

عزل وتشخيص فايروس *Oryctes like-virus* من يرقات حفار عدوق النخيل (*Coleoptera: Dynastidae*) *Oryctes elegans* لأول مرة في العراق

حسام الدين عبد الله محمد صالح / ابراهيم جدوع الجبوري
جامعة بغداد / كلية الزراعة / قسم وقاية النبات

المستخلص :

جمعت 13 يرقة من يرقات حفار عدوق النخيل *Oryctes elegans* ظهرت عليها أعراض الإصابة بالفايروس التي تمثلت ببطء حركتها وتوقفها عن التغذية وظهور بقع بيضاء تحت الجلد وبالتالي كبر حجم البطن وتحول اليرقة الى سائل شفاف رائق ابيض طباشيري ومن ثم موت اليرقات. جنست اليرقات بالماء المقطر والمحلول الدارئ واجريت عليها عمليات انتباز مختلفة لعزل الفايروس استخدم المجهر الإلكتروني النافذ لتصوير الفايروس.

المقدمة :

تعد حفارات النخيل من الآفات المهمة التي تسبب اضراراً كبيرة بالنخيل حيث تحفر البالغات واليرقات في أنسجة الجذع والكرب والقلب مسببة تلف النسيج نتيجة تغذيتها عليه او نقل مسببات الأمراض خاصة الفطرية منها (الجبوري 2001 ، غالي 2001) سجل الفايروس *Oryctes like-virus* لأول مرة في ماليزيا من قبل Huger (1966) ثم عزل في الفليبين واندونيسيا وجزر سومطره من يرقات حفار النخيل الهندي *O. rhinoceros* في حين عزله Hunter -Fujita (1966) وأخرون (8199) من يرقات وبالغات حشرات *O. boas* و *O. rhinoceros smonoceros* التي تصيب أشجار نخيل الزيت وجوز الهند في جنوب شرق آسيا وافريقيا وفي منطقة صلالة في عمان. أشار Payne (1982) ان الفايروس يمكن ان يستخدم في المقاومة الإحيائية الكلاسيكية عن طريق نشر الحشرات البالغة المصابة. يصيب الفايروس انوية الأجسام الدهنية لليرقات وخلايا الطبقة الطلائية للمعدة الوسطى وعزل من جدران المبايض وأغلفة البيض والجدران الداخلية للحافظة المنوية لذا فإنه ينتقل الفايروس عن طريق البراز. البالغات المصابة تموت اسرع من البالغات السليمة حيث تتوقف الإناث عن وضع البيض بعد الإصابة بالفايروس بأسبوع (Payne 1982, Marmorsch 1985). ذكر Kenneth (1976) أن الأجسام الضمنية IBs (Inclusion Bodies) توجد باليرقات فقط ويوجد الفيروس بنمطين كروي وعصوي، الكروي كبير الحجم بابعاد 200×70 ملي مايكرون وأشار Bedford (1973) بان استخدام فايروس *Oryctes virus* بالحقل ناجح في مكافحة الحشرات احيائياً. بينما ذكر (1973, 1977) Zelazny أن الذكر يصاب اكثر من الأنثى بالفايروس وعند الإصابة تتوقف البالغات عن التغذية وتقل مرات التزاوج ومن الممكن أن يبقى الفايروس بالبيئة بعد نشره لمدة خمسة سنوات مما يؤدي الى قلة كثافة الحشرات في بساتين النخيل. وذكر Roger-Hull واخرون (1985) أن إصابة معدة البالغات بالفايروس تجعله يخرج بكميات كبيرة مع البراز مما يعرض الحشرات السليمة للإصابة به وان وجود الأجسام الضمنية IBs تجعل الفايروس من الممكن استخدامه كعامل بالمكافحة الإحيائية. أما Lawrence واخرون (2000) فلقد ذكروا بان البالغات هي أول من يقوم بنشر الإصابة الى الحشرات السليمة ومن الممكن رش الفايروس كمبيد أحيائي داخل قلب النخلة واستخدمت البالغات المصابة بنجاح في مكافحة ونشر الفايروس في أشجار النخيل وبالنظر لأهمية مكافحة المكروبية ضمن خطط برامج الإدارة المتكاملة ولقلة المتوفر من المعلومات عنها في برامج مكافحة آفات النخيل فلقد وضعت خطة لمسح الأعداء الحيوية في بيئات النخيل كجزء من عمل البرنامج الوطني لتكثير وتحسين زراعة النخيل ولذا ينفذ هذا البحث.

المواد وطرائق العمل :

جمعت 13 يرقة مصابة من يرقات حفار عدوق النخيل *Oryctes elegans* ظهرت عليها أعراض غير طبيعية تمثلت ببطء حركتها وتوقفها عن التغذية وظهور بقع بيضاء متفرقة تحت الجلد وبالتالي كبر حجم البطن وتحول اليرقة كلها الى سائل شفاف رائق واخيراً يتحول اللون الى ابيض طباشيري وتموت اليرقة أخيراً. أجريت عدوى صناعية بمسحوق اليرقات الميتة للغذاء الصناعي لليرقات المتكون من مسحوق ليف وكرب النخيل وضعت عليه يرقات سليمة فحصت يوماً لحين ظهور الأعراض الموصوفة أعلاه عليها. جمعت هذه اليرقات واستخدمت طريقة Hunter-Fujita (1998) في عزل وتنقية الفايروس مع بعض التحويرات البسيطة وكما يأتي:

1. جنست اليرقات بخلاط كهربائي ذو ثلاث سرعات مختلفة مع إضافة 50مل ماء مقطر و 20مل محلول دارئ فوسفاتي (pbs) phosphate buffered saline
2. رشح المحلول من خلال قطن ومن ثم قماش موسلين للتخلص من الأجسام الكبيرة ورشح المحلول من خلال ورق ترشيح Wattman No.:1
3. ترك المحلول بالتلاجة لليوم التالي، اخذ المعلق واهمل الراسب واجريت على المحلول عملية انتباز بواسطة جهاز طرد مركزي تحت سرعة 2000 دورة /دقيقة ولمدة عشرة دقائق.
4. اخذ المعلق واهمل الراسب واضيف للمحلول ماء مقطر 20مل مع 10مل من دارئ فوسفاتي واجريت عملية انتباز بسرعة 5000 دورة /دقيقة لمدة نصف ساعة أهمل الراشح واخذت الحبة Pellet
5. اضيف للحبة 20مل ماء مقطر و10مل محلول دارئ فوسفاتي واعيدت عملية الانتباز مرة اخرى بسرعة 6000 دورة/دقيقة ولمدة ساعة واحدة.

6. أخذت الحبة Pellet واهمل الراشح واضيف لها 25مل ماء مقطر و5مل محلول دارى فوسفاتي، أجريت عملية ترشيح للمحلول بتفريغ الضغط وبورق ترشيح ملي بور حجم 0.22. ملي مايكرون حيث يسمح لجسيمات الفايروس بالمرور ولا يسمح لغيرها بالنفاذ.
7. اخذ المحلول واجريت عملية تصوير بالمجهر الالكتروني النافذ وبواسطة التصبيغ السالب باستخدام صبغة الفوسفوتستك اسيد بعدة تكبيرات. أجريت عملية التصوير في وحدة البايولوجي الطبي في كلية طب صدام /جامعة صدام الطبية / بغداد.

النتائج والمناقشة :

ظهرت نتائج العدوى بالفيروس على اليرقات بعد 11 يوم وبعد إجراء عملية التصوير بالمجهر الإلكتروني جسيمات الفايروس - *Oryctes like virus* شكل (1,2) وعند مقارنتها مع ما وجدته Lawrence (2000) شكل (3) تبين أنها نفس جسيمات الفايروس حيث تبدو بأنها تأخذ شكل بيضوي متطاوول كما يظهر الحامض النووي على شكل حلزون داخل جسيمة الفايروس. يعتبر تسجيل الفايروس على حشرة حفار عذق النخيل لأول مرة في العراق بداية لاكتشاف مجموعة مسببات مرضية على واحدة من أهم حشرات النخيل وان استثمار هذا المسبب المرضي في مجال مكافحة الحيوية يعتبر خطوة لتحقيق برنامج إدارة متكامل لأفات النخيل.

شكر وتقدير :

يتقدم الباحثان بوافر الشكر والتقدير للسيد المدير التنفيذي للبرنامج الوطني لتكثير وتحسين زراعة النخيل / الدكتور فرعون احمد حسين على دعمه لانجاز البحث.

المصادر :

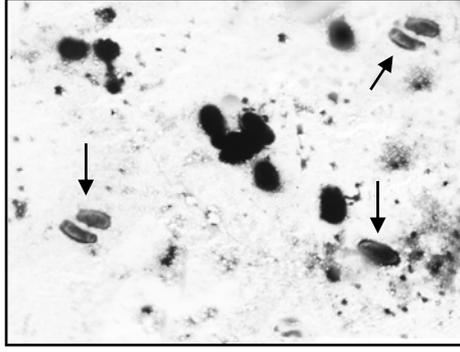
1. الجبوري، ابراهيم جدوع و صبا جعفر صالح 2001. اول تسجيل لنيماتودا طفيلية على حفار ساق النخيل ذو القرون الطويلة وحفار عذق النخيل في العراق، مجلة البصرة لأبحاث نخلة التمر، المجلد 1، العدد1، ص35-45.
2. غالي، فائز عبد الصاحب 2001. تدهور النخيل المتسبب عن الفطر *Chlara paradaxa* ظروف الإصابة والمقاومة. أطروحة دكتوراه – جامعة بغداد – كلية الزراعة – عدد الصفحات 111.
3. Bedford G. O. 1973. Experiments with the virus Rhabdionvirus *Oryctes* against the coconut palm rhinoceros beetles *Oryctes rhinoceros* and *Scapanes australis grossepunctatus* in New Guinea J. Inver. Path. 22:70-74.
4. David, B. S. 1997. Biological techniques, a series of practical guide to new methods in modern Biology. Academic Press, pp.409
5. Huger, A.M. 1966. A virus disease of Indian rhinoceros beetle *Oryctes rhinoceros* (L) caused by new type of insect virus Rhabdionvirus *Oryctes*, gen.n.sp.n. J. Insect Path.8:38-51.
6. Hunter-Fujita, F. R.. Entwistle & H. F. Evans & N. E. Crook. 1998. Insect viruses and pest management. John Wiley & Sons pp. 620.
7. Kenneth, M. S. 1976. Virus – insect relationship. Longman, London, and New York, PP. 291.
8. Lawrence, A. L. & H. K. Kaya 2000. Field manual of techniques in invertebrate pathology. Kluwer Academic Publishers, PP. 991.
9. Marmmorsch, K. 1985. Viral insecticide for biological control. Academic Press, pp. 809.
10. Payne C. C. 1982. Insect virus as control agent. Parasitology 84: 35-77.
11. Roger-Hull, F. B., & C. Payne 1985. Virology directory and dictionary and animal bacterial and plant viruses. Macmillan Reference Books, PP. 325.
12. Zelazny, B. 1973. Studies on Rhabdionvirus *Oryctes*” Effect on adults of *Oryctes rhinoceros*. J. Inver. Path. 22, 122-126.
13. Zelazny, B. 1977. *Oryctes rhinoceros* population and behavior influenced by a Buculovirus ,J. Inver. Path. 29, 210-215.

**NEW RECORD OF *ORYCTES LIKE VIRUS* FROM DATE PALM FRUIT STALK BORER
ORYCTES ELEGANS FROM IRAQ
Basra Date Palm Research Journal Vol.1, No.2 (2001)**

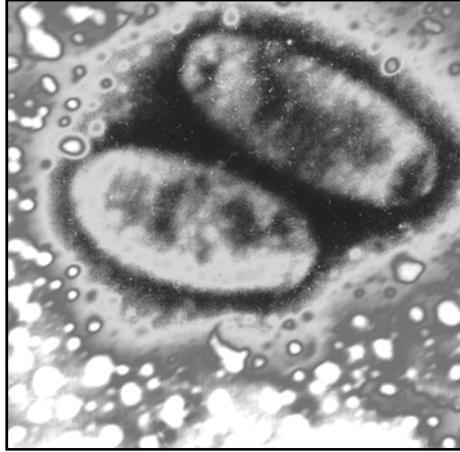
**Hussam Eldeen A.M.Salieh / Ibrahim J. AL-Jboory
University of Baghdad / College of Agriculture / Plant Protection Department**

Abstract:

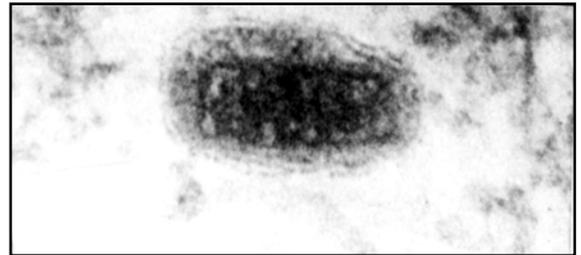
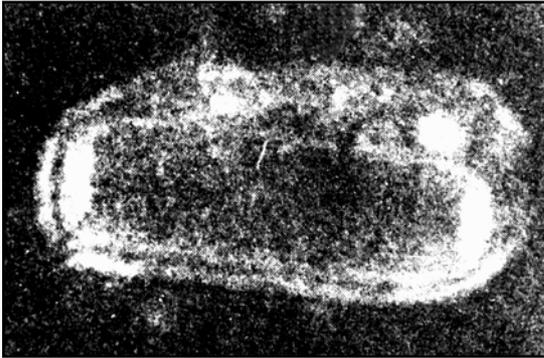
Thirteen larvae of date palm fruit stalk borer *Oryctes elegans*, which showed viral infection symptoms (slow movement, feeding stoppage, appearance of white spots on the larva body which leads to larvae death) have been taken to the laboratory. The larvae were homogenized with water and buffer solution and different centrifugation processes have been done to isolate virus molecules. The virus photographed by using a transmission electron microscope.



شكل (1): جسيمات الفايروس صورت بالمجهر الالكتروني النافذ (تكبير 7000 مرة)



شكل(2): جسيمات الفايروس بالمجهر الالكتروني النافذ (تكبير 131000 مرة)



شكل (3): صورة بالمجهر الالكتروني لجسم الفايروس (تكبير 135000 مرة، 200000 مرة) عن Lawrence (2000)