EGYPTE - Virologie

Lutte biologique par entomovirus contre les ravageurs majeurs du maïs et de la pomme de terre.

par Joseph Giannotti, Saïd Abol Ela, Xavier Léry et Pascal Moyal
Laboratoire de Virologie Appliquée
Faculté d'Agriculture-ORSTOM Giza, Le Caire, Egypte.

L'emploi de pesticides chimiques sur les cultures en Egypte s'est considérablement accru au cours des vingt dernières années. Les facteurs ayant favorisé cet accroissement sont la concentration de la surface cultivable (3 millions d'hectares) dans une vallée étroite, l'irrigation garantie toute l'année, une rotation rapide des cultures et leur imbrication continue, l'apparition chez les ravageurs de résistances aux pesticides et l'élimination des ennemis naturels. Ces deux derniers facteurs sont directement responsables de l'expansion des populations de divers ravageurs. Un exemple parmi d'autres, spectaculaire par ses effets, est l'explosion des populations d'aleurodes affaiblissant les cotonniers et provoquant de graves pertes en fibres, et l'extension à 100% du *leaf curl* sur la tomate. Cette maladie virale, typiquement transmise par ces insectes piqueurs et suceurs que sont les aleurodes, se traduit par un rabougrissement prononcé des plantes et une baisse importante de leur rendement, un phénomène qui a de sérieuses répercussions sur l'approvisionnement du marché national.

Les Ministères de l'agriculture, de l'environnement et de la santé sont depuis longtemps alertés et encouragent la recherche de solutions alternatives : utilisation de parasites, de prédateurs, de champignons, de bactéries, de phéromones, destinés à limiter l'usage des pesticides chimiques. L'entomovirologie étant encore embryonnaire en Egypte, les virus sont pratiquement ignorés. Afin de combler cette lacune, trois conditions doivent être remplies : 1) choisir les problématiques cibles en fonction d'impératifs économiques, de santé publique et de protection de l'environnement ; 2) mobiliser les moyens d'étude ; 3) trouver des virus, étudier leur mode d'action, puis choisir des virus candidats à l'emploi et préparer leur utilisation.

La règle est que les virus candidats à la lutte contre les ravageurs locaux soient préférés aux virus importés de régions lointaines ou d'autres continents. On craint en effet que des virus introduits puissent affecter d'autres insectes, ravageurs potentiels ou non, et qu'ils agissent sur des équilibres que l'on n'a pas intérêt à modifier. Mais ceci ne s'applique pas aux ravageurs introduits, rarement accompagnés de leurs antagonistes. Souvent, l'introduction des plus performants d'entre eux est même l'un des objectifs majeurs de la lutte biologique.

Les ravageurs cibles

Ce sont les ravageurs majeurs en Egypte : ils affectent les solanées, les graminées vivrières (maïs) et les cultures industrielles (cotonnier, canne à sucre). Bon nombre d'entre eux sont des foreurs de galeries et posent par conséquent un redoutable défi à la lutte biologique. Il s'agit prinicpalement de :

- *Phthorimaea operculella*, la teigne des solanées, qui attaque tout particulièrement la pomme de terre, les feuillages, les tiges et les tubercules en champ, surtout dans les lieux de stockage.
- *Pectinophora gossypiella*, le ver rose du cotonnier, qui parasite les boutons floraux et les capsules et provoque l'avortement de la formation des fibres.
- *Sesamia cretica*, le ravageur du maïis qui en attaque les tiges.
- Le cortège des ravageurs plus ou moins importants du maïs, qui sont des ennemis majeurs sur d'autres cultures, notamment *Chilo agamemnon* et *Ostrinia nubilalis*.

D'autres sont des défoliateurs tel que *Mythimna loreyi*, rare sur le maïs, mais pouvant présenter un risque pour la culture du riz, et surtout *Spodoptera littoralis*, souvent considéré comme l'ennemi majeur des cultures du fait de son caractère polyphage prononcé.

L'importance de ces ravageurs tient aussi à leur aire de répartition et à leur impact économique sur les cultures dans d'autres régions. Ainsi, *O. nubilalis* est le premier ravageur de maïs en Europe, et *S. cretica* dans les régions circum-méditerranéennes et en Afrique de l'Est. *C. agamemnon* sévit au Moyen-Orient sur la canne à sucre et *M. loreyi* sur diverses graminées d'Afrique et d'Asie.

Fonds Documentaire ORSTOM
010015220
Fonds Documentaire ORSTOM
Cote : B* 15220 Ex : 1

مصر – علم الفيروسات

استخدام الفيروسات الممرضة للحشرات في المكافحة الحيوية ضد الآفات الرئيسة للذرة الصفراء والبطاطا في مصر.

جوزيف جيانوثي و سعيد أبو العلا، و زافير ليري و باسكال مويال. مخبر علم الفيروسات التطبيقي،
كلية الزراعة-اورستوم، الجيزة، القاهرة ، مصر.

تزايد استخدام المبيدات الكيميائية على المزروعات في مصر بشكل كبير خلال السنوات العشرين الأخيرة. والعوامل التي شجعت على هذه الزيادة هي: حصر المساحة الزراعية (ثلاثة ملايين هكتار) في واد ضيق وتوفر الري على مدار العام، وتعاقب سريع للمزروعات وتداخلها المستمر وظهور مقاومة المبيدات عند الآفات والقضاء على الأعداء الطبيعية. إن العاملين الأخريين هما المسؤولان المباشران على انتشار وتوسع مجتمعات الآفات المختلفة. من بين الأمثلة المثيرة على ذلك، هو إنفجار مجتمعات الذباب الأبيض التي تضعف القطن وتؤدي إلى خسائر فادحة في الأليافن كذلك انتشار مرض تجعد الأوراق الفيروسي على كافة أوراق البندورة (١٠٠%) والذي ينتقل عن طريق هذه الحشرات الثاقبة الماصة، وتتجلى أعراض الإصابة بعدم نمو واضح للنبات وقلة الإنتاج هامة، إضافة إلى انخفاض كبير في مردودها مع منعكسات خطيرة في تموين السوق الوطنية.

لقد استنفزت وزارة الزراعة ووزارة البيئة وكذلك وزارة الصحة إمكاناتها منذ زمن بعيد وشجعت البحث عن حلول بديلة: كاستخدام الطفيليات والمفترسات والفطريات والبكتريا والفرمونات بهدف الإقلال من استخدام المبيدات الكيميائية. بما أن علم الفيروسات الحشرية ما زال في مراحله الأولى (التطور الجنيني) في مصر، والفيروسات عملياً مجهولة، فكان لا بد من سد هذه الفجوة وذلك بتنفيذ الشروط الثلاثة التالية :

– اختيار المشاكل الرئيسة وفق المتطلبات الاقتصادية، الصحة العامة وحماية البيئة.

– تعبئة الطرق الدراسية.

– إيجاد الفيروسات، ودراسة طرق عملها، واختيار الفيروسات المرشحة للاستخدام، وتجهيز استخدامها.

والقاعدة العامة هي تفضيل الفيروسات المحلية المرشحة لمكافحة الآفات عن تلك المستوردة من مناطق بعيدة أو من قارات أخرى. في حقيقة الأمر يخشى أن تؤثر الفيروسات المدخلة على حشرات أخرى أو على آفات كامنة أو غير كامنة، وبالتالي أن تؤثر على التوازن الذي لا مصلحة لنا في تغييره. إلاّ أن هذا لا ينطبق على الآفات المدخلة، والتي نادراً ما تكون مضطحبة أعدائها الطبيعية. إن إدخال الأعداء الأكثر فعالية من بينها، غالباً ما يكون من الأهداف الأساسية في مجال المكافحة الحيوية.

الآفات الرئيسة

هي عبارة عن الآفات الهامة في مصر التي تهاجم نباتات الفصيلة الباذنجانية والنجيليات الغذائية (الذرة الصفراء) والمحاصيل الصناعية (القطن، قصب السكر). أغلب هذه الآفات عبارة عن حافرات أنفاق والتي تشكل بالنتيجة تحدٍ حقيقي للمكافحة. وهذه الآفات هي:

- *Phthorimaea operculella* : فراشة درنات البطاطا والتي تهاجم يرقاتها البطاطا بشكل رئيسي، الأوراق والساق وكذلك الدرنات في الحقل والمخزن.

- *Pectinophoora gossypiella* : دودة اللوز القرنفلية والتي تهاجم يرقاتها البراعم الزهرية للقطن والجوزات وتمنع تشكل الألياف.

- *Sesamia cretica* : دودة ساق الذرة، والتي تهاجم يرقاتها ساق الذرة الصفراء.

-هناك مجموعة من الآفات الأخرى الأكثر أو الأقل أهمية على الذرة الصفراء، والتي هي عبارة عن أعداء رئيسة لمحاصيل أخرى مثل : *Ostrinia nubilalis* و *Chilo agamemnon*.

يوجد آفات أخرى عبارة عن معريات أوراق مثل: *Mythimna loreyi* ، وهي حشرة نادرة على الذرة الصفراء إلاّ أنها يمكن أن تحدث أضراراً اقتصادية هامة على الرز.، ونذكر بشكل خاص دودة ورق القطن *Spodoptera littoralis* والتي غالباً ما تذكر كعدو رئيسي للمحاصيل كونها متعددة العوائل.

تكمن أهمية هذه الآفات أيضاً بمكان انتشارها وأثرها الاقتصادي على المحاصيل في مناطق أخرى. تعد دودة الذرة الأوربية *O. nubilalis* الآفة الرئيسة (رقم ١) على الذرة الصفراء في أوروبا، ودودة ساق الذرة *S. cretica* في المناطق المحيطة بالبحر المتوسط وشرق أفريقيا.

Les connaissances acquises sur ces ravageurs et leur impact concernent donc des zones particulièrement vastes.

Méthodologie d'étude des viroses des ravageurs

Recherche des virus

Les maladies sont détectées de différentes façons sur les larves des ravageurs :
- au champ, lors de l'échantillonnage;
- au laboratoire pendant la période de quarantaine;
- par la reproduction, sur des larves saines, des maladies observées;
- par infection expérimentale avec des vins à large spectre d'hôtes, tel le virus de la polyédrose nucléaire d'*Autographa californica* VPNAc;

Les virus sont mis en évidence selon plusieurs méthodes :
- par ultracentrifugation et mesure de l'absorption U.V. au spectrophotomètre;
- par examen au microscope électronique des suspensions purifiées et des coupes ultrafines de tissus de larves malades;
- par examen en ultrastructure de coupes ultrafines;

Etudes in vitro

- Mise au point des cultures et lignées cellulaires permissives aux virus.
- Réalisation de clonages viraux.
- Cytopathologie ultrastructuale.

Etude des virus

- Morphologie et ultrastructure.
- Analyse des protéines capsidaires en gel de polyacrylamide.
- Détermination de la nature de l'acide nucléique viral.
- Analyses de l'ADN par profils de restriction en gel d'agarose.
- Tests de pathologie *in vivo* et *in vitro*.

Etudes d'épidémiologie naturelle
- Tests ELISA et sondes nucléiques pour l'étude de la prévalence virale.

Etudes d'épidémiologie expérimentale
- Impact des bio-insecticides viraux sur la dynamique des populations.
- Impact sur les rendements des récoltes.

Résultats

Recherche des virus

Différents virus pathogènes sont observés.

a) Des baculovirus candidats potentiels à la lutte virologique :
- des granuloses chez *S. cretica S. littoralis*. Les larves malades sont peu mobiles, de couleur blanchâtre. Bien que les granules remplissent les cellules, ils sont difficilement identifiables en microscopie photonique.
- un virus de polyédrose nucléaire chez *P. gossypiella*. Les larves sont gonflées, blanchâtres. Les polyèdres sont aisément observables au contraste de phase.

b) Des virus libres, candidats en attente de label pour la lutte biologique :
- des picornavirus chez *S. cretica*, *P. gossypiella* et *P. operculella* (*Taha com. pers.*). Les larves sont sectoriellement dilatées et tardivement paralysées.
- un densovirus chez le ravageur secondaire *M. loreyi*.
- un bunyavirus chez *S. littoralis*, type viral jusqu'alors inconnu chez les invertébrés.

Par contre, pas de nouveau virus chez *P. operculella*, *O. nubilalis* et *C. agamemnon*.

Infections expérimentales

Les virus pathogènes d'insectes sont réputés à spectre d'hôte particulièrement étroit, ce qui délimite leur intérêt en lutte biologique. Toutefois, l'une des exceptions remarquables est le virus de polyédrose nucléaire d'Autographa californica VPNAc, capable de se multiplier chez plusieurs dizaines d'insectes appartenant à 11 familles de lépidoptères. Ce virus est inoculé *per os* à quatre des ravageurs cibles :
- *S. littoralis* : absence de multiplication quelle que soit la dose (*Taha com. pers.*). Ceci est conforme aux données de la littérature.
- *S. cretica* : forte multiplication avec cessation d'activité et mort rapide.
- *P. gossypiella* : multiplication et mort. A cette occasion, il est démontré que la polyédrose nucléaire découverte au laboratoire sur ce ravageur est un variant de VPNAc.
- *P. operculella*: une discrète pathogénie post-natale aux 1er et 2ème stades larvaires est notée, après que des études *in vitro* aient montré la capacité du virus à se multiplier sur les lignées cellulaires issues du ravageur.

Choix des modèles et lutte virologique

Le choix est guidé par les moyens financiers et en personnels disponibles et par les objectifs de protection de la santé et de l'environnement. C'est pourquoi les travaux se limitent à deux opérations.

Pour la première, la lutte contre la sésamie du maïs environnée d'un complexe de ravageurs secondaires (Fig.1). Pour la seconde, il s'agit de viser la lutte contre la teigne de la pomme de terre dans les stockages (Fig.2).

La sésamie du maïs

S. cretica détruit de mai à juin les jeunes plants et se maintient ensuite à des niveaux réduits de population.

تنتشر دودة الساق *C. agamemnon* في بلدان الشرق الأوسط وتهاجم قصب السكر، أمّا يرقات *M. loreyi* فإنها تـهاجم النباتـات النجيليـة المختلفة في أفريقيا وآسيا. وهكذا فإن المعلومات المتوفرة عـن هـذه الآفات وآثارها الضارة تضم مناطق واسعة.

طرائق دراسة الفيروسات الممرضة للحشرات

البحث عن الفيروسات

تم الكشف عن الأمراض بطرق مختلفة على يرقات الحشرات:

- في الحقل، أثناء أخذ العينات.
- في المختبر، خلال فترة العزل الإجبارية.
- بطريقة التكاثر على يرقات سليمة أو الأمراض المشاهدة.
- عن طريق العدوى التجريبية بوساطة فيروسـات واسـعة الطيـف العوائلي، مثل الفيروس الموشوري الـذي يصيـب النـواة لحشـرة *Autographa californica.* (VPNAc)

تم التأكد من الفيروسات بطرائق متعددة:

- عن طريق التثفيل عالي السرعة وقياس امتصـاص الأشعـة فـوق البنفسجية (UV) بوساطة جهاز الطيف الضوئي.
- عن طريق الفحص بالمجهر الإلكتروني الماسح للمعلقـات المنقـاة ودراسة المقاطع الدقيقة لنسيج اليرقات المريضة.
- عن طريق الفحص فوق البنيوي للمقاطع الدقيقة.

الدراسات المخبرية الأنبوبية (في الزجاج)

- تجهيز زراعات لسلالات خلوية تسمح للفيروسات بإصابتها.
- تحقيق أو تأمين نسيلات فيروسية.
- دراسة مرضية خلوية فوق بنيوية.

دراسة الفيروسات

- دراسة مورفولوجية وفوق بنيوية.
- تحليل البروتينات للغلاف البروتيني للفيروس فـي الـهلام متعـدد الإيكريلاميد.
- تحديد طبيعة الحمض النووي الفيروسي.
- تحليل الـ DNA بوساطة حصره جانباً بهلام الاكاروز.
- تجارب مَرَضية على النسج الحية (وفي الحي) وفي المختـبر (فـي الزجاج).

دراسات الوبائية الطبيعية

- تجارب الاليزا والقطاعات النووية لدراسة التركيب الفيروسي.

دراسات الوبائية التجريبية

- تأثير المبيدات الحيوية الفيروسـية علـى ديناميكيـة المجتمعـات الحشرية.
- تأثيرها على مردود المحاصيل.

النتائج

البحث عن الفيروسات

تم ملاحظة العديد من الفيروسات الممرضة والمختلفة.

آ- الفيروسات العصوية القادرة والمهيأة للمكافحة الفيروسية:

- الفيروسات الحبيبيـة لـدى حشـرات *S. Cretica* (5) و *S. Littoralis* (1). تكون اليرقات المريضة قليلـة الحركـة ذات لـون ضارب إلى الأبيض. وبالرغم من أن الحبيبات تملأ الخلايـا، إلاّ أنـها صعبة التمييز بالمجهر الضوئي العادي.

الفيروسات الموشورية أو متعـددة السـطوح (Polyédrose) التـي تصيب النواة لدى حشرة *P. gossypiella* (، تكون اليرقات منتفخة وضاربة إلى اللون الأبيض. إن الفيروسات الموشورية سهلة الملاحظة بالمجهر العادي وذلك بسبب تباين الأطوار.

ب- الفيروسات الحرة المهيأة بانتظار العلامـة التجاريـة مـن أجـل المكافحة البيولوجية:

فيروسات *Picornavirus* لـدى حشـرة *P. gossypiella* (15) و *P.Operculella* (طه مراسلات شخصيـة). *S. cretica* (4) وتتميز اليرقات المصابة بكون جسمها على هيئة قطاعات منتفخة وتشل فيما بعد.

فيروسات (*Densovirus*) : لدى الحشرة الثانوية *M. Loreyi* (6).

فيروسات (*Bunyavirus*) لـدى حشـرة *S. Littoralis* (2) هـذا النموذج الفيروسي غير معروف حتى الآن لدى اللافقاريات، بالمقابل لا يوجد فيروسـات جديـدة لـدى يرقـات *P. Operculella* و *O. Nubilalis* و *C. agamemnon*

العدوى التجريبية

تعرف الفيروسات الممرضة للحشرات بمهاجمتها لعـدد محـدود مـن العوائل، وهذا ما يقلل من أهميتها في مجال المكافحة الحيوية، ومع ذلك فإن الفيروس الموشوري الذي يصيب النواة لدى حشرة *autographa californica.* VPNAc والتي لها القدرة على التكـاثر علـى عـدة عشرات من الحشرات التابعة لإحدى عشرة فصيلة تابعة لرتبة حرشفية الأجنحة يمثل أحد الاستثناءات الواضحة.

وقد تم عدوى أربعة أنواع حشرية هامة بهذا الفيروس هي:

S. Littoralis : لم يتم التكاثر مهما كانت الجرعة المسـتخدمة (طـه مراسلات شخصية) وهذا يتفق والمعطيات المرجعية.

S. cretica : لوحظ تكاثر قوي للفيروس مع توقف نشاط اليرقات ومن ثم موت سريع (18).

P. gossypiella : لوحظ تكاثر للفيروس ومن ثـم مـوت اليرقـات. وجدير بالذكر فقد تبين بأن الفيروس الموشوري الذي يصيب النواة تم

Figure 1 : Attaque de S. cretica sur le maïs. A gauche, plante attaquée. A droite, plante non attaquée. Noter les dégâts foliaires et la déformation du cornet.

الشكل١ : أعراض الإصابة بـــدودة ساق الذرة S. Cretica علـــى الـــذرة الصفراء.

Mais un autre foreur, *O. nubilalis*, attaque les plants plus âgés du deuxième cycle de culture. Il peut lui-même être à l'origine de dégâts importants, mais moins spectaculaires. Il faut aussi compter sur la présence du ravageur épisodique *C. agamemnon*, qui est le ravageur dominant sur la canne à sucre, et constitue de ce fait un réservoir considérable. On peut dès lors se demander si en luttant contre S. cretica, on ne favorise pas de quelque manière les ravageurs secondaires. Il faut donc utiliser un virus hautement spécifique contre la cible prioritaire, ce qui est le cas pour la granulose de *S. cretica* et qui n'affecte pas les ravageurs secondaires du maïs.

Parallèlement, étant donné la haute pathogénie du virus à tous les stades du développement larvaire, une évaluation de principe de l'utilisation de la granulose en champ est entreprise. La granulose nécessaire aux essais est produite sur larves.

Les premiers essais sont entrepris dans une zone du delta du Nil à Kafr-El-Sheikh, où la sésamie se montre dangereuse. Le dispositif expérimental comprend trois blocs de quinze parcelles ayant chacune une surface de 1/100ème de *feddan* (6 x 7 m, soit 42 m²). Chacun des blocs est traité soit au bio-insecticide, soit aux insecticides chimiques méthomyl et monocrotophos, ou bien n'est pas traité . L'insecticide viral est une suspension pure de granules dans l'eau comprenant 10 % de mélasse qui favorise l'adhésion du virus tout en constituant un appétent pour les jeunes larves. La solution d'emploi contient 0,1 gramme de granules par litre. Elle est pulvérisée sur chaque parcelle à raison de 1,25 litre en première application et 2,5 litres en deuxième application en deux séries de traitements espacées de 15 jours en mai-juin. L'analyse des résultats montre que l'action du bio-insecticide viral déprime les populations de *S. cretica* et élève le rendement sans toutefois atteindre le niveau de protection réalisé par les insecticides.

Les travaux d'évaluation de l'efficacité de la granulose de *S. cretica* se poursuivent en 1997 dans la même zone que celle désignée plus haut. Le dispositif expérimental est composé de parcelles de 8 x 16,1 m. Ces parcelles composent des blocs distribués au hasard selon sept répétitions. L'insecticide est le méthomyl à 640 g de matière active par hectare et le bio-insecticide viral est, comme ci-dessus, une solution aqueuse de granules à laquelle est ajoutée de la mélasse. Cinq traitements sont réalisés : un avec l'insecticide, trois avec le bio-insecticide viral à 60 g, 120 g, 300 g de granules par hectare, et un de contrôle. Chaque traitement comprend deux pulvérisations réalisées à trois et cinq semaines après le semis. Les résultats sont soumis à l'analyse de la variance au test de Newman-Keuls. Cette analyse statistique montre que :

- la population de *S. cretica* est significativement diminuée d'environ 70 % par rapport au témoin. Cette réduction de la population intervient une semaine après l'application du virus;
- le virus s'avère aussi efficace que les traitements insecticides;
- cette efficacité est indépendante des doses utilisées. Mais les doses étant très fortes dans les deux séries d'essais, une marge de réduction reste possible. Elle commande l'avenir d'un éventuel bio-insecticide à base de granulovirus. Cependant, ce n'est pas le seul facteur qui permettra de réaliser un bio-insecticide économiquement rentable. En effet, il reste à remplir plusieurs autres conditions qui sont:
- élevages de masse et production du virus à un coût acceptable : compte tenu des grandes difficultés d'élevage de masse d'un insecte foreur sur maïs, la mise au point d'un élevage sur un milieu semi-artificiel est une condition incontournable;
- analyse clonale des populations virales et identification des clones performants : ceci implique la mise au point de cultures et lignées cellulaires permissives et sensibles au virus;
- tests normalisés de pathogénie;
- établissement des doses opérationnelles pour l'isolat naturel et le cas échéant pour les clones viraux performants.

Ceci n'est possible que par des recherches fondamentales et appliquées qui sont actuellement mises en œuvre.

La teigne de la pomme de terre

Le problème est ici soulevé par l'usage intensif d'insecticides chimiques lors du stockage d'une denrée alimentaire de première nécessité. Les aspects santé, appétence, contrôle sanitaire à l'exportation commandent une solution biologique alternative.

La stratégie adoptée se développe selon trois directions complémentaires :

La première est la recherche d'une granulose locale, d'une part parce qu'elle serait mieux adaptée aux conditions prévalant en Egypte, mais aussi pour éviter l'importation d'un virus étranger. La teigne de la pomme de terre est d'origine sud-américaine et une granulose l'a suivie dans sa migration cosmopolite dans les pays chauds. Plusieurs isolats sont caractérisés tunisien, australien, yéménite.

La deuxième est la mise au point de l'utilisation du virus en condition d'efficacité compétitive, pour la protection des tubercules stockés en silos industriels ou fermiers,

اكتشافه بالمختبر على هذه الحشـــرة وهـــو مختلـف عـــن الفـــيروس VPNAc (16).

P.Operculella : هو عبارة عن ممرض خفي ما بعد الفقس، لوحـظ في الطورين الأول والثاني (18)، وقد أثبتت الدراسات المخبرية قدرة هذا الفيروس على التكاثر على سلالات خلوية مصدرها يرقـات هـذه الآفة (8) و (13).

اختيار نماذج المكافحة الفيروسية

لقد حدد الخيار حسب الموارد المالية وتوفر الأشخاص، إضافة لأهداف أخرى كحماية البيئة والصحة العامة، لذلك اقتصر العمل على عمليتين فقط:

الأولى: مكافحة دودة ساق الذرة المحاطة بعدد مـــن الآفـــات الثانويـــة (شكل ١).

الثانية: كان الهدف منها مكافحة فراشة درنات البطاطا فـــي المخـــزن (شكل ٢).

دودة ساق الذرة

تقضي حشرة دودة ساق الذرة على النباتات الصغيرة وذلك من شـــهر أيار حتى حزيران ومن ثم تحافظ من جديـد علـى مجتمـع حشـري صغير. إلاّ أنه يوجد حشرة أخرى تحفر الساق هي دودة الذرة الأوربية *O.Nubilalis* والتي تهاجم يرقاتها النباتات الأكبر في المرحلة الثانية للزراعة. ويمكن لهذه الحشرة أن تسبب أضراراً هامة ولكنها أقل شدةً.

كما يجب أن نذكر وجود آفات ثانوية مثل حشـــرة *C. agamemnon* والتي هي الآفة المسيطرة على قصب السكر، وتشكل هنا بؤرة هامـــة للعدوى. ومن الأهمية بمكان أن نتساءل فيما لو قمنا بمكافحة حشرة *S. cretica* ألا نشجّع بطريقة ما الآفات الثانوية، ولذلك يجـب اسـتعمال الفيروسات الأكثر تخصصاً ضد الآفات الرئيسة، كما هو الحال لـــدى الفيروس الحبيبي لحشرة *S. cretica* والذي لا يصيب الآفات الثانويـــة للذرة الصفراء (7 و17).

بالمقابل ونظراً للسمية العالية (الممرضة) للفـيروس لكافـة الأطـوار اليرقية، فقد تم تقدير لمبدأ استخدام الفيروس الحبيبي فـــي الحقـل (7و17). وقد أمكن إنتاج هذا الفيروس الحبيبي، الضروري للتجـــارب على يرقات الحشرات.

تمت التجارب الأولى في منطقة دلتا النيل في كفر الشيخ حيث تنتشـــر حشرة دودة ساق الذرة، وتسبب أضراراً فادحـــة. تتضمـن المواقـع التجريبية ثلاث مجموعات في خمس عشرة قطعة مساحة كـــل منـها ١/١٠٠ من الفدان (٦×٧ أي ما يعادل ٤٢ م٢). رشت كل قطعة إمـــا بمبيـد حشـري حيـوي، أو بمبيـد حشـري كيميـائي ميثوميـــل ومنوكروتوفوس، أما التي لم تعالج (تركت كشاهد). إن المبيد الحشري الفيروسي هو عبارة عن معلق نقي من الحبيبات في الماء يحتوي على ١٠% ميلاس (تفل القصب) الذي يساعد على التصاق الفـيروس مـن جهة، ويشكل مادة مقبلة (فاتحة للشهية) لليرقات الفتية من جهة أخرى. يحتوي المحلول المستخدم على ٠,١غ من الحبيبات في اللتر الواحـــد.

ونقوم برشّه في كل قطعة تجريبية بمعدل ١,٢٥ لتر في الرشة الأولى و ٢,٥ لتر في الرشة الثانية، ونقوم بالرش علـى مرحلتيـن الفـاصل بينهما ١٥ يوماً خلال شهر أيار — حزيران. بعد تحليل النتائج تبين بأن فعل المبيد الحيوي الفيروسي يحد من مجتمعات حشـــرة *S. cretica* ويزيد من الغلّة، دون أن يصل إلى مستوى حماية المحصـــول الـذي تؤمنه المبيدات الحشرية (7).

تُوبعت الأبحاث لتقدير فعالية الفيروس الحبيبـي لحشـــرة *S. cretica* خلال عام ١٩٩٧ في نفس المنطقة التي ذكرناها سابقاً (17). وكانت المواقع التجريبية مؤلفة من قطع كل منها ٨×١٦م، وتشكل هذه القطـع مجموعات موزعة بشكل عشوائي على ســـبع مكـــررات. إن المبيـد الحشري هو ميثوميل بتركيز ٦٤٠غ من المادة الفعالة في الهكتار، أما المبيد الحشري الحيوي الفيروسي فهو كما ذكرناه سابقاً، عبـــارة عـــن محلول معلق من الحبيبات أضيف إليه الميلاس. وتم تطبيـــق خمـس رشّات: رشّة باستخدام المبيد الحشري، ثلاث رشّات باستخدام المبيـــد الحشري الحيوي الفيروســـي بتراكـيز ٦٠غ، ١٢٠غ و٣٠٠غ مـن الحبيبات في الهكتار إضافة إلى الشاهد. تتضمن كـــل معالجـــة علـى رشّتين تطبق بعد ٣–٥ أسابيع من موعد البذار. تـــم تحليـــل النتـائج بوساطة المربع التجريبي لـــ نيومان–كول، وقد بين التحليل الإحصائي النتائج التالية:

انخفض المجتمع الحشري لـــ *S. cretica* بشكل معنوي بحوالي ٧٠% مقارنة مع الشاهد. ويلاحظ هذا الانخفاض للمجتمع الحشري بعد أسبوع من المعاملة بالفيروسات.

أظهرت الفيروسات فعالية كتلك التي نحصل عليها بـالرش بـالمبيدات الحشرية.

كانت هذه الفعالية مستقلة عن الجرعات المستخدمة.

ولكن وبما أن هذه الجرعات عالية في مجموعتي التجارب فإن هنـــاك هامشاً للتخفيض يبقى محتملاً. ويتطلب هذا فـــي المســتقبل اســتخدام مبيدات حشرية حيوية لفيروسات حبيبية.

إلاّ أن هذا ليس هو العامل الوحيد الذي سيســمح باســتخدام المبيـدات الحيوية الحشرية ذات المردودية الاقتصادية، في الحقيقة هنـــاك عـــدة شروط أخرى يجب توفرها هي:

التربية الكتلية وإنتاج الفيروسات بأسعار معقولة: يجب الأخـــذ بعيـن الاعتبار صعوبات التربية الكتلية للحشرات حافرات ساق الذرة، ويعـدّ تأمين تربية هذه الحشرات على وسط غذائي اصطناعي شرطاً أساسياً.

يتطلب التحليل النسيلي لمجتمعات الفيروســات، وتصنيـف النســيلات الفعالة: تأمين وتحقيق زراعة ســـلالات خلويـــة ســـامحة وحساســـة للفيروس.

إجراء تجارب قياسية للممرضات.

إقامة أو إجراء جرعات عملية للعزلة الطبيعية، وفـــي حـــال الفشـــل للنسيلات الفيروسية الفعالة.

هذا ولا يمكن أن يطبق إلاّ بالبحث العلمي المعمّق والتطبيقي الذي تـــم تحقيقه الآن.

dans des délais aussi courts que possible, en s'appuyant sur les données existantes. De son développement seront issus les questionnements scientifiques et les mises au point technologiques à résoudre.
La troisième est de bien connaître le virus pour être en mesure de le décrire aussi complètement que possible compte tenu des exigences modernes.
Ceci est indispensable pour assurer les bases permettant les progrès d'avenir. Or d'une manière générale, les connaissances sur les granuloses sont très réduites si on les compare à l'autre groupe des baculovirus, les polyédroses nucléaires, dont le modèle-clef, le VPNAc est tout à la fois à la base d'un bio-insecticide à large spectre, et un vecteur d'expression très utilisé en biotechnologie.

a) Recherche d'une granulose égyptienne.

D'une manière générale, la détection des baculovirus bute sur le peu de spécificité des moyens de diagnostic. Malgré cette difficulté, de premières recherches sont entreprises. Ces difficultés tiennent non seulement au fait reconnu que les baculovirus sont plus ou moins reliés entre eux, mais parfois aussi aux tissus de l'hôte, induisant un "bruit de fond". C'est le problème posé par la granulose de la teigne avec les sondes nucléiques dites "totales".
En fait il s'agit de viser deux objectifs :
- détecter spécifiquement la granulose qui serait associée à la teigne en Egypte, tout comme elle l'est dans d'autres pays, notamment méditérranéens;
- détecter la présence éventuelle d'un baculovirus différent.

Deux sondes nucléiques sont mises au point (*Taha com. pers.*) :
- une sonde spécifique ne reconnaissant que la partie propre au génome de la granulose de la teigne;
- une sonde généraliste qui reconnaît la partie commune ou très proche des génomes des baculovirus.

Dans les deux cas, les sondes nucléiques ne se lient pas au génome de l'hôte.
Les teignes sont récoltées dans différentes régions du delta et de la vallée du Nil. Aucun syndrome typique de granulose n'est reconnu ni au champ, ni après élevage au laboratoire. Malgré cette absence de maladies typiques, les sondes sont appliquées sur un grand nombre de larves. Après deux années de recherches intensives en 1994 et 1995, force est de reconnaître qu'aucune granulose ni aucun baculovirus n'ont pu être détectés sur la teigne de la pomme de terre en Egypte. Si elle existe néanmoins, cette granulose est extrèmement rare.

b) Mise en route d'un projet d'application.

Faute d'avoir isolé un virus local, les travaux se reportent sur la souche tunisienne du virus, du fait de sa localisation méditerranéenne. Elle est fournie au laboratoire par le Centre International de la Pomme de terre (CIP) basé à Tunis.

L'objectif visé est le traitement rentable de 10.000 tonnes de tubercules stockés, à l'aide d'un bio-insecticide à base de virus de granulose. Un projet est établi (Abol Ela com. pers.) : c'est le *"Projet de Création d'une Unité Pilote de Production Industrielle du Virus de Granulose de* Phthorimaea operculella". Il est adopté et financé en 1995 par les Fonds de Contre-partie (Ambassade de France - Ministère Egyptien de l'Agriculture).
Il s'agit de :
- déterminer les doses efficaces d'application pour une protection minimale à 90% des tubercules dans les stockages;
- déterminer les doses facilitant la production optimale de la granulose par les larves;
- optimiser les élevages de larves de la teigne sur pomme de terre;
- mettre au point un milieu d'élevage semi-artificiel peu dispendieux pour faciliter la mise en œuvre d'une production industrielle;
- optimiser la production du virus et du bio-insecticide.

c) Détermination de la dose d'application dans les stockages.

Cette dose doit être suffisante pour tuer les larves néonates avant qu'elles n'aient foré la galerie nourricière et protectrice. La première phase est relative à

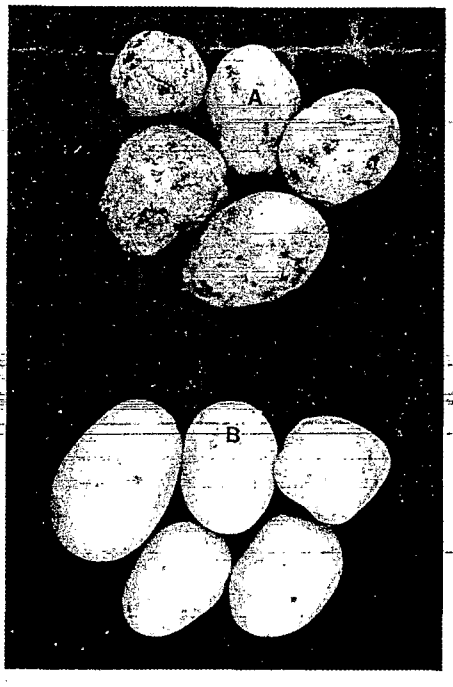


***Figure 2 : Dégâts de la teigne P. operculella** sur des tubercules de pomme de terre (A) comparativement à des tubercules (B) non attaqués.*

الشكل ٢ :
A – أضرار فراشة درنات البطاطا P. Operculella على درنات البطاطا.
B – درنات سليمة

فراشة درنات البطاطا

طرحت هذه المشكلة كضرورة أولى نتيجة للاستخدام الكثيف للمبيدات الحشرية الكيمائية أثناء تخزين المواد الغذائية . . وهناك العديد من المظاهر التي تتطلب حلاً بيولوجياً بديلاً مثل المظاهر الصحية، والرغبات وكذلك المراقبة الصحية أثناء التصدير.

تتطور الاستراتيجية المتبعة وفق ثلاثة محاور متكاملة:

المحور الأول : البحث عن فيروس حبيبي محلي، سيكون الأفضل تأقلماً والظروف المحلية في مصر، بغية تجنب استيراد فيروس من الخارج. إن الموطن الأصلي لفراشة درنات البطاطا هو جنوب أمريكا، واصطحبت معها أثناء هجرتها إلى البلدان الحارة الفيروس الحبيبي، وهناك أكثر من عزلة متميزة من هذا الفيروس: عزلة تونسية وأسترالية ويمنية.

المحور الثاني : استخدام الفيروس في ظروف فعّالة ومنافسة، لحماية درنات البطاطا المخزنة في الصوامع والمخازن الصناعية أو في المزارع، خلال أقصر فترة ممكنة معتمدين على المعطيات المتوفرة. فأثناء دراسة تطور هذه الحشرة تطرح التساؤلات العلمية وكيفية وضع التقنيات اللازمة لإيجاد الحلول المناسبة.

المحور الثالث : المعرفة الجيدة للفيروس، كي نصبح بمستوى لوصفه بشكل كامل قدر المستطاع وهذا ما يتطلبه التطور الحديث.

إنّ ما ذكرناه سابقاً هو من الأمور الضرورية لتأمين القواعد الأساسية اللازمة للتطور والتقدم في المستقبل. والحالة هذه ، فإن المعلومات المتوفرة عن الفيروس الحبيبي ما زالت قليلة بشكل عام إذا ما قورنت مع تلك المتوفرة عن الفيروسات العصوية أو الفيروسات المتشوريّة التي تصيب النواة، والتي من بينها النموذج الرائع VPNAc، والذي يستخدم كأساس للمبيدات الحيوية الفيروسية واسعة الطيف، وكناقل للمعلومات في التكنولوجيا الحيوية.

آ- البحث عن فيروس حبيبي مصري

تشكل النوعية القليلة لطرق التشخيص بشكل عام صعوبة أو عقبة في اكتشاف مجموعة الفيروسات العصوية. ولكن بالرغم من هذه الصعوبة فقد تم إنجاز الأبحاث الأولية (19). ولا تأتي هذه الصعوبات فقط من الحقيقة المعروفة بكون الفيروسات العصوية أكثر أو أقل ارتباطاً بين بعضها، ولكن في بعض الحالات تكون مرتبطة بنسيج العائل، محرضةً تشويشاً داخلياً. وهذه هي المشكلة التي يطرحها الفيروس الحبيبي لفراشة درنات البطاطا مع (المسابر) القطاعات النووية الكلية.

نقصد في الواقع تحقيق هدفين:

الكشف عن الفيروس الحبيبي التخصصي والذي قد يكون مرتبطاً بفراشة درنات البطاطا في مصر، كما هو الحال في بقية البلدان خاصة بلدان البحر المتوسط.

الكشف عن وجود محتمل لفيروس عصوي مختلف.

لقد تم إيضاح قطاعين (مسبرين) نوويين (طه مراسلات شخصية) هما:

قطاع متخصص (نوعي) لا يعرف إلا الجزء الخاص بالجينوم للفيروس الحبيبي لفراشة درنات البطاطا.

قطاع عام يعرف الجزء العام أو الجزء القريب من جينوم الفيروسات الحبيبية لفراشة درنات البطاطا.

وفي الحالتين فإن القطاعين النوويين لا يرتبطان مع جينوم العائل. تم جمع يرقات فراشة درنات البطاطا من مناطق مختلفة في دلتا وادي النيل. ولم نجد أية أعراض نموذجية لمرض الفيروسات الحبيبي سواء في الحقل أو بعد التربية بالمختبر. وعلى الرغم من غياب هذه الأعراض النموذجية، فقد تم فحص وسبر عدد كبير من اليرقات. وبعد عامين من الأبحاث المكثفة في عامي ١٩٩٤-١٩٩٥، للتعرف على هذه الفيروسات، فإنه لم يتم العثور على الفيروسات الحبيبية أو مجموعة الفيروسات العصوية على يرقات فراشة درنات البطاطا في مصر. وفي حال وجودها فإن هذه الفيروسات الحبيبية ستكون نادرة جداً (جيانوتي مراسلات شخصية).

ب) المباشرة بمشروع تطبيقي

نظراً لتعذر الحصول على فيروس محلي، فإن الأعمال تركزت على سلالة تونسية للفيروس، كون تونس من بلدان البحر المتوسط، وقد تم تزويد المختبر بهذه السلالة عن طريق المركز الدولي للبطاطا (CIP) الموجود في تونس.

تهدف التجربة إلى المعالجة الاقتصادية لعشرة آلاف طن من درنات البطاطا المخزّنة، وذلك بمساعدة المبيدات الحيوية المحضرة من فيروسات حبيبية، وقد تم إنجاز هذا المشروع (أبو العلا مراسلات شخصية). والغاية من المشروع هي إنشاء وحدة تجريبية للإنتاج الصناعي للفيروس الحبيبي لفراشة درنات البطاطا *Phthorimaea operculella*. وقد تم تبني هذا المشروع وتمويله عام ١٩٩٥ من قبل السفارة الفرنسية في القاهرة ووزارة الزراعة المصرية. ويهدف هذا المشروع إلى:

تحديد الجرعات الفعالة للرشات لوقاية ٩٠% على الأقل من درنات البطاطا المخزّنة.

تحديد الجرعات المساعدة على الإنتاج الأمثل للفيروس الحبيبي بوساطة يرقات فراشة درنات البطاطا.

تحسين التربية الكتلية ليرقات فراشة درنات البطاطا على البطاطا إلى شكلها الأمثل.

ضبط وسط تربية نصف صناعي قليل التكلفة لتسهيل تنفيذ الإنتاج الصناعي.

تحسين إنتاج الفيروس والمبيد الحشري الحيوي إلى شكله الأمثل.

ج) تحديد الجرعة المناسبة للرش في المخازن

يجب أن تكون الجرعة كافية لقتل اليرقات الفاقسة قبل أن تحفر لنفسها أنفاق التغذية والحماية. الطور الأول تم إنجازه نسبياً في المختبر، وكان تركيز الجرعات الفيروسية في الوسط السائل هو ٠,١% من التريتون × ١٠٠ وهذا ما يؤدي لحماية ٩٠-٩٥ و ١٠٠% لكل كيلو غرام من الدرنات المصابة بـ ١٥٠٠ يرقة، وهذا ما يمثل المجتمع الأعظمي للإصابة. ويمكن أن نبرهن (أو نعبر) بمعادل يرقي (١ يرقة مصابة

l'établissement au laboratoire d'un gradient de doses virales en milieu aqueux à 0,1% de triton X 100 protégeant à hauteur de 90%, 95% et 100% un kilogramme de tubercules infestés par 1.500 larves, ce qui représente la population maximum d'occupation. On raisonne en équivalent larvaire (1 larve virosée = 1 eql), sachant qu'une larve de taille maximale (10 mg) produit en moyenne 2 x 10^{10} granules.

- Pour une protection à 90%, ceci donne 3 eql dans 10 ml pour un kilogramme.
- Pour 95% il faut 5 eql.
- La protection maximale ne peut dépasser 98% et la dose correspondante est alors de 10 eql.
- Au stockage : les pommes de terre viennent des champs où sévit la teigne. Les paramètres de l'infestation sont encore difficiles à évaluer. Actuellement, plusieurs doses testées se situent autour de 5 eql dans 10 ml pour un kilogramme, soit 50 x 106 pour 10.000 tonnes de pommes de terre, ceci pour atteindre une protection de l'ordre de 90%.

Ces doses sont encore trop fortes par rapport à celles recommandées pour l'isolat tunisien, d'autant qu'il faudrait viser 95% de protection et même plus. Il est possible qu'une dérive génique non contrôlée se soit produite depuis son utilisation au laboratoire. On constate en effet, par rapport à l'isolat d'origine et sans qu'une relation de cause à effet puisse être établie, que de légères modifications dans les profils de restriction de l'ADN de l'isolat tunisien sont apparues au cours du temps. Par ailleurs, 90 % de protection signifient déjà 10 % de pertes. Ceci écorne sérieusement la rentabilité.

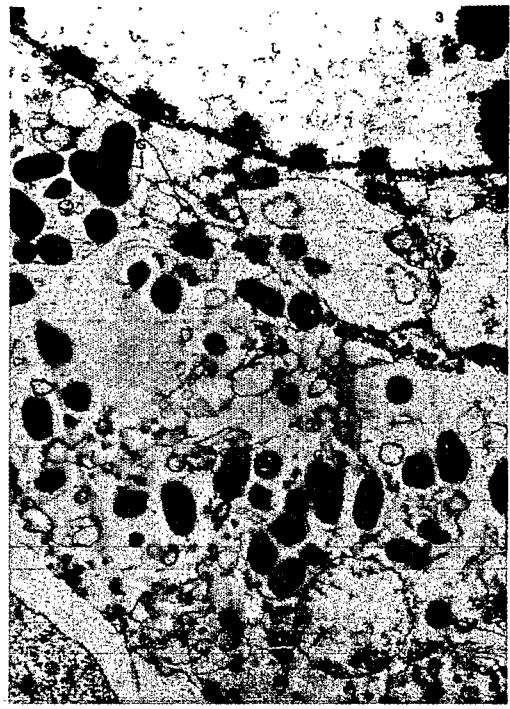


Figure 3 : Multiplication de la granulose de P. operculella en cultures cellulaires. *Présence de nombreux granules chacun incluant un virus. G : granule viral, V: virus. x 30.000.*

الشكل ٣ : التكاثر الفيروسي الحبيبي ليرقات P. Operculella في زراعات خلوية. لاحظ وجود العديد من الحبيبات، كل حبيبة تحتوي على فيروس. G : حبيبة فيروسية - V : فيروس.

d) Production de la granulose.

La deuxième phase consiste à résoudre le problème de la production de la granulose. Ici, la dose doit être ajustée de telle sorte que les larves tendent vers la taille maximale de 10 mg, tout en étant infectées à près de 100%. C'est sans doute la cause de la dérive observée, car la source virale est un isolat que nous savons polyclonal. Ceci est obtenu avec 1 eql pour 2 litres et emploi de 10 ml de la solution pour un kilogramme de pommes de terre calibrées autour de 20-25 g chacune. Mais la perte est très importante car beaucoup de larves malades ne sortent pas spontanément des tubercules. Pour les larves saines, cette sortie est normale lors de la préparation à la nymphose. Les larves malades n'atteindront presque jamais ce stade de développement. Leur sortie se produit lorsque la production du virus qu'elles portent est à son maximum, ce qui assure sa dispersion à la mort de leur hôte. Il y a donc intérêt à ce que cet état concerne au même moment et en même temps le plus grand nombre possible de larves.

Cette sortie est encore conditionnée par le diamètre et le calibrage des tubercules. L'application d'un choc thermique peut également la rendre plus facile. C'est pourquoi des progrès importants sont attendus des élevages en série homogénéisés par l'éclosion des néonates dans un intervalle de temps judicieusement ajusté.

D'autres paramètres font l'objet d'expérimentations : taux optimal d'occupation larvaire des tubercules, récupération des larves malades à grande échelle. Ces dispositions visent la récupération de 75% des larves virosées, soit de 700 à 800 (ou plus) par kg.

Enfin, on escompte de nouveaux progrès dans la réduction des doses grace à des clones viraux isolés en cultures cellulaires plus pathogènes que la population polyclonale de l'isolat tunisien, ou, pourquoi pas, d'un autre isolat. Il faut toutefois observer qu'une haute pathogénie peut rendre la production du clone correspondant plus difficile, soit parce qu'il tue les larves avant qu'elles n'atteignent leur taille maximale, soit qu'il perturbe le comportement de sortie des larves virosées, soit que ces dernières produisent moins de granules.

Isolement des clones viraux en cultures cellulaires

Toute population virale naturelle est polyclonale. Les clones varient dans leurs propriétés, telles que pathogénie, stabilité génique, capacité de recombinaison, capacité à jouer le rôle de vecteur pour du matériel génique étranger.

L'avancement des recherches achoppe sur l'absence de cultures cellulaires permissives aux granuloses, alors que celles-ci sont utilisées de longue date pour les polyédroses nucléaires, au point d'envisager la production de tels virus en fermenteurs industriels. Personne ne comprend la raison de cet échec. En effet, les techniques opérantes pour les polyédroses nucléaires ne sont pas transposables

بالفيروس = ١ معادل يرقي) مع العلم بأن اليرقة وصلت إلى حجمـــها الأعظمي (١٠ ملغ) وتنتج بمعدل وسطي ٢ × ١٠ [١٠] حبيبة.

– من أجل حماية ٩٠% : هذا يعطي ٣ معادل يرقي في ١٠مل للكيلو غرام

– ولتأمين حماية ٩٥% يتطلب ذلك ٥ معادل يرقي.

– أما الحماية العظمى فلايمكن أن تتجاوز٩٨% والجرعـــة المناسبة هي١٠معادل يرقي (3)

– في المخزن: إن درنات البطاطا المخزنة والقادمة من الحقل، مصابة بشدة بدودة فراشة البطاطا. إن مؤشـرات الإصابـة لاتـزال صعبـة التقدير. لذلك فهناك عدة جرعات تمت تجربتها وكانت حول ٥ معـادل يرقي في ١٠مل لكل كيلو غرام واحد، أي ٥٠ × ١٠ [٦] من أجل عشرة آلاف طن من البطاطا، وهذا بهدف الوصول إلى حماية ٩٠% من هذه الدرنات.(3)

إنّ هذه الجرعات لا تزال مرتفعة جداً مقارنة بتلك المنصوح بها مـن قبل العزلة التونسية، ومع ذلك يجب أن نؤمن حماية ٩٥% أو أكثر من هذه الدرنات. ومن المحتمل أن يكون هناك انحراف وراثي غير مراقب قد تم حدوثه ابتداءً من لحظة استخدامه في المختبر. ويمكن أن نستنتج ذلك في الواقع بالمقارنة مع العزلة الأصلية دون أن يكون هناك علاقة سببية، إلا أنه يمكن أن يكون قد حدث بعض التحولات الطفيفـة فـي تحديد المقاطع الجانبية للـ ADN في العزلة التونسية والتي ظـهرت مع الزمن.(14)

يضاف إلى هذا، فإن حماية ٩٠% من درنات البطاطا يعني بأن هنـاك خسارة ١٠% وهذا نقص حقيقي للمردود.

د- إنتاج الفيروس الحبيبي

ترتكز المرحلة الثانية على حل مشكلة إنتاج الفيروس الحبيبي. في هذه الحالة يجب أن تكون الجرعة مضبوطة بحيث تسمح لليرقات المعالجة بأن تصل إلى حجمها الأعظمي ١٠ملغ وأن تؤمـن العـدوى لكـامل اليرقات (١٠٠%). وهذا بدون شك هو سبب الانحراف الملاحظ، لأن المصدر الفيروسي هو عبارة عن عزلة معروفة لنـا بأنـها متعـددة النسيلات (١٤). وتم الحصول على ذلك بمعادل يرقي واحـد لكـل ٢ لتر، وتم الاستخدام بمعدل ١٠مل من المحلول لكل ١ كغ من درنـات البطاطا، معدل وزن كل منها ٢٠-٢٥غ. إلاّ أن الخسارة كبـيرة جـداً لأن العديد من اليرقات المريضة لا تخرج بشكل عفوي من الدرنـات. أما خروج اليرقات السليمة من الدرنات فيكون طبيعياً لأنـها تحضـر نفسها للدخول في طور العذراء. أما اليرقات المريضة فإنها لا تصـل إطلاقاً إلى هذه المرحلة من التطور. ويتم خروج اليرقات عندما يصل إنتاج الفيروس الذي تحمله إلى حده الأعظمي، وهذا ما يؤكد بأن تبعثره يؤدي إلى موت عائله. ولذلك من المفيد أن تشمل هذه الحالـة فـي آن واحد أكبر عدد ممكن من اليرقات. يرتبط خروج هذه اليرقات أيضـاً بحجم ووزن درنات البطاطا، كما أن تعريض درنـات البطاطـا إلـى صدمة حرارية يمكن أن يسهل خروج هذه اليرقات. لذلك هناك الكثير من التطورات بانتظار التربية المتجانسة وذلك عن طريق فقس اليرقات الحديثة من بيوضها بفارق زمني يضبط بدقة.

من الثوابت الأخرى والتي كانت من أهداف التجربة: المستوى الأمثـل للاحتلال اليرقي للدرنات، واسترجاع اليرقات المريضة علـى نطـاق واسع. تهدف هذه الترتيبات إلى استعادة ٧٥% من اليرقات المصابـة بالفيروس، أي ٧-٨٠٠ أو أكثر بالكيلو غرام الواحد.

أخيراً نأمل بأن يكون هناك تطوراً جديداً في خفض الجرعات بفضـل النسيلات الفيروسية المعزولة من زراعة النسج الخلوية تكـون أكـثر تأثيراً من المجتمع الفيروسي متعدد النسيلات للعزلة التونسية، ولـم لا لعزلات فيروسية أخرى. ويجب الأخذ بعين الاعتبار بأن الممرضـات القوية يمكن أن تؤثر على إنتاجية نسيلاتها وتجعلها أكثر صعوبة، إمـا لكونها تقتل اليرقات قبل أن تصل إلى حجمها الأعظمي، أو لأنها تربك سلوكية خروج هذه اليرقات المصابة بالفيروس، أو لأن هذه اليرقـات تنتج كمية أقل من الحبيبات الفيروسية.

عزل نسيلات فيروسية من الزراعات الخلوية

يتميز كل مجتمع فيروسي بأنه متعدد النسيلات. وتختلف هذه النسيلات في خواصها، كقدرتها الممرضة وثباتها الوراثي، وقدرتها على إعـادة الترتيب (التأشيب) وقدرتها على لعب دور ناقل للمادة الوراثية الغريبة.

تعثّر تقدم الأبحاث العلمية بإيجـاد زراعـة خلويـة تسـمح بتكـاثر الفيروسات الحبيبية، مع أنه منذ زمن بعيد كانت تستخدم هذه الزراعات الخلوية لتربية الفيروسات الموشورية التي تصيب النواة، وكان الأمـل بإنتاج هذا الفيروس في مخامر صناعية. ولا يوجد أي شخص يعـرف سبب هذا الفشل. في الحقيقة، إن التقنيات الفاعلة للفيروسات الموشورية التي تصيب النواة لا يمكن تطبيقها مباشرة لإنتاج الفيروسات الحبيبية. إن إيجاد حل لتربية هذه الفيروسات يفتح المجـال لدراسـات معمقـة وتطبيقية. وهناك مجموعة من المشاكل المترابطة والتي يجـب إيجـاد حلول لها.

تحقيق زراعات خلوية وتحويلها إلى سلالات (8).

الحصول على سلالات خلوية سامحة ومستقبلة للفيروسـات الحبيبيـة (شكل٣) (9).

توطيد ظاهرة السماح لدى السلالات الخلوية لتكاثر الفيروسات وذلـك أثناء عبورها (12).

التأكد فيما إذا كان هناك أثر ممرض خلوي يسـمح بعـزل نسـيلات فيروسية.

من بين هذه النقاط آنفة الذكر، هناك النقطـة الثالثـة والتـي تشكـل المجهول: تم الحصول على توطيد ظاهرة سماح الخلايا للفيروسات في السلالات الخلوية تم الحصول عليها عن طريق الحفاظ عليها طيلة مدة تطورها وذلك على درجة حرارة غير مألوفة هي ١٩ °م، وهذا لم يكن من الممكن تكهنه.

التأثير الممرض الخلوي الذي تمت ملاحظته، تم من خلال عزل أولي للنسيلات الفيروسية (10). وتم الحصول وتمييز نسـيلات فيروسـية ممرضة أكثر من فيروسات المجموعة الأصلية (14).

directement aux granuloses. Une solution leur ouvrirait le champ des études fondamentales et appliquées. Une série de problèmes étroitement interdépendants ont dû être résolus :
- la réalisation de cultures cellulaires et transformation en lignées ;
- l'obtention de la permissivité des lignées à la granulose (Fig.3) ;
- la stabilisation de la permissivité virale des lignées au cours des passages ;
- la mise en évidence, s'il existe, d'un effet cytopathique permettant le tri des clones viraux.

De tous ces points, c'est le troisième qui constitue la véritable inconnue : la stabilisation de la permissivité virale des lignées est obtenue par leur maintien, pendant toute la durée de leur développement, à une température inhabituellement basse de 19°C, que rien ne laissait prévoir.

Un effet cytopathique étant observé, les premiers clones sont isolés. Des clones plus pathogènes que l'isolat d'origine sont caractérisés.

Extension des travaux en cultures cellulaires

Les travaux réalisés sur la granulose de la teigne ont pu être, sur les mêmes principes, étendus à une autre granulose locale, celle de *S. littoralis*.

Partant de ces résultats, il a même été possible de contruire un système d'hôtes interconnectés *in vitro-in vivo*, permissifs-non permissifs; liant granulose et VPNAc et visant le filtrage des propriétés géniques d'intérêt. Il n'est pas lieu de les développer ici, mais en les mentionnant, il peut être permis de souligner que la voie qui va permettre de débloquer les travaux sur d'autres granuloses candidates à la lutte virologique est maintenant ouverte.

Autres perspectives

D'une manière générale, les virus d'insectes sont étroitement spécifiques. Même dans le cas de la polyédrose nucléaire VPNAc, considérée à large spectre d'hôtes, les insectes sensibles sont tous des lépidoptères. Parmi les micro-organismes, les virus ne sont que des moyens de lutte parmi d'autres, et il est peu fréquent qu'un même ravageur puisse être combattu avec plusieurs d'entre eux. Pourtant, une panoplie de ces moyens pourrait permettre de faire face à des situations variées et assurer de meilleures garanties d'efficacité.

C'est en saisissant diverses opportunités qui se sont présentées au cours de la mise en évidence des agents pathogènes et de l'étude de leurs propriétés que des possibilités additionnelles se sont dégagées dans trois directions qui seront ici simplement citées.

Le virus VPNAc, affecte non seulement *S. cretica* mais aussi, d'après les données de la littérature, *O.nubilalis*. Il n'est évidemment pas indifférent de pouvoir viser deux ravageurs à la fois.

Par ailleurs, des données récentes suggèrent qu'un champignon isolé du sol (*Salah com.per.*) s'avère fortement pathogène pour la teigne de la pomme de terre. Enfin, les modes d'action de ce champignon et de la granulose sont complémentaires, ce qui suggère que leur association pourrait sérieusement élever, dans des conditions économiques, le niveau de protection des tubercules dans les stockages, au delà de 90% (*Abol Ela com. pers.*).

Conclusion

Grace à la liaison étroite des recherches fondamentales et appliquées associées à ce projet, il a été possible de développer un ensemble cohérent de travaux permettant de faire évoluer les connaissances sur un groupe de virus promis de longue date à la lutte biologique, et jusque-là peu utilisé et méconnu. Les bases de l'application de la granulose de la teigne sont en cours d'établissement, tandis que l'avancement des connaissances se poursuit. De cette manière est créée une situation permettant de tenir à jour la technologie d'emploi de ce virus.

Remerciements

Ces travaux n'auraient pu être entrepris sans la construction du Laboratoire de Virologie Appliquée (ORSTOM), le financement des recherches (ORSTOM, Fonds de Contre-Partie, Ministère Egyptien de l'Agriculture) et l'attribution de bourses de formation et de missions d'études (Service Culturel Français du Caire).

Lexique

CIP : Centre International de la Pomme de terre basé à Lima, Pérou
Leaf curl : Enroulements foliaires de divers types, caractéritiques d'une maladie parasitaire à bactéroïdes intracellulaires, phytoplasmes ou virus. Il s'agit ici d'un geminivirus qui affecte la tomate.
Aleurodes : Très petits insectes recouverts de cire, appelés "mouches blanches", pouvant agir comme vecteur du Leaf curl viral.
Baculovirus : Groupe de virus seulement représenté chez les arthropodes,dont les insectes, ce qui en fait des agents de lutte biologique tout désignés. Il comprend essentiellement les virus de polyédrose nucléaire et les granuloses cytoplasmiques.
Effet cytopathique : Effet pathogène détectable *de visu* au microscope photonique ou électronique, au niveau des cellules. Il peut aller jusqu'à la lyse complète des cellules.

توسع الأبحاث في الزراعات الخلوية

إن الأبحاث التي تمت على الفيروس الحبيبي ليرقات فراشة درنات البطاطا، كانت مماثلة لنفس المبادئ التي استخدمت لفيروس حبيبي محلي يصيب حشرة دودة ورق القطن *S. littoralis* (11) إضافة إلى ذلك، واعتماداً على هذه النتائج كان من الممكن إيجاد نظام عوائلي مترابط في المختبر (في الزجاج) أو لدى حشرات في الحي سامحة أو غير سامحة للفيروسات الحبيبية ولفيروسات VPNAc يهدف إلى تنقية الصفات الوراثية الهامة. ولسنا هنا بصدد تطويرها، ولكن فقط للإشارة إليها، وقد يكون من المسموح به الإشارة إلى أنها الطريق التي ستسمح بفتح الآفاق لأبحاث أخرى على الفيروسات الحبيبية المهيأة لأن تستخدم في مجال المكافحة الحيوية الفيروسية.

منظورات أخرى

لوحظ بشكل عام وجود تخصص نوعي عند الفيروسات الممرضة للحشرات. حتى في حالة الفيروسات الموشورية التي تصيب النواة VPNAc والتي تعتبر واسعة الطيف العوائلي، تتبع كل الحشرات الحساسة لها رتبة حرشفية الأجنحة. لا تشكل الفيروسات، من بين الأحياء الدقيقة، إلاّ طريقة من طرق المكافحة، ومن النادر أن نكافح آفة ما بأكثر من طريقة من هذه الطرق. ومع ذلك فإن مجموعة من هذه الطرق قد تستخدم لمجابهة أوضاع مختلفة وتؤمن حماية أفضل وأكثر كفاءة.

بتناولنا للطرق التي استعرضت أثناء تحديد الممرضات ودراسة خواصها إضافة إلى إمكانيات خلطها، فلاحظ بأنها خلصت في ثلاثة اتجاهات، سنذكرها فقط هنا.

إن فيروس VPNAc لا يهاجم فقط حشرة دودة ساق الذرة *S. cretica* ولكنه يهاجم أيضاً حشرة دودة الذرة الأوربية *O. nunilalis* ، وهذا ما ذكرته المراجع. وأنه من غير المؤكد عدم الاكتراث بإمكانية التوجه لمكافحة حشرتين بآن واحد.

فضلاً عن ذلك، فإن المعطيات الحديثة تقترح بأن الفطر المعزول من التربة (صلاح مراسلات شخصية) يظهر قوة مَرَضية بالنسبة لفراشة درنات البطاطا.

أخيراً إن طرق تأثير الفطر والفيروس الحبيبي تكون مكملة لبعضها، وهذا يؤدي إلى افتراح بأن خلطهما يمكن أن يزيد (في الظروف الاقتصادية) من مستوى حماية الدرنات في المستودعات إلى أكثر من ٩٠% (أبو العلا اتصالات شخصية).!

الخلاصة

بفضل العلاقة الوثيقة ما بين الأبحاث العلمية المعمقة والتطبيقية والتقائهما في مشروع تطبيقي، كان بالإمكان تطوير مجموعة من الأبحاث المتماسكة، مما سمح بتطوير المعرفة عن مجموعة من الفيروسات الواعدة منذ زمن طويل بالمكافحة الحيوية، وحتى الآن لم تعرف إلاّ قليلاً ولم تستخدم إلا بشكل قليل. إن أسس تطبيق الفيروس الحبيبي على فراشة درنات البطاطا ما زال في طور الإنجاز، والتقدم في المعرفة ما زال مستمراً.

وبهذه الطريق تم خلق ظروف تسمح بالحفاظ على تقنية متطورة وحديثة لاستخدام الفيروسات.

❁ ترجمة : أ. د. وجيه قسيس

شكر

لم يكن بالإمكان إنجاز هذه الأبحاث لولا بناء مختبر الفيروسات التطبيقي (أورستوم) وتمويل هذه الأبحاث (الأورستوم، ميزانية مشتركة من وزارة الزراعة المصرية) وتوزيع المنح والزيارات العلمية (المركز الثقافي الفرنسي في القاهرة).

المصطلحات

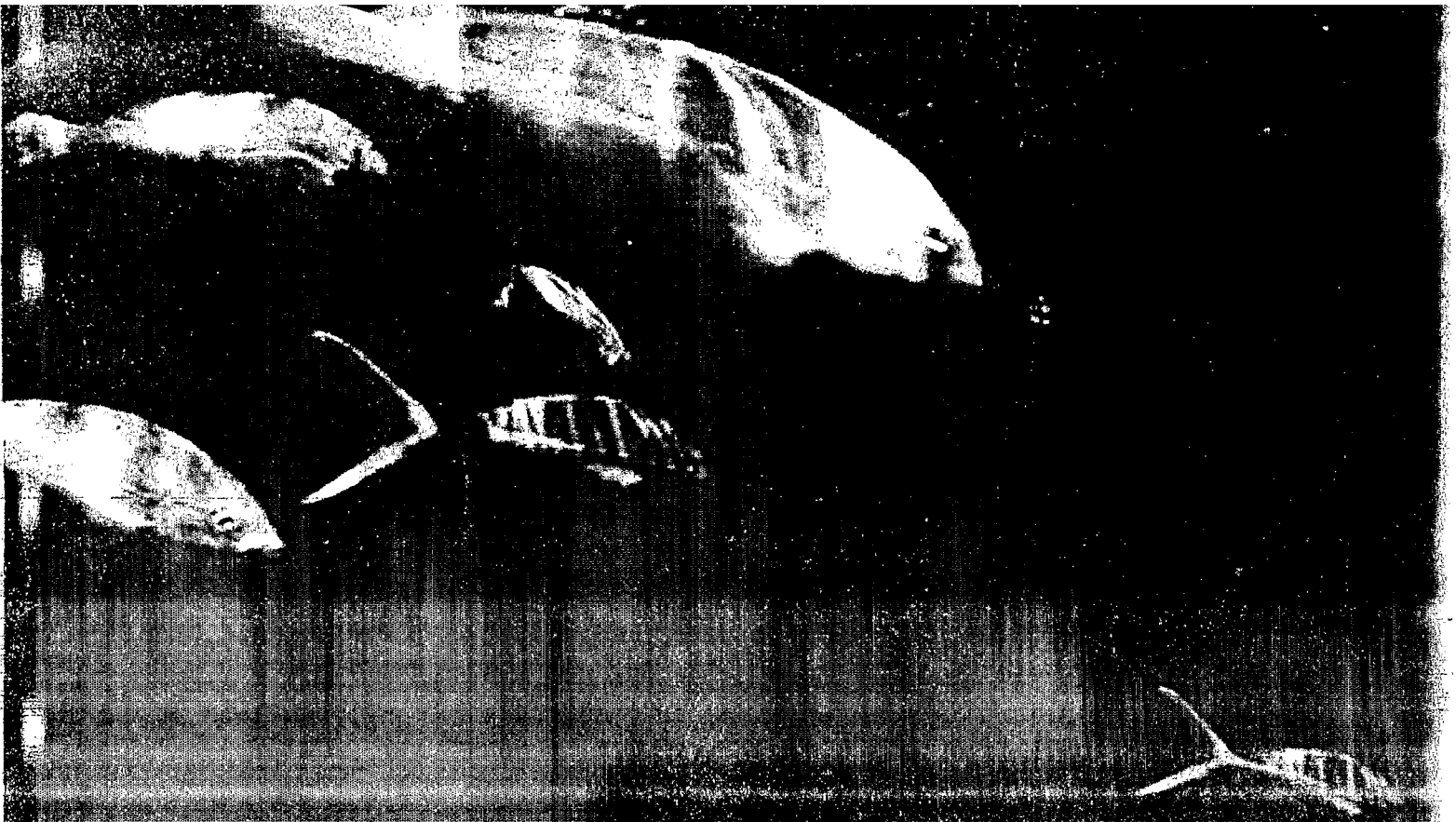
CIP : المركز الدولي للبطاطا مركزه ليما البيرو

Leaf curl : إلتفاف الأوراق بأشكال مختلفة، وهي صفات مميزة لمرض طفيلي شبه بكتيري يصيب الخلايا، أو فيتوبلاسما أو فيروسات، المسبب هنا هو عبارة عن فيروسات (جيميني فيروس) تهاجم البندورة.

Aleurodes : الذباب الأبيض، عبارة عن حشرات صغيرة، يغطى جسمها بالشمع، وهي ناقلة للأمراض الفيروسية التي تصيب الأوراق.

Baculovirus : مجموعة من الفيروسات العصوية التي تهاجم فقط مفصليات الأرجل من بينها الحشرات، وتستخدم كممرض في مجال المكافحة الحيوية. وتتضمن هذه المجموعة أيضا الفيروسات الموشورية التي تصيب النواة والفيروسات الحبيبية السيتوبلاسمية.

Effet cytopathique : التأثير المرضي الخلوي، الذي يمكن تمييز أعراضه بمساعدة المجهر الضوئي أو الإلكتروني، بمستوى الخلايا، ويمكن أن يؤدي إلى التحلل التام لهذه الخلايا.



NOUVELLES SCIENTIFIQUES
de France et du Proche-Orient

أخبار علمية
من فرنسا والشرق الأدنى

Hyperandrogénie et dosages hormonaux

فرط الأندروجينية والمعايرة الهرمونية

Médecine nucléaire et radiotraçage

الطب النووي والوسم الإشعاعي

Lutte biologique par entomovirus

المكافحة البيولوجية باستخدام الفيروسات

Origines de la navigation arabe

بدايات الملاحة العربية