

## تشخيص سلالة لفايروس موزائيك الخيار من نبات الفاصوليا بأستعمال التقنيات البايولوجية والمصلية في العراق

ليلى جبار صبر

قسم وقاية النبات- كلية الزراعة/ جامعة بغداد

### الخلاصة

اجريت هذه الدراسة لتشخيص سلالة لفايروس موزائيك الخيار تصيب نبات الفاصوليا *Phaseolus vulgaris* L. صنف Pinto، واعتمدت الأعراض على النباتات الكاشفة والاختبارات المصلية (أشرطة اليزا المناعية والانتشار المناعي المزدوج) في تشخيص الفايروس. اظهرت نتائج دراسة الاعراض على نباتات الفاصوليا والنباتات الكاشفة، وجود السلالة B لفايروس موزائيك الخيار CMV. اجريت تنقية جزئية لعزلة الفايروس من نباتات تبغ صنف Rustica بترسيب الفايروس من المستخلص بإستعمال كبريتات الامونيوم  $(NH_4)_2SO_4$  بتركيز 50% (وزن:حجم). بلغت نسبة الامتصاص 260\280 Ratio لتحضيره الفايروس المنقاة 1.7 ، وبلغت كمية الفايروس 220 ملغم/كغم أوراق تبغ مصابة. تم الحصول على مصل مضاد للعزلة بغيرية 512، بعد اربع حقنات من الفايروس في ارنب نيوزلاندي في عضلة الفخذ بتركيز 2.6 ملغم/مل. ظهر خط ترسيب بين الحفر الحاوية على المصل المضاد وتلك الحاوية على التحضيرة النقية لعزلة الفايروس ومستخلص من اوراق مصابة بالعزلة B-CMV بواسطة اختبار الانتشار المناعي المزدوج في وسط الاكاروز الصلب.

### Identification of a strain of cucumber mosaic virus from the bean in Iraq by biological and serological techniques

Layla J. Sabir

Plant Protection Department- College of Agriculture/ University of Baghdad

### Abstract

This study was undertaken to identify a strain of cucumber mosaic virus infected bean *Phaseolus vulgaris* cv. Pinto. Symptoms on indicator plants and of serological tests (double immuno-diffusion & Immunostrip-ELISA) were used to justify this goal. Symptoms manifested on bean and indicator plants indicated the presence of a strain B of cucumber mosaic virus (B-CMV). Partial purification of the virus isolate from *N. tabacum* cv. Rustica was achieved by precipitating the virus by 50% (w/v) ammonium sulfate. The absorption ratio at 260/280 nm of the purified preparations was found to be 1.7. The yield of the purified virus was 220 mg of virus/kg of plant leaves. An antiserum for the isolate with a titer of 1/512 was obtained by 4 intramuscular injections of purified virus at 2.6 mg/ml in a rabbit. Precipitation lines between wells containing the antiserum of the virus and those containing purified virus or extracts from infected plants by double immuno-diffusion test on agarose gel were appeared.

## المقدمة

يعد فايروس موزائيك الخيار (CMV) Cucumber mosaic virus من الفايروسات ذات المدى العائلي الواسع ، اذ له القدرة على اصابة اكثر من 1200 نوع نباتي تعود الى اكثر من 100 عائلة نباتية من ذوات الفلقة الواحدة وذوات الفلقتين عند تلقيحها ميكانيكياً ومن بين هذه العوائل محاصيل ذات اهمية اقتصادية مثل القرعيات والطماطة والبادنجان والفلفل والبقوليات وغيرها (1). صنف الفايروس حديثاً كالآتي:  
Type species:Cucumber mosaic virus; Genus:Cucumovirus; Family:Bromoviridae. (2)  
يصيب الفايروس نباتات الفاصوليا *Phaseolus vulgaris* ويؤدي الى ظهور اعراض تختلف حسب الصنف المزروع، حيث تستجيب الاصناف (Kidneybea، Harvester، Pinto، Contender، Bountiful، Local Scotia، بتكوين اعراض توضح وتحزم اخضر للعروق تتطور الى موزائيك (3)، وتظهر اعراض توضح للعروق وموزائيك شديد على الاوراق المعدة يرافقها اصفرار الاوراق وظهور اعراض تنخر للصنف Juss (4). ويستجيب الصنفان Bountiful و Pinto بتكوين بقع موضعية صفراء على الأوراق المعدة تتطور فيما بعد الى موزائيك (5)، في حين ذكر (6) ان نباتات الفاصوليا صنف prince يستجيب للاصابة بالفايروس بظهور بقع موضعية متنخرة على الأوراق المعدة دون ان تتطور الى اعراض جهازية.  
شخصت سلالة لفايروس CMV من نباتات الفاصوليا سميت بـCMV-B اعتماداً على نتائج ودراسات المدى العائلي والخواص في العصير واختبارات الوقاية المتبادلة (3). شخصت سلالة CMV-WB للفايروس من نبات الفاصوليا في فلوريدا بالاعتماد على المدى العائلي والنقل بالحشرات والاختبارات المصلية (5). لوحظت مؤخرًا في المنطقة الوسطى من العراق اعراض على نباتات الفاصوليا صنف Pinto مشابهة لاعراض الاصابة بالفايروسات، لذا هدفت هذه الدراسة الى محاولة لتشخيص عزلة الفايروس من نبات الفاصوليا صنف Pinto اعتماداً على الاختبار الاحيائي والاختبارات المصلية.

## المواد وطرائق العمل

### التشخيص الأولي للفايروس

تم التشخيص الأولي باستعمال مصل مضاد لفايروس موزائيك الخيار CMV والمجهز على شكل أشرطة من شركة Agdia biofords الأمريكية، حسب طريقة العمل الموصى بها من قبل الشركة المجهزة والتي تتلخص بوضع 0.15 غم من العينة المراد فحصها في الكيس الحاوي على محلول داريء الاستخلاص وسحقت جيداً بواسطة مدقة هاون Pestle. غمرت نهاية الشريط (FlashKits) المعاملة بالمصل المضاد (الجهة المحمية بشريط ومؤشر عليه بسهم متجه للأسفل) لمسافة 0.5 سم في الكيس الحاوي على محلول العينة المراد اختبارها. وسجلت النتائج بعد 3 - 5 دقائق ، وهو الوقت اللازم لحدوث التفاعل. كررت الخطوات أعلاه مع مستخلص من نبات سليم للمقارنة.

### جمع العينات

جمعت أوراق من نباتات فاصوليا تظهر عليها بقع موضعية متنخرة، اخذت بقعة مفردة وعمل منها مستخلص في داريء فوسفاتي 0.01 مولاري ( $\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) pH=7 وأعديت بالمستخلص نباتات خيار صنف بيتا الفا. حضنت النباتات المعدة في ظروف البيت الزجاجي بدرجة حرارة 15-20 م، وبعد

ظهور الاعراض أجري إعادة العدوى ثانيه بمستخلص من الاوراق على نبات الفاصوليا للتأكد من نقاوة العزلة.

#### الاختبار الاحيائي

اعدت بمستخلص من أوراق نباتات خيار مصابة النباتات الكاشفة الاتية: *Phaseolus vulgaris* صنف Pinto ، *Cucumis sativus* L. ، *Chenopodium quinoa* Willd ، *Chenopodium* ، *Gomphrena* ، *Vigna unguiculata* ، *Cucumis melo* L. ، *amaranticolor* Cost & Reyn ، *N. tabacum* cv. ، *N. tabacum* cv. Rustica ، *Nicotiana tabacum* Samsun ، *globosa* L. ، *White Burley* ، *N.clevelandii* .(7، 8، 9). حضنت النباتات في البيت الزجاجي لحين ظهور الاعراض.

#### الاختبار المصلي

##### أ- استخلاص وتنقية الفايروس

اعتمد نبات التبغ صنف Rustica عائلاً تكثيرياً للفايروس (9، 10). اعدت بمستخلص من اوراق خيار مصابة مجموعة من نباتات التبغ وحضنت في البيت الزجاجي لحين ظهور الاعراض. سحق 100 غم من اوراق تبغ مصابة مع دارئ فوسفاتي 50 مولاري فوسفات الصوديوم، 1% DIECA pH = 8 بنسبة 1:1 (وزن: حجم) في مزجة كهربائية. مرر المستخلص خلال اوراق الترشيح بوجود الكاربون المنشط، اخضع الراشح لعملية انتباز بسرعة 5000 د.د. مدة 15 دقيقة. اذيب الراسب في محلول البوريت 2% ثم اخضع المعلق لعملية انتباز بسرعة 5000 د.د. مدة 10 دقائق. ثم قدر تركيز الفايروس للتحضير المنقاة في جهاز الطيف الضوئي نوع LKB موديل CE4050 .

##### ب- تحضير مصل مضاد للفايروس

اخضع ارنب نيوزلاندي لاربع حقنات من مستحضر الفايروس بتركيز 2.6 ملغم/مل مع حجم مساوٍ من مساعد فروند غير الكامل في عضلة الفخذ، الثلاث الاولى اسبوعية والرابعة بعد اسبوعين من الحقنة الثالثة. جمع 20 مل من الدم، بقطع الوريد الخارجي للأذن بواسطة شفرة حادة، في كأس زجاجي بعد اسبوع من الحقنة الاخيرة. ترك الدم ليتخثر ثم جمع المصل واخضع لعملية انتباز بسرعة 2000 د.د. مدة 10 دقائق (11). ثم قدرت عيارية المصل المضاد (12).

##### ج- اختبار الانتشار المناعي المزدوج

اذيب 0.85 غم اكاروز و 0.85 كلوريد الصوديوم و 0.02 غم أزيد الصوديوم في 100 مل من PBS، pH=7.4 في دورق زجاجي وسخن المزيج الى درجة الغليان ثم ترك ليبرد، ثم صب 20 مل من هذا المحلول في اطباق بلاستيكية قطرها 9 سم بوساطة ماصة معقمة سعة 10 مل وتركت الاطباق ساعة في المختبر لضمان تصلب الاكاروز، عملت حفرة مركزية تحيطها ستة حفر بوساطة قعر ماصة باستور، ووضع 40 مايكرو لتر من المصل غير المخفف في الحفرة الوسطية ووضع 40 مايكرو لتر من مستخلص نبات التبغ المصاب للعزلة، ونموذج من تحضير الفايروس المنقاة جزئياً ومستخلص نبات سليم في الحفرة المحيطية عملت المستضدات قبل اخضاعها للاختبار بمحلول 2% SDS في الماء المقطر، تركت الاطباق في حمام مائي بدرجة 37 م لمدة 24 ساعة، وبعد ظهور خطوط الترسيب غمر هلام الاكاروز في محلول كلوريد الصوديوم 0.85% لازالة البروتينات غير المترسبة.

## النتائج والمناقشة

### التشخيص الأولي للفايروس

أظهرت نتائج الاختبار المصلي بواسطة الأشرطة المناعية Immunostrip احتواء نباتات الخيار، المعدة من بقعة موضعية متخثرة مأخوذة من نبات فاصوليا مصاب ، على فايروس موزائيك الخيار CMV ، إذ أظهرت مستخلصات من هذه النباتات تفاعلا موجبا مع ال Flashkits الحاوي على مصل مضاد لفايروس موزائيك الخيار CMV تمثل بظهور خط ترسيب (شكل 1)، فيما لم يظهر الاختبار أي دلالة على وجود تفاعل مع عينات مأخوذة من نباتات سليمة.

يعد اختبار الأشرطة المناعية من الاختبارات الكفوءة والمعتمدة في تشخيص فايروسات النبات (13)،

(14).



شكل (1) تفاعل مستخلص نبات خيار ، ملقح من بقعة موضعية متخثرة مأخوذة من نبات فاصوليا مصاب،

مع المصل المضاد لفايروس موزائيك الخيار CMV

A : التفاعل مع مستخلص نبات خيار سليم.

B : التفاعل مع مستخلص نبات خيار مصاب (يشير السهم إلى منطقة حدوث التفاعل بين الفايروس والمصل).

### الاختبار الاحيائي

ظهرت على أوراق نباتات الفاصوليا صنف Pinto المعدة ميكانيكياً بمستخلص أوراق نبات خيار مصاب بقعاً موضعية متخثرة NLL، بعد مرور 10 ايام من العدوى دون ان تتطور الى اعراض جهازية. وتتفق

هذه النتائج مع مذكره عدد من الباحثين بهذا الخصوص، حيث ذكر (15) ظهور البقع الموضعية المتخثرة على الاوراق للسنفان Pinto و Bountifull وواضح (1) ان البقع المتخثرة تكون صغيرة الحجم ارجوانية اللون على الاوراق المعدة في الصنف Pinto. في حين ذكر (16) ان ظهور البقع المتخثرة اعقبها ظهور اعراض ذبول على الاوراق المعدة. واستجابات نباتات الخيار صنف بيتا الفا المعدة بظهور بقع موضعية صفراء CLL اعقبها ظهور اعراض توضح العروق vein clearing وموزائيك صاحبه تقزم ونشوه النبات بعد 7 ايام من العدوى. وهذه النتائج تتفق مع مذكره (17)، في حين ذكر (18) ان هذه الاعراض تظهر بعد 4-5 ايام من العدوى. واستجابات نباتات الزريخ *Chenopodium quinoa* المعدة ميكانيكياً بمستخلص اوراق خيار مصابة بظهور بقع موضعية متخثرة بعد مرور 6 ايام من العدوى (19، 3). أشار بعض الباحثون الى ظهور بقع موضعية صفراء على الاوراق المعدة تطورت فيما بعد الى تبرقش (13، 20). استجابات نباتات الزريخ صفراء *Chenopodium amaranticolor* للعدوى بظهور بقع موضعية صفراء محددة بعد 2 يوم من العدوى وهذه النتائج تتفق مع مذكره (16) وظهرت اعراض مماثلة بعد مرور 3 ايام من العدوى (21) ولاتتفق مع مذكره (22) بتطور البقع الصفراء الى بقع موضعية ميته مع عدم ظهور اعراض جهازية. وظهرت على نباتات البطيخ *Cucumis melo* L. المعدة بقع موضعية صفراء تطورت فيما بعد الى تبرقش، وهذه النتائج تتفق مع مذكره (23) و (13). واستجابات نباتات اللوبيا *Vigna unguiculata* للعدوى بمستخلص نبات خيار مصاب بتكوين أعراضاً جهازية تمثلت بشفافية العروق ثم تطورت الاعراض الى تبرقش اصفر على جميع اوراق النبات بعد 14 يوماً من العدوى وهذه النتائج تتفق مع مذكر مسبقاً (5، 24) في حين أشار باحثون آخرون الى ظهور بقع موضعية متخثرة مختلفة في حجمها على الاوراق المعدة (9، 12، 25).

ظهرت على نباتات ورد الدكمة *Gomphrena globosa* L. المعدة بقع موضعية صفراء على الاوراق المعدة بعد مرور 14 يوماً من العدوى، وهذه الاعراض تتفق مع (8) إلا أن صبر (2006) ذكر أن البقع الموضعية الصفراء ظهرت على الاوراق بعد 30 يوماً من العدوى. وهذه الاعراض لاتتفق مع (26) في ظهور اعراض موزائيك شديد على الاوراق المعدة مع ظهور تشوهات على هذه الاوراق.

استجابات نباتات التبغ صنف Samsun و Rustica و White Burley بظهور اعراض شفافية العروق اعقبها ظهور موزائيك وهذه النتائج تتفق مع مذكره (19) ولاتتفق مع مذكره باحثون آخرون في ظهور بقع موضعية متخثرة على الاوراق المعدة للسنفين White Burley و Rustica تطورت فيما بعد الى موزائيك شديد مع تشوه الاوراق (9) وظهرت على اوراق التبغ صنف Clevelandii بقع موضعية صفراء بعد مرور 4 ايام من العدوى تطورت الى اعراض جهازية وهذه النتائج تتفق مع مذكره (16) ولاتتفق مع مذكره (27) بظهور اعراض موزائيك اخضر على الاوراق المعدة.

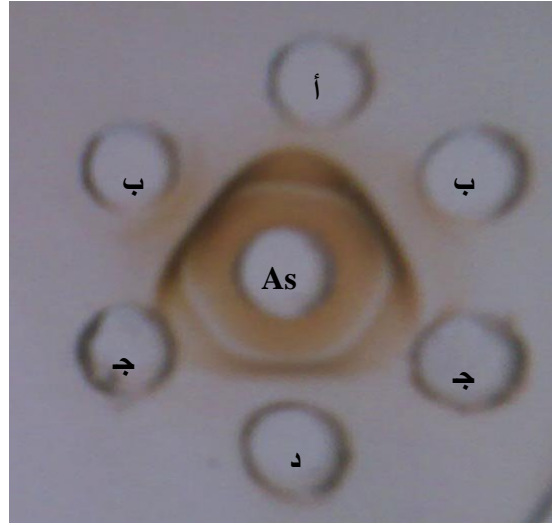
### تنقية الفايروس

امكن الحصول على راسب للفايروس بأتابع طريقة الاستخلاص بأستعمال دارى فوسفاتي (فوسفات الصويوم  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  بتركيز 0.5 مولاري pH=8 و 1% DIECA). رسب الفايروس بأستعمال كيريتات الامونيوم  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  50% (وزن: حجم). قدرت كمية الفايروس المنقى من انسجة التبغ صنف Rustica بـ 220 ملغم/كغم اوراق وبلغت نسبة الامتصاص للضوء 1.7 على 280/260Ratio نانوميتر. ان هذه النسبة تشير الى الجسيمات الكروية للفايروس (26) وهذه النتائج تتفق مع مذكره (28) عن امكانية ترسيب الفايروس من المستخلص بواسطة سلفات الامونيوم بنسبة 50%.

## الاختبار المصلي

تم الحصول على مصل مضاد للفايروس بعد اربع حقنات من الفايروس النقي في عضلة الفخذ لارنب مختبري. قدرت عياريته 512/1 (29). في حين حصل (15) على عيارية 256/1 وعلى عيارية 1024/1 من قبل (12).

وظهر خط ترسيب بين الحفر الحاوية على المصل المضاد وتلك الحاوية على التحضير المنقاة للفايروس او مستخلص نبات تبغ مصاب باعتماد اختبار الانتشار المناعي المزدوج في حين لم يظهر خط ترسيب بين الحفر الحاوية على المصل وتلك الحاوية على مستخلص نبات سليم او محلول دارى (شكل 2) مما يؤكد ان الفايروس قيد الدراسة يمثل عذلة من فايروس موزائيك الخيار.



شكل (2) اختبار الانتشار المزدوج يوضح حدوث تفاعل بين المصل المضاد ومستخلص النبات المصاب.

AS = المصل المضاد

أ = مستخلص نبات التبغ مصاب للعدلة CMV-B

ب = تحضير منقاة للفايروس.

ج = مستخلص نبات سليم.

د = محلول دارى فوسفاتي.

وقد اشارت العديد من الدراسات الى انه يمكن الحصول على مصل مضاد لفايروس CMV بعد عدة حقنات للفايروس المنقى في مناطق مختلفة من جسم ارنب مختبري، فقد توصل (30) إلى تحضير مصل مضاد بأربع حقنات من تحضير الفايروس المنقى بمعدل 0.5 ملغم/مل لكل حقنة مع حجم مكافئ من مادة فروند أجيوفنت الكاملة في عضلة الفخذ، وتحت الجلد لارنب مختبري. في حين حضره (9) بثلاث حقنات في عضلة الفخذ بمعدل 0.2 ملغم/مل لكل حقنة.

واشارت دراسات عديدة الى ظهور خطوط الترسيب بين الحفر الحاوية على المصل والمستضدات وعدم ظهور هذه الخطوط بين المصل وعصارة من اوراق نبات سليم (19). ونلاحظ في شكل (2) يوجد خطين للترسيب وذلك لكون الفايروس غير مستقر فقد ذكر (31) ان الفايروس يعطي خط او خطين للترسيب، الاول

قريب من حفرة الانتجين متسبب عن كثرة او قلة الارتباط بالفايروس والثاني قريب من حفرة المصل المضاد متسبب عن تحطيم الفايروس.

### المصادر

- 1- Palukaitis, P. (2003). Cucumber mosaic virus. Description of Plant Viruses. pp. 23.
- 2- Moury, B. (2004). Differential selection of genes of cucumber mosaic virus subgroups. Mol. Biol. Evol. 21(8): 1602-1611.
- 3- Fegla, G.I., A.L.B. Shawkat, and Y.M. Soad. (1980). Isolation of strain of cucumber mosaic virus from bean in Iraq. Mesopotamia J. Agric. 15(1): 167-178.
- 4- Singh, S. (1981). Datura leaf distortion mosaic caused by a strain of cucumber mosaic virus. Indian Phytopathology, 34: 92-94.
- 5- Kuwait, C. A. and D.E. Purcifull. (1982). Some properties of a cucumber mosaic virus strain isolation from winged bean in Florida . Plant Disease. 66:10711-1073.
- 6- Mail, V.R. and S.B. Rajerore. (1979). Occurrence of cucumber mosaic virus on banana in India. Plant Disease Reporter. 63: 138-142.
- 7- Francki, R.I.B., D.W. Mossop and F. Hatta. (1979). Cucumber mosaic virus. No. 213 in Description of Plant Virus C.M.I./ Assoc . Appl. Biologists, Kew, Surrey, England.
- 8- Shi, B.J., P. Palukaitis and R.H. Symons. (2002). Differential virulence by strains of cucumber mosaic virus is mediated by 2b gene. The American Phytopathological Society. 15(9): 947-955.
- 9- Raj, S.K., A. Srivastava, G. Chandra and B.P. Singh. (2002). Characterization of cucumber mosaic virus isolating gladiolus cultivars and comparative evaluation of serological molecular methods for sensitive diagnosis. Current Science, 83(9): 1132-1137.
- 10- Ahmad, I.B. and H.A. Scott. (1984). An improved immunodiffusion test for the detection of intact cucumber mosaic virus in caude tobacco sap. Phthyopathology. 74: 1097-1100.
- 11 العاني، رقيب عاكف وياش بال راتي. (1984). فايروسات النباتات اساسيات التجارب العملية ، مطبعة جامعة بغداد. 274 صفحة.
- 12- صبر، ليلي جبار. (2006). تحديد اربع سلالات فايروس موزائيك الخيار مصلية وبايولوجية وعلاقتها بالامراضية. رسالة ماجستير. كلية الزراعة- جامعة بغداد. 99 صفحة.
- 13- عذاب، مصطفى علي. (2009). دراسة بروتينات الغلاف لثلاثة فايروسات نباتية وامكانية استخدامها كأدلة في الكشف عنها. رسالة ماجستير - كلية الزراعة - جامعة بغداد. 76 صفحة.
- 14- عذاب، مصطفى علي ورقيب عاكف العاني. (2009). تقويم كفاءة الاختبار المصلي Immunostrip ELISA في تشخيص فايروسي موزائيك التبغ TMV وموزائيك الخيار CMV في العراق. مجلة جامعة الانبار للعلوم الزراعية 7 (3). (تحت النشر).
- 15- Hearon, S.S. (1979). A ring spot of prayer plants caused by a strain of cucumber mosaic virus. Plant Diseases Reporter. 63(1): 32-36.

- 16- Xu, Z. and O.W. Barnett. (1984). Identification of cucumber mosaic virus from naturally infected peanuts in China . Plant. Disease 68: 389-389.
- 17- Bos, L. (1999). Plant viruses, unique and intriguing pathogens. A text book of plant virology. Backhuys Publishers, Netherlands, 360 pp.
- 18- اجريوس. (1994). امراض النبات. ترجمة الدكتور محمود موسى ابو عرقوب. المكتبة الاكاديمية. 1451 صفحة.
- 19- محمد، حسن أمين. (1978). تشخيص وانتشار بعض فايروسات القرعيات في محافظة التاميم والسليمانية بالعراق. رسالة ماجستير - كلية العلوم - جامعة السليمانية.
- 20 Braverman, S.W. and R. Prowidenti. (1977). A mosaic of garden loosestrife caused by cucumber mosaic virus. Plant Disease Reporter . 61(4): 332-334.
- 21 Brierley, P. and R.V. Fravis. (1958). A virulent strain of cucumber mosaic virus from *Easter lily*. Plant Disease Reporter. 42(9): 1034-1036.
- 22- البيضاني، نصير كاظم حسين. (2004). تشخيص فايروسات القرعيات ومقاومتها بالطرق الزراعية. رسالة ماجستير - كلية الزراعة والغابات - جامعة الموصل.
- 23- الزبيدي، محمد عبد الستار كاظم. (1988). تشخيص مصادر اللقاح الاولي لفايروس موزائيك الخيار في منطقة ابو غريب. رسالة ماجستير - كلية الزراعة - جامعة بغداد.
- 24 - وليد، برهان خليل، لمياء صالح مهدي، ابراهيم خليل حسون ومنيرة امين. (1981). مسح امراض الطماطة الفايروسية في العراق. الكتاب السنوي لبحوث وقاية المزروعات. بحوث امراض النبات والادغال. المجلد الثاني، الجزء الثاني، مطبعة الدار العربية- بغداد. ص 157، 162 - 163.
- 25- Gardin, L., A. Poupet and J.P. Onesto. (2003). First report of cucumber mosaic virus in *Tencrium fruticans*. Plant Disease 87: 200.
- 26- Tanne, E. and Z.G. Sara. (1980). Cucumber mosaic virus on eggplant in Israel. Plant Disease. 64: 371-372.
- 27- Masuta, C., M. Suzuki, S. Kawata, Y. Takanami and A. Koiwai. (1993). Yellow mosaic symptoms induced by Y satellite RNA of cucumber mosaic virus regulated by a single in completely dominant gene in wild *Nicotiana* species. Phytopathology. 83: 411-413.
- 28- Eiras, M., A.J. Boari, A. Colariccio, A.L.R. Chaves, M.R.S. Briones, A.R. Figueria and R. Harakava. (2004). Characterization of isolates of the cucumovirus cucumber mosaic virus in Brazil. Molecular Plant Microbe Interactions .14:615\_624.
- 29- Water worth, H.E. and W.R. Povish. (1975). A virus related to cucumber mosaic virus isolated from imported Lxora Plants. Phytopathology . 65 : 51-58.
- 30- Wilson, A.D. and R.S. Halliwell. (1985). Characterization and field studies of cucumber mosaic virus isolated from spinach in the winter garden area of Texas, Plant Diseases. 69: 757-754.
- 31- Scott, H.A. (1968). Serological behavior of cucumber mosaic virus (Strain Y) and the virus protein. Virology. 34: 79-90.