مجلة الزراعة العراقية (البحثية) مجلد16 عدد1 ص39-46 تموز/2011

تشخيص السلالة الشائعة لفايروس البطاطا PVY^O في العراق

رقيب عاكف العاني مصطفى علي عذاب
صابر نبات حافظ محمد سعيد السامعي

الملخص

أجريت هذه الدراسة بهدف تشخيص السلالة الشائعة ***Ordinary strain*** لفايروس البطاطا واي **Potato virus Y** (PVY^O، جنس **potyvirus**، عائلة **Potyviridae**). اعتمدت الأعراض على النباتات المشخصة والنقل بحشرة من الخوخ الأخضر ***Myzus persicae*** **Sulz.** والاختبارات المصلية لتنفيذ هذه الدراسة. تم الحصول على عزلة الفايروس من نباتات بطاطا ***Solanum tuberosum*** **L.** مصابة ونقيت من بقعة موضعية على ورقة نبات زربيح ***Chenopodium amaranticolor*** **Coste & Reyn.** معداة بالفايروس. أظهرت نتائج الاختبار المصلي **Immunostrip ELISA** باستعمال الأشرطة المناعية **Flashkits** الخاصة بالفايروس**PVY** تفاعلا موجبا مع مستخلص نباتات بطاطا مصابة. ظهرت على نباتات الزربيح ، المعداة بالعزلة، بقع موضعية على الأوراق المعداة بعد **8** أيام من العدوى. استجابت نباتات التبغ ***Nicotiana tabacum*** **L.** صنف **Samsun NN** ونباتات المنظاد ***Physalis floridana*** **Rydb.** للعدوى بالعزلة بأعراض شفافية العروق على الأوراق الحديثة تطورت على الأخيرة إلى أعراض تبرقش ثم تهرؤ الأوراق وموتها وسقوطها ، وهذا يشير إلى أن السلالة قيد الدراسة هي السلالة الشائعة لفايروس البطاطا واي. أظهرت نتائج اختبار اليزا المصلي باستعمال أجسام مضادة وحيدة النسيلة **monoclonal** المتخصص للسلالة الشائعة تفاعلا موجبا مع مستخلصات من نباتات البطاطا والتبغ ونباتات المنظاد. ظهر مهماز بين مستخلصات من نباتات تبغ مصابة بالسلالة الشائعة ومستخلصات من نباتات مصابة بسلالة تنخر عروق التبغ ***Tobacco veinal*** **necrosis strain** (PVY^N) المعاملة مع المصل المضاد للعزلة قيد الدراسة، وهذه النتائج تدعم نتائج دراسة الأعراض على النباتات المشخصة. أمكن نقل العزلة الشائعة من نباتات مصابة إلى نباتات سليمة بواسطة حشرات المن نوع ***Myzus persicae*** **(Sulz.)** جعل من الممكن استبعاد سلالة التخطط النقطي **Stipple-streak strain** (PVY^C) للفايروس التي لاتنقل بالمن. وبذلك تم التأكد على أن العزلة موضوع الدراسة تمثل السلالة الشائعة للفايروسPVY^O.

المقدمة

تصاب البطاطا ***Solanum tuberosum*** **L.** بالعديد من المسببات الممرضة تقع في مقدمتها الفايروسات. سجل ما يزيد عن **40** فايروسا يصيب البطاطا ينقل معظمها بواسطة الدرنات، يعزى إليها تدهور وتدني الحاصل بشكل عام (**5**، **17**). يعد فايروس البطاطا واي **PVY** من بين أهم الفايروسات التي تصيب البطاطا لسهولة انتقاله. يعود فايروس **PVY** إلى عائلة **Potyviridae** الجنس **Potyvirus** النوع **Potato virus Y**. ينقل الفايروس بواسطة **50** نوعا من المن ويعد من الخوخ الأخضر(***Myzus persicae*** **(Sulz.**) أكثرها كفاءة في نقله بطريقة غير باقية (**5**،**12**).

سجلت للفايروس سلالات عديدة في العالم اعتمادا على الأعراض التي تسببها على صنفي التبغ **White burly** و**Samsun NN** وعلى نبات المنظاد ***Physalis floridana*** وعلى البطاطا وضعت في ثلاث مجاميع، وكانت أكثرها تسببا بالخسائر على نبات البطاطا في العالم هي السلالة الشائعةPVY^O (**12**، **17**) وشخصت في العراق سلالة لتنخرPVY^N (**2**).

كلية الزراعة – جامعة بغداد – بغداد، العراق.
تاريخ تسلم البحث: شباط/2010
تاريخ قبول البحث:اب/2010

يسبب PVY أعراضا متنوعة على البطاطا حسب سلالة الفايروس وصنف البطاطا المزروع. وحسب ما اشار اليه منصور وKerlan (5، 12) تظهر أعراض الإصابة الأولية بشكل تنخر ثم تبرقش واصفرار الوريقات يعقبها سقوط الأوراق وموت النبات قبل اكتمال نموه، وتظهر أعراض الإصابة الثانوية (الناتجة من درنات مصابة) بشكل تقزم النبات وتغضن الأوراق وتجعدها وقد تظهر أعراض تنخر على الساق والأوراق (13). وأشار Hataya وجماعته (9)، McDonald وSingh (15) الى ظهور أعراض شفافية العروق في البداية ثم تتطور إلى تبرقش على صنفي التبغ White burly وSamsun Nn. يستجيب نبات المنطاد للإصابة بأعراض تبرقش شديد يعقبه سقوط الأوراق (12).

أجريت هذه الدراسة بهدف تحديد سلالة فايروس PVY الشائعة على البطاطا اعتمادا على الأعراض التي تسببها على نبات البطاطا والعوائل المشخصة والنقل بواسطة المن واختباري الانتشار المناعي المزدوج واليزا المصليين.

المواد وطرائق البحث

تشخيص الفايروس

جمع العينات

جمعت عينات من نباتات بطاطا تظهر عليها أعراض موزائيك وتغضن وتشوه الأوراق من حقول بطاطا للعروتين الربيعية والخريفية شملت مناطق ابي غريب والرضوانية واليوسفية. زرعت درنات بطاطا من أصناف مختلفة جمعت من المواسم السابقة للحصول على مصادر الفايروس.

سحقت أوراق البطاطا المصابة في هاون خزفي مع محلول دارئ فوسفاتي 0.01 مولاري بدرجة حموضة 7.2 بنسبة 1غم أوراق: 2 مل محلول دارئ. رشح المستخلص خلال طبقتين من قماش الململ ومسحت بالراشح أوراق نباتات بطاطا سليمة (اختبرت مصليا). رشت النباتات المعداة بالماء بعد دقيقة واحدة من العدوى. وضعت النباتات في غرفة النمو لمتابعة ظهور وتطور الأعراض، واستعملت النباتات التي ظهرت عليها أعراض لتنقية عزلة الفايروس (1).

نباتات الاختبار

اعديت بمستخلص من أوراق تبغ صنف Nicotiana tabacum Samsun NN تظهر عليها أعراض إصابة مجموعة من النباتات المشخصة الآتية: الزربيح، المنطاد، البطاطا، الفلفل *Capsicum annum* L.، الداتورة *Datura stramonium* L.، التبغ *Nicotiana tabacum* L. cv. Samsun NN، التبغ البري *Nicotiana glutinosa* L.، وضعت النباتات المعداة في غرفة النمو بدرجة حرارة 22 – 25°س وشدة إضاءة 800 لوكس وفترة إضاءة 12 ساعة لمتابعة الأعراض.

تنقية العزلة

اعديت أوراق نباتات زربيح *Chenopodium amaranticolor* بمستخلص من أوراق نباتات بطاطا مصابة. أخذت بقعة موضعية صفراء بواسطة مقص معقم وعمل منها مستخلص بالطريقة السابقة ذكرها واعديت بالمستخلص أوراق نباتات تبغ صنف Samsun NN. أعديت بمستخلص من أوراق هذا النبات، بعد ظهور الأعراض، أوراق نبات زربيح ثانية للتأكد من نقاوة العزلة. اعديت بمستخلص من بقعة من نبات الزربيح مجموعة من نباتات التبغ صنف Samsun NN لتكثير عزلة الفايروس.

النقل بالحشرات

أجريت عملية نقل للفايروس من صنف التبغ *Nicotiana tabacum* Samsun NN إلى نبات تبغ من نفس الصنف بواسطة نوع المن *Myzus persicae* (جمعت من نباتات ذرة صفراء وشخصت من قبل الدكتور محمد

صالح عبد الرسول في متحف التاريخ الطبيعي) تركت على النباتات المصابة 5 دقائق ثم نقلت إلى النباتات السليمة بواقع 5 حشرات/نبات. تركت الحشرات الحاملة للفايروس على النباتات السليمة 24 ساعة ثم رشت بمبيد كونفيدور 200 Confidor SL(A.I.: Imidacloprid 200g/L) بمعدل 1-1.25 مل/لتر ماء حسب التوصية (16). وضعت النباتات المعداة في غرفة النمو لمتابعة ظهور الأعراض.

اختبار الأشرطة المناعية Immunostrip

اجري الاختبار المصلي باستعمال مصل مضاد لفايروس البطاطا واي PVY المجهز من شركة Bioreba بشكل أشرطة مناعية Immunostrips. سحق0.15 غم من العينات ، التي سبق وان أخضعت للاختبار الحيوي على النباتات المشخصة، في الكيس الحاوي على محلول داريء الاستخلاص بشكل جيد بواسطة مدقة هاون Pestle. غمرت نهاية الشريط المناعي المعامل بالمصل المضاد لمسافة 1سم في الكيس الحاوي على المستخلص مدة 15دقيقة المدة اللازمة لحدوث التفاعل وظهور خط الترسيب على الشريط (4). كررت العملية مع مستخلص نبات سليم للمقارنة.

اختبار اليزا ELISA

اجري هذا الاختبار في أطباق المعايرة الدقيقة حسب الطريقة الموصوفة من قبل Clark و Adams (7) باستعمال أجسام مضادة وحيدة النسيلة monoclonal AB خاصة بالسلالة الشائعة لفايروس البطاطا واي PVY^O إنتاج شركة (Adgen - Scotland) تم الحصول عليها من الهيئة العامة لفحص وتصديق البذور.

تحضير المصل المضاد

تنقية الفايروس

سحق 100 غم من أوراق نبات التبغ *Nicotiana tabacum* cv. Samsun NN مصابة، بعد 5 أسابيع من العدوى، في مازجة كهربائية مع محلول دارئ فوسفاتي 0.5 مولاري بدرجة حموضة 7 يحوي مادة 2-mercaptoethanol بنسبة 0.5%. أضيف للمستخلص n-butanol بنسبة 7% واخضع للرج بواسطة رجاج مغناطيسي مدة 30دقيقة بدرجة 4°س. أجريت للمزيج عملية انتباذ بسرعة 5000 دورة/دقيقة مدة 45 دقيقة في جهاز انتباذ مبرد. أضيف للطافي مادة PEG (Polyethyleneglycol) وزنه الجزيئي 6000 دالتون بنسبة 4% وكلوريد الصوديوم بنسبة 2% مع التحريك حتى الذوبان. ترك المستخلص 24 ساعة بدرجة 4°س واخضع لعملية انتباذ بسرعة 5000 دورة/دقيقة مدة 45 دقيقة في جهاز انتباذ مبرد. أذيب الراسب في كل أنبوبة في 1مل من محلول دارئ فوسفاتي بدرجة حموضة 7.4 يحوي 0.5 مولاري يوريا و0.1% ميركابتوايثانول واخضع لعملية انتباذ بنفس الطريقة السابقة. وضع محلول الفايروس على سطح تدرج كثافي سكري 10 – 50 % مع تدرج كثافي رجعي 50 – 10% من كبريتات الامونيوم (3) وأجريت عليه عملية انتباذ بسرعة 5000 دورة/دقيقة مدة 60 دقيقة في رأس دوار (Swinging rotor) أخذت حزمة الفايروس بواسطة محقنة وأجريت على معلق الفايروس عملية فصل غشائي في محلول منظم فوسفاتي 0.025 مولاري متعادل مدة 24 ساعة بدرجة حرارة 4°س مع التحريك (3). قدر امتصاص المحلول الفيروسي للضوء فوق البنفسجي (UV) بطول موجي 260 و280 نانومتر وقدر تركيز الفايروس في المحلول حسب المعادلة:

التركيز (ملغم/مل) = الامتصاص على 260نانومتر/معاملات انطفاء (2.9) (16)

الحقن

اخضع أرنب نيوزيلاندي ابيض بعمر 12 شهر لأربع حقنات من تحضيرة الفايروس المنقاة ، الحقنتان الأولى والثانية في وريد الأذن الخارجي بمعدل 200 مايكروليتر من تحضيرة الفايروس تركيز 0.65 ملغم/مل لكل حقنة بفاصل 3 أيام بينهما. أجريت الحقنة الثالثة في عضلة الفخذ بعد أسبوع من الحقنة الثانية بخليط من 0.5 مل من تحضيرة الفايروس مع حجم مكافئ من مادة مساعد فروند غير الكامل (Incomplete Freund's Adjuvant). أجريت الحقنة الرابعة بعد أسبوعين من الحقنة الثالثة بنفس الكمية من الفايروس وبالطريقة نفسها (14). سحب 25 مل من دم الأرنب بعد أسبوعين من الحقنة الأخيرة عن طريق الوريد الخارجي للأذن. ترك الدم بدرجة حرارة المختبر مدة ساعة للتجلط، اخذ الجزء السائل واخضع لعملية انتباذ بسرعة 2000 دورة/دقيقة مدة 15 دقيقة. أضيف للطافي ازيد الصوديوم بنسبة 0.02% ووزع في أنابيب زجاجية صغيرة حفظت بدرجة صفر سليزي (1).

تنقية المصل المضاد

أضيف لكل 1 مل من المصل المضاد 9 مل ماء مقطر وأضيف للمعلق 10 مل من محلول مشبع من كبريتات الامونيوم. ترك المزيج مدة 3 ساعات بدرجة حرارة المختبر وأجريت عليه عملية انتباذ بسرعة 9000دورة/دقيقة مدة 20 دقيقة. أضيف للراسب 2 مل من محلول PBS المخفف إلى النصف وأجريت عليه عملية فصل غشائي في 500 مل من محلول PBS المخفف إلى النصف مدة 24 ساعة مع التحريك بدرجة 4°س مع مراعاة تبديل المحلول ثلاث مرات. مرر المصل المضاد عبر عمود من DEAE-Cellulose بطول 3سم في ماصة زجاجية وقدر امتصاصه للضوء على طول موجي 280 نانومتر (7). عدل التركيز إلى 1ملغم/مل حسب المعادلة:

مقدار امتصاص 1.4 على طول موجي 280 نانوميتر = 1 ملغم/مل

اختبار الانتشار المناعي المزدوج

اجري الاختبار في وسط الاكاروز الصلب 0.85 % في أطباق بتري قطر 9 سم. عملت في الوسط بعد تصلبه حفرة مركزية تحيطها ست حفر مماثلة قطر 6ملم والمسافة بين الحفر 4ملم. وضع في الحفرة المركزية 25مايكروليتر من المصل المضاد للفايروس ووضع في الحفر المحيطة حجم مماثل من مستخلص نباتات تبغ صنف Samsun NN مصاب بالسلالة قيد الدراسة ومستخلص من نبات مصاب بالسلالة PVY^N تم الحصول عليها من مختبر الفايروسات، قسم وقاية النبات (1).

النتائج والمناقشة

تشخيص الفايروس

نقل الفايروس

النقل الميكانيكي: ظهرت على الأوراق السفلية لنباتات البطاطا المعداة بمستخلص من أوراق بطاطا مصابة أعراض تبرقش تطورت إلى أعراض تنخر على الأوراق العلوية بدأت بالعروق الرئيسة للسطح السفلي ثم امتدت إلى العروق الثانوية وحامل الورقة أدت إلى اهتراء الورقة وسقوطها أو أنها تبقى معلقة على الساق ، وتتطابق هذه الأعراض مع تلك التي ذكرها Kerlan (12) وHooker (10). وعند زراعة درنات ناتجة من نباتات مصابة بزغت نباتات متقزمة ظهرت على وريقاتها أعراض تبرقش وتجعد لحوافها ، ولم تظهر عليها أعراض تنخر، وتتطابق هذه الأعراض مع نتائج بحوث آخرين تناولوا هذا الموضوع (10 ، 12 ، 13).

استجابت نباتات الزربيح للعدوى بمستخلص من أوراق نباتات تبغ صنف Samsun NN ومستخلص من أوراق بطاطا مصابة ببقع موضعية مصفرة على الأوراق المعداة بعد 8 أيام من العدوى وقد أشارت دراسات سابقة إلى أعراض مماثلة للسلالة الشائعة لفايروس PVY (9 ، 12 ، 15).

ظهرت أعراض شفافية العروق على الأوراق الحديثة لنباتات التبغ *Nicotiana tabacum* cv. Samsun NN المعداة بمستخلص للعزلة المنقاة بعد أسبوع من العدوى ما لبثت هذه الأعراض أن اختفت بعد فترة، وتتطابق هذه الأعراض مع ما ذكره Hataya وجماعته (9) Kerlan (12).

استجابت نباتات المنظاد *Physalis floridana* للعدوى بمستخلص العزلة من نباتات التبغ صنف Samsun NN بأعراض شفافية العروق تطورت إلى أعراض تبرقش على الأوراق الحديثة بعد 20 يوما من العدوى، تطورت وانتهت بتهرؤ الأوراق وموتها وسقوطها من النبات ، وتتفق هذه الأعراض مع ما ذكره Kerlan (12) و Hataya وجماعته (9) حول السلالة الشائعة لفايروس PVY.

ظهرت على الأوراق الحديثة لنباتات التبغ البري *N. glutinosa* المعداة بالعزلة المنقاة أعراض شفافية العروق بعد 10 أيام من العدوى تطورت إلى أعراض تبرقش. وعلى أوراق الفلفل *Capsicum annum* المعداة أعراض تبرقش طفيف، ولم تستجب نباتات الداتورة *Datura stramonium* للعدوى بالعزلة إذ لم تظهر أية أعراض على هذا النبات ، وقد أشارت العديد من المصادر إلى مثل هذه الأعراض حول فايروس PVY (6 ، 9 ، 11 ، 12).

النقل بالحشرات: أمكن نقل الفايروس بواسطة من الخوخ الأخضر *Myzus persicae* (Sulz.) إذ ظهرت أعراض شفافية عروق على أوراق نبات التبغ صنف Samsun NN التي عرضت لحشرات من حاملة للفايروس مما يشير إلى إصابتها بالفايروس، وهذا يتفق مع ما اشارت اليه دراسات سابقة من ان الفايروس PVY ينقل بواسطة هذا النوع من المن (2، 5، 12).

من دراسة الأعراض على النباتات العائلة والمشخصة والنقل بالحشرات ومقارنتها مع نتائج باحثين آخرين تناولت الموضوع أمكن التوصل إلى استنتاج أن أعراض الفايروس موضوع الدراسة تشابه أعراض فايروس البطاطا واي PVY. ومما دعم هذا الاستنتاج نتائج الاختبار المناعي المزدوج إذ ظهرت خطوط بين الحفرة الحاوية على المصل المضاد للفايروس وتلك الحاوية على مستخلصات من أوراق بطاطا أو تبغ صنف Samsun NN مصابة ولم تظهر مثل هذه الخطوط مع الحفر الحاوية لى مستخلصات النباتات السليمة.

اختبار الأشرطة المناعية: اظهر الاختبار المصلي بواسطة الأشرطة المناعية المتخصصة لفايروس PVY تفاعلا موجبا مع مستخلص من أوراق نبات تبغ صنف Samsun NN مصابة بالفايروس إذ ظهر خط ترسيب على الشريط لم يظهر عند معاملة الشريط بمستخلص من نبات سليم للمقارنة، وقد اشار عذاب والعاني (4) إلى كفاءة هذا النوع من الاختبارات المصلية.

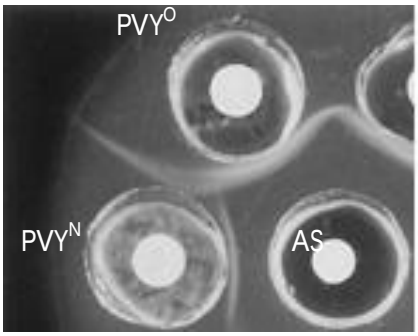
اختبار اليزا: استجابت مستخلصات من نباتات بطاطا ونبات منظاد ونباتات تبغ صنف Samsun NN بشكل موجب للتفاعل ولم تستجب مستخلصات من نباتات سليمة للتفاعل استعملت للمقارنة (جدول 1).

تنقية الفايروس: أمكن الحصول على تحضيرة نقية للفايروسPVY بإتباع طريقة الكويتي والعاني (3) وبلغت نسبة الامتصاص للتحضيرة النقية للفايروس على طول موجي 260: 280، 1.17 وهو قريب مما أشار إليه العاني وراثي (1) ويتفق مع ما توصل إليه العيساوي (2) في تنقية سلالة التنخر PVY^N. بلغ تركيز الفايروس المنقى 0.65 ملغم/مل، وبلغت كمية الفايروس في التحضيرة المنقاة 3.25 ملغم/ 100غم أوراق تبغ صنف Samsun NN مصابة بالسلالة الشائع PVY^O وهو قريب مما حصل عليه الكويتي والعاني (3) عند تنقية فايروس البطاطا A.

تحضير وتنقية المصل المضاد: أمكن الحصول على مصل مضاد يحتوي على الأجسام المضادة بعد أربع حقنات لأرنب نيوزيلاندي بعمر 12 شهرا، وبلغ تركيز الأجسام المضادة في المصل المضاد 2.3 ملغم/مل وقدر التركيز بجهاز المطياف الضوئي على طول موجي 280 نانومتر.

تقدير عيارية المصل المضاد: ظهر تلازن بين المصل المضاد للسلالة الشائعة PVY^O والفايروس عند جميع تخافيف المصل المضاد لغاية 4096/1 ولم يظهر تلازن بعد هذا التخفيف.

اختبار الانتشار المناعي المزدوج: ظهر مهماز بين مستخلص من أوراق نبات تبغ صنف Samsun NN مصابة بالسلالة PVY^N تم الحصول عليها من مختبر الفايروسات – قسم وقاية النبات – كلية الزراعة، ومستخلص من أوراق نفس النبات مصاب بالعزلة الشائعة عند معاملتها مع المصل المضاد للسلالة الشائعة (شكل 1)، مما يشير إلى أن العزلتين تمثل سلالتين لنفس الفايروس، ويعد اختبار الانتشار المناعي المزدوج من الاختبارات الكفوءة في تحديد العلاقة بين سلالات مختلفة لنفس الفايروس (1، 2 ، 3 ، 14 ، 16).



شكل 1: اختبار الانتشار المناعي المزدوج لاحظ المهماز المتكون بين الحفرة الحاوية على PVY^O والحاوية على PVY^N.

تحديد السلالة: من مجمل ما تقدم من نتائج نستخلص الآتي. استجابت نباتات الزربيح للعدوى بعزلة الفايروس ببقع موضعية مصفرة على الأوراق المعداة بعد 8 أيام من العدوى، وقد أشارت المصادر إلى أن هذا النبات لا يصاب بسلالة التنخر PVY^N (2، 12) واعتمد هذا النبات عائلا تفريقيا للسلالة الشائعة PVY^O عن سلالة التنخر PVY^N التي لا تحفز ظهور أية أعراض عند إصابتها لهذا النبات (9 ، 15).

ظهرت على أوراق نبات التبغ صنف Samsun NN أعراض شفافية العروق ثم اختفت بعد فترة وقد تم التأكد من وجود الفايروس في النبات باستعمال اختبار الأشرطة المناعية، وتشير بعض المصادر إلى أن هذا النبات يستجيب للإصابة بسلالة التنخر PVY^N بأعراض تنخر شديد بعد أسبوعين من العدوى يعقبها موت الأوراق وسقوطها على الأرض (8) وهذا يشير إلى إمكانية استعمال هذا النبات عائلا تفريقيا بين السلالتين الشائعة PVY^O والتنخر PVY^N. ظهرت على أوراق نبات المنطاد المعداة بعزلة الفايروس أعراض شفافية العروق تطورت وانتهت بتمزق الأوراق وموتها وسقوطها من النبات، وأشار Kerlan (12) وHataya وجماعته (9) إلى أن هذه الأعراض مميزة للسلالة الشائعة للفايروس.

إن ما تم التوصل إليه من دراسة الأعراض على النباتات المشخصة يشير إلى أن عزلة فايروس البطاطا واي PVY قيد الدراسة تمثل السلالة الشائعة PVY.

ومما دعم هذا الاستنتاج، نتائج اختبار اليزا المصلي باستعمال أجسام مضادة وحيدة النسيلة monoclonal خاصة بالسلالة الشائعة PVY^O، إذ استجابت مستخلصات من نباتات بطاطا ونبات منطاد ونباتات تبغ صنف Samsun NN بشكل موجب للتفاعل ولم تستجب مستخلصات من نباتات سليمة للتفاعل استعملت للمقارنة

(جدول 1)، ونتائج اختبار الانتشار المناعي المزدوج إذ ظهر مهماز بين مستخلص من أوراق نبات تبغ صنف Samsun NN مصابة بالسلالة PVY^N، ومستخلص من أوراق نفس النبات مصاب بالسلالة الشائعة PVY^O عند معاملتها مع المصل المضاد للسلالة الشائعة.

كما استبعد احتمال كون السلالة هي سلالة التخطط PVY^C من نتائج نقل الفايروس بواسطة من الخوخ الأخضر(Sulz.) ***Myzus persicae*** إذ ظهرت أعراض شفافية على أوراق نبات التبغ صنف Samsun NN التي عرضت لحشرات من حاملة للفايروس مما يشير إلى إصابتها في حين تشير المصادر إلى أن عزلة التخطط PVY^C لا تنقل بالمن (12).

جدول 1: نتائج اختبار اليزا المصلي للكشف عن السلالة الشائعة لفايروس البطاطا واي باستعمال أجسام مضادة وحيدة النسيلة

المستخلص	قيم الامتصاص على طول موجي 405 نانومتر	
مستخلص أوراق بطاطا مصابة	1.907	+
مستخلص أوراق منطاد مصابة	2.942	++
مستخلص تبغ Samsun NN مصاب	3.112	+++
مستخلص أوراق بطاطا سليمة	0.065	-
مستخلص أوراق منطاد سليمة	0.062	-
مستخلص تبغ Samsun NN سليم	0.059	-

تعد قيم الامتصاص سالبة إذا كانت اقل أو تساوي 0.07 ؛ تعد قيم الامتصاص موجبة إذا كانت اكبر من 0.07 (حسب توصية الشركة المنتجة للمصل)

المصادر

1- العاني، رقيب عاكف وياش بال راثي (1984). فايروسات النبات أساسيات التجارب العملية - مطبعة جامعة بغداد.

2- العيساوي، أسامة ناظم كاظم (1999). تشخيص ومقاومة فايروس البطاطا Y (سلالة تنخر عروق التبغ) على محصول البطاطا في العراق. رسالة ماجستير- قسم وقاية النبات – كلية الزراعة – جامعة بغداد-بغداد، العراق.

3- الكويتي، نورس عبد الإله ورقيب عاكف العاني (1999). التوصل إلى طريقة سهلة لتنقية فايروس A البطاطا (PVA) ودراسة خصائصه المصلية. مجلة إباء للأبحاث الزراعية 9: 321 – 330.

4- 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): 219 - 231.

5- منصور، عقل؛ أمين حاج قاسم؛ نداء سالم؛ إيليا الشويري؛ يوسف أبو جودة؛ جبر خليل ونبيل عزيز (2008). الفيروسات التي تصيب محصول البطاطا/البطاطس. في: الأمراض الفيروسية للمحاصيل الزراعية المهمة في المنطقة العربية. خالد محي الدين مكوك، جابر إبراهيم فجلة وصفاء غسان قمري (مؤلفون).الجمعية العربية لوقاية النبات. دار النهضة العربية. بيروت، لبنان.

6- Brunt, A.; K. Carbtree; M. Dallwitz; A. Gibbs and L. Watson (1996). Viruses of plants, Description and Lists from the VIDE, Database, LAB International.

7- Clark, M. F. and A. N. Adams (1977). Characteristics of the Microplate method of enzyme- linked immunosorbent assay for the detection of Plant viruses. Journal General Virology, 34 :475-483.

8- De Bokx, J. A. and J. P. H. Vander Want (1987). Viruses of potatoes and seed potato production. Center for Agricultural Publishing and Documentation (PUDOC) Wageningen. The Netherland.

9- Hataya, T.; A. K. Inoue; K. Ohshima and E. Shikato (1994). Characterization and strain identification of Potato virus Y isolate non-reactive with monoclonal antibodies specific to the ordinary and necrotic strains. Intervirology, 37:12 –19.
10- Hooker, W. J.(1981). Compendium of Potato Diseases. APS Press, st. Paul, MN, USA.
11- Hull, R. (2002). Matthews' Plant Virology. Fourth edition. Academic Press, London, Uk.
12- Kerlan, C. (2006). Potato Virus Y. CMI\AAB, Description of Plant Viruses. No. 414. pp. 23.
13- Kurppa, A. and A. Hassi (1989). Reaction of four table potato cultivars to primary and secondary infection by Potato virus YO and YN. Annales Agriculturae Fenniae, 28: 297-307.
14- Maat, D.Z. and H. Huttinga (1987). Serology. In: Virus of potatoes and seed-potato production. DeBokx, J.A. and J.P.H. vander want (eds.). center of Agricultural Publishing and Documentation (PUDOC), Wageningen, The Netherland.
15- McDonald J.G. and R. P. Singh (1996). Response of potato cultivars to north American isolates of PVY^{ntn}. American Potato J., 73: 317 – 331.
16- Noordam, D. (1973). Identification of plant viruses: Methods and experiment-center for Agricultural publishing and Documentation Wageningen.
17- Valkonen, J. P.T. (2007). Viruses: Economical Losses and Biotechnological Potential. In: Potato biology and biotechnology. Vreugdenhil, D. (ed.). 619-641.

IDENTIFICATION OF COMMON STRAIN OF POTATO VIRUS Y (PVY^O) IN IRAQ

R. A. AlAni **M. A. Adhab**
S. N. Hafth **M. S. Al-Same'ae**

ABSTRACT

This study was conducted to identify the common strain of Potato virus Y (PVY^O, genus:Potyvirus, Family:Potyviridae). The identification was achieved by means of symptoms on diagnostic hosts, transmission by *Myzus persicae* (Sulz.), and by serological properties. The virus isolate was obtained from infected potato *(Solanum tuberosum)* plants and isolated from a single spot on *Chenopodium amaranticolor* leaves previously inoculated by the isolate. The test of immunostrip specific for PVY showed positive reaction with extracts from infected potato. Local lesions were manifested on the inoculated leaves of Ch. amaranticolor within 8days of inoculation. Vein clearing symptoms were observed on the young leaves of infected *N. tabacum* cv. Samsun NN and *Physalis floridana* which developed on the last host to mottling, death, and dropping of the leaves. These symptoms indicate that the strain under study is PVY^O. Positive reaction was observed when a monoclonal antibodies specific for PVY^O was treated with extracts from potato, Physalis floridana, and N.t. Samsun NN plants by ELISA test. Also, a spur between an extract from tobacco Samsun NN inoculated by PVY^O and that from plant inoculated with *Tobacco veinal* necrosis strain (PVY^N) reacted with PVY^O antibodies by double diffusion test was appeared. It was found that the isolate is transmitted by *M. persicae* (Sulz.)which differentiated it from Stipple-streak strain (PVY^C) isolate, not transmissible by the aphid. These indicates that the isolate under study represent the ordinary strain of PVY (PVY^O).

College of Agric. – Baghdad Univ. – Baghdad, Iraq.