

دراسة تشخيصيه وجزئية لفايروس موزائيك الخيار *Cucumber mosaic virus* في العراق .

مصطفى علي عذاب* كريم عبد الله حسن** محمد محمود سليمان* رقيب عاكف العاني*

*قسم وقاية النبات – كلية الزراعة – جامعة بغداد – جمهورية العراق . Rakiba99@yahoo.com
**قسم وقاية النبات – كلية الزراعة – جامعة ديالى – جمهورية العراق . maa_adhab@hotmail.com

المستخلص

هدفت الدراسة الى تشخيص سلالة جديدة لفايروس موزائيك الخيار (CMV) اعتمادا على الاعراض على النباتات المشخصة والصفات المصلية والوزن الجزيئي لبروتينات الغلاف الفايروسي. جمعت عينات من أوراق نباتات خيار تظهر عليها اعراض موزائيك وسحقت مع محلول دارى فوسفاتي 0.01 مولاري في هاون خزفي، واعدت بالمستخلص نباتات خيار واعتمدت النباتات التي ظهرت عليها اعراض موزائيك مصدرا للفايروس. اعدت بمستخلص من اوراق الخيار المصابة مجموعة من النباتات المشخصة (الكاشفة) ميكانيكيا. استخلص الفايروس ونقي من النباتات المصابة ، وحللت عينات منه بتقنية الترحيل الكهربائي على هلام الاكريلاميد الحاوي على SDS (SDS-PAGE). عومل جزء من المستخلص مع الاشرطة المناعية الحاوية على اجسام مضادة متعددة الكلون لفايروس CMV. اوضحت النتائج انه من بين العوائل المشخصة للفايروس ، استجابت نباتات التبغ صنف *Nicotiana tabacum Xanthi* بتكوين بقع موضعية صفراء على الاوراق المعدة انتقلت جهازيا الى الاوراق الحديثة بمرور الوقت، كما ظهرت اعراض موزائيك على نباتات الفاصوليا. ظهر خط ترسيب على الاشرطة المناعية المعاملة بـ Immunostrip بالمستخلص اوراق خيار مصابة ولم يظهر مثل هذا الخط مع الاشرطة المعاملة بمستخلص من اوراق سليمة. اوضح نمط الترحيل الكهربائي على هلام الاكريلاميد بوجود SDS حزمتين بروتينيتين اوزانهما الجزيئية 24 و 26 كيلو دالتون تمثل بروتينات الغلاف الفايروسي. تؤكد هذه النتائج الى ان عزلة الفايروس موضوع الدراسة هي عزلة من فايروس موزائيك الخيار CMV وان ظهور بقع موضعية صفراء بدل الموزائيك على نبات التبغ *Xanthi* وكذلك ظهور حزمتين بروتينيتين في نمط الترحيل الكهربائي تمثل الوزن الجزيئي لبروتينات الغلاف يشير الى سلالة جديدة من الفايروس تشخص لأول مرة في العراق.

الكلمات المفتاحية: اشطره مناعية ، ترحيل كهربائي ، فايروس موزائيك الخيار.

المقدمة

يعد الخيار من اكثر محاصيل الخضر زراعة وأهمية في العراق ، اذ يزرع في البيوت المحمية شتاءً وفي الحقول المكشوفة صيفاً. يصاب محصول الخيار بالعديد من الفايروسات ويعد فايروس موزائيك الخيار *Cucumber mosaic cucumovirus* (CMV) ، جنس *Cucumovirus*

تاريخ استلام البحث 2 / 9 / 2012 .

تاريخ قبول النشر 28 / 1 / 2013 .

و عائلة *Bromoviridae* من بين اكثرها أهمية وانتشاراً. أشير الى ان الفايروس يصيب أكثر من 1287 عائلا نباتيا تعود لـ 518 جنساً نباتياً والى 100 عائلة نباتية (Christie و Edwardson، 1987). يسبب فايروس CMV اعراضا مختلفة على العوائل النباتية تتراوح من بقع موضعية على الاوراق الملقحة فقط الى اصابة جهازية تشمل النبات بأكمله وأكثر الاعراض الجهازية أهمية هي الموزائيك وتتراوح من طفيفة الى شديدة جدا قد تؤدي الى موت النبات. يسبب الفايروس فضلا عن اعراض الموزائيك تحول الاوراق الى شكل خيطي على نباتات الطماطة ، تقزم ، وتشوه الثمار (Hull، 2002 ؛ Palukaitis و Arenal، 2003). ينقل الفايروس من النباتات المصابة الى السليمة ميكانيكيا وبالبدور وينقل بالعديد من حشرات المن بطريقة غير باقية (Hull، 2002 ؛ Khan و Dijkstra، 2006). اعتمدت الطرق الحيوية المستندة على استجابة العوائل النباتية المختلفة للفايروس والطرق المصلية وخاصة اختبار ELISA كثيرا في تشخيص فايروس موزائيك الخيار وتحديد سلالاته على عوائله النباتية المختلفة (Hord وآخرون، 2001 ؛ Yordonova و Hristova، 2002 ؛ Adkins و Rosskopf، 2002 ؛ Silva وآخرون، 2002 ؛ Lin وآخرون، 2003 ؛ Bhat وآخرون، 2004 ؛ Aramburu وآخرون، 2007).

واستعملت تقنية الترحيل الكهربائي بهلام الاكريلاميد المتعدد مع كبريتات دوديسيل الصوديوم (SDS) Sodium dodecyl sulfate كثيرا في الكشف عن الفايروسات والتفريق بين سلالاتها اعتمادا على الوزن الجزيئي لبروتينات الغلاف الفايروسي (Raj وآخرون، 1993 ؛ Singh وآخرون، 1998 ؛ صبر، 2005 ؛ عذاب والعاني، 2010).

وبينت المشاهدات التي سجلت على العديد من النباتات العائلة لهذا الفايروس وجود اعراضا تختلف قليلا عن الاعراض التي تسببها السلالة النمطية للفايروس لذلك اجريت هذه الدراسة التشخيصية باستعمال الطرق الحيوية و المصلية و الجزيئية لتأكيد وجود الفايروس مع احتمال وجود سلالة جديدة له بالطرق الحيوية والمصلية والوزن الجزيئي لبروتينات الغلاف.

المواد وطرائق البحث

اعداد النباتات الكاشفة: عقت بذور نباتات الاختبار سطحيا بواسطة هايپوكلورايت الصوديوم (القاصر) 20% مدة دقيقة واحدة ثم غسلت بالماء المقطر وجففت على ورقة ترشيح ، زرعت البذور في خليط من تربة مزيجية وبتمس (1:1) معقمة بالمؤصده بدرجة حرارة 121^oس وضغط 1.5 كغم/سم² مدة 30 دقيقة وكرر التعقيم بعد 24 ساعة ، في أصص بلاستيكية. فردت النباتات بعد الانبات الى نباتين / أصيص وعولمت بمبيد حشري ومبيد ضد اللحم لحمايتها من هذه الافات. حفظت النباتات في بيت بلاستيكي في أقفاص خشبية مغلقة بالململ لحمايتها من الحشرات.

مصدر الفايروس والعدوى الميكانيكية: جمعت عينات من نباتات خيار تظهر عليها اعراض موزائيك وتشوه. سحقت الاوراق مع محلول دارى فوسفاتي 0.01 مولاري بدرجة حموضة 7.0 بنسبة 1:4 (غم/مل) في هاون خزفي. رشح المستخلص من خلال طبقتين من قماش الململ واستعمل الراشح لقاحا للفايروس.

تشخيص عزلة الفايروس

الاختبار المصلي: أجري الاختبار باستعمال طريقة الاشرطة لمناعية Flashkits المعاملة بمصل مضاد لفايروس موزائيك الخيار و المنتجة من شركة Agdia biofords الامريكية. سحق 0.15 غم من أوراق النباتات المراد اختبارها (خيار ، بطيخ ، شجر ، وقرع) معداة بمستخلص الفايروس في محلول دارئ الاستخلاص PBS ، في كيس بلاستيكي مجهز من قبل الشركة ، بواسطة هاون خزفي. غمرت نهاية الشريط المعامل بالمصل المضاد لمسافة 0.5 سم في المستخلص مدة 3-5 دقائق. كررت العملية مع مستخلص نبات سليم بنفس الطريقة للمقارنة. ان ظهور حزمة ملونة بلون بنفسجي على الشريط يدل على تفاعل موجب.

تنقية فايروس موزائيك الخيار: سحق 100 غم من أوراق نباتات خيار مصابة بفايروس موزائيك الخيار (CMV) في مزجة كهربائية مع محلول دارئ الاستخلاص (فوسفات الصوديوم 0.5 مولاري / 0.2% حامض الاسكوريك ، Diethyl dithiocarbamate (DIECA) 1% ، بدرجة اس هايدروجيني 8) بنسبة 1:3 (وزن/حجم). مرر المستخلص خلال طبقتين من ورق الترشيح وأضيف للراشح حجم مساو من الكلوروفورم مع التحريك بواسطة جهاز الدوار المغناطيسي (Magnetic stirrer) مدة ساعة بدرجة 4°س. أخضع المستخلص لعملية انتباز بسرعة 3000 دورة/دقيقة مدة 15 دقيقة بجهاز انتباز نوع (ALC ، 4239R). اضيف للطافي مادة الكلايكول متعدد الاثيلين Polyethylene glycol (PEG) وزنه الجزيئي 6000 بنسبة 10% وكلوريد الصوديوم 0.1 مولاري مع التحريك المستمر مدة 24 ساعة بدرجة 4°س. اخضع المحلول لعملية انتباز بسرعة 12000 دورة/دقيقة مدة 15 دقيقة بدرجة 4°س. أذيب الراسب في محلول البوريت الدارئ 2% pH = 8 وأجريت عليه عملية انتباز. أجريت للمعلق عملية ديلزة في ماء مقطر لمدة 14 ساعة.

الترحيل الكهربائي: خلط حجم من مستخلص الفايروس النقي ومستخلص البروتين الكلي (Dardick وآخرون، 1999) مع حجم من دارئ الفصل (Dissociation buffer 0.125 مولاري Tris-HCl ، pH = 6.8 ، 4% SDS ، 4% mercaptoethanol ، 4% glycerol ، 30%) . سخن المزيج بدرجة حرارة 100°س مدة دقيقتين وحللت النماذج بطريقة الترحيل الكهربائي في هلام الاكريلاميد المتعدد 10%. بوجود SDS (SDS-PAGE). أجريت عملية الترحيل الكهربائي بفرق جهد 125 فولت لمدة 5 ساعات باستعمال ازرق البروموفينول (Bromophenol blue) دليلا لعملية الترحيل. أوقفت العملية عند وصول خط الدليل قاعدة الهلام. أجري الكشف عن وجود الحزم البروتينية بتصبيغ الهلام بصبغة الكوماسي الزرقاء بنسبة 0.25% في خليط من ميثانول-حامض الخليك-الماء (5-1-5) مدة 30 دقيقة ثم ازالة الصبغة في محلول 7.5% حامض الخليك و5% ميثانول (حجم/حجم) مدة 24 ساعة (Laemmli، 1970).

النتائج والمناقشة

الاعراض: ظهرت على الاوراق الحديثة لنباتات الخيار صنف بيتا ألفا المعداة بمستخلص الفايروس مناطق صغيرة شاحبة تطورت الى موزائيك جهازي على جميع الاوراق رافقه تقزم النباتات وتشوهاها (الشكل 1). واستجابت نباتات البطيخ والقرع والشجر(الكوسة) للعدوى

بالفايروس باعراض تبرقش وموزائيك. وقد أشارت دراسات عدة الى اعراض مماثلة على هذه العوائل استجابة للعدوى بفايروس موزائيك الخيار (Silva وآخرون، 2002 ؛ Bhat وآخرون، 2004 ؛ Verma وآخرون، 2004 ؛ Agrios، 2005 ؛ صبر، 2005).

ظهرت على اوراق الفاصوليا المعدة ميكانيكيا بالفايروس اعراض موزائيك جهازي، وعلى نباتات اللوبيا صنف Black eye المعدة بمستخلص الفايروس بقع موضعية شاحبة بعد 5 أيام من العدوى ولم تتطور الى اصابة جهازية (الشكل 2) وهذه النتائج مماثلة لما أشارت اليه دراسات سابقة خاصة بفايروس CMV (Raj وآخرون، 1998 ؛ Cardin وآخرون، 2003 ؛ Eiras وآخرون، 2004 ؛ صبر، 2005). أدت عدوى نباتات الزربيح بمستخلص الفايروس الى ظهور بقع صفراء صغيرة على الاوراق المعدة تطورت الى بقع ميتة (الشكل 2) ولم تتطور الاصابة الى جهازية ، وهذه النتائج تتفق مع نتائج دراسات سابقة حول استجابة هذا النبات لفايروس CMV (Verma وآخرون، 2004 ؛ البيضاني، 2004 ؛ صبر، 2005 ؛ Verma وآخرون، 2004). سببت عدوى نباتات الداتورة بمستخلص الفايروس ظهور بقع موضعية على الاوراق المعدة تطورت الى تبرقش أصفر (الشكل 2) وقد أشار البيضاني (2004) ؛ صبر (2005) إلى نتائج مماثلة استجابة للعدوى بفايروس موزائيك الخيار. تحولت أوراق نبات الطماطة المعدة بالفايروس الى شكل شريطي وتشوهات (الشكل 3) ولم تتطور الاصابة الى اشكال خيطية كما أشير في نتائج دراسات سابقة (Gibbs و Harrison، 2001 ؛ البيضاني، 2004 ؛ صبر، 2005).

ظهرت على أوراق نبات التبغ صنف Xanthi المعدة بمستخلص الفايروس ، بقع موضعية صغيرة صفراء (شكل 3) وقد أشار Palukaitis و Garcia-Arenal (2003) الى وجود سلالات تابعة لتحت المجموعة II (Sub group II) تسبب بقع موضعية على نباتات التبغ المعدة ميكانيكيا بالفايروس، في حين تشير معظم المصادر الاخرى الى اصابة هذا النبات جهازيا بفايروس CMV بتكوين أعراض موزائيك (Cardin وآخرون 2003 ؛ Eiras وآخرون 2004 ؛ صبر 2005). ولم تستجب نباتات الرقي (البطيخ الاحمر) للاصابة بالفايروس موضوع الدراسة.

اختبار Immunocromatography المصلي: ظهر خط ترسيب على الاشرطة المناعية الحاوية على مصل مضاد متعدد النسيلة لفايروس موزائيك الخيار المعامل بمستخلص أوراق نباتات الخيار ، بطيخ ، وقرع ، وشجر كوسة مصابة بالفايروس (الشكل 4) ولم يظهر خط ترسيب على الاشرطة المناعية المعاملة بمستخلص نبات سليم للمقارنة.

الترحيل الكهربائي: أظهر نمط الترحيل الكهربائي لعينات الفايروس المنقى من نبات مصاب بالفايروس حزمتين بروتينيتين أوزانها الجزيئية 24 و 26 كيلو دالتون ولم تظهر هاتين الحزمتين في نمط الترحيل الكهربائي لمستخلص خضع لنفس خطوات التنقية من نبات سليم (الشكل 4) مما يشير الى ان هاتين الحزمتين تمثلان بروتينات الغلاف الفايروسي. وأشارت دراسة سابقة الى ان الغلاف البروتيني لفايروس CMV يتكون من وحدتين أوزانها الجزيئية 22 و 28 كيلو دالتون (Kostova وآخرون، 2006)، في حين أشارت الدراسات الاخرى ان الغلاف البروتيني لفايروس

CMV يتكون من وحدة واحدة وزنها الجزيئي 24.5 كيلو دالتون (Srivastava وآخرون، 1992 ؛ Haq وآخرون، 1996 ؛ Nasu وآخرون، 1996). وأشارت دراسات اخرى ان الوزن الجزيئي للغلاف البروتيني لفايروس CMV هو 26 كيلو دالتون (Raj وآخرون، 1997 ؛ Kim وآخرون، 2002).



صوره 1. أعراض الموزائيك الجهازي على الخيار



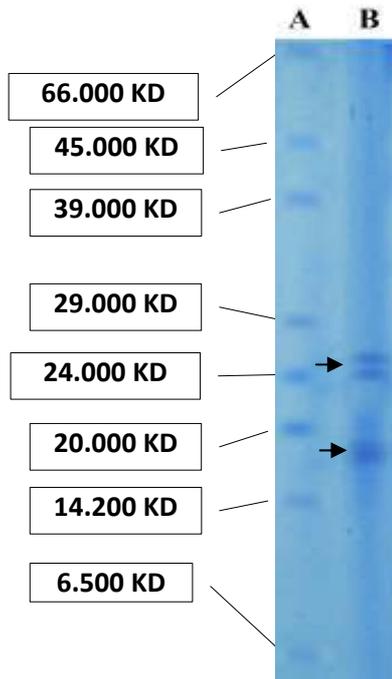
صوره 2. اليمين بقع موضعية على الاوراق المعدة لنبات اللوبيا ... الوسط بقع موضعية على الاوراق المعدة لنبات الزربيح ... اليسار تبرقش جهازي على الاوراق الحديثة لنبات الداتورة



صوره 3. اليمين اعراض الاوراق الشريطية على الطماطة .. اليسار اعراض البقع موضعية على التبغ Xanthi.



صوره 4 . اليمين نتائج الاختبار المصلي باستعمال الاشرطة المناعية لعينات مأخوذة من نباتات خيار عليه اعراض موزائيك وتبع عليه بقع موضعية وطماطة عليها اعراض اوراق شريطية .. مقارنة بعينة من نبات طماطة سليم للمقارنة ... اليسار نتائج الترحيل الكهربائي لعينة من بروتينات الغلاف الفيروسي منقاة من نبات خيار مصاب بالفايروس ويظهر فيها الوزن الجزيئي 24 - 26 كيلودالتون.



صوره 5. نتائج الترحيل الكهربائي لعينة من بروتينات الغلاف الفيروسي منقاة من نبات خيار مصاب بفايروس موزائيك الخيار يظهر فيها الوزن الجزيئي 24-26 كيلو دالتون (سهم).

ان الاعراض على النباتات الكاشفة ونتائج الاختبار المصلي بواسطة الاشرطة المناعية والوزن الجزيئي للغلاف البروتيني ، تشير الى ان الفايروس موضوع الدراسة يمثل سلالة لفايروس

موزائيك الخيار. يلاحظ من دراسة الاعراض على النباتات الكاشفة أن نبات التبغ *N. tabacum* Xanthi استجاب للفايروس بتكوين بقع موضعية على الاوراق المعدة انتشرت جهازيا الى الاوراق الأحدث بمرور الوقت وحيث أن معظم الدراسات التي تناولت دراسة الاعراض التي يسببها فايروس موزائيك الخيار تشير الى ان هذا النبات يستجيب لفايروس CMV بأعراض موزائيك جهازي (Gibbs و Harrison، 2001؛ البيضاني، 2004؛ صبر، 2005)، وهناك اشارات الى استجابة هذا النبات بتكوين بقع موضعية لبعض سلالات الفايروس التابعة لتحت المجموعة II (Palukaitis و Garcia-Arenal، 2003)، وأعراض الموزائيك على الفاصوليا وتحول الاوراق الى شكل شريطي في الطمطة، فان هذه النتائج تشير الى احتمال كون السلالة الحالية تمثل سلالة جديدة من فايروس موزائيك الخيار CMV تختلف عن السلالات الاعتيادية التي خضعت لدراسة الاعراض سابقا. ومما يؤكد كون السلالة مختلفة ظهور حزميتين بروتينيتين عند ترحيل بروتينات الفايروس والبروتينات المستخلصة من نباتات مصابة بالفايروس على هلام الاكريلامايد بطريقة الترحيل الكهربائي . كما أشار الى ذلك Kostova وآخرون (2006). وقد اعتمد الوزن الجزيئي لبروتينات الغلاف الفيروسي كثيرا للكشف عن الفايروسات من قبل العديد من الباحثين ، فقد استعملت في الكشف عن فايروس CMV في نبات *Dianthus barbatus* في الهند (Raj وآخرون، 1993)، وفي الكشف عن ثلاث سلالات من فايروس موزائيك الخيار في بلغاريا وعلى أساسها حددت مجموعتين لسلالات الفايروس هما تحت المجموعة I (Subgroup I) عزلت من الطمطة والخيار والفاصوليا والفلفل والقرع والتبغ، والمجموعة II (Subgroup II) من الطمطة والفلفل (Mavrodieva وآخرون 1998). اعتمدت تقنية الترحيل الكهربائي لبروتينات الغلاف الفيروسي ايضا في الكشف عن فايروس موزائيك التبغ والتفريق بين سلالاته المعزولة من نبات الفلفل والتبغ والبادنجان (Dardick و Culver، 1997؛ Dardick وآخرون، 1999). وتوصلت صبر (2005) الى تشخيص أربعة سلالات لفايروس موزائيك الخيار في العراق باعتماد تقنية الترحيل الكهربائي في هلام الاكريلامايد اعتمادا على بروتينات الغلاف.

ان سرعة وسهولة تطبيق ودقة النتائج التي يمكن الحصول عليها من تقنية الترحيل الكهربائي لبروتينات الغلاف الفيروسي في هلام الاكريلامايد تشير الى امكانية استعمالها في الكشف وتشخيص الفايروسات وسلالاتها.

المصادر

صبر، ليلى جبار. 2005. تحديد أربع سلالات لفايروس موزائيك الخيار مصليا وبايولوجيا وعلاقتها بالامراضية. رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة بغداد. 99 صفحة.
البيضاني، نصير كاظم حسين. 2004. تشخيص فايروسات القرعيات ومقاومتها بالطرق الزراعية. رسالة ماجستير. كلية الزراعة والغابات. جامعة الموصل.
عذاب، مصطفى علي ورقب عاكف العاني. 2010. تقويم كفاءة الترحيل الكهربائي على هلام الاكريلامايد وتقنية الأشرطة المناعية في الكشف عن فيروسي موزاييك التبغ وموزاييك الخيار في العراق. مجلة وقاية النبات العربية 28: 181-189.

Adkins S. and E.N Roskopf. 2002. Key west nightshade, a new experimental host for plant viruses. *Plant Disease* 86(12):1310-1314.

Agrios G.N. 2005. Plant pathology, fifth edition Academic Press, London. 922pp.

- Aramburu J., L., Galipienso, and C., Lopez. 2007. Reappearance of *Cucumber mosaic virus* isolates belonging to subgroup IB in Tomato Plants in North-Eastern Spain. *J Phytopath* 155:513-518.
- Bhat A.I., Y.R.Sarma, P.Sreenivasulu, and R.P. Pant. 2004. Occurrence and identification of a Cucumber mosaic virus isolate infecting Indian long pepper (*Piper longum*). *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences* 26(2): 279-284.
- Cardin L., A. Poupet, and J.P. Onesto. 2003. First report of Cucumber mosaic virus in *tencrium fruticans*. *Plant Disease* 87: 200.
- Dardick C.D., and J.N Culver. 1997. Tobamovirus coat proteins: elicitors of the hypersensitive response in *Solanum melongena* (eggplant). *Molecular Plant – microbe Interactions* 10(6): 776-778.
- Dardick C.D., Z. Tarapoewala, and J.N Bin Lu. 1999. Comparison of tobamovirus coat protein structural features that affect elicitor activity in pepper, eggplant and tobacco. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 12(3): 247-251.
- Dijkstra J., and J.A Khan. 2006. Description of positive sense, single stranded RNA viruses. Handbook of plant virology. New York, USA, P. 253-388.
- Edwardson J.R., and R.G. Christie. 1987. Cucumoviruses. Viruses infecting forage legumes. *Gaines Ville*. 1: 143-1214.
- Eiras M., A.J. Boari, A.Colaiccio, A.L.R. Chaves., M.R.S.Briones, A.R. Figueria, and R .Harakava. 2004. Characterization of isolates of the cucumovirus cucumber mosaic virus Present in Brazil. *Journal of Plant Pathology* 86(1): 61–69.
- Gibbs A.J. and B.D. Harrison. 2001. Cucumber mosaic virus. CMI/AAB Description of Plant Viruses. Set 1, (June 1970. No. 1 Kew, Surrey, England).
- Haq Q.M.R., B.P. Singh, and K.M. Srivostava. 1996. Biological, serological and molecular charac-terization of a Cucumber mosaic virus isolate from India. *Plant Pathology* 45(5): 823-828.
- Hord M.J., A. Garcia, and H. Villalobos. 2001. Field survey of *Cucumber mosaic virus* subgroups I and II in crop plants in Costa Rica. *Plant Disease* 85(9): 952–954.
- Hull R. 2002. *Matthews' Plant Virology*. Fourth edition. Academic Press, London, Uk. 1001 pp.
- Kim H.J., S.C. Gug., and K.C. Jang. 2002. Characterization of Cucumber mosaic virus subgroup II isolated from paprika (*Capsicum annuum* Var. *grossum*) in Korea. *Plant Pathology Journal*. 18 (1): 6-11.
- Kostova D., T. Stefanos , L. Angela., L. Vittoria., and V. Anna-Mariag. 2006. New cucumovirus on beans in Bulgaria - an attempt for characterization. *Journal of Culture Collections* 5(1): 94-101.

- Laemmli U.K. 1970. Cleavage of structural protein during the assembly of head of bacteriophage T4. *Nature*. 227:680-685.
- Lin H.X., L. Rubio , and A. Smythe . 2003. Genetic diversity and biological variation among California isolates of *Cucumber mosaic virus*. *Journal of General Virology* 84: 249–258.
- Mavrodieva V.A., D.J.Barbara, and N.J Spence. 1998. Subgroup determination of Bulgarian isolates of Cucumber mosaic virus and the presence of satellite RNAs. *Plant Disease* 82(8): 960.
- Nasu Y., K Akira, E. Shun , and E.Yoshia. 1996. *Cry*, the resistance locus of cowpea to Cucumber mosaic virus strain Y. *Phytopathology* 86(9): 946-951.
- Palukaitis P., and F. Garcia-Arenal. 2003. *Cucumber mosaic virus*. CMI/AAB, *Description of Plant Viruses*. No. 400.
- Raj S.K., K.M. Aminuddin. Srivastava, and B.P. Singh. 1993. Natural infection of Cucumber mosaic virus on *Dianthus barbatus* in India. *Plant Pathology*. 42: 811-813.
- Raj S.K., Aminuddin, B.P Singh., and M Pal. 1997. Characterization of a Cucumber mosaic virus isolate causing leaf crinkle and severe mosaic of *amaranthus* in India. *Canadian Journal of Plant Pathology* 19: 97-100.
- Raj S.K., S Saxena., V. Hallan , and B.P. Singh. 1998. Reverse transcription–polymerase chain reaction (RT-PCR) for direct detection of Cucumber mosaic virus (CMV) in *Gladiolus*. *Biochemistry and Molecular Biology international*.44(1):234-239.
- Silva D.P.P., P. Jones, and M.W. Shaw. 2002. Identification and transmission of Piper yellow mottle virus and Cucumber mosaic virus infecting black pepper (*Piper nigrum*) in Srilanka. *Plant Pathology* .51(5): 537-545.
- Singh Z., M.G.K. Jones and R.A.C. Jones. 1998. Effectiveness of coat protein and defective replicase gene-mediated resistance against Australian isolates of Cucumber mosaic virus. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 38: 375-383.
- Srivastava K.M., S.K. Raj, and B.P. Singh. 1992. Properties of a Cucumber mosaic virus strain naturally infecting chrysanthemum in India. *Plant Disease* 76(5): 474-477.
- Verma N., A.K. Singh, L. Singh, S. Kulshreshtha, G. Raikhy, V. Hallan, R. Ram, and A.A. Zaidi. 2004. Occurrence of Cucumber mosaic virus in *Gerbera jamesonil* in India. *Plant Disease* .88: 11-61.
- Yordanova A., and D. Hristova. 2002. Serogroup differentiation of Bulgarian isolates of cucumber mosaic virus/ Comptes rendus de l'Academie bulgare des Sciences 55(2): 75–80.

IDENTIFICATION AND MOLECULAR STUDIES ON *Cucumber mosaic VIRUS* IN IRAQ.

Mustafa A. Adhab* Kharim A. Hassan** Mohammad M. Sulaiman* Rakib A. Al-Ani*

*Plant Protection Department, College of Agriculture, University of Baghdad, Iraq. Email: Rakiba99@yahoo.com

**Plant Protection Department, College of Agriculture, University of Diyala, Iraq. Email:maa_adhab@hotmail.com

ABSTRACT

The objective of the study is to characterize new strain of *Cucumber mosaic cucumovirus* (CMV), based on symptoms on indicator plants, serological characteristics and the molecular weight of virus coat proteins on SDS-polyacrylamide gel electrophoresis. Leaves from symptomatic cucumber plants were extracted with 0.01 M phosphate buffer and mechanically inoculated on cucumber plants, and those exhibited mosaic symptoms were used as virus source. A number of indicator plants were mechanically inoculated with an extract of symptomatic leaves. The virus was extracted and purified from cucumber infected plants. Samples from pure virus preparation were analyzed on polyacrylamide gel containing SDS by electrophoresis. A part of symptomatic leaves was treated with anti-CMV polyclonal antibodies by Immunocromatography. Results showed that the virus induced chlorotic local lesions on the inoculated leaves of *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi, and mosaic on beans. A precipitation line was appeared on the Immunostrip treated with symptomatic leaf extracts, this line is absent on immunostrip treated with asymptomatic leaves. The analysis of purified virus and on SDS-polyacrylamide gel electrophoresis revealed two protein bands of 24 and 26 Kd. These results indicate that the virus under study is CMV. The responded of *N. tabacum* Xanthi to virus inoculation by chlorotic lesions, and the apparition of 2 protein bands on acrylamide gel representing the molecular weights of virus coat protein indicates a new strain of CMV in Iraq.

Key word: Immunostrip, gel electrophoresis, *Cucumber mosaic virus*.