

تشخيص مسبب ظاهرة الأوراق الشريطية في الطماطة المزروعة في البيوت المحمية

مصطفى علي عذاب

قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة بغداد، بغداد، العراق

الخلاصة

أُجريت هذه الدراسة بهدف الكشف عن مسبب ظاهرة الأوراق الشريطية في الطماطة المزروعة في البيوت البلاستيكية في الموسم الزراعي 2007 بمنطقة أبي غريب. أُعتمدت الأعراض المرضية على النباتات الكاشفة وتقنية الترحيل الكهربائي على هلام متعدد الاكريلاميد بتركيز 10% بوجود SDS 0.1% وتقنية الأشرطة المناعية (Immunostrip). أشارت نتائج الدراسة إلى أن أعراض الأوراق الشريطية في الطماطة تُعزى إلى الإصابة المختلطة بفايروس موزايك التبغ (Tobacco Mosaic Virus (TMV) وموزايك الخيار (Cucumber Mosaic Virus (CMV). أظهر نمط الترحيل الكهربائي على هلام الاكريلاميد لعينة من تحضيرة نقية للمسبب وجود حزمة بروتينية وزنها الجزيئي 18 كيلو دالتون تمثل بروتين الغلاف لفايروس TMV وحزمتين بروتينيتين أوزانها الجزيئية 24 و26 كيلو دالتون تمثل بروتينات الغلاف لفايروس CMV. ظهرت نفس الحزم المذكورة في عينة البروتينات الكلية المُستخلصة من أوراق طماطة مُصابة. لم تظهر مثل هذه الحزم في عينة البروتين الكلي المُستخلص من أوراق نبات سليم. أظهر الإختبار المصلي بإستعمال تقنية الأشرطة المناعية (Immunostrip) الخاصة بفايروس TMV و CMV تفاعلاً موجباً مع مُستخلص نباتات الطماطة المُصابة في كلا الشريطين، ولم يظهر مُستخلص النبات السليم تفاعلاً موجباً مع هذه الأشرطة.

IDENTIFICATION OF THE CAUSAL AGENT OF STRIP LEAVES SYMPTOMS ON TOMATO IN PROTECTIVE HOUSES

Mustafa A. Athab

Plant Prot. Dept., College of Agriculture, Baghdad University, Baghdad, Iraq

ABSTRACT

This study was carried out, at Abu-Graib area in 2007, to identify the causal agent of strip leaves symptoms on Tomato in protective houses. Symptoms on indicator plants, electrophoresis through 10%polyacrylamide gel containing 0.1% SDS, and Immunostrip techniques were adopted. The analysis of samples of total protein prepared from infected plants by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis showed 3 bands, one of 18KD Molecular weight represented the coat protein of purified Tobacco Mosaic Virus (TMV), two other bands of 24KD and 26KD represented the coat protein of purified Cucumber Mosaic Virus (CMV). However, no bands corresponding to these proteins in the profile of total proteins prepared from healthy plants were detected. The immunostrip test specific for TMV and CMV showed a positive reaction with extracts from infected plants. Whereas, no reaction was observed with extracts from healthy plants submitted to the same treatment.

Key words: Tomato strip leaf symptoms, mixed infection, CMV, TMV, SDS-PAGE, Immunostrip.

تعرض نباتات الطماطة للإصابة بالكثير من الأمراض النباتية المهمة والتي تُحد من إنتاجيتها في الظروف الملائمة لتطورها وإنتشارها، وتأتي في مقدمتها الأمراض الفايروسية (1). يُعتبر كل من فايروس موزائيك التبغ (Tobacco Mosaic Virus TMV) وفايروس موزائيك الخيار (Cucumber Mosaic CMV) وفايروس تجعد وإصفرار أوراق الطماطة (Tomato Yellow Leaf Curl Virus TYLCV) من أكثر الفايروسات أهمية وانتشاراً على الطماطة المزروعة تحت الظروف المحمية، ويُعد فايروس موزائيك التبغ (TMV) وفايروس موزائيك الخيار (CMV) من الفايروسات الرئيسة المهمة والمحددة لإنتاج الطماطة في المناطق الحارة (2)، كونها تنقل بطرائق متعددة، إذ ينقل فايروس موزائيك التبغ ميكانيكياً بسهولة وينقل فايروس موزائيك الخيار ميكانيكياً فضلاً عن إنتقاله الرئيس بوساطة 80 نوعاً من حشرات المن (3,4). يحدث تحت ظروف الزراعة الطبيعية إصابات مختلطة للإصابات الفايروسية قد تجعلها من المشاكل المعقدة لأنها قد تُغير من طبيعة الضرر على النبات، فقد وُجد أن إصابة القرعيات بفايروس موزائيك الخيار (CMV) وموزائيك القرع الأصفر (Zucchini Yellow Mosaic Virus ZYMV) تصبح أكثر شدة وتؤدي إلى ظهور أعراض مرضية شديدة تؤدي إلى ذبول وموت النباتات المُصابة، مقارنة بالإصابة المفردة بكل منهما (5، 6). أشار Wang *et al.* (7) إلى أن صنف الخيار *Cucumis sativus cv. Delila* أبدى مقاومة جيدة للإصابة بفايروس موزائيك الخيار (CMV) إلا أن هذه المقاومة تُبطل عند الإصابة بـ CMV و ZYMV معاً. وجد (8) Xi *et al.* أن تركيز فايروس CMV يزداد في نبات التبغ *Nicotiana benthiana* المُصاب بزيادة كبيرة عند حدوث إصابة مختلطة مع فايروس تنخر التبغ Tobacco Necrosis Virus (TNV) عما هو عليه في الإصابة المفردة، بينما يزداد تركيز TNV في النبات ولكن بدرجة أقل عند الإصابة المختلطة عما هو عليه في الإصابة المفردة، كما سببت الإصابة المختلطة بفايروس موزائيك الخيار CMV وفايروس Sweet Potato Chlorotic Stunt Virus (SPCSV) زيادة شدة الأعراض الظاهرة على البطاطا الحلوة عما هي عليه في الإصابة المفردة (9). أشار (10) Wege and Pohl إلى زيادة معنوية في تركيز فايروس Abutilon Mosaic Virus (AbMV) عند حدوث إصابة مختلطة مع TMV في نباتي الطماطة والتبغ مما أدى إلى تضاعف شدة الأعراض وسبب تنخر وتقزم النباتات المُصابة. ونظراً لتطور أعراض شديدة وغير مألوفة على الطماطة صنف سوبر ماريموند المزروعة في البيوت المحمية في منطقة أبي غريب تمثلت بتحول الأوراق إلى شكل شريطي وتشوهات غير طبيعية، فقد قاد إلى الاعتقاد بوجود إصابة مختلطة بأكثر من فايروس، لذلك أُجريت هذه الدراسة بهدف التحري عنها وتحديد هويتها على الطماطة المزروعة في الظروف المحمية.

المواد وطرائق العمل

الإختبار الحيوي

جُمعت عينات من أوراق نباتات طماطة صنف سوبر ماريموند تظهر عليها أعراض أوراق شريطية شكل (1) من البيوت المحمية في منطقة أبي غريب، في الموسم الزراعي 2007 وحُفظت في التجميد لحين الأستعمال. سُحق 1غم من أوراق نبات مُصابة في هاون خزفي مع 4 مليلتر من محلول داري فوسفاتي ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 + \text{KH}_2\text{PO}_4$) بتركيز 0.01 مولاري ذو رقم هيدروجيني (pH=7) مُبرد (11). مُمرر المُستخلص خلال طبقتين من قماش الموسيلين المعقم. مُسحت بالراشح أوراق نباتات خيار *Cucumis sativus* L. صنف بيتا ألفا (مجهزة من الهيئة العامة لفحص وتصديق البذور) وأوراق تبغ *Nicotiana tabaccum var Turkish* L. و *N. t. var. Xanthi NN* معفرة بمادة الكربورندم 600 مش. رُشّت النباتات المُعدة بالماء المقطر بعد 1-2 دقيقة من إجراء العدوى ووضعت في البيت الزجاجي واستمرت متابعة النباتات لحين ظهور الأعراض.

الترجيل الكهربائي

تحضير الفايروس النقي

سُحق 100غم من أوراق نبات طماطة عليها أعراض الأوراق الشريطية والتي كانت مجمدة مع داري الإستخلاص ($\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{Na}_2\text{HPO}_4$) بتركيز 0.5 مولاري ذو رقم هيدروجيني PH=7، يحتوي 1% ميركابتوايثانول-2 (Mercaptoethanol) بنسبة 1:1 (وزن:حجم) مُبرد في مازج كهربائي مدة 5 دقائق. رُشح المُستخلص عبر طبقتين من قماش الموسيلين. أُضيف للراشح n-Butanol بنسبة 8% مع التحريك لمدة ساعة عند درجة 4م. أُخضع المُستخلص لعملية طرد مركزي بسرعة 8000 دورة/ دقيقة مدة 30 دقيقة في جهاز طرد مركزي مُبرد على درجة حرارة 4م. أُضيف للطافي Polyethylene Glycol (PEG) وزنه الجزيئي 6000 دالتون بنسبة 4% مع التحريك حتى الذوبان وتُرك المزيج لمدة ساعة على 4م. رُسب الفايروس بعملية طرد مركزي بسرعة 8000 دورة/ دقيقة لمدة 30 دقيقة. نُوب الراسب في 2مليلتر من محلول داري فوسفاتي ($\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{Na}_2\text{HPO}_4$) بتركيز 0.01 مولاري ذو رقم هيدروجيني (pH=7). تُرك المُستخلص ثلاث ساعات في المختبر وأخضع لعملية طرد مركزي بسرعة 8000 دورة / دقيقة لمدة 15 دقيقة. تم بذلك الحصول على الفايروسين نقين جزئياً (12)

إستخلاص البروتين الكلي من النبات

سُحق 50غم من أوراق نبات طماطة تظهر عليها أعراض الأوراق الشريطية في 100مليلتر داري فوسفاتي KH_2PO_4 تركيزه 0.01 مولاري برقم هيدروجيني pH=7.5 بحوي 0.2% Sodium dodecyl sulfate (SDS) و 0.1% ميركابتوايثانول في مازج كهربائي. رُشح المُستخلص خلال ورقة ترشيع وأضيف للراشح

51.6% من كبريتات الامونيوم مع التحريك حتى الذوبان. تُترك المحلول مدة ساعتين بدرجة 4°م للترسيب. جُمع الراسب بعملية طرد مركزي بسرعة 9000 دورة/دقيقة مدة 30 دقيقة. أُذيب في محلول داريء فوسفاتي 0.01 مولاري برقم هيدروجيني pH=7.5. أُضيف للمحلول حجم مساوي من الأستون البارد وتُترك لمدة ساعة ثم أُخضع لعملية طرد مركزي بسرعة 9000 دورة/دقيقة مدة 30 دقيقة. أُذيب الراسب في محلول داريء فوسفاتي 0.01 مولاري برقم هيدروجيني pH=7.5. كررت نفس الخطوات أعلاه مع أوراق نباتات طماطة سليمة للمقارنة (13).

تحضير عينات البروتين

أُضيف لكل 100 مايكروليتر من نموذج البروتين المُراد تحليله 2 مايكروليتر β -mercaptoethanol (2%) و 10 مايكروليتر محلول SDS 20 % (2 %) و 15 مايكروليتر كليرول (15%). سُخنت العينات في درجة 100°م مدة دقيقتين ثم بُردت ووُضعت في حفرة الهلام بمعدل 25 مايكروليتر لكل عينة. عُوملت بروتينات قياسية (Trypsin 14200 α -Lactalbumin, Bovine Milk، Aprotinin, Bovine Lung 6500 دالتون، Inhibitor, Soybean 20000 دالتون، Trypsinogen, Bovine Pancreas 24000 دالتون، Carbonic Dehydrogenase, Bovine Erythrocytes 29000 دالتون، Glyceraldehyde-3-phosphate 39000 دالتون، Rabbit Muscle 39000 دالتون، Ovalbumin, Chicken Egg 45000 دالتون، Bovine Serum 66000 دالتون) بنفس الطريقة وأستعملت بمعدل 10 مايكروليتر لكل حفرة.

تحضير الهلام

حُضر الهلام المُكون من طبقتين من الاكريلاميد، السفلية هي هلام الفصل Resolving Gel تركيزه 10% (حُضر 30مليتر من هلام الفصل بخلط 11.25 مليتر داريء ترس حامض الهيدروكلوريك ذي الرقم الهيدروجيني 8.8 و 0.3 مليتر SDS 10% و 10 مليتر Acrylamide 30% - Bis-Acrylamide 0.8 % و 0.15 مليتر TEMED و 0.3 مليتر Ammonium persulfate و 8 مليتر ماء مقطر). والطبقة العلوية هلام الرص Stacking Gel تركيزه 5% (حُضر 10مليتر منه بخلط 1.25 مل داريء ترس حامض الهيدروكلوريك ذي الرقم الهيدروجيني 6.8 و 0.1 مليتر SDS 10% و 1.66 مليتر Acrylamide 30% - Bis-Acrylamide 0.8 % و 0.05 مليتر TEMED و 0.1 مليتر Ammonium persulfate و 6.8 مليتر ماء مقطر). سُكب هلام الفصل بين لوحين من الزجاج تفصلهما مساطر بلاستيكية بسبك 1.4 ملم. أُضيفت طبقة رقيقة من البيوتانول لضمان سطح مستوٍ من الهلام عند التصليب. أُزيل البيوتانول بعد بلمرة هلام الفصل وغُسل بالماء المقطر عدة مرات. سُكب هلام الرص فوق هلام الفصل مع وضع مشط لتكوين الحفر. رُفَع المشط بعد بلمرة هلام الرص برفق لتجنب تحطم الحفر ورُفَعَت المسطرة السفلى من بين اللوحين. وُضِع اللوحان الزجاجيان في حوض الترحيل الكهربائي الذي يحوي على محلول داريء الترحيل (192ملي مولاري Glycine و 25 ملي مولاري داريء ترس حامض الهيدروكلوريك و 0.1 % SDS برقم هيدروجيني 8.3). وُصلت أقطاب التيار الكهربائي وجُهزت بقدره 125 فولت مدة 5 ساعات. أُوقِف التيار عند وصول صبغة الفينول الزرقاء لمسافة 1سم من قاعدة الهلام. رُفَع الهلام وفُصل عن الألواح الزجاجية برفق ووُضِع في محلول صبغة الكوماسي الزرقاء (0.55 غم من صبغة Coomassie Brilliant Blue R250 في خليط من 100 مليتر ميثانول و 20 مليتر حامض الخليك و 100

مل ماء مقطر) مدة 30 دقيقة. ثم وُضع في محلول إزالة الصبغة (7.5 % حامض الخليك و 5 % ميثانول) مدة 24 ساعة مع مراعاة تبديل المحلول من وقت لآخر لإظهار الحُزم البروتينية (14).

إختبار الأشرطة المناعية Immunostrip

أُجري الإختبار بإستعمال مصل مضاد لفايروس موزائيك الخيار وموزائيك التبغ والمُجهز على شكل أشرطة (Flash Kits) من شركة Agdia Biofords الأمريكية وحسب طريقة العمل الموصى بها من الشركة المجهزة. وُضع 0.15 غم من عينة أوراق الطماطة المُصابة في الكيس الذي يحتوي على محلول داريء الإستخلاص وُسحقت جيداً بواسطة مدقة هاون Pestle. غمرت نهاية الشريط (Flash Kits) المعاملة بالمصل المضاد (الجهة المحمية بشريط ومؤشر عليه بسهم متجه للأسفل) لمسافة 0.5 سم في الكيس الذي يحتوي على مُستخلص العينة المراد إختبارها. سُجلت النتائج بعد 3- 5 دقائق. كُررت الخطوات أعلاه مع مُستخلص أوراق طماطة سليمة للمقارنة.

النتائج والمناقشة

الإختبار الحيوي

أستجابت نباتات الخيار *Cucumis sativus* للعدوى بمُستخلص أوراق نبات طماطة مصاب بظهور مساحات صغيرة مُخضرة على الأوراق حديثة النمو بعد أسبوعين من العدوى، تطورت إلى موزائيك على جميع أوراق النبات صاحبه ظهور تقزم وتشوه أوراق النبات، وهذه الأعراض مماثلة لما ذكره (15) Bhat et al. و (16) Agrios وصبر (17) وعذاب (18) في وصف أعراض إصابة نبات الخيار بفايروس موزائيك الخيار CMV مما يُشير إلى إصابة نبات الطماطة بهذا الفايروس (شكل 1).



شكل: (1) أعراض الأوراق الشريطية في نبات الطماطة *Lycopersicon esculentum* نتيجة إصابتها بفايروس موزائيك الخيار CMV وموزائيك التبغ TMV معاً (A)، مقارنة بنبات سليم (B).

كما إستجابت نباتات التبغ صنف *Turkish* للعدوى بمُستخلص من أوراق نبات الطماطة المُصابة بظهور أعراض توضح العروق على الأوراق المعدة بعد 3-4 أيام من العدوى تطورت بعدها إلى موزائيك مصحوبة بإنثفاخات خُضر وتشوه طفيف للورقة، وهذه الأعراض تتفق مع ما ذكره العديد من الباحثين (3,18,19) في وصف إصابة هذا النبات بفايروس موزائيك التبغ TMV مما يُشير إلى إصابة نباتات الطماطة بهذا الفايروس. إن ما سبق ذكره من أعراض على النباتات الكاشفة يُشير إلى أن أعراض الأوراق الشريطية الظاهرة في نباتات الطماطة متسبب

عن الإصابة المشتركة بفايروسي CMV و TMV معاً. ظهرت على نباتات التبغ صنف *Xanthi NN* المعدة بمستخلص أوراق نبات طماطة مُصاب بقع موضعية متخزة NLL تتسع بالحجم بمرور الوقت رافقها موزائيك جهازي، مما يُشير الى وجود الفايروسين معا في نباتات الطماطة المُصابة وهذا يتفق مع ما ذكره (20) *et al.* Stange و (21) Zaitlin في وصف فايروس موزائيك التبغ و (4) Palukaitis and Garcia-Arenal وصبر (17) في وصف فايروس موزائيك الخيار على هذا الصنف.

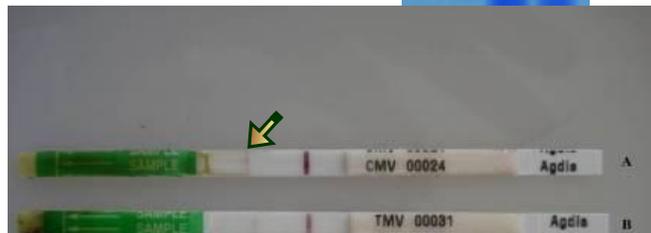
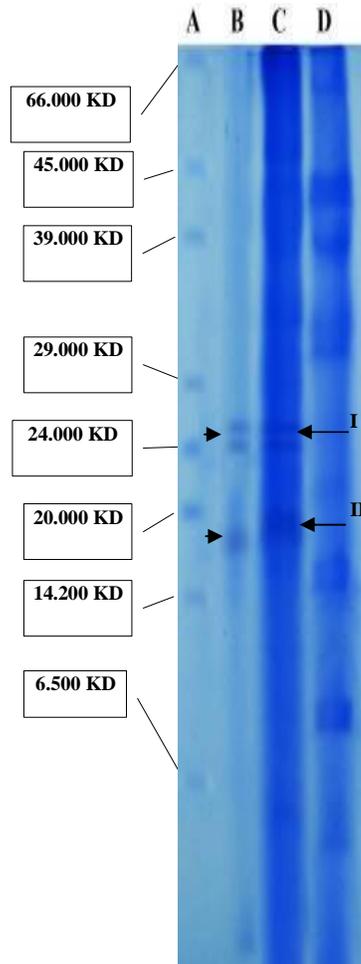
الترحيل الكهربائي لبروتينات الغلاف الفايروسي على هلام متعدد الاكريلاميد بوجود SDS

أظهر نمط الترحيل الكهربائي لنماذج مأخوذة من نباتات طماطة مُصابة وأخرى من نباتات سليمة على هلام الاكريلاميد 10% والذي يحتوي على 0.1% SDS وجود حُزمتين بروتينيتين رئيسيتين الأولى مكونة من جزئيتين والثانية مفردة في العمود B (مُشار إليها بسهم) الذي يحتوي على عينة الفايروس النقي، تُمثل بروتينات الغلاف الفايروسي لفايروس CMV و TMV إذ فُدر الوزن الجزيئي للأولى المكونة من جزئيتين 24 و 26 كيلودالتون (رقم 1 في الصورة) وللمفردة 18 كيلو دالتون (رقم 2 في الصورة) تقريباً بالتتابع (شكل 2). ظهرت أيضاً حُزمتين بروتينيتين الأولى مكونة من جزئيتين (I) والثانية مفردة (II) في نمط الترحيل الكهربائي الذي يحتوي على البروتين الكلي المُستخلص من نبات مصاب (العمود C) في نفس المستوى الذي ظهرت فيه حُزم بروتينات الغلاف الناتجة عن ترحيل نموذج فايروس نقي (24 - 26 كيلودالتون و 18 كيلودالتون) لم تظهر مثل هذه الحُزم في الأعمدة التي تحتوي على بروتين كلي مُستخلص من نبات سليم (العمود D). تُشير بعض الدراسات إلى أن الغلاف البروتيني لفايروس CMV مُكون من جزئيتين بروتينيتين أوزانها الجزيئية 22 و 28 كيلودالتون بالتتابع (22) أو 24 و 26 كيلو دالتون (18). وتُشير دراسات أخرى إلى أن الوزن الجزيئي للغلاف البروتيني للـ CMV يبلغ 24.5 كيلودالتون (1, 23) أو 26 كيلودالتون (24) حسب سُلالات الفايروس. كما تُشير الدراسات أيضاً إلى أن الوزن الجزيئي لبروتينات الغلاف لفايروس TMV تبلغ 18 كيلودالتون (18, 25). إن نتائج الترحيل الكهربائي تُشير إلى أن عينة الفايروس المعزولة من نباتات الطماطة المُصابة تحوي على فايروسي CMV و TMV معاً، وهذا يطابق نتائج الإختبار الحيوي.

أظهرت نتائج الإختبار المصلي بواسطة الأشرطة Immunostrip إحتواء نباتات الطمطة المُصابة والمختبرة على فايروسي موزائيك الخيار CMV وموزائيك التبغ TMV، إذ أظهر مُستخلص من هذه النباتات تفاعلا موجبا مع ال Flashkits الذي يحتوي على المصل المُضاد لفايروس CMV وكذلك مع ال Flashkits الذي يحتوي على المصل المُضاد لفايروس TMV بظهور خط ترسيب في كلا الشريطين (شكل 3). فيما لم يظهر الإختبار أي دلالة على وجود تفاعل مع العينة المأخوذة من نبات سليم. جاءت هذه النتيجة مُطابقة لنتائج الإختبار الحيوي والترحيل الكهربائي والتي تثبت إصابة نباتات الطمطة المختبرة بكلا الفايروسين معاً. أثبتت دراسات سابقة أن تقنية الأشرطة المناعية Immunostrip ذات كفاءة عالية في تشخيص العُزلات العراقية من فايروسي موزائيك التبغ TMV وموزائيك الخيار CMV (18,26). إن ما سبق ذكره من نتائج يُشير إلى أن ظاهرة الأوراق الشريطية الناتجة في الطمطة مُنسببة عن الإصابة المشتركة بفايروس موزائيك الخيار CMV وموزائيك التبغ TMV وذلك وفقاً للنتائج المُستحصل عليها من الإختبار الحيوي والجزيئي والمصلي.

شكل (2): نمط الترحيل الكهربائي لعينات فايروسي موزائيك التبغ TMV وموزائيك الخيار CMV على هُلام متعدد الاكريلاميد تركيز 10% بوجود SDS % 0.1، تُشير الأسهم الصغيرة إلى الخُزم البروتينية الرئيسية الخاصة بالفايروس والظاهرة في معاملات النبات المصاب فقط.

A: البروتينات القياسية المستعملة في تقدير الوزن الجزيئي للبروتين. (الأرقام إلى اليسار توضح الوزن الجزيئي لكل بروتين).
B: عينة الفايروسين TMV و CMV نقي جزئياً (مقارنة).
C: بروتين كلي مُستخلص من نبات مصاب بالفايروس.
D: بروتين كلي مُستخلص من نبات سليم (مقارنة).



شكل: (3) نتائج التفاعل بين مُستخلص أوراق طماطة ذات أشكال شريطية والسليمة (المقارنة) مع المصل المضاد لفايروس CMV و TMV:

A: تفاعل الشريط الحاوي على مصل مضاد لـ CMV مع المُستخلص. (يُشير السهم إلى منطقة حدوث التفاعل بين الفايروس والمصل).

B: تفاعل الشريط الحاوي على مصل مضاد لـ TMV مع المُستخلص. (يُشير السهم إلى منطقة حدوث التفاعل بين الفايروس والمصل).

C و D: التفاعل مع مُستخلص نبات سليم.

المصادر

- 1- Hull, R.(2002). Matthews' Plant Virology. 4th ed. Academic Press, London, UK. 1001 pp.
- 2- Csizinszky, A.A.; Schuster, D.J.; Jones, J.B. and Van Lenteren, J.C.(2005). Crop protection. In: Tomatoes. (ed. E.P. Heuvelink.). CABI Publishing. UK.
- 3- Jockush, H. and Wiegand, C.(2003). Misfolded Plant Virus Proteins: Elicitors and Targets of Ubiquitylation. *FEBS Letters*, 545: 229-232.
- 4- Palukaitis, P. and Garcia-Arenal, F.(2003).Cucumber Mosaic Virus. CMI \ AAB. Description of Plant Viruses, No. 400.
- 5- Wang, Y.; Gaba, V.; Yang, J.; Palukaitis, P. and Gal-On, A.(2002). Characterization of Synergy between Cucumber Mosaic Virus and PotyViruses in Cucurbit Hosts. *Phytopathology*, 92 (1): 51-58.
- 6- Zeng, R.; Liao, Q.; Feng, J.; Li, D. and Chen, J.(2007). Synergy between Cucumber Mosaic Virus and zucchini yellow Mosaic Virus on cucurbitaceae Hosts tested by real-time reverse transcription-Polymerase Chain Reaction. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 39 (6): 431 – 437.
- 7- Wang, Y.; Lee, K.C.; Gaba, V.; Wong, S.M.; Palukaitis, P. and Gal-On, A.(2004). Breakage of resistance to Cucumber Mosaic Virus by co-infection with zucchini yellow Mosaic Virus:enhancement of CMV accumulation independent of symptom expression. *Archives of Virology*, 149 (2): 379 – 396.

- 8- Xi, D.; Feng, H.; Lan, L.; Du, J.; Wang, J.; Zhang, Z.; Xue, L.; Xu, W. and Lin, H. (2007). Characterization of Synergy between Cucumber Mosaic Virus and Tobacco necrosis Virus in *Nicotiana benthamiana*. *Journal of Phytopathology*, 155 (9): 570 – 573.
- 9- Untiveros, M.; Fuentes, S. and Salazar, L.F.(2007). Synergistic of sweet Potato chlorotic stunt Virus (CriniVirus) with Carla-, Cucumo-, Ipomo-, and poty Viruses infecting sweet Potato. *Plant Disease*, 91 (6): 669 – 676.
- 10- Pohl, D. and Wege, C. (2007). Synergistic Pathogenicity of a Phloem-limited begomoVirus and tobamoViruses, despite negative interference. *J. of General Virology*, 88: 1034 – 1040.
- 11- Noordam, D.(1973). Identification of Plant Viruses: Methods and Experiment.Center for Agricultural Publishing and Documentation Wageningen. 207pp.
- 12- Gooding, G.V. and Herbert, T. T.(1967). A simple Technique for Purification of Tobacco Mosaic Virus in large Quantities. *Phytopathology*, 57: 1285.
- 13- Da Rocha, A.; Ohki, S. T. and Hiruki, C.(1986). Detection of Viruses and Mycoplasma like organisms in situ by indirect Immune of fluorescence Microscopy. *Phytopathology*, 76: 864-868.
- 14- Laemmlli, U. K.(1970). Cleavage of structural Proteins during the assembly of the head of Bacteriophage T4. *Nature*, 227: 680-685.
- 15- Bhat, A.I.; Sarma, Y.R.; Sreenivasulu, P. and Pant, R.P. (2004).Occurrence and Identification of Cucumber Mosaic Virus isolate infecting Indian long pepper (*Piper longum*). *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences*, 26(2):279-284.
- 16- Agrios, G. N.(2005). Plant Pathology, 5th ed. Academic Press, London. 922pp.
- 17- صبر، ليلي جبار (2005). تحديد أربع سلالات لفايروس موزائيك الخيار مصلياً وبأيولوجياً وعلاقتها بالامراضية. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد. 99 صفحة.
- 18- عذاب، مصطفى علي (2009). دراسة بروتينات الغلاف لثلاثة فايروسات نباتية وإمكانية استخدامها كأدلة في الكشف عنها. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد. 76 صفحة.
- 19- Jung, H. w.; Yun, W.S.; Hahm, Y. I. and Kim, K. H.(2002). Characterization of Tobacco Mosaic Virus isolated from Potato showing yellow leaf Mosaic and stunting symptoms in Korea. *Plant Disease*, 86(2): 112-117.
- 20- Stange, C.; Matus, J. T.; Elorza, A. and Arce-Johnson, P.(2004). Identification and Characterization of novel Tobacco Mosaic Virus resistance Ngene homologue in *Nicotiana tabacum* plants. *Functional Plant Biology*, 31: 149-158.
- 21- Zaitlin, M.(2001). Tobacco Mosaic Virus. CMI \ AAB. Description of Plant Viruses, No. 151.
- 22- Kostova, D.; Stefanos, T.; Angela, Y.; Vittoria, L. and Anna-Mariag, V.(2006). New cucumo Virus on beans in Bulgaria - an attempt for Characterization. *Journal of Culture Collections*, 5(1): 94-101.
- 23- Nasu, Y.; Akira, K.; Shun, H. and Yoshia. E.(1996). Cry, The Resistance Locus of cowpea to Cucumber Mosaic Virus strain Y. *Phytopathology*, 86(9): 946-951.

- 24- Kim, H. J.; Gug, S. C. and Jang, K. C.(2002). Characterization of Cucumber Mosaic Virus subgroup II isolated from paprika (*Capsicum annuum* Var.grossum) in Korea. *Plant Pathology Journal*, 18 (1): 6-11.
- 25- Cherian, S.; Joseph, J.; Muniyappa, V. and Savithri, H. S.(1999). Characterization of Tobacco Mosaic Virus isolated from Tomato in India. *Current Science-Bangalore*.pp-6.
- 26- عذاب مصطفى علي ورقيب عاكف العاني (2009). تقويم كفاءة الإختبار المصلي ELISA Immunostrip في تشخيص فايروسي موزائيك التبغ TMV وموزائيك الخيار CMV في العراق. مجلة جامعة الانبار للعلوم الزراعية، 7 (3) : 219 - 231.