتي في المعمل والذي من المحتمل أن يلعب أيضاً دوراً في تجهيز بوادئ ال Oligomeric في الطبيعة. إن الفيروسيد ASBVd هو النموذج المثالي لتحت هذه المجموعة والتي أعطيت إسم avsunviroid.

٧ - الصفة السابعة:

ينتشر فيروسيد PLMVd في المزارع النامية فيها شجيرات الخوخ وينتشر في مساحات واسعة من هذه المزارع، إلا أنه لا يوجد دليل على الانتقال الميكانيكي في

الحقل عن طريق الأيدي أو الأدوات الزراعية الملوثة إلا أن هذا الرأى يحتاج إلى دراسات أوسع. لقد ثبت أن هذا الفيرويد ينتقل بواسطة حشرة المن *Myzus persicae* ولكن الظروف المحيطة بانتقال هذا الفيرويد بهذه الحشرة لا تزال قيد البحث.

٨ - الصفة الثامنة:

يمكن اكتشاف الفيرويد PLMVd بأى من الطريقتين ١ - طريقة PAGE وهي أكثر سرعة ومتخصصة فى إكتشاف الفيرويد الدائرى ولكنها لا تعمل إكثار لكمية الفيرويد الموجودة فى العينة، وبالتالى يمكن أن تفشل هذه الطريقة فى كشف الفيرويد فى المستخلص إذا كان كميته منخفضة (مثلاً فى حالات الإصابة الحديثة). ٢ - من ناحية أخرى فإن الإختبارات الحيوية مع أنها تتطلب وقت طويل إلا أنها أكثر حساسية وهى الطريقة الثانية فى الكشف عن الفيرويد. إن فهرسة بادرات الخوخ سلالة GF - 305 أظهرت أن الفيرويد PLMVd ينتشر جيداً فى جميع أعضاء النبات، الفروع الحديثة والأغصان القديمة والأوراق والجزور. كذلك فقد أمكن اكتشاف الفيرويد بطريقة PAGE فى مختلف أجزاء النبات المصابة بالفيرويد فى شجيرات GF - 305 منها الجذور، نصل الأوراق، العروق الرئيسية، القلف وخشب الساق. كذلك فإن طريقة PAGE تسمح بالكشف عن الفيرويد فى الثمار الحديثة والناضجة. لا يتواجد هذا الفيرويد فى البذور وبذلك فهو لغاية (١٩٩٤) لم يثبت أنه ينتقل بالبذور.

ب - مرض تنقر ثمار الخوخ والبرقوق

Dapple Fruit Disease of Plum and Peach

مقدمة:

لقد إكتشف مرض جديد على البرقوق *Prunus salicina* فى اليابان وذلك بواسطة العالم Terai سنة ١٩٨٥. أعراض هذا المرض على شكل بقع كبيرة حمراء منتشرة على الثمار خاصة الصنف Taiyo عند النظر للثمار من على بعد

يلاحظ وكأنها منقرعة نظراً لانعكاس الأشعة من البقع المختلف عن إنعكاسها من سطح الثمرة. ينتقل المرض عن طريق التطعيم وسمى مرض تنقر ثمار البرقوق Plum Dapple Fruit Disease. بعد ذلك تم اكتشاف مرض آخر يصيب البرقوق يتميز بظهور لون أحمر مصفر في لحم الثمرة صنف Soldam وينتشر بشكل واسع في اليابان وسمى مرض إصفرار ثمار سولدم Soldam Yellow Fruit Disease وهذا المرض وصفه أيضاً العالم Terai سنة ١٩٨٧. يبدو أن كلا المرضين يتسبب عن نفس الكائن المرض. ونظراً لأن أشجار البرقوق السليمة صنف Taiyo التي حقنت بالتطعيم من صنف سولدم الذى عليه أعراض مرض إصفرار ثمار سولدم، تكشف على الثمار أعراض تنقر والعكس بالعكس. هذا يدل على أن هناك علاقة بين المسببين. هناك أعراض مماثلة تتكون من بقع كبيرة شاحبة على ثمار الخوخ *Prunus persica* على الصنف Asama - Hakutou في اليابان.

لقد اكتشف فيروس مسبب مرض تنقر الثمار على الصنف Taiyo فوجد أنه مشابه لفيروس تقزم حشيشة الدينار HSVd السلالة التى تصيب العنب وهو ذو تماثل تتابع عال نسبياً بالنسبة إلى مجموعة فيروس HSVd.

مسبب المرض:

لقد عزلت الفيرويدات من أشجار البرقوق *Prunus salicina* المصابة بمرض تنقر ثمار البرقوق Plum dapple fruit disease ومن أشجار الخوخ *Prunus persica* المظهرة أيضاً أعراض تنقر الثمار. عند حقن الفيرويدات ميكانيكياً فى نباتات العائلة القرعية تظهر أعراض نموذجية للأعراض التى يسببها فيروس تقزم حشيشة الدينار HSVd فى نباتات القرعيات. إن التركيب الكامل لتتابع النيوكليوتيدات فى عزلة الفيرويد من الخوخ ومن البرقوق تسمى عزلة AF كانت متماثلة وفيها ٢٩٧ نيوكليوتيدة ذات تماثل تتابع ٦, ٩٣٪ بالنسبة للفيروس HSVd عزلة حشيشة الدينار. هناك عزلة أخرى من الخوخ تسمى عزلة (A9) تكون من ٢٩٧ نيوكليوتيدة ولكن تماثل التتابع فيها ٧, ٩٩٪ بالنسبة للفيروس HSVd عزلة حشيشة الدينار، وإن فيها

نيوكليتيده واحدة تغير مكانها. هذه النتائج أدت إلى القول بأن هذه الثلاثة فيرويدات هي سلالات من فيروس HSVd وتسمى HSVd - Plum ، HSVd - plum AF و HSVd - Peach A9. إن الفرق الوحيد بين هذه العزلات وعزلة HSVd - hop (المعزولة من حشيشة الدينار) موجود في جزء اليد اليسرى من الجزيء متضمنة الجزء السفلى والمنطقة المركزية المحفوظة. ولقد تأكدت الأبحاث في اليابان بأن هذه العزلات هي المسببة لمرض تنقر الخوخ ومرض تنقر البرقوق.

الصفات العامة للعزلات المسببة للأمراض:

لقد تبين أن كلا الفيرويديين المعزولين من البرقوق والخوخ هما قريبا العلاقة جداً مع فيروس HSVd على أساس أعراضهما المرضية على نباتات العائلة القرعية وعلى التحليل بواسطة PAGE وطريقة تهجين الجزيء. إن أعراض هذه الفيرويدات على نبات الخيار صنف Suyo كانت نفسها دائماً تتسبب عن HSVd عزلة حشيشة الدينار. إن المدى العائلي لعزلة الفيرويد المأخوذة من البرقوق ليشابه المدى العائلي للعزلة من حشيشة الدينار ولكن عزلة البرقوق لا تهاجم الطماطم، في حين أن عزلة حشيشة الدينار تصيب الطماطم بدون إحداث أعراض. إن عزلة الخوخ (A9) تختلف بنيوكليتيده واحدة عن عزلة حشيشة الدينار وتسمى فيروس حشيشة الدينار المعزول من الخوخ HSVd - peach أما التي من البرقوق تسمى فيروس حشيشة الدينار المعزول من البرقوق HSVd - plum.

بالاعتماد على نتائج تجارب الحقن بالعصارة والتحليل بواسطة PAGE يبدو أكثر احتمالاً بأن HSVd - plum تسبب مرض تنقر الثمار النموذجي في البرقوق صنف Taiyo ، كذلك فإن العزلة نفسها تسبب تنقر الثمار على الخوخ. أما HSVd (AF) أو عزلة HSVd - peach (A9) يبدو أنهما مترافقتان مع أعراض تنقر الثمار في الخوخ والبرقوق. إن هاتين العزلتين فيهما تتابع نيوكليتيديات مختلف. إن العزلة HSVd - peach (AF) المعزولة من الخوخ تظهر أعراض تنقر شديدة جداً على الخوخ ولكن HSVd - peach A9 المعزولة من الخوخ تظهر أعراض تنقر

بسيطة جداً على البرقوق. ولكن يجب أن نذكر هنا أن هناك احتمال حدوث خطأ في طرق عزل هذه العزلات أو أن هناك فيروس آخر لم تتمكن التجارب من اكتشافه له دور مهم في إظهار الأعراض (ومرافق أو غير مرافق للعزلات السابقة) موجود في أشجار الخوخ أو البرقوق. ونظراً لأن HSVd قد اكتشف على نباتات حشيشة الدينار في اليابان فإن هناك مجموعة من العوامل المرضية المشابهة لهذا الفيروس وتسمى مجموعة HSVd وهي منتشرة ومسببة أمراض في أنواع مختلفة من أشجار الفاكهة مثل العنب، الحمضيات، الخوخ والبرقوق. بعض هذه السلالات من HSVd تسبب أمراضاً خطيرة على حشيشة الدينار، الخيار، البرقوق وأحياناً الخوخ ولكنها تصيب العنب والحمضيات بدون إظهار أعراض (كامنة) ويمكن النظر إلى هذه النباتات أن لها دور مهم في إظهار وبائية HSVd وتعتبر مصدر كبير وكثيف لإنتشار الفيروس.

فيروسات تحت الدراسة

1 - فيروس تقزم الدخان البري

Nicotiana glutinosa Stunt Viroid (NgSVd)

مقدمة:

يتعرض نبات الدخان البري *Nicotiana glutinosa* إلى الإصابة بفيروس تقزم الدخان البري NgSVd، وتتميز أعراض الإصابة به وتظهر على شكل تدلى الأوراق، التقزم، المظهر الشجيري أو العنقودي للنباتات وأحياناً يظهر نكروز على أوراق النبات. بإجراء عملية التحليل بواسطة طريقة PAGE على مستخلصات النبات وجد أن هناك حمض نووي ذو وزن جزيئي منخفض له سرعة أكثر من سرعة فيروس تقزم قمة الطماطم الهندي TBTVd. لقد تأكد من هذه العملية (PAGE) أن مرض تقزم الدخان البري يتسبب عن هذا الفيروس. يختلف فيروس NgSVd عن فيروس تقزم قمة الطماطم الهندي في المدى العائلي الذي يصيبه حيث أن فيروس NgSVd يمكن أن ينتقل إلى:

1 - *Nicotiana clevelandii*

2 - *N. debneyi*

3 - *N. plumbaginifolia*

4 - *Luffa acutangula*

5 - *Cucumis sativus*

6 - *Cajanus cajan*

7 - *Vigna unguiculata*

8 - *Chenopodium amaranticolor*

ينفصل الحمض النووي RNA المعدى للفيروس إلى حزمتين في الجيل تدل الأولى على الشكل المستقيم للفيروس وتدل الثانية على الشكل الدائري. يبلغ الوزن الجزيئي للفيروس 1,1 × 10⁶ دالتون.

الأعراض:

أولى أعراض هذا المرض تدلى الأوراق وهذا المظهر يحدث بعد 10 - 15 يوم من الحقن ويظهر على جميع النباتات المحقونة بالفيروس. بعد 20 - 30 يوم يصبح 80% من النباتات المحقونة متقزمة ذات مظهر شجيرى أو عنقودى، هذا المظهر يتكون نتيجة لتثبيط نموات القمم وكثرة نموات الفروع الجانبية المتكونة من البراعم الإبطية. بعد 2 - 3 شهور من الحقن تظهر الأعراض الثانوية وتبدأ على شكل نكروزرز في العروق الرئيسية في الورقة ثم العروق الفرعية ثم تمتد إلى أسفل لتصل عنق الورقة ثم الساق. تفشل النباتات المصابة في الإزهار وإذا أعطت أزهار تكون هذه الأزهار عقيمة.

إن تعبيرات الأعراض المرضية المتسببة عن الفيروس NgSVd وتركيز هذا الفيروس كلاهما يعتمد على درجة الحرارة والضوء. أثناء شهور الصيف المشمس (ذات الكثافة الضوئية العالية) والفترات الضوئية الطويلة بمتوسط 6,9 ساعة يومياً، وذات درجات الحرارة العالية 40 - 45م، فإن كلاً من الأعراض الأولية والثانوية تظهر بسرعة أكثر حيث تحتاج الأعراض الأولية 16 - 20 يوم أما الثانوية تحتاج 50 - 60 يوم وتكون الأعراض أكثر شدة في كلتا الحالتين. أما في فصول الشتاء ذات درجات الحرارة المنخفضة حوالي 8 - 17م وكثافة إضاءة منخفضة وإضاءة شمسية أقل من 7,8 ساعة، تظهر الأعراض الأولية معتدلة أو متوسطة وتحتاج 20 - 30 يوم حتى تظهر (بعد الحقن) ولا يتكشف نكروزرز على أى من النباتات المحقونة تحت هذه الظروف. يكون متوسط معيار الفيروس NgSVd 16,0 ميكوغرام لكل غرام نسيج في شهور الشتاء، يكون هذا المعيار 37,0 ميكوغرام / غرام نسيج نباتى في شهور الصيف.

يصيب الفيرويد نباتات من العائلة البقولية (أول فيرويد يذكر في هذا الموضوع) حيث يصيب جنس البسلة الهندية.

العدى العائلي للفيرويد:

نباتات الدخان *N. glutinosa* المحقونة بالفيرويد (NgSVd) المستخلص من النباتات المصابة يظهر عليها جميع مواصفات الأعراض المرضية المذكورة سابقاً وتبقى النباتات عقيمة. أمكن نقل الفيرويد بنجاح إلى عدة أنواع من العائلة الرمرامية *Chenopodiaceae* والقرعية والبقولية والباذنجانية. وهي كالاتي:-

١ - *Chenopodium amaranticolor* - تسبب الإصابة الفيرويدية على هذا النبات ظهور بقع موضعية شاحبة يتبع ذلك تدلى الأوراق ثم موزايك متبرقش على الأوراق وتقرم في النباتات.

٢ - *Cucumis sativus* . يظهر على الأوراق بقع كبيرة شاحبة وتتجدد قمم الأوراق وتنشئ لأسفل وكذلك تلتف حواف الأوراق إلى أسفل.

٣ - *Luffa acutangula* . يظهر على الأوراق موزايك متبرقش معتدل مع حواف غير منتظمة وتتجدد قمم وحواف الأوراق إلى أسفل.

٤ - *N. clevelandii* . يظهر على النبات أعراض تدلى وشحوب الأوراق وتقرم ومظهر القمة الشجيرية في النبات.

٥ - *N. debneyi* يظهر تدلى ونكروز على الأوراق.

٦ - *N. plumbaginifolia* . يظهر أعراض شديدة تتمثل في التفاف الأوراق إلى أعلى.

٧ - *Nicotiana sp.* لا يتكون أزهار على أنواع هذا الجنس.

٨ - *Cajanus cajan* . هذا أول جنس من العائلة البقولية يصيبه الفيرويد. يظهر على النباتات المصابة نكروز في العروق على الأوراق المحقونة أما الأوراق

غير المحقونة فى نفس النبات يظهر عليها بقع على شكل بثرات على الأوراق الثلاثة.

٩ - *Vigna unguiculata* تظهر الأعراض على شكل بثرات على الأوراق ونكروزر العروق بعد ١٥ - ٢٠ يوم من الحقن.

لا يصيب هذا الفيروس نباتات الطماطم التى هى عامل كاشف شائع لكثير من الفيروسات وهذه الصفة تجعله يتميز عن كثير من الفيروسات التى تهاجم الطماطم أو تكون الطماطم كاشف لها. بقية صفات الفيروس لا تزال تحت الدراسة.

نشرة هذا البحث فى مجلة Plant Disease سنة ١٩٩١ مجلد ٧٥ عدد ١٠ صفحة ١٠٦٨ إلى ١٠٧١.

٢- فيروس تقزم القرنفل

Carnation Stunt Viroid

مقدمة:

كان أول وصف لهذا المرض (مرض تقزم القرنفل) فى الولايات المتحدة الأمريكية سنة ١٩٨٣ من قبل العالم Lominel و Morris وإن التحليل بواسطة طريقة PAGE أكد أن التركيب الدائرى للحمض RNA الفيرويدي ذو وزن جزيئى حوالى ٨٠٠٠٠ - ٨٥٠٠٠ دالتون. ينتشر هذا المرض فى كل من إيطاليا وأسبانيا.

الأعراض:

أعراض المرض تكون على شكل تقزم، تشوهات ونموات كثيرة غير عادية للساق، إنخفاض عقد الإزهار والأزهار التى تتكون تكون مشوهة. الإختبارات التى أجريت فى إيطاليا على العينات المصابة أظهرت أن RNA الصغير المرافق للمرض

موجود في شكلين دائريين أحدهما بطيء والآخر سريع في الهجرة الكهربائية في الجيل يشار إليهما Carnation Stunt Associated Viroids الأول يسمى (Car SAV - slow) أما الآخر فيشار إليه (Car SAV - fast). الفيرويد ذو الشكل البطيء Car SAV - slow قدر حجمه فوجد أنه يتكون من ٢٨٠ نيوكليتيده وإن جزء من هذا التابع تبين أنه يمكن أن ينشئ ويأخذ تركيب رأس المطرقة كتلك المتوقع أنها تعمل إنشطار ذاتي في المعمل للفيرويديين النباتيين ASBVd و PLMVd وفي فيروسايدات النبات ونسخ من فيروسايد السمندل Newt Satellite 2 DNA.

الكائن المسبب:

لم يتأكد بعد فيما إذا كان مسبب هذا المرض فيرويد أو فيروسايد لأن فيه صفات كثيرة مشتركة بين هاتين المجموعتين من المسببات المرضية. لذلك لا يشار إليه بأنه فيرويد بل بأنه مرافق لتقزم القرنفل (Car SAV) وإذا قلنا في هذا الشرح كلمة فيرويد فإن ذلك من باب المجاز فقط.

درس تتابع نيوكليتيديات RNA الدائري المعزول من نبات القرنفل المصاب بالتقزم وتبين أنه يتكون من ٢٧٥ نيوكليتيده تتخذ شكل التركيب الثانوي المتفرع عند أقل حرارة حرة. إن كل من الخيوط السالبة والموجبة لهذا الحمض تستطيع أن تشكل تركيب رأس المطرقة المفترض بأنه وسيط في الإنشطار الذاتي في المعمل. إن النسخ السالبة كاملة الطول والأخرى غير الكاملة من فيرويد تقزم القرنفل الدائري الشاملة تركيب رأس المطرقة تظهر عملية الإنشطار الذاتي خلال النسخ وبعد التنقية، هذا يدل على دخول تركيب رأس المطرقة المفرد في تفاعل الانشطار الذاتي. أما في حالة النسخ الموجبة فإنه فقط الدايمرك Dimeric RNA وليس ال monomeric عندها كفاءة الانشطار الذاتي خلال النسخ والتنقية وهذا يقوى بشدة دخول رأس المطرقة المزدوج في الإنشطار الذاتي أكثر من إنشطار النطاق المفرد. وعلى أية حال فإن نسخ موجبة من monomeric تنشطر ذاتياً بعد التنقية بمعدل منخفض في تفاعل معتمد على التركيز والذي أكثر احتمالاً بأن يحدث خلال ميكائيزم بين

الجزئيات Intramolecular mechanism. إن مقارنة تحليل التتابع قد أظهر أن فيروس تقزم القرنفل الدائري يشترك في تشابهات كثيرة مع بعض الفيروسيدات أو الفيروسايدات. إن الحمض النووي RNA الصغير الدائري والذي يمكن أن يكون فيروس أو فيروسايد هو المسبب لأعراض التقزم في القرنفل.

العزلة الأسبانية:

الدراسات التي أجريت على هذا المرض في أسبانيا ذكرت أن RNA الدائري الذي يصيب القرنفل يتكون من ٢٧٥ نيوكليتيده وهو قريب الشبه مع تلك الفيروسيدات المعروفة في إيطاليا والولايات المتحدة ومع أن كثير من الأبحاث قد أكدت بأن هذا المسبب فيروس إلا أن هناك بعض التحفظات على ذلك.

استمرت الدراسات على عزلة أسبانيا ذو الحجم ٢٧٥ نيوكليتيده ووجد أن هذه النيوكليتيديات تتكون من ٨٤ G بنسبة ٣٠,٥٪، ٥٧ C بنسبة ٢٠,٧٪، ٦٢ A بنسبة ٢٢,٥٪ و ٧٢ U بنسبة ٢٦,٥٪ وبالتالي يكون G + C بنسبة ٥١,٢٪. إن التركيب الثانوي المتكون على أقل طاقة حرة يميل إلى التكوين المتفرع وأن ٧٠,٥٪ من مراكزه تكون في أزواج بحيث تكون GC بنسبة ٤٧,٤٪ و AU بنسبة ٣٦,١٪ و GU بنسبة ١٦,٥٪.

إن التحليل المقارن لتركيبات رأس المطرقة للفيروس Car SAV يبين أن هذا الفيروس يمكن أن يشكل تركيبات رأس المطرقة في كل من قطبي الشريطين كما هو الحال في فيروس ASBVd وفيروس PLMVd وفيروسايدات sLTSV و sBYDV. كما وأن التكوينات الناشئة من أقل طاقة حرة من المونومرك الموجب والسالب والداي مرك السالب في Car SAV RNAs لا تحتوي تركيبات رأس المطرقة وبالتالي فإن النسخ النقية المتوافقة غير متوقع لأن تعمل إنشطار ذاتي مالم تتعرض إلى حرارة قبل المعاملة لتشجيع ظهور التكوينات البديلة المحتوية على تركيبات رأس المطرقة.

إن المونومرك السالب والداى مرك الموجب فى Car SAV RNAs يكون فيهما الإنشطار الذاتى خلال النسخ وبعد التنقية أكثر احتمالاً من أن يكون خلال تركيبات رأس المطرقة المفرد والثنائى بالترتيب، وهذا يشبه ASBVd RNA. كذلك فإن تركيب رأس المطرقة من Car SAV RNA يمتلك الحلزون (اللولب) رقم ٣ وكذلك ثلاثة عروات مشابهة فى RNA فى السمندل (بعض الحيوانات). وتمشياً مع نظريات عدم الثبات لتركيب رأس المطرقة فإنه من الصعب اكتشاف الإنشطار الذاتى فى المونومرك الموجب لـ Car SAV RNA خلال النسخ، بينما الإنشطار الذاتى فى الداى مرك الموجب لـ Car SAV RNA يحدث بكفاءة خلال النسخ وبعد التنقية وهذا يؤكد دخول تركيب رأس المطرقة المزدوج فى هذا التفاعل. وهذه النتائج تنطبق مع نتائج الأبحاث على بعض الفيروسسايدات.

ولغاية سنة ١٩٩٤ لا يوجد تأكيدات على أن Car SAV هو من ضمن الفيروسات أو من ضمن الفيروسسايدات والأبحاث القادمة إن شاء الله هى التى سوف تؤكد ذلك.

نشر هذا المقال فى مجلة Nucleic Acid Research, 1992, Vol. 20. No. 23: 6323 - 6329.

٣- فيروس لفة أوراق القمح

Wheat Leaf Blight Viroid

ذكرت مجلة China J. Virology الصادرة سنة ١٩٨٧ فى الصفحة ١٧٣ - ١٧٦. أن هناك فيروس يصيب القمح يؤدي إلى لفة الأوراق وإصفرارها وهو فيروس كامن فى الحبوب ويسبب المرض المسمى Seed - borne Yellow Leaf Blight Disease. تظهر أعراض هذا المرض على شكل مناطق صفراء متطاولة على نصل الورقة، يظهر فى منتصف هذه المناطق بقع متحللة ذات لون بنى. إذا كانت الأعراض شديدة تظهر نباتات القمح وكأنها ملفوحة. يحدث التباس فى تشخيص هذه الأعراض مع بعض الإصابات الفطرية، إلا أن الفحص الميكروسكوبى يضع تمييزاً لذلك.

بالفحص الميكروسكوبى للخلايا فى منطقة الإصابة (الصفراء قبل التحلل) يظهر تحطم واختفاء أجزاء من الغشاء النووى ويحدث تغيرات فى السيتوبلازم بالقرب من النواة ويحدث تمدد فى قطر الأربطة بلازمودسيماتا Plasmodesmata ويصبح قطر بعضها أكبر من ١٠٠ نانومتر.

٤ - فيروس اللجستروم

Privet Viroid

فى المجلة الصينية السابقة ولكن فى عدد آخر. Chaina J. VIROL عدد رقم ٣ فى الصفحة ٥٣ - ٦١ الصادرة سنة ١٩٨٧. ذكرت أن نبات اللجستروم *Ligustrum compactum* يصاب بفيروس ذو شكل دائرى مغلق ويتكون من عديد من قواعد الأزواج وأن وزنه الجزيئى ٠,٧ × ١٠^٥ دالتون. وأن هذا الفيروس لا ينتقل إلى نبات *Gynura aurantiaca*.

٥ - فيروس الإصفرار الهيميت فى نخيل الزيت

Oil Palm Fatal Yellowing Viroid

ذكر هذا الفيروس فى مجلة 392 - 394 (4): Fitopatol. BRAS 13 الصادرة سنة ١٩٨٨. تذكر هذه المجلة أن أعراض المرض المتسببة عن هذا الفيروس فى أشجار نخيل الزيت *Elaeis guineensis* تظهر على شكل إصفرار على الأوراق يستمر هذا الإصفرار فى الزيادة حتى يشمل الورقة كلها وتموت.

٦ - فيروس الموزايك المبرقش فى البسلة الهندية

Pigeon Pea Mosaic Mottle Viroid

لقد وجد أن هناك حمض نووى RNA منخفض الوزن الجزيئى ١,٣ × ١٠^٥ دالتون عزل من نباتات البسلة الهندية *Cajanus cajan* فى الهند ويسبب هذا الفيروس مرض فى البسلة الهندية هو الموزايك المبرقش. تظهر الأعراض على شكل موزايك متبرقش فى الأوراق، صغر فى حجم الأوراق، تقزم النبات وعدم الإزهار. يمكن نقل هذا النبات بالحقن الميكانيكى ويصيب كل من: -

1 - *Nicotiana glutinosa*

2 - *N. clevelandii*

3 - *Chenopodium amaranticolor*

إن هذا الفيرويد يختلف عن فيرويد تقزم الدخان البرى الذى ذكر سابقاً *N. glutinosa* Stunt Viroid. إن هذا الفيرويد (فيرويد الموزايك المبرقش فى البسلة الهندية) أول فيرويد يذكر بأنه يصيب البقوليات.

هذا المقال فى مجلة 60 - 55 (1): *J. of Phytopathology* 137 الصادر سنة ١٩٩٣.

٧ - فيرويد تقزم الأرقطيون

Burdock Stunt Viroid

ذكرت مجلة 155 - 147 (2) *SCI SIN SER B* 29 الصادر سنة ١٩٨٦ أن نبات الأرقطيون *Arctium tomentosum* وهو من النباتات الطبية يتبع العائلة المركبة وتنتشر زراعته فى أوروبا والصين وكذلك النوع *A. lappa* يصابان بنوعين من الفيرويدات التى تسبب تقزم النبات وتبرقش الأوراق كما وأن الكالوس المتكون من الأوراق المريضة ينمو ببطء أكثر إذا قورن مع المتكون من الأوراق السليمة. كذلك فإن تكاثر إحدى الفيرويدات فى الكالوس يكون أسرع خلال الستة إلى ثمانية شهور الأولى. الفيرويدان على درجة عالية من تزاوج القواعد وهما يأخذان التركيب الدئرى والشكل شبه العصى. الوزن الجزيئى للأول $1,8 \times 10^6$ دالتون والوزن الجزيئى للثانى $1,7 \times 10^6$ دالتون، وهما أكثر ثباتاً للحرارة من كثير من الفيرويدات الأخرى. لم يحدث أن عزل الفيرويديين معاً من نبات واحد مصاب.

بهذا نختم كتابنا بالحمد لله رب العالمين

«وأخر دعواهم أن الحمد لله رب العالمين»

obeykandi.com

المراجع

كتب

- ١ - فتحى محمد عبدالنواب. البيولوجيا الجزيئية (مدخل الهندسة الوراثية). ١٩٩٣. المكتبة الأكاديمية القاهرة. ٤١٥ صفحة.
- ٢ - فوزى طه قطب. النباتات الطبية - ١٩٧٩ - الدار العربية للكتاب - ليبيا - تونس - ٣٥٧ صفحة.
- 3 - Abraham, M., B. Harrow. 1971. Biochemistry. Tenth edition. W. B. Saunders Company. London. 727. pp.
- 4 - Agrios, G. N. 1988. .Plant Pathology. 3rd edition. Academic press INC. New York. 800 pp.
- 5 - Buczacki, S. T. and Harris, K. M. 1982. Pests, Diseases and Disorders of garden plants. Collins St. James place London 512 pp.
- 6 - Francik, R. I. B. *et al.* 1991. Classification and Nomenclature of viruses. Fifth Report of The International Committe on Taxonomy of Viruses. Springer - Verlay Wien. New York. 450 pp.
- 7 - Mandahar. C. L. 1978. Introduction to plant viruses. S. Chand and Company LTD. New Delhi. pp. 333.

- 8 - Maramoroch, K. 1991. Viroids and satellites Molecular Parasites at the Frontier of life. CRC Pres, INC. p. 21 - 58.
- 9 - Roberto, C. 1984. Medical Plants. Macdoland Press London. pp 447. In the English translation. Arnoldo Mondadori Editore S. P. A., Milan.
- 10 - Smith, K. M. 1979. Plant Viruses. Sixth edition. John Wiley Sons. New York 241 pp.
- 11 - Walter, R., E. C. Calavand and G. E. Corman. 1978. Citrus industry volum IV. University of Califorina pp. 365.

ملاحظات :-

- ١ - الأبحاث والمجلات المذكورة هنا مرتبة حسب سنوات البحث.
- ٢ - هناك مراجع خاصة ومحددة في نهاية كل فصل من الكتاب في الجزء الأول.

أبحاث ومجلات

أبحاث سنة ١٩٩٤

- 1 - Andrew, G. R. and R. H. Symons. 1994. Infectivity of Linear Monomeric Transcripts of Citrus Exocortis viroid. *Virology* 203: 328 - 335.
- 2 - Chela - Flores, J. 1994. Are viroids molecular fossils of the RNA world? I. *Theoretical Biology* 166 (2) 163 - 166.
- 3 - Domingo, C., V. Conejero and P. Vera. 1994. Genes encoding acidic and basic Class III B-1,3 glucanases are expressed in tomato plants upon viroid infection. *Plant Molecular Biology* 24 (5): 725 - 732.
- 4 - Lima, M. I, *et al.* 1994. Detection of avocado Sunblotch viroid in chloroplasts of avocado leaves by in situ hybridization. *Virology* 138: 385 - 390.
- 5 - Maria, E. N., L. H. Marcellino, E. W. Kitajima. 1994. Nucleotide sequence of the original Brazilian isolate of coleus yellow viroid. *J. General Virol.* 75, 1447 - 1449.
- 6 - Semancik, J. S. and J. A. Szychowski. 1994. Avocado sunblotch disease. *J. General Virology* 75 (7) 1543 - 1549.
- 7 - ———, ———, ———, Rakowski, A. C., and R. H. Symons. 1994. A stable 463 nucleotide variant of citrus exocortis viroid produced by terminal repeats. *J. General Virology* 75 (727 - 732).
- 8 - Takahashi, T., S. Shimakoshi *et al.* 1994. Cytopathology of resin glands from hop plants infected with hop stunt viroid. *zeitschrift f. Pflanzenschutz* 100 (5) 508 - 515.

- 9 - Tornero, P., V. Conejero and P. Vera. 1994. A gene encoding a novel isoform of the PR-1 protein family from tomato is induced upon viroid infection. *Molecular and General Genetics* 243 (1) 47 - 53.
- 10 - Wassenegger, M. *et al.* 1994. RNA - directed de novo methylation and genomic sequences in plants. *Cell (Cambridge)* 76 (3) 567 - 576.

أبحاث سنة ١٩٩٣

- 11 - Fonseca, M. E., V. L. Marinho and T. Nagata. 1993. Hop latent viroid in hop Germ Plasm Introduction into Brazil from U. S. A. *Plant Dis.* 77 : 952.
- 12 - ——— , ——— and E. W. Kitajima. 1993. French Marigold. A New Experimental Host of Citrus Excocortls Virotd. *Plant Dis.* 77 : 953.
- 13 - He, X. Y., G. H. Zhou and A. S. Liu. 1993. Identification of strains of potato spindle tuber viroid. *Acta Phytopathological Sinica* 23 (4): 361 - 365.
- 14 - Ito, T. *et al.* 1993. Detection of a viroid associated with apple fruit crinke disease. *Annals Phytopatl Society Japan.* 59: 520 - 527.
- 15 - Lakshman, D. K. and S. M. Tavantzis. 1993. Primary and secondary structure of a 360 - nucleotide isolate of potato spindle tuber viroid. *ARCh Virol.* 128 (3 - 4): 319 - 331.
- 16 - Marcos, J. F. and R. Flores. 1993. Self - cleavage reaction of avocado sunblotch viroid RNAs is present in naturally occurring linear viroid molecules. *J. GEN. VIROL.* 74 (5): 907 - 910.
- 17 - Matousek, J., Rakousky S. 1993. Antisense DNA inhibits infections

- of potato spindle tuber viroid. *Folia Biologica* 39 (2): 87 - 99.
- 18 - Matousek, J. *et al.* 1993. Inhibition of potato spindle tuber viroid infection with DNA oligonucleotides. *Biochimie* 75 (1 - 2) 63 - 69.
- 19 - Morton, A., D. J. Barbara and A. N. Adams. 1993. The distribution of hop latent viroid within plant of *Humulum lupulus*. *Annals of Applied Biology* 123 (1): 47 - 53.
- 20 - Ou, F. C. *et al.* 1993. Multiple pathways of reversion in viroids for conservation of structural elements. *EMBO J.* 12 (5): 2129 - 2139.
- 21 - Podleckis, E. V. *et al.* 1993. Chemiluminescent detection of potato and poma fruit viroids. *J. Virol Methods* 43 (2): 147 - 158.
- 22 - Rigden, J. E. and M. A. Rezaian. 1993. Analysis of sequence variation in grapevine yellow speckle viroid 1 reveals two distinct alternative structures for the pathogenic domain. *Virology* 193 (1) 474 - 477.
- 23 - Rodriguez, M. J. B., J. W. Randles. 1993. Coconut cadang-cadang viroid mutants associated with severe disease vary in both the pathogenicity and the central conserved region. *Nucleic Acids Research* 21 (11) : 2771.
- 24 - Rodrigo, I. *et al.* 1993. cDNA cloning of viroid-induced tomato pathogenesis-related protein P. 23. *Plant Physiology* 102 (3) : 939 - 945.
- 25 - Semancik, J. S. *et al.* 1993. Isolation of citrus exocortis viroid recovered by host and tissue selection. *J. General Virology* 74 (11) : 2427 - 2436.

- 26 - Sing, R. P., A. Boucher and T. H. Somervjille. 1993. Interaction between a mild and a severe strain of potato spindle tuber viroid. *AM. Potato J.* 70 : 85 - 92.
- 27 - Skrzeczkowski, L. J., W. E. Howell and G. I. Mink. 1993. Correlation between leaf epinasty symptoms on two apple cultivars and results of cRNA hybridization for detection of apple scar skin viroid. *Plant Disease* 77 - (9) - : 919 - 921.
- 28 - Stocker, S., M. C. Guitton and H. P. Muhlbach. 1993. Phytosynthetically active suspension cultures of potato spindle tuber viroid infected tomato cells as tools for studying viroid host cell interaction. *Plant Cell Reports.* 12 (11) : 597 - 602.

أبحاث سنة ١٩٩٢

- 29 - Adams, A. N. *et al.* 1992. The distribution and spread of hop latent viroid within two commercial plantings of hop. *Ann Appl Biol.* 121 (3) 585 - 592.
- 30 - Ashulin, L., M. Mawassi and M. BAR-Joseph. 1992. procedure to amplify cDNA from viroid RNA templates using the polymerase chain reaction. *Methods Mol Cell Biol.* 3 (2) : 83 - 89.
- 31 - Giunchedi, L. *et al.* 1992. Symptoms of latent mosaic on peach in Emilia - Romagna. *Informatore Fitopatologico* 42 (3) : 47 - 49.
- 32 - Hadas, R., L. Ashulin and M. BAR - Joseph. 1992. Transmission of a citrus viroid to avocado by heterologous grafting. *Plant Disease* 76 (4) : 357.

- 33 - Hataya, T., *et al.* 1992. Detection of hop latent viroid using reverse transcription and polymerase chain reaction. *Ann Phytopath. Soc. JPN* 58 (5): 677 - 684.
- 34 - He, X. Y., *et al.* 1992. detection of potato spindle tuber viroid by polymerase chain reaction. *Virol Sin* 7 (3): 362 - 366.
- 35 - Herold, T. *et al.* 1992. Sequence analysis of five new field isolates demonstrates that the chain length of potato spindle tuber viroid is not strictly conserved but as variable as in other viroids. *Plant Mol Biol* 19 (2): 329 - 333.
- 36 - Hernandez, C. *et al.* 1992. Pear blister canker viroid is a member of the apple scar skin subgroup and also has sequence homology with viroids from other Subgroups. *J. Gen Virol.* 73 (10): 2503 - 2507.
- 37 - _____ , _____ and R. Flores. 1992. plus and minus RNAs of peach latent mosaic viroid self-cleave *in vitro* via hammer-head structure. *Proc Natl Acad Sci USA.* 89 (9): 3711 - 3715.
- 38 - Kryczynski, S., A. Stawiszynska, S. Skrzeczkowska. 1992. Pollen transmission of potato spindle tuber viroid to pollinated potato plants. *Horticulture* 16: 59 - 64.
- 39 - Kyriakou, A. P. 1992. Incidence of Cyprus of citrus exocortis viroid and its mechanical transmission. *Plant Pathol (OXF)* 41 (1): 20 - 24.
- 40 - Marcos, J. F. and R. Flores. 1992. Characterization of RNAs specific to avocado sunblotch viroid synthesized *in vitro* by a cell-free system from infected avocado leaves. *Virology* 186: 481 - 488.

- 41 - Meldrals, Ya. A. *et al* 1992. Detection of potato spindle tuber viroid and chrysanthemum stunt viroid using biotinylated oligodeoxyribonucleotide. *Mol Biol* (Mosco) 26 (3): 540 - 545.
- 42 - Owens, R. A. *et al*. 1992. A new mild strain of potato spindle tuber viroid isolated from wild *Solanum* spp. in India. *Plant Disease* 76 (5): 527 - 529.
- 43 - Randles, J. W. and D. Hanold. 1992. Indexing of coconut germplasm for viroid and virus. *IBPGR* 44 - 45 ISBN 92 - 9043 - 217 - 9.
- 44 - Rezaian, M. R., L. R. Krake and D. A. Golino. 1992. Common identity of grapevine viroids from USA and Australia revealed by PCR analysis. *Intervirology* 34 (1) : 38 - 43.
- 45 - Rigden, J. E. and M. R. Rezaian. 1992. *In Vitro* Synthesis of an infectious viroids: Analysis of the infectivity of monomeric linear *CEV*. *Virology*. 186 (1): 201 - 206.
- 46 - Sano, T. *et al*. 1992. Identification of multiple structural domains regulating viroid pathogenicity. *Proc Natl Acad Sci. USA*. 89 (21) 10104 - 10108.
- 47 - Schindler, I. M. and H. P. Muehlbach. 1992. Involvement of nuclear DNA-dependent RNA polymerases in potato spindle tuber viroid replication: A reevaluation. *Plant Sci* 84 (2): 221 - 229.
- 48 - Semancik, J. S. and J. A. Szychowski. 1992. Relationships among the viroids from grapevine. *J. Gen Virol*. 73 (6) 1465 - 1469.
- 49 - ———— , ———— D. J. Gumpf and J. A. Bash. 1992. Interference between viroids inducing excocortis and cachexia diseases of citrus. *Ann. Appl Biol*. 121 (3): 577 - 583.

- 50 - Singh, R. P. *et al.* 1992. Potato spindle tuber viroid is not encapsidated *in vivo* by potato virus Y particles. *Can J. Plan Patho.* 14 (1) : 18 - 21.
- 51 - Singh, R. P., A. Boucher and T. H. Somerville. 1992. Detection of potato spindle tuber viroid in the pollen and various parts of potato plant pollinated with viroid - infected pollen. *Plant Disease* 76 (9) 951 - 953.
- 52 - Singh. R. P. *et al.* 1992. A viroid from *Nematanthus wettseinii* plants closely related to the *Columnnea latent* viroid. *J. Gen Virol.* 73 (11) : 2769 - 2774.
- 53 - Steger, G. *et al.* 1992. Structural requirements for viroid processing by RNase. T.1. *J. Mol Biol.* 227 (3) 719 - 739.
- 54 - Takahashi, T. *et al.* 1992. Growth characteristics in cultured cucumber tissues infected with hop stunt viroid. *J. Phytopath* 136 (4): 288 - 296.
- 55 - Takahashi, T. *et al.* 1992. Comparison of plant hormon requirments in leaf tissues from hop stunt viroid-infected and uninfected hop plants. *Z. P. PFLANZEN SCHUTZ* 99 (1): 62 - 70.
- 56 - Welinicki, M. and C. Hiruki. 1992. Highly sensitive digoxigenin - labelled DNA probe for the detection of potato spindle tuber viroid. *J. Virol Method* 39 (1-2): 91 - 99.
- 57 - Yang, X., A. Hadidi and S. M. Garnsey. 1992. Enzymatic cDNA amplification of citrus excocortis and cachexia viroids from infected citrus hosts. *Phytopathology.* 83 (3): 279 - 285.

أبحاث سنة ١٩٩١

- 58 - Ashulin, L. *et al* 1991. Nucleotide sequence of a new viroid species, citrus bent leaf viroid isolated from grapefruit in Isreal. *Nucleic Acid Res.* 19 (17): 4767.

- 59 - Belles, J. M., J. Carbonell and V. Conejero. 1991. polyamines in plants infected by citrus exocortis viroid or treated with silver ions and ethephon. *Plant Physiology* 96 (4): 1053 - 1059.
- 60 - Bianco, P. A. and G. A. Vegetti. 1991. Detection and identification of chrysanthemum stunt viroid in Italy. *Riv Patol Veg* 1 (2-3): 43 - 50.
- 61 - Elena, S. F. *et al* 1991. Phylogeny of viroids, viroid - like satellite RNAs and the viroid-like blister canker disease. *PROC Natl Acad Sci USA* 88 (13): 5631 - 5634.
- 62 - Flores, R. *et al*. 1991. Identification of a new viroid as the putative caused agent of pear blister canker disease. *J. Gen Virol.* 72 (6): 1199 - 1204.
- 63 - Gillings, M. R., P. Broadbent and B. I. Gollnow. 1991. Viroids in Australian Citrus: Relationship to exocortis, cachexia and citrus dwarfing. *Aust J. Plant Physiol* 18 (5): 559 - 570.
- 64 - Hadidi, A., A. J. Hansen, C. L. Parish and X. Yanc. 1991. Scar skin and dapple apple viroids are seed-borne and persistent in infected apple trees. *Res Virol* 142 (4): 289 - 296.
- 65 - Hanold, D. and J. W. Randles. 1991. Detection of coconut cadang - cadang viroid - like sequences in oil and coconut palm and other monocotyledons in the South - west Pacific. *Ann. Appl. Biol.* 118 (1): 139 - 152.
- 66 - Harty, A. 1991. Exocortis viroid in New Zealand. *Orchardist of New Zealand* 64 (9) 38 - 39.
- 67 - Hopp, H. E. *et al*. 1991. Development and application of a nonradioactive nucleic acid hybridization system for simultaneous detection of four potato pathogens. *J. Virol Method* 31 (1): 11 - 30.

- 68 - Kanematsu, S. *et al.* 1991. Comparison of nonradioactive cDNR probes for detection of potato spindle tuber viroid by dot-blot hybridization assay. *J. Virol Methods* 35 (2): 189 - 199.
- 69 - Kryczynski, S., A. Stawiszynska and S. Skazeczkowska. 1991. Detection of potato spindle tuber viroid in composite plant samples. *Phytopathologica - Polonica* 12 : 29 - 32.
- 70 - Loss, P. M., *et al.* 1991. formation of thermodynamically metastable structure containing hairpin II is critical for infectivity of potato Spindle tuber RNA. *EMBO J.* 10 (3): 719 - 728.
- 71 - Matousek, J. *et al.* 1991. An immunochemical testing of pathophysiological reactions of several PSTVd infect tomato. *Biol Plant* 33 (5): 358 - 365.
- 72 - ———, *et al.* 1991. Instable expression of potato spindle tuber viroid complementary DNA trasformed potato. *Arch Phyto., Z.* 27 (3) 167 - 173.
- 73 - Meldrais, Ya. A., I. E. Line and T. I. Gurinovich. 1991. Chrysanthemum stunt viroid cDNA cloning into plasmid pUC19 and the cloned cDNA for detection of chrysanthemum stunt viroid. *Mol Biol. (Mosco)* 25 (5): 1301 - 1307.
- 74 - Mishra, M. D. *et al.* 1991. Indian bunchy top disease of tomato plants is caused by a distinct strain of citrus excocortis viroid. *J. Gen Virol.* 72 - (8): 1781 - 1786.
- 75 - Singh, R. P. *et al.* 1991. Differential migration during polyacrylamide gel electrophoresis suggests conformational differences among strains of potato spindle tuber viroid. *Can. J. Plant Pathol.* 13 - (3) 202 - 211.

- 76 - Singh, R. P., A. Boucher and R. G. Wang. 1991. Detection, distribution and longterm persistence of potato spindle tuber viroid in true potato seed from Chaina. *Potato J.* 68 (1) : 65 - 74.
- 77 - _____, _____, and A. Singh. 1991. High incidence of transmission and occurrence of a viroid in commercial seeds of *Coleus* in Canada. *Plant Disease* 75 (2): 184 - 187.
- 78 - Trnena, L. and J. Matousek. 1991. Aminopeptidase activity in potato spindle tuber viroid infected tomato leaves. *Phytopathol PF lanzenschutz* 27 (2): 117 - 125.
- 79 - Tsagris, M., M. Tabler and H. L. Saenger. 1991. RNase T₁ generates circular RNA molecules from viroid-specific RNA transcripts by cleavage and intramolecular ligations. *Nucleic Acid Res.* 19 (7): 1605 - 1612.
- 80 - Ziegler, A., E. Reiss and J. Schubert. 1991. Detection of potato spindle tuber viroid with nonradioactive hybridization probes. *Arch phytopath. Z.* 27 (5): 411 - 414.

أبحاث سنة ١٩٩٠

- 81 - Barbara, D. J. et al. 1990. Some effects of hop latent viroid on two cultivars of hop in the UK. *Ann. Appl Biol.* 117 (2): 359 - 360.
- 82 - Barbara, D. J., A. Morton and A. N. Adams. 1990. Assessment of UK hops for the occurrence of hop latent and hop stunt viroids. *Ann. Appl Biol.* 116 (2): 265 - 272.
- 83 - Belles, Joes M., A. Granell and V. Conejero. 1990. Impairment of viroid infection in *G. aurantiaca* plants by treatment with ethephon. *Can J. Plant Pathol* 12 (2): 175 - 179.
- 84 - Candresse, T., T. O. Diener and R. A. Owens. 1990. The role of the

- viroid central conserved region in complementary DNA infectivity. *Virology* 175 (1): 232 - 237.
- 85 - Duran-Vila, N. and J. S. Semancik. 1990. Variations in the crossprotection effect between two strains of citrus exocortis viroid. *Ann. Appl. Biol.* 117 (2): 367 - 378.
- 86 - Dusi, A. N., M. E. N. Fonseca and A. C. Deavila. 1990. Occurrence of a viroid in chrysanthemum in Brazil. *Plant Pathol (OXF)* 39 (4): 636 - 637.
- 87 - Flores, R. *et al.* 1990. Some properties of the viroid inducing peach latent mosaic disease. *Res Virol* 141 (1): 109 - 118.
- 88 - Hu, K., Z. Yong-Zhi and d. DA-Ming. 1990. Effect of some chemicals on infectivity and replication of citrus exocortis viroid. *Virol sin* 5 (4): 410 - 418.
- 89 - Hadidi, A. *et al.* 1990. Homology of the agent associated with dapple apple diseases to apple scar skin viroid and molecular detection of these viroids. *Phytopathol.* 80 (3): 263 - 268.
- 90 - ———, ——— and X. Yang. 1990. Detection of pome Fruit viroids by enzymatic complementary DNA amplification. *J. virol. Methods* 30 (3): 261 - 270.
- 91 - Juarez, J. *et al.* 1990. Separation of citrus viroids by shoot - tip grafting *in vitro*. *Plant Pathol. (OXF)*. 39 (3): 472 - 476.
- 92 - Jiang, L., C. Wel, T. Poand and L. Yi. 1990. Temperature - gradient gel electrophoresis of apple scar skin viroid. *Acta Microbiol Sin* 30 (4): 278 - 283.
- 93 - Marcos, J. F. and R. Flores. 1990. Subcellular location of avocado viroid in avocado teaves. *Plant Sci* 67 (2): 237 - 244.
- 94 - Owens, R. A. 1990. Mutational analysis of viroid pathogenicity: To-

- mato apical stunt viroid. *Mol Plant Microbe Interact* 3 (6): 374 - 380.
- 95 - Owens, R. A., T. Candresse and T. O. Diener. 1990. construction of novel viroid chimeras containing proteins of tomato apical stunt and citrus exocortis viroids. *Virology* 175 (1) 238 - 246.
- 96 - Rezaian M. A. 1990. Australian grapevine viroid evidence for extensive recombination between viroids. *Nucleic Acids Res* 18 (7): 1813 - 1818.
- 97 - singh, R. P., A. Boucher and T. H. Somerville. 1990. Cross - protection with strains of potato spindle tuber viroid in the potato plant and other solanaceous hosts. *Phytopath.* 80 (3) 246 - 250.
- 98 - — , — and G. C. C. Tai. 1990. High levels of viroid in tomato and potato plants inoculated with minimal amounts of potato spindle tuber viroid. *Can J. Plant Pathol* 12 (1): 11 - 15.
- 99 - Vera, P. and V. Conejero. 1990. Citrus exocortis viroid infection alters the *in vitro* pattern of protein phosphorylation of tomato proteins. *Mol Plant-Microbe Interact* 3 (1): 28 - 32.
- 100 - Welnicki, M. *et al* 1990. Detection of potato spindle tuber viroid by molecular hybridization and bioassay. A large - scale comparison. *Potato Research* 33 (4) 497 - 503.
- 101 - Yokoyama, M. *et al.* 1990. Detection of specific RNA by in situ hybridization in plant protoplasts. *Plant Cell Physi.* 31 (3): 403 - 406.
- 102 - Zekanowski, C. *et al.* 1990. Detection of PSTVd in dormant potato tubers by concatameric complementary DNA probe. *J. Virol. Methods.* 30 (1): 127 - 130.

أبحاث سنة ١٩٨٩

- 103 - Flores, R. 1989. Synthesis of RNA specific to citrus exocortis viroid. *J. Gen Virol.* 70 (10): 2695 - 2706.
- 104 - Fonseca, M. E. *et al.* 1989. A small viroid in *Coleus* sp. from Brazil. *Fitopathol Bras* 14 (1): 94 - 96.
- 105 - Galindo, J., C. Lopez and T. Aguilar. 1989. Discovery of the transmitting agent of tomato planta macho viroid. *Rev Mex Fitopatol* 7 (1) 61 - 65.
- 106 - Hammond, R. W., T. O. Diener and R. A. Owens. 1989. Infectivity of chimeric viroid transcripts reveals the presence of alternative processing sites in potato spindle tuber viroid. *Virology* 170 (2) 486 - 495.
- 107 - _____ , _____ , _____ and d. R. Smith. 1989. Nucleotide sequence and proposed secondary structure of *Columnnea* latent viroid. *Nucleic acids Res.* 17 (23): 10083 - 10094.
- 108 - Harders, J. *et al.* 1989. Imaging of viroids in nuclei from tomato leaf tissue by in situ hybridization and confocal laser scanning microscopy. *EMBO J.* 8 (13): 3941 - 3950.
- 109 - Jaswal, M. S. 1989. Reuse of buffers in return polyacrylamide gel electrophoresis tests for the detection of potato spindle tuber viroid. *AM. Potato J.* 66 (12): 813 - 820.
- 110 - Kondakova, O. A. *et al.* 1989. Potato spindle tuber viroid does not complement TMV temperature-sensitive transport function. *J. GEN Virol.* 70 (6): 1609 - 1612.
- 111 - Koltunow, A. M. *et al.* 1989. Two related viroids cause grapevine yellow speckle disease independently. *J. GEN. Virol.* 70 (12): 3411 - 3420.

- 112 - ———, ———, and M. A. Rezaian. 1989. Grapevine viroid 1B, A new member of the apple scar skin viroid group contains the left terminal region of tomato planta macho viroid. *Virology* 170 (2): 575 - 578.
- 113 - ———, ———, and ———. 1989. A scheme for viroid classification. *Intervirology* 30 (4): 194 - 201.
- 114 - Leitao, T., Duran-Vila, N. 1989. Detection of viroid RNAs in grapevine varieties from Portugal. *Mol. Cellular Bio* 14 (1-2) 29 - 39.
- 115 - Ma, X. *et al.* 1989. A small circular RNA from citrus plant. *Chin J. Virol* 5 (2) 140 - 144.
- 116 - McInnes, J. L., N. Habili and R. H. Symons. 1989. Nonradioactive, photobiotin-labelled DNA probes for routine diagnosis of viroids in plant extracts. *J. Virol Methods* 23 (3): 299 - 312.
- 117 - Meldrais, Ya. A. *et al.* 1989. The use of synthetic oligodeoxyribonucleotide probe for the diagnosis of viroid diseases in potato and chrysanthemum. *Mol Biol (Mosco)* 23 : 816 - 821.
- 118 - Mozhaeva, K. A. *et al.* 1989. A comparative study of various diagnostic method of potato spindle shaped tuber viroid. *Biol Nauki (Mosco)* 0 (7): 104 - 110.
- 119 - Pallas, V. and R. Flores. 1989. Interactions between citrus exocortis and potato tuber spindle viroids in plants of *Gynura aurantiaca* and *Lycopersicon esculentum*. *Intervirology* 30 (1): 10 - 17.
- 120 - Puchta, H. and H. L. Saenger. 1989. Sequence analysis of minute amounts of viroid RNA using the polymerase chain reac

- tion. *Arch Virol.* 106 (3) 335 - 340.
- 121 - Rakowski, A. G. and R. H. Symons. 1989. Comparative sequence studies of variants of avocado sunblotch viroid. *Virology.* 173 (1): 352 - 356.
- 122 - Rivera - Bustamante, R. F. and J. S. Semancik. 1989. Properties of a viroid - replicating complex solubilized from nuclei. *J. Gen. Virol.* 70 (10) 2707 - 2716.
- 123 - Roy, B. P., M. G. Abuhaidar and A. Alexander. 1989. Biotinylated RNA probes for the detection of potato spindle tuber viroid. *J. Virol. Methods.* 23 (2): 149 - 156.
- 124 - Sano, T. *et al.* 1989. Hop Stunt Viroid strains from dapple fruit disease of plum and peach in Japan. *J. Gen Virol.* 70 (6): 1311 - 1320.
- 125 - Schroeder, M. and H. L. Weidemann. 1989. Simplified application of return gel electrophoresis for the routine detection of potato spindle tuber viroid. *Bull Oepp.* 19 (4) 661 - 666.
- 126 - Singh, R. P. *et al.* 1989. Characteristics of cross-protection with potato spindle tuber viroid strains in tomato plants. *Can. J. Plant Pathol* 11 (3) 263 - 267.
- 127 - Tanimura, H. *et al.* 1989. chemical synthesis of the 24 RNA fragments corresponding to hop stunt viroid. *Nucleic Acids Res.* 17 (20): 8135 - 8148.
- 128 - Vera, P. and V. Conejero. 1989. The induction and accumulation of the pathogenesis-related P 69 proteinase in tomato during citrus exocortis viroid infection and in response to chemical treatments. *Physiol. Mol. Plant Pathol* 34 (4): 323 - 334.
- 129 - Vera, R., J. H. Yago and V. Conejero. 1989. Immunogold localiza-

- tion of the citrus exocortis viroid-induced pathogenesis - related proteinase P 69 in tomato leaves. *Bethesda* 91 (1): 119 - 123.
- 130 - Yang, G., D. Daming and Z. Yongzhi. 1989. Infection of *Gynura aurantiaca* leaf protoplasts with citrus exocortis viroid. *Chin J. Virol.* 5 (3): 277 - 279.
- 131 - Yang, G., Z. Y. Chen and D. Daming. 1989. Two kinds of circular RNA in *G. aurantiaca* cell infected with citrus exocortis viroid. *China J. Virol* 5 (11): 364 - 369.
- 132 - Yamaya, J. *et al.* 1989. Expression of hop stunt viroid from its complementary DNA in transgenic tobacco plants. *Mol Plant - Microbe Interact* 2 (4): 169 - 174.
- 133 - Zhang, H. *et al.* 1989. Detection of potato spindle tuber viroid with biotin-labelled PSTVd complementary DNA probe. *China J. Virol.* 5 (1): 72 - 76.

أبحاث سنة ١٩٨٨

- 134 - Branch, A. D. *et al.* 1988. Interference between coinoculated virioids. *Virology* 163 (2): 538 - 546.
- 135 - Branch, A. D., B. J. Benenfield and H. D. Robertson. 1988. Evidence for single rolling circle in the replication of potato spindle tuber viroid. *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 85 (23): 9128 - 9132.
- 136 - Candresse, T. *et al.* 1988. Detection of chrysanthemum stunt viroid using nick translated probes in a dot-blot hybridization assay. *J. Virol. Methods* 20 (3): 185 - 195.
- 137 - Chen, W., L. Lei, T. Po, P. Vos and R. Goldbach. 1988. Molecular cloning of complementary DNA of chrysanthemum stunt

- viroid. *Chin J. Virol* 4 (2): 173 - 175.
- 138 - Chen, W. *et al.* 1988. Grafting external healthy pear bud induces scar skin viroid in apple. *Chin J. Virol.* 4 (4): 367 - 370.
- 139 - Diener, T. O., D. R. Smith and M. Davino. 1988. Citrus B viroid identified as strain of hop stunt viroid. *Plant Dis.* 72 (8) 691 - 693.
- 140 - Duran - Vila, N. *et al.* 1988. A definition of citrus viroid groups and their relationship to the excocortis disease. *J. Gen Virol.* 69: 3069 - 3080.
- 141 - ——— , ——— 1988. Production of viroid - free grapevines by Shoot tip culture. *Am. J. Vitic* 39 (3): 217 - 220.
- 142 - Keese, P., M. E. Osorio - Keese and R. H. Symons. 1988. Coconut tinangaja viroid: Sequence homology with coconut cadang - cadang viroid and other PSTVd related RNAs. *Virology* 162 (2): 508 - 510.
- 143 - Khoury, J. *et al.* 1988. Concentration and distribution of mild and severe strains of PSTV in cross-protection tomato plants. *Phytopathology.* 78 (10): 1331 - 1336.
- 144 - Koltunow, A. M. and M. A. Rezaian. 1988. Grapevine yellow speckle viroid. Structural features of a new viroid group. *Nucleic Acids Res.* 16 (3) 849 - 864.
- 145 - ——— , ——— , ——— and L. R. Krake. 1988. Hop stunt viroid and Australian grapevine cultivars. *Australians plant Pathol.* 17 (1): 7 - 10.
- 146 - Kryczynski, S. *et al.* 1988. Transmission of three viroids through seed and pollen of tomato plants. *J. Phytopath.* (BERL) 121 (1): 51 - 57.
- 147 - Ma, X. X. X. *et al.* 1988. An effective procedure for the separation

- and preparation of citrus exocortis viroid. *Virolsin* 3 (4): 370 - 375.
- 148 - Ohshima, K. *et al.* 1988. comparative studies on hostrange and the infectivity of hop stunt viroid cucumber isolate (cucumber pale fruit viroid) native RNA and its complementary DNA. *Arch Phytopathol Pflanzenschutz* 24 (6) 475 - 484.
- 149 - Puchta, H., K. Rumm and H. L. Saenger. 1988. The molecular structure of hop latent viroid, a new viroid occurring world wide in hops. *Nucleic Acids Res.* 16 (10): 4197 - 4216.
- 150 - Rezaian, M. A., A. M. Koltunow and L. R. Krake. 1988. Isolation of three viroids and a circular RNA from grapevines. *J. Gen virol.* 69 (2): 413 - 422.
- 151 - Sano, T. *et al.* 1988. Synthetic oligonucleotide hybridization probes to diagnose hop stunt viroid strains and citrus exocortis viroid. *J. Virol. Methods* 19 (2): 109 - 120.
- 151 - Semancik, J. S., C. N. Roistacher, R. and N. Duran - Vila. 1988. Citrus Cachexia viroid, a new viroid of citrus. Relationship to viroids of the exocortis disease complex. *J. Gen. Virol.* 69 (12): 3059 - 3068.
- 152 - Singh, R. P. and A. Boucher. 1988. Loss of potato spindle tuber viroid from tuber tissues after repeated freezing. *AM. Potato J.* 65 (5): 283 - 288.
- 153 - ———, and ——— and J. E. Seabrook. 1988. Detection of the mild strains of potato spindle tuber viroid from single true potato seed by return electrophoresis. *Phytopathol.*, 78 (6): 663 - 667.
- 154 - Xiong, C. *et al.* 1988. Growth properties of CEVd-infected *Gynura aurantiaca* cell suspension system. *Acta Micro Biol Sin* 28 (4): 361 - 366.

- 155 - Zhang, QI - YA, Z. GE and DA-Ming. Ding. 1988. Distribution of citrus exocortis viroid in different organs of *Gynura aurantiaca*. *Virol Sin* 3 (1): 71 - 76.
- 156 - — , — , —1988. Could CEVd be removed by root propagation. *Chin J. Virol.* 4 (3): 275 - 276.

أبحاث سنة ١٩٨٧

- 157 - Bernardy, M. G., G. G. Jacoli and H. W. J. Ragetli. 1987. Rapid detection of potato spindle tuber viroid by dot blot-hybridization. *J. Phytopath* (BERL) 118 (2): 171 - 180.
- 158 - Bitters, W. P., N. Duran - Vila and J. S. Semancik. 1987. Effect of citrus exocortis viroid on flower and fruit structure and development on Etrog citron. *Plant Disease* 71 (5): 397 - 399.
- 159 - Granell, A., J. M. Belles and V. Conejero. 1987. Induction of pathogenesis - related protein in tomato by citrus exocortis viroid, silver ion and ethephon. *Physiol. Mol. Plant. Pathol.* 31 (4): 83 - 90.
- 160 - Grasmick, M. E. and S. A. Slack. 1987. Detection of potato spindle tuber viroid in true potato seed by bioassay on Rutgers tomato. *AM. Potato J.* 64 (5): 236 - 244.
- 161 - Kryczynski, S. and E. Paduch - Cichal. 1987. A comparative study of four viroids. *J. Phytopathol.* (BERL) 120 (2): 121 - 129.
- 162 - Lopez - Herrera, C., F. Pliego and R. Flores. 1987. Detection of avocado Sunblotch viroid in Spain by double polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Phytopathol.* (BERL) 119 (2): 184 - 189.

- 163 - Morelli, L. T., P. E. Nelson and R. K. Horst. 1987. Histopathology of the Chrysanthemum cultivar Bonni Jean infected with Chrysanthemum Stunt Viroid. *Phytopathology* 77 (5): 655 - 660.
- 164 - Paduch - Cichal, E. and S. Kryczynski. 1987. A low temperature therapy and meristem - tip culture for eliminating four viroids from infected plants. *J. Phytopathol.* (BERL). 118 (4): 341 - 346.
- 165 - Pallas, V., A. Navarro and R. Flores. 1987. Isolation of a viroid - like RNA from hop different hop stunt viroid. *J. Gen Virol.* 68 (12) 3201 - 3206.
- 166 - Palukaitis, P. 1987. Potato spindle tuber viroid: Investigation of the longdistance, intraplant transport route. *Virology.* 158 (1): 239 - 241.
- 167 - ———, and M. Zaitlin. 1987. The nature and biological significance of linear potato spindle tuber viroid molecules. *Virology* 157 (1): 199 - 210.
- 168 - Pechan, R., H. Kuvert and H. J. Gross. 1987. Are small RNAs associated with Crohns' disease? *Z. Natur. Sect Bio Sci* 42 (7/8): 1000 - 1008.
- 169 - Schwinghamer, M. W. and P. Broadbent. 1987. Association of viroids with a graft-transmissible dwarfing symptoms in Australian orange trees. *Phytopath.* 77 (2): 205 - 209.
- 170 - ———, ———, ———1987. Detection of viroids in dwarfed orange trees by transmission to chrysanthemum. *Phytopathol.* 77 (2): 210 - 215.
- 171 - Semancik, J. S., R. Rivera - Bustamante and A. C. Goheen. 1987. Widespread occurrence of viroid-like RNA species in grapevines. *AM. J. ENOL VITIC* 38 (1): 35 - 40.

- 172 - Singh, R. P. and A. Boucher. 1987. Electrophoretic separation of a severe from mild strains of potato spindle tuber viroid. *Phytopathol.* 77 (11): 1588 - 1590.
- 173 - Tsagris, M., M. Tabler and H. L. Saenger. 1987. Oligomeric potato spindle tuber viroid RNA does not process autocatalytically under conditions where other RNA species do. *Virology* 152 (1): 227 - 231.
- 174 - Weidemann, H. L. 1987. The distribution of potato spindle tuber viroid in potato plants and tubers. *Bull OEPP* 17 (1): 45 - 50.
- 175 - Zhou, Y. C. and D. Daming. 1987. A preliminary study on the cultivation of citrus exocortis viroid in the tissue culture of *Gynura aurantiaca*. *Chin J. Virol* 3 (3): 277 - 281.

أبحاث سنة ١٩٨٦

- 176 - Belles, J. M. *et al.* 1986. Antiviroid effects of ribavirin of citrus exocortis viroid infection in *Gynura aurantiaca*. *Physiol Mol Plant Pathol* 28 (1): 61 - 66.
- 177 - Conejero, V. and A. Granell. 1986. Stimulation of a viroid - like syndrome and the impairment of viroid infection *Gynura aurantiaca* plants by treatment with silver ions. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 29 (3): 317 - 324.
- 178 - Diener, T. O. 1986. Viroid processing: A model involving the central conserved region and hairpin I. *Proc Natl Acad Sci USA* 83 (1): 58 - 62.
- 179 - Dinter, G. G. 1986. Viroids and virusoids are related to group I introns. *Proc Natl Acad Sci USA* 83 (17) 6250 - 6254.
- 180 - Duran - Vila, N., R. Flores and J. S. Semancik. 1986. Characteriza-

- tion of viroid - like RNA associated with the citrus exocortis Syndrome. *Virology* 150 (1): 75 - 84.
- 181 - Flores, R. 1986. Detection of citrus exocortis viroid in crude extracts by dot-blot hybridization. *J. Virol Methods* 13 (2): 161 - 170.
- 182 - Grasmick, M. E. and S. A. Slack. 1986. Effect of potato spindle tuber viroid on sexual reproduction and viroid transmission in the true potato seed. *Can. J. Bot.* 64 (2) 336 - 340.
- 183 - Orozco, V. G. and J. G. Alonso. 1986. Ecology of tomato plant macho viroid. *Rev. Mex Fitopathol* 4 (1): 19 - 28.
- 183 - Rivera - Bustamante, R. F., R. Gin and J. S. Semancik. 1986. Enhanced resolution of circular and linear molecular forms of viroid and viroid - like RNA by electrophoresis in a discontinuous pH system. *Annl Biochem* 156 (1): 91 - 95.
- 184 - Schumacher, J., *et al.* 1986. Diagnostic procedure for detection of viroid and viruses with circular DNA by return - gel electrophoresis. *J. Phytopathol.* (Berl) 115 (4): 332 - 343.
- 185 - Sano, T. *et al.* 1986. A viroid resembling hop stunt viroid in grapevines from Europe, the USA and Japan. *J. Gen Virol* 67 (8): 1673 - 1678.
- 186 - Schwinghamer, M. W. and G. R. Scott. 1986. Survey of New South Wales potato crops for PSTVd. *Plant Dis.* 70 (8) 774 - 776.
- 187 - Semancik, J. S. 1986. Separation of viroid RNA by cellulose chromatography indicating conformational distinctions. *Virol.* 155 91): 39 - 45.
- 188 - Singh, R. P., D. Levesque and R. R. King. 1986. A rapid procedure for the purification of PSTV. *Can J. Plant Pathol.* 8 (1) 54 - 58.

- 189 - Visvader, J. E. and R. H. Symon. 1986. Replication of *in vitro* constructed viroid mutants. *Embo J.* 5 (9): 2051 - 2056.
- 190 - Wang, M. C. et al. 1986. Alternation in cell wall composition and structure in viroid - infected cells. *Physiol Mol. Plant Pathol.* 28 (1): 107 - 124.
- 191 - Yoshikawa, N. and T. Takahashi. 1986. Inhibition of hop stunt viroid replication by α -amanitin. *Z. Pflanzenkr Pflanze Nschutz* 93 (1): 62 - 71.
- 192 - Zhang, Q. Y. et al. 1986. Synthesis of CEVd and CSVd and detection by the probes. *Virol Sin* 1 (4): 93 - 98.

أبحاث سنة ١٩٨٥

- 193 - Bar - Joseph, M., et al. 1985. Detection of avocado sunblotch viroid by hybridization with synthetic oligonucleotide probes. *J. Virol Methods* 10 (1) 69 - 74.
- 194 - Barker, J. M. et al. 1985. Dot-blot procedure with phosphorus-32 DNA probes for the sensitive detection of avocado sunblotch and other viroids in plants. *J. Virol Methods* 10 (2): 87 - 98.
- 195 - Flores, R. et al. 1985 - Detection of viroid and viroid - like RNA species from grapevine. *J. Gen Virol.* 66 (10): 2095 - 2102.
- 196 - Grasmick, M. E. and S. A. Slack. 1985. Symptom expression enhanced and low concentrations of Potato spindle tuber viroid amplified in tomato with high light intensity and temperature. *Plant Dis.*, 69 (1): 49 - 51.
- 197 - Imperial, J. S., R. M. Bautista and J. W. Randles. 1985. Transmission of the coconut cadang - cadang viroid to six species of palm by inoculation with nucleic acid extracts. *Plant Pathol (London)* 34 (3): 391 - 401.

- 198 - Kano, T. and A. Yamaguchi. 1985. Indexing for citrus exocortis viroid using herbaceous plants. *Bull Fruit Tree Stn Ser B* 12 (95 - 108).
- 199 - Keese, P. and R. H. Symons. 1985. Domains in viroids. Evidence of intermolecular RNA rearrangements and their contribution to viroid evolution. *Proc. Natl. Acad Sci USA* 82 (14): 4582 - 4586.
- 200 - Koganezawa, H. 1985. Transmission to apple seedlings of a low molecular weight RNA extracted from apple scar skin disease trees. *Ann. Phytopathol. Soc. JPN.* 51 (2): 176 - 182.
- 201 - Meshi, T. *et al.* 1985. The sequence necessary for the infectivity of hop stunt viroid complementary DNA clones. *Mol Gen Genet.* 200 (2): 199 - 206.
- 202 - Mohamed, N. A. *et al.* 1985. Purification and infectivity of the coconut cadang - cadang viroid. *Phytopathology*, 75 (1): 79 - 83.
- 203 - Sano, T. *et al.* 1985. A viroid - like RNA isolated from grapevine has high sequence homology with hop stunt viroid. *J. Gen Virol* 66 (2): 333 - 338.
- 204 - Schnoelzer, M. *et al.* 1985. Correlation between structure and pathogenicity of potato spindle tuber viroid. *EMBO J.* 4 (9): 2181 - 2190.
- 205 - Singh, R. P. and C. F. Crowley. 1985. Successful management of potato spindle tuber viroid in seed potato crop. *Can. Plant Dis Surv* 65 (1): 9 - 10.
- 206 - Takahashi, T. *et al.* 1985. Some characteristics in cytopathic changes induced by viroid infection. *J. Fac. Agric Iwate Univ.* 17 (3): 267 - 280.

- 207 - — , — and S. Yaguchi. 1985. Strategies for preventing mechanical transmission of hop stunt viroid. Chemical and heat inactivation on contaminated tools. *Z. Pflanzentr Pflanzenschutz* 92 (2): 132 - 137.
- 208 - Yoshizaki, T. *et al.* 1985. The effects of some chemical on the infectivity of cucumber isolate of hop stunt viroid. *Ann Phytopathol Soc. JPN* 51 (4): 405 - 412.
- 209 - Yaguchi, S. and T. Takahashi. 1985. Syndrome characteristics and endogenous IAA levels in cucumber plants incited by hop stunt viroid. *Z. Pflanzentr P.* 92 (3): 263 - 269.

أبحاث سنة ١٩٨٤

- 210 - Boiko, A. L., G. S. Litvinov and S. A. Romasher. 1984. Viroid causing stunt deformity of hop plants in biocenoses of the Ukrainian SSR. *D. A. N. U. S. S. B. G. K. B. N. 0* (11): 62 - 65.
- 211 - DA GRACA, J. V. and T. E. Mason. 1984. Detection of avocade sunblotch viroid in flower buds by polyacrylamide gel electrophoresis. *Phytopathol., Z.* 108 (3/4) : 262 - 266.
- 212 - Flores, R. 1984. Is the conformation of viroids involved in their pathogenicity. *J. Theor Biol* 108 (4): 519 - 528.
- 213 - Momma, T. and T. Takahashi. 1984. Development morphology of hop stunt - viroid infected hop plants and analysis of their cone yield. *Phytopatho. Z.* 110 91): 1 - 14.
- 214 - Mohamed, N. R. and J. S. Imperial. 1984. Detection and concentration of coconut cadang - cadang viroid in coconut leaf extracts. *Phytopathology* 74 (2): 164 - 169.

- 215 - Perez, R. *et al.* 1984. Exocortis viroid presence in clementine Mandarin grafted on Troyer. *Cent Agric* 11 (3): 65 - 72.
- 216 - Spiegel, S., M. Alper and R. N. Allen. 1984. Evaluation of biochemical methods for the diagnosis of the avocado sunblotch viroid in Israel. *Phytoparasitica* 12 (1): 37 - 44.
- 217 - Sano, T., I. Uyeda and E. Shikata. 1984. Comparative studies of hop stunt viroid and cucumber pale fruit viroid. *Ann. Phytopathol Soc. JPN* 50 (3): 339 - 345.
- 218 - Schumacher, J., J. W. Randles and D. Riesner. 1984. A 2 - dimensional electrophoretic technique for the detection of circular viroids and virusoids. *Annl Biochem.* 135 (2) : 288 - 295.
- 219 - Semancik, J. S. and Judy, Z. 1984. Enhanced detection of viroid - RNA after selective divalent cation fractionation. *Ann. Biochem.*, 135 (2): 275 - 279.
- 220 - Steger, G. *et al.* 1984. conformational transitions in viroids and virusoids *J. Biomol Struct Dyn* 2 (3): 543 - 572.
- 221 - Tabler, M. and H. Saenger. 1984. Cloned single - stranded and double - stranded DNA copies of PSTV RNA and coinoculated subgenomic DNA fragments are infectious. *Eur Mol Biol Organ J.* 3 (13): 3055 - 3062.
- 222 - Uyeda, I., T. Sano and E. Shikata. 1984. Purification of cucumber pale fruit viroid. *Rnn. Phytopathol. soc. JPN.* 50 : 331 - 338.
- 223 - Vasileva, T. Y. and K. A. Mozhaeva. 1984. Resistance of PSTVd to certain physical factors. *Biol Nauki (Mosco)* 0 (3): 15 - 21.

- 224 - Watermeyer, S. R. 1984. Detection of chrysanthemum stunt viroid in South Africa by PAGE and bioassay. *Plant Dis.* 68 (6): 485 - 488.
- 225 - Yaguchi, S. and T. Takahashi. 1984. Response of cucumber cultivars and other cucurbitaceous species to infection by hop stunt viroid. *Phytopathol. Z.* 109 (1) : 21 - 31.
- 226 - ———, and ——— 1984. Survival of hop stunt viroid in the hop garden. *Phytopathol. Z.* 109 (1) 32 - 44.

أبحاث سنة ١٩٨٣

- 227 - Deloire, A., P. Mampouga and J. Robert. 1983. Studies of an incompatibility to grafting, produced in 2 species of citrus, with the aid of *in vitro* micrografts due to the presence in the scion of exocortis viroid. *Cr Seances Acad Sci Ser III Sci Vie* 297 (13) 621 - 626.
- 228 - Kiefr, M. C., R. A. Owens and T. O. Diener. 1983. Structural similarities between viroids and transposable genetic elements. *Proc. Natl Acad. Sci USA* 80 (20) 6234 - 6238.
- 229 - Larosa, A. *et al.* 1983. Chrysanthemum stunt viroid in Italy. *Riv. Patho Veg* 19 (2): 77 - 84.
- 230 - Momma, T. and T. Takahashi. 1983. Cytopathology of shoot apical meristem of hop plants infected with hop stunt viroid. *Phytopathol. Z.* 106 (3) : 272 - 280.
- 231 - Muehlbach, H., O. Faustmann and H. L. Saenger. 1983. Conditions for optimal growth of PSTVd infected potato cell suspension and detection of viroid - complementary longer - than - unit - length RNA in these cells. *Plant Mol Biol* 2 (5): 239 - 248.

- 232 - Riesner, D. M. *et al.* 1983. Dynamics and interactions of viroids. *J. Biomol Struct Dyn* 1 (3) 669 - 688.
- 233 - Rosner, A. S., M. Alper and M. Bar Joseph. 1983. Detection of avocado sunblotch viroid - *Plant Mol. Biol* 2 (1): 15 - 18.
- 234 - Schumacher, J., H. L. Saenger and D. Riesner. 1983. Subcellular localization of viroids in highly purified nucleic acid from tomato leaf tissue. *EMBO J.* 2 (9): 1549 - 1556.
- 235 - Spiesmacher, E. *et al.* 1983. Oligomeric forms of PSTVd and of its complementary RNA *Bio Sci Rep* 3 (8): 767 - 774.
- 236 - Takahashi, T., M. Takada and N. Yoshikawa. 1983. Comparative indexing of hop plants for hop stunt viroid infection. *J. Fac. Agri Iwate Univ.* 16 (3): 141 - 150.

أبحاث سنة ١٩٨٢

- 237 - Branch, A. *et al.* 1982. Cell-Free circularization of viroid progeny RNA by an RNA ligase from wheat germ. *Science* 217 : 1147 - 1149.
- 238 - Flores, R. and J. S. Semancik. 1982. Properties of a cell-free system for synthesis of citrus exocortis viroid. *Proc. Natl Acad. Sci USA* 79 (20): 6285 - 6288.
- 239 - Galindo, A., J. D. R. Smith and T. O. Diener. 1982. Etiology of Planta Macho aviriod disease of tomato. *Phytopathol.* 72 (1) 49 - 54.
- 240 - Gross, H. J. *et al.* 1982. Nucleotide sequence and secondary structure of CEVd and CSVd. *Eur J. Biochem.* 121 (2): 249 - 258.
- 241 - Haseloff, J. *et al.* 1982. Viroid RNA of cadang - cadang disease of coconut. *Nature* (London) 229 (2881). 316 - 321.

- 242 - Momma, T. and T. Takahashi. 1982. Ultrastructural of hop stunt viroid - infected leaf tissue. *Phytopath. Z.* 104 (3): 211 - 221.
- 243 - Mohammed A. R. *et al.* 1982. Characterization of the different electrophoretic forms of the cadang - cadang Viroid. *J. Gen. Virol.* 63 (1): 181 - 188.
- 244 - Mosch, W. H. *et al.* 1982. Development of a standered method for detection of PSTVd in potato plants. *NETH J PLANT PATHOL.* 88 (3): 113 - 122.
- 245 - Naddi, Z. E. *et al.* 1982. Studies of the viroid of exocortis diseases in citrus plants. *Izv. Timiryazen S-KH AKAD O* (4): 187 - 189.
- 246 - Ohno, T. *et al.* 1982. purification and characterization of hop stunt viroid. *Virology.* 118 (1): 54 - 63.
- 247 - Owens, R. A and T. O. Diener. 1982. RNA intermediates in PSTVd replication. *Proc Natl Acad Sci USA* 79 (1): 113 - 117.
- 248 - Rohde, W. 1982. Affinity chromatography of viroid RNA. *Arch Virol* 71 (2): 169 - 176.
- 249 - Yoshikawa, N. and T. Takahashi. 1982. Purification of hop stunt viroid. *Ann Phytopathol Soc. JPN* 48 (2): 182 - 191.
- 250 - Zelcer, A. *et al.* 1982. PSTVd infected tissues contain RNA complementary to the entire viroid. *J Gen Virol* 59 (1): 139 - 148.
- 251 - Zelazny, B. and E. Pacumbaba. 1982. Incidence of cadang - cadang disease of coconut palm in Philippins. *Plant Dis* 66 (7): 547 - 549.

أبحاث سنة ١٩٨١

- 252 - Boccoardo, G. *et al.* 1981. Tinangaja and bristle top coconut disease of uncertain etiology in Guam. *Phytopathology* 71 (10): 1104 - 1107.

- 253 - DA GRACA, J. V. and M. M. Martin. 1981. Ultrastructural changes in avocado leaf tissue infected with avocado sunblotch viroid. *Phytopathol Z* 102 (3/4): 185 - 194.
- 254 - Diener, T. O. 1981. Viroids: Minimal biological system: *Biosciences* 31 (1): 38 - 44.
- 255 - Dickson, E. 1981. A model for the involvement of viroids in RNA splicing. *Virology* 115 (1): 216 - 221.
- 256 - Klotz, G. and H. L. Saenger. 1981. Electron microscopic evidence for viroid conformers. *Eur J. Cell Biol.* 25 (1): 5 - 7.
- 257 - Imperial, J. *et al.* 1981. Variation in the viroid - like RNA associated with cadang - cadang disease. *J. Gen Virol.* 56 (1): 77 - 86.
- 258 - Owens, R. and T. O. Diener. 1981. Sensitive and rapid diagnosis of PSTVd disease by nucleic acid hybridization. *Science* (Wash - Dc) 213 (4508) : 670 - 672.
- 259 - Palukaitis, P. *et al.* 1981. Rapid indexing of the sunblotch disease of avocado using a complementary DNA probe to avocado sunblotch viroid. *Ann Appl Biol:* 98 (3): 439 - 450.
- 260 - Sano, T., M. Sasaki and E. Shikata. 1981. Comparative studies on hop stunt viroid, cucumber pale fruit viroid and PSTVd. *Ann. Phytopathol. Soc. JAP.* 47 (5) 599 - 605.
- 261 - Walter, B. 1981. A viroid on tomato in west Africa. Identity with PSTVd. *CR Seances Acad Sci Ser III Sci* 292 (8): 537 - 542.

أبحاث سنة ١٩٨٠ وما قبلها

- 262 - Hari, V. 1980. Ultrastructure of potato spindle tuber viroid-infected tomato leaf tissue. *Phytopathology.* 70 (5): 385 - 387.

- 263 - Harris, P. S. and I. A. Browning. 1980. The effects of temperature and light on the symptom expression and viroid concentration in tomato of a severe strain of PSTVd. *Potato Res.* 23 (1): 85 - 94.
- 264 - Mohamed, N. A. and W. Tomas. 1980. Viroid - like properties of an RNA species associated with the sunblotch disease of avocado. *J. Gen Virol.* 46 : 157 - 168.
- 265 - Palukaitis, P. and R. H. Symons. 1980. Purification and characterization of the circular and linear forms of chrysanthemum stunt viroid. *J. Gen Virol* 46 (2) 477 - 490.
- 266 - Semancik, J. S. and P. R. Desjardins. 1980. Multiple small RNA species and the viroid hypothesis for the sunblotch disease of avocado. *Virology.* 104 (1): 117 - 121.
- 267 - Silvergate, A. F. *et al.* 1980. Reduction of pith maceration by *Erwinia chrysanthemi* in chrysanthemum cuttings infected with CSVd. *Phytopathol.* 70 (2): 135 - 139.
- 268 - Takahashi, T. and H. Takusari. 1980. Some factors affecting mechanical transmission of hop stunt disease agent. *Phytopathol. Z.* 96 (4): 352 - 360.
- 269 - Velasco, J. R., A. S. Lansangan and E. Canapi. 1980. Island, Philippines: observations on coconut cadang - cadang. *Philipp. J coconut Stud.* 5 (1): 11 - 16.
- 270 - Wahn, K. F. and H. L. Saenger. 1980. Cytopathic changes in leaf tissue of *Gynura aurantiacae* infected with the viroid of citrus exocortis. *J. Gen Virol* 49 (2): 355 - 366.
- 271 - Palukaitis, P. *et al.* 1979. characterization of a viroid associated with avocado sunblotch disease. *Virology* 99 (1) : 145 - 151.

- 272 - ——— , ———1979. Hybridization analysis of chrysanthemum stunt viroid with complementary DNA and the quantitation of viroid RNA sequences in extracts of infected plants *Virology* 98 (1): 238 - 245.
- 273 - Riesner, D. *et al.* 1979. Structure and structure formation of viroids. *J. Mol Biol.* 133 (1) 85 - 116.
- 274 - Niblett, C. L. *et al.* 1978. Cross protection among four viroids. *Virology* 91 (1): 198 - 203.
- 275 - Sasaki, M. and E. Shikata. 1978. Studies on hop stunt disease : 2 properties of the causel agent, a viroid. *Rep Res Lab Kirin Brew Co LTD.* 0 (21): 41 - 48.
- 276 - ——— ———1978. Studies on hop stunt disease : 2 properties of a viroid. *Ann Phytopathol Soc. JPN.* 44 (5): 570 - 577.
- 277 - Schumann, G. L. *et al.* 1978. Comparison of tomato bioassay and slab gel electrophoresis for detection of PSTVd in potato. *Phytopathol.* 68 (9): 1256 - 1259.
- 278 - Semancik, J. S., L. K. Grill and E. L. Civerolo. 1978. Accumulation of viroid RNA in tumor cell after double infection by *A. tumefaciens* and citrus exocortis viroid. *Phytopath.* 68 (9): 1288 - 1292.
- 279 - Singh, R. P. and R. E. Williams. 1978. PSTVd: Circular dichroism spectrum and physical chemical studies of its interaction with ethidium bromide. *Can J. Biochem* 56 (10) : 934 - 938.

رقم الإيداع
١٩٩٦ / ٥٥٧٥