Jerash for Research and Studies Journal مجلة جرش للبحوث والدراسات

Volume 7 | Issue 1 Article 1

2006

# Isolation of Proteins That Have the Ability to Inhibit Potato Y Virus (PVY) Replication from Datura Plants - Jimson Weed Datura Strmonium

Raqeeb Al-Ani
*Bagdad University, Iraq*, RaqeebAl-Ani@yahoo.com

Osama Al-Issawi
*Bagdad University, Iraq*, OsamaAl-Issawi@yahoo.com

Shaalan Al-Mashaikhi
*Bagdad University, Iraq*, ShaalanAlwan12@yahoo.com

Follow this and additional works at: https://digitalcommons.aaru.edu.jo/jpu

Part of the Agriculture Commons, Arts and Humanities Commons, and the Social and Behavioral Sciences Commons

## Recommended Citation

Al-Ani, Raqeeb; Al-Issawi, Osama; and Al-Mashaikhi, Shaalan (2006) "Isolation of Proteins That Have the Ability to Inhibit Potato Y Virus (PVY) Replication from Datura Plants - Jimson Weed Datura Strmonium," *Jerash for Research and Studies Journal مجلة جرش للبحوث والدراسات*: Vol. 7 : Iss. 1 , Article 1.
Available at: https://digitalcommons.aaru.edu.jo/jpu/vol7/iss1/1

This Article is brought to you for free and open access by Arab Journals Platform. It has been accepted for inclusion in Jerash for Research and Studies Journal مجلة جرش للبحوث والدراسات by an authorized editor. The journal is hosted on Digital Commons, an Elsevier platform. For more information, please contact rakan@aaru.edu.jo, marah@aaru.edu.jo, u.murad@aaru.edu.jo.

جرش للبحوث والدراسات، المجلد السابع، العدد الأول ٢٠٠٢م

# عزل بروتينات لها القدرة على تثبيط تضاعف فيروس البطاطا واي ($PVY^n$) من نباتات الداتورة Jimson weed Datura strmonium

رقيب عاكف العاني، أسامة ناظم العيساوي، شعلان علوان المشايخي *

تاريخ تقديم البحث: ٢٠٠٢/٥/٢٠ تاريخ قبوله للنشر: ٢٠٠٣/٤/٢٩

## Abstract

Two protein portions from Datura inhibiting the multipication of $PVY^n$ were obtained by filtration through sephadex G-100. The first was maintained its activity at 60 c for 10 min., whereas the other lost its activity at this temp. The SDS- polyacrylamide gel electrophoresis of the heat resistant one revealed the presence of 8 polypeptides with molecular weights; 12000, 13000, 22000, 25000, 29000, 40000 and two other of smaller molecular weights. No serological reaction was ovserced between these proteins and the antiserum of PVA, PVS, PVM, PVX and PVY. No precipitate was observed when the virus was mixed with a suspension of these proteins which indindicated that these proteins were unable to precipitate the virus. It was found that the treatment of the plants by a suspenson of the stable proteins 24 hours before the inoculation with PVY or mixed with the virus at the moment of the inoculation leads to prevention of the infection. Whereas, the treatment of the plants 24 hours after the inoculation with PVY leads to delay of the development of infection 20 days compared to 13 days with the virus alone. Result showed that these proteins possess the capacity of inhibiting the infection before the entrance of $PVY^n$ into the tissue, but not after its multiplication.

## ملخص

تم التوصل إلى عزل جزئين فعالين من البروتينات المستخلصة من نباتات الداتورة بعد إمرار المستخلص عبر هلام من السيفادكس G 100 ذات قدرة تثبيطية لفيروس موزائيك التبغ (TMV). احتفظ أحدهما بالقدرة على التثبيط بعد تسخينه مدة 10 دقائق على 60°م في حين اختفت تلك القدرة من الآخر بعد التسخين. وأظهر تحليل نموذج من الجزء الثابت حرارياً في هلام متعدد الاكريلامايد – SDS ثمانية حزم بروتينية قدرت أوزانها الجزيئية بـ 40000، 29000، 25000، 22000، 13000 ، 12000 واثنين آخرين أقل وزناً، ولم يظهر راسب أو تكتل بين هذه البروتينات والأمصال المضادة لفيروسات البطاطا PVY ، PVX ، PVM ، PVS ، PVA. ولم يحصل ترسيب للفيروس عند خلطه مع معلق من هذه البروتينات وإخضاع الخليط لعملية طرد مركزي بسرعة 5000 دورة/ دقيقة مدة 10 دقائق مما يشير إلى عدم قدرتها على ترسيب الفيروس. وأدت معاملة النباتات بمعلق ن الجزء البروتيني الثابت حرارياً قبل إجراء عدوى بالفيروس PVY بـ 24 ساعة أو عند خلطه مع الفيروس ثم إجراء عملية عدوى على نباتات البطاطا إلى منع حدوث إصابة على هذه النباتات. وتأخير ظهورها إلى 20 يوماً مقارنة بـ 13 يوماً للعدوى بالفيروس وحده، عند معاملة النباتات بالبروتينات بعد 24 ساعة من العدوى بالفيروس.

* قسم وقاية النبات/ كلية الزراعة/ جامعة بغداد.



Published by Arab Journals Platform, 2006

Jerash for Research and Studies Journal ???? ??? ?????? ?????????, Vol. 7 [2006], Iss. 1, Art. 1



## المقدمة

تحتوي الكثير من النباتات على مواد كيمياوية لها القدرة على تثبيط الفيروس عند خلط مستخلصاتها معه وإختبارها على نبات كاشف له. ووجد أن العديد من النباتات التابعة للعوائل: Amaranthaceae ، Caryophyllaceae، Chenopodeaeae، Leguminocae ، Phytollaccaceae، Solanaceae (Grasso و Shephered 1978) تحتوي على مثبطات كيمياوية للفيروسات. شخص الكثير من هذه المثبطات ووجد أن بعضها ذات طبيعة بروتينية تتراوح أوزانها الجزيئية بين 1000 – 38000 دالتون. وقد أبدت تشابهاً مع الانترفيرونات الحيوانية، إذ تمتلك مدى واسعاً ضد الفيروسات وثابتة حرارياً وتترسب بالتراكيز العالية من كبريتات الأمونيوم وتختلف عن الأنترفيرونات الحيوانية بعدم حساسيتها لحامض البيرفورمك ( Chessen وآخرون 1983). ووجد أن بعض النباتات تمتلك أكثر من نوع بروتيني مضاد للفيروس ( Lin وآخرون 1991 ، Katoaka وآخرون 1992 ، Chessen وآخرون 1994 ، Vivanco وآخرون 1999).

وجد أن لمستخلصات العديد من النباتات القدرة على استحثاث المقاومة للإصابة الفيروسية في الورقة المعاملة بها قبل العدوى بالفيروس فضلاً عن فعالياتها التثبيطية عند خلطها مع الفيروس ( Apablaze و Brernier 1972 ، Tomlinson وآخرون 1974 ، Chessen وآخرون 1994، سمير 2000). كما استخدمت عوامل كيمياوية لاستحثاث المقاومة في النباتات ضد الفيروسات (Hammerschmidt وآخرون 2001 ، Chui Eng Wang وآخرون 2002).

لوحظ أن لمستخلص نباتات الداتورة Jimson weed Datura strmonim L. قدرة عالية على تثبيط العديد من الفيروسات وجرت محاولات عديدة لتنقية وتشخيص عوامل المقاومة في هذا النبات بترسيبها بكبريتات الأمونيوم وفصلها خلال عمود من السفادكس (1987 Zipf).

ونظراً لكون نبات الداتورة منيع للإصابة بفيروس البطاطا واي (PVY) فقد اجريت هذه الدراسة في محاولة لتشخيص العوامل المسؤولة عن هذه المقاومة للفيروس وعزلها



https://digitalcommons.aaru.edu.jo/jpu/vol7/iss1/1 

وإستخدامها في مقاومته.

## المواد وطرق العمل

### عزل البروتينات الداخلية لنبات الداتورة

اعتمدت طريقة Zipf (1987) لهذا الغرض حيث سحق مقدار 5 غم من الأوراق الطرية لنبات الداتورة في هاون خزفي يحوي 10 مل من محلول منظم فوسفاتي 0.01 مولاري بدالة حامضية 7(pH). رشح المستخلص من خلال قماش الململ (الموسلين) وأضيف للراشح حجم مكافي من كبريتات الأمونيوم المشبع (70%) في إسطوانة مدرجة وترك بدرجة حرارة المختبر (25-30°م) حتى ترسب البروتين. جمع الراسب بعملية طرد مركزي (Centrifugation) بسرعة 5000 دورة/ دقيقة مدة 30 دقيقة. أذيب الراسب في 0.5 مل من المحلول الدارئ (buffer solution) وأخضع لعملية فصل غشائي في محلول منظم فوسفاتي ملحي (PBS) المخفف إلى النصف مدة 30ساعة. أجريت على المحلول عملية ترشيح هلامي عبر عمود من السفادكس G100 (Sephade G100) طول 25سم وقطر 1.5سم، حيث أضيف 5.16 غم من حبيبات السفادكس إلى 129 مل ماء مقطر في كأس زجاجي سعة 500 مل، وسخنت محتويات الكأس على 95°م مدة 5 ساعات، ثم أضيف لمعلق السفادكس بعد تبريده 0.02 % من مادة أزيد الصوديوم وسكب في العمود. تمت موازنة العمود بإمرار محلول دارئ فوسفاتي ملحي (PBS) غير مخفف بقدر ضعف حجم العمود. نظمت سرعة جريان العمود على 20 مل / ساعة وأضيف معلق البروتين على سطح الهلام وجمعت عينات الفصل بحجم 2 مل في أنابيب زجاجية معقمة. قدر الامتصاص لكل جزء في جهاز قياس الطيف الضوئي (Spectroptometer) على الطولين الموجيين 235و 280 نانومتر. حددت المنحنيات وجمعت الأجزاء المقابلة لكل منحنى امتصاص وقدر تركيز البروتين وفق طريقة Whitaker و Granum (1980).

$$\text{تركيز البروتين (ملغم/مل)} = \frac{\text{الامتصاص عند 280 نانومتر} - \text{الامتصاص عند 235 نانومتر}}{2.51}$$

Jerash for Research and Studies Journal ???? ??? ?????? ?????????, Vol. 7 [2006], Iss. 1, Art. 1



## تحديد الجزء الفعال من البروتينات المعزولة

خلط مل واحد من محلول البروتين تركيز 50 ميكروغرام/ مل مع مل واحد من التخفيف $10^{-5}$ من معلق فيروس موزائيك التبغ (استخدام فيروس موزائيك التبغ على صنف التبغ Nicotiana tabacum xanthi كاختبار سريع ( Singh و Varma .1981 )) . عومل نصف الورقة الأيمن بالخليط وعومل النصف الأيسر لنفس الورقة بخليط من مل واحد من معلق الفيروس لنفس التخفيف مع مل واحد ماء مقطر للمقارنة لنبات Nicotiana taba-cum xanthi. كررت العملية على ثلاث أوراق وقدرت نسبة التثبيط حسب المعادلة الآتية:

$$\text{النسبة المئوية للتثبيط} = \frac{\text{عدد البقع في المقارنة} - \text{عدد البقع في المعاملة}}{\text{عدد البقع في المقارنة}} \times 100$$

( Singh و Varma 1981 )

## تقدير ثباتية الجزء الفعال للحرارة

بعد تحديد الأجزاء الفعالة من البروتينات وضعت في حمام مائي بدرجة حرارة 60°م لمدة 10 دقائق وأعيد اختبار قدرتها على تثبيط الفيروس بالطريقة السابقة نفسها.

## تقدير الوزن الجزيئي للبروتينات الفعالة

قدر الوزن الجزيئي للبروتينات الفعالة بطريقة الترحيل الكهربائي (Gel electropho-resis) في هلام متعدد الاكريلامايد – SDS 15% لهلام الفصل (Resolution gel) و 4% لهلام الرص (Stacking gel) في أنابيب عمودية حسب طريقة Laemmli (1970) . سخنت النماذج عند درجة حرارة 100°م في محلول منظم Tris-HCL 0.125 مولاري يحوي 2% SDS ، 2% mercaptoethanol B- ، 15% Glycerol ، 0.05 % صبغة Bromophenol . وضعت النماذج على سطح الهلام وأجريت عملية الترحيل عند القوة 100 v مدة 3-5 ساعات. أوقفت العملية عند وصول صبغة الفينول لمسافة سم واحد من



https://digitalcommons.aaru.edu.jo/jpu/vol7/iss1/1 4

قاعدة الهلام. غطس الهلام في محلول صبغة الكوماسي الزرقاء 0.25% في مزيج من 5 أحجام ميثانول، 5 أحجام ميثانول، 5 أحجام ماء مقطر، حجم واحد حامض الخليك لمدة 10 دقائق. أزيلت الصبغة بتغطيس الهلام في محلول من 10% حامض الخليك و 5% ميثانول عند درجة حرارة 37°م مع الرج الخفيف للإسراع في عملية إزالة الصبغة.

## اختبار فعالية البروتين في مقاومة $PVY^n$ على نباتات البطاطا

استخدمت لهذا الغرض نباتات بطاطا صنف دايمونت في أصص فخارية قطر 22سم. اختبر خلو النباتات من الفيروسات بعمر 15 يوماً باستخدام تكتل الكلوروبلاست مع الأمصال المضادة لفيروسات البطاطا: PVX ، PVY PVM ، PVS ، PVA . اجريت على النباتات الخالية من الفيروسات المعاملات الآتية:

أ – عدوى النباتات بمستخلص PVY فقط.

ب– عدوى النباتات بخليط من PVY ومعلق البروتينات.

جـ– عدوى النباتات بمستخلص PVY ثم رشها بمعلق البروتينات بعد 24 ساعة.

د – رش النباتات بمعلق البروتينات ثم إجراء عدوى بالفيروس بعد 24 ساعة.

هـ– معاملة النباتات بالبروتينات فقط.

استخدمت 3 نباتات لكل معاملة.

حضر مستخلص الفيروس بسحق 1 غم أوراق نباتات مصابة مع 4 مل محلول منظم فوسفاتي 0.01 مولاري في هاون خزفي. مرر المستخلص عبر طبقتين من قماش الململ (الموسلين) وخفف إلى النصف بالماء المقطر وأعديت به النباتات للمعاملات أ ، ج، د . واستخدم معلق البروتينات بتركيز 0.5 ملغم/ مل، خفف إلى النصف وعوملت به النباتات للمعاملات ج ، د، هـ. وخلط مل واحد من مستخلص الفيروس غير المخفف مع مل واحد من معلق البروتين غير المخفف وأعديت به النباتات للمعاملة ب . اتبع تحليل التباين للتصميم تام التعشية بثلاثة مكررات لتحليل النتائج.

Jerash for Research and Studies Journal ???? ??? ?????? ?????????, Vol. 7 [2006], Iss. 1, Art. 1



## النتائج والمناقشة

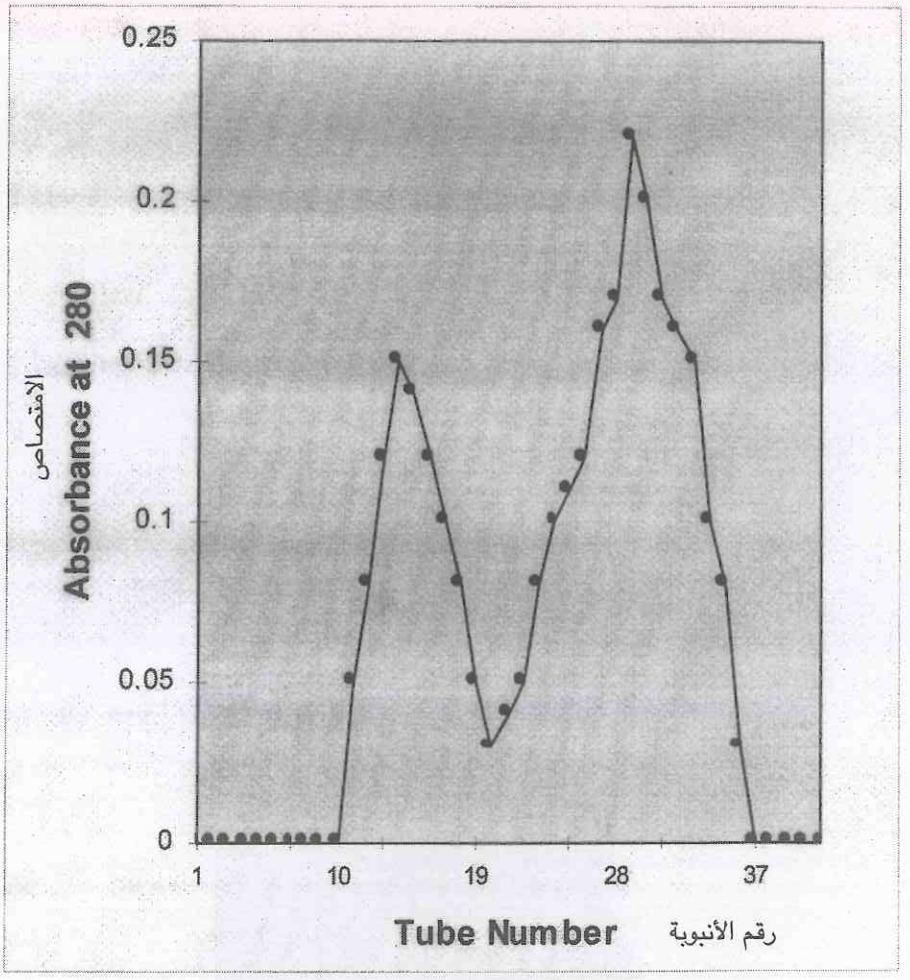
ظهر عند إمرار مستخلص بروتينات الداتورة عبر عمود من السفادكس G100 منحنيين .. الأول في الأجزاء 9-18 وقمته عند الجزء 13 والثاني في الأجزاء 20-34 وقمته عند الجزء 28 شكل (1) . حدد المنحنيان من قراءة الامتصاص على الطول الموجي 280 نانومتر. بلغ تركيز البروتين في المنحنى الأول 0.27 ملغم/ مل وفي الثاني 0.21 ملغم/ مل. وجد أن المنحنى الثاني أكثر قدرة على تثبيط فيروس موزائيك التبغ (TMV) (استخدم هذا الفيروس في الاختبار لسرعته) إذ بلغت نسبة التثبط له 64% مقارنة بـ 36% للمنحنى الأول.

لوحظ أثناء تسخين الأجزاء المقابلة لكل منحنى أن القدرة على تثبيط فيروس TMV قد انخفضت قليلاً للمنحنى الفعال من 64% إلى 58% في حين اختفت فعالية الآخر تماماً عند تسخينه على درجة حرارة 60 م مدة 10 دقائق. وتعد نسبة التثبيط هذه جيدة ومقاربة بتلك التي حصل عليها Zipf (1987) وهي 63.5%.

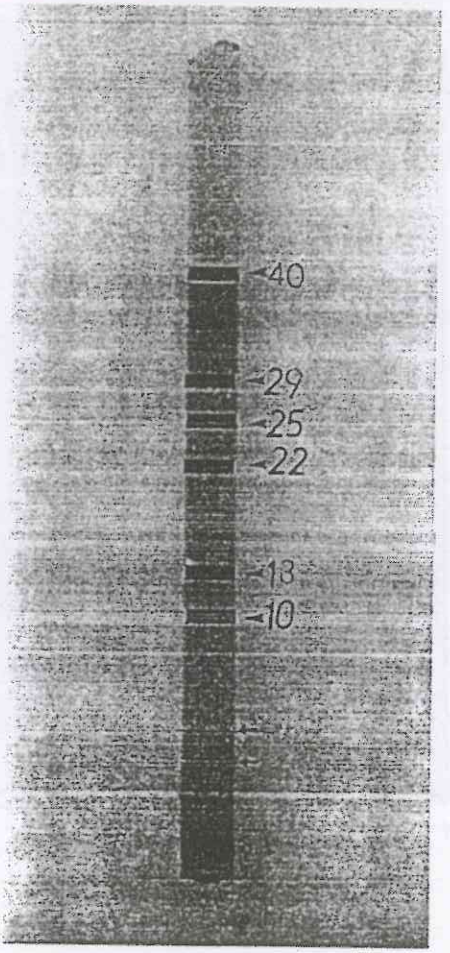
أظهر تحليل نموذج من المنحنى الفعال في هلام متعدد الأكريلامايد -SDS ثمانية حزم بروتينية قدرت أوزانها الجزيئية بإستخدام منحنى المعايرة للبروتينات القياسية (Lysozyme ، Trypsin inhibitor ، Carbonic anhydrase ، Ovalbumine) وكانت 12000، 13000 ، 22000 ، 25000 ، 29000 ، 40000 دالتون. فضلاً عن حزمتين أخريتين ذات أوزان جزيئية منخفضة، شكل (2). إن هذه البروتينات تمثل مجموع البروتينات التي يتضمنها الجزء الفعال الثابت حرارياً إذ لم يتم التوصل إلى فصلها عن بعضها واختبار قدرتها التثبيطية بشكل منفرد. وقد أشارت العديد من الدراسات السابق إلى عز بروتينات ذات قدرة تثبيطية تقع ضمن هذا المدى. إذ توصل Mitra (1985) إلى عزل بروتينين من بروتوبلاست بعض الأنواع النباتية التابعة لجنس التبغ Nicotiana أحدهما ذو وزن جزيئي 24500 والآخر 40000 يمتلكان فعالية ضد فيروس TMV . وتوصل Chessen وآخرون (1994) إلى تشخيص بعض البروتنيات ذات القدرة التثبيطية لـ TMV تراوحت أوزانها الجزيئية بين 17-40 كليو دالتون.



https://digitalcommons.aaru.edu.jo/jpu/vol7/iss1/1 6




شكل(١): فصل البروتنيات المستخلصة من نبات الداتورة على عمود من السيفادكس G100




شكل(٢): نمط الترحيل الكهربائي في هلام متعدد الأكريلامايد الحاوي على SDS(SDS-PAGE) لبروتينات الجزء الثالث حرارياً المستخلصة من نبات الداتورة

وأمكن في دراسة أخرى عزل نوعين من البروتينات من صنف التبغ Samsun NN السليم ووجد أنهما من الكلايكوبروتينات (Glycoprotein) أوزانها الجزيئية 22000 و 53000 دالتون وأن نسب هذه البروتينات إزدادت بمعدل 3-5 مرات عند الإصابة بـ TMV وتمتلكان فعالية تثبيطية عالية للفيروس ( Chessen وآخرون 1994). وربما يعود الفعل التثبيطي للبروتينات التي تم تحديدها في هذه الدراسة إلى البروتنيات ذات الأوزان الجزيئية العالية.

لم يظهر راسب أو تكتل بين البروتينات موضوع الدراسة والأمصال المضادة لفيروسات البطاطا: $PVY^n$ ، PVX ، PVM ، PVS ، PVA مما يشير إلى أن هذه البروتينات لا تمثل جزءاً من الغلاف البروتيني لهذه الفيروسات. وقد ذكر Zipft (1987) عدم قدرة البروتينات التي عزلها والتي تمتلك خاصية تثبيطية لـ TMV ، على تكوين راسب مع المصل المضاد لفيروس TMV.

لوحظ أيضاً أنه عند خلط هذه البروتينات مع فيروس $PVY^n$ وإجراء عملية طرد مركزي للخليط على سرعة 5000 دورة/ دقيقة مدة 10 دقائق، حصول تفاعل بين المصل المضاد لفيروس $PVY^n$ ونموذج أخذ من أعلى الأنبوبة في حين كان التفاعل سالباً مع نموذج أخذ من قعر الأنبوبة مما يشير إلى أن هذه البروتينات لا تمتلك القدرة على الارتباط وتجميع جسيمات الفيروس وترسيبها. ومن الجدير بالذكر أن القدرة على تجميع جسيمات الفيروس إحدى أربع إحتمالات وضعت لتفسير ميكانيكية التثبيط لهذه البروتينات. وعلى عكس البروتينات التي تم عزلها من نباتات Phytolacca esculenta والتي لها القدرة على تكوين راسب مع جسيمات TMV. ومن المرجح أن ميكانيكية عمل بروتينات الداتورة هي تثبيط بداية الإصابة بالفيروس والتي استدل عليها من انخفاض عدد البقع المتكونة على الورقة المعداة بخليط من الفيروس وهذه البروتينات. وقد ذكر Zipft (1987) و Chessen وآخرون (1994) أن بروتينات الداتورة المثبطة للفيروس تعمل على هذا الأساس.

Jerash for Research and Studies Journal ???? ??? ?????? ?????????, Vol. 7 [2006], Iss. 1, Art. 1



أظهرت نتائج اختبار تكتل الكلوروبلاست بين مستخلص من الأوراق القمية لنباتات البطاطا والمصل المضاد لفيروس $PVY^n$ عدم ظهور أي تكتل في معاملتي رش النباتات بمعلق البروتينات ثم العدوى بالفيروس بعد 24 ساعة ومعاملة خلط البروتينات والفيروس ثم عدوى النباتات بالخليط. وظهر تكتل طفيف في معاملة العدوى بالفيروس ثم رش النباتات المعداة بمعلق البروتينات بعد 24 ساعة. وظهر تكتل كثيف في معاملة الفيروس وحده ولم يظهر أي تكتل في معاملة البروتينات وحدها، جدول (١).

**جدول(١) يوضح اختبار فعالية الـ EAVP الداتورة في مقاومة فايروس $PVY^n$ باستخدام نباتات البطاطا**

| المعاملات | اختبار تكتل الكلوروبلاست | | | فترة ظهور الاعراض | المجموع | المعدل |
|---|---|---|---|---|---|---|
| آ $PVY^n$ فقط | 4 | 4 | 4 | 13 يوم | 12 | 4.0a |
| ب $EAVP + PVY^n$ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 c |
| ج $EAVP + PVY^n$ بعد 24 ساعة | 2 | 3 | 2 | 20 يوم | 7 | 2.3 b |
| د $PVY^n + EAVP$ بعد 24 ساعة | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 c |
| هـ EAVP فقط | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 c |

4 : تكتل كثيف، 3: تكتل متوسط، 2: تكتل خفيف، 1: تكتل قليل، 0 : عدم وجود تكتل.
– أقل فرق معنوي (L.S.D.) عند مستوى 0.05 = 0.47.



https://digitalcommons.aaru.edu.jo/jpu/vol7/iss1/1 10

ظهرت أعراض موزاييك على الأوراق القمية لنباتات البطاطا المعداة بالفيروس $PVY^n$ بعد 13 يوماً من العدوى، في حين تأخر ظهور الأعراض إلى 20 يوماً عند العدوى بالفيروس ثم المعاملة بالبروتينات. يتضح مما تقدم أن هناك عوامل مقاومة بروتينية ضد فيروس $PVY^n$ في نباتات الداتورة وأن إدخال هذه العوامل في نباتات البطاطا قبل دخول الفيروس أدى إلى تثبيط كامل للفيروس ومنع حدوث الإصابة. وهذا يوضح ميكانيكية عمل هذه العوامل في بداية الإصابة وربما يكون بالتنافس على المستلمات الخلوية (Recepters) للفيروس. وقد يؤدي ارتباطها على المستلمات إلى تحويرها وبالتالي عدم التعرف عليها من قبل الفيروس وتصبح الخلية مقاومة للإصابة بها. ولا يستبعد أن يكون دورها تحفيزياً إذ تعمل على تحفيز الخلية على تصنيع عامل مقاومة للفيروس (Hammerschmidt وآخرون 2001). إن تأخر الإصابة عند استخدام هذه العوامل بعد 24 ساعة من العدوى بالفيروس يوحي بأن لهذه العوامل أدواراً أخرى في عملية التثبيط وربما يكون منع أو إعاقة عمل إنزيمات التفاعل وبالتالي التقليل من تركيز الفيروس في الخلية. وهذا ما وجد فعلاً في اختبار تكتل البروتوبلاست إذ ظهر تكتل ضعيف في معاملة الفيروس ثم البروتينات مقارنة بتكتل قوي في معاملة الفيروس وحده. إن مزيداً من البحث يعد ضرورياً لعزل هذه البروتينات وتنقيتها وتحديد الفعال منها ثم إلقاء الضوء على الدور الحقيقي الذي تلعبه هذه البروتينات في تثبيطها لفعالية الفيروس في الخلية. ثم دراسة فترة بقاء هذه البروتينات فعالة في الخلية ولها القدرة على تثبيط الإصابة الفيروسية أو الحد منها.

Jerash for Research and Studies Journal ???? ??? ?????? ?????????, Vol. 7 [2006], Iss. 1, Art. 1



## المراجع

Apablaza, G.E. and C.C. Bernier (1973). Inhibition of tobacco mosaic virus infection by plant extracts. Can. J. Bot. 50: 1473-1478.

Chessen, M. (1983). Is there a plant interferon? Bot. Rev. 49. 1.

Chessen, M., A.E. Zipf and A. Metra (1994). Anti-viral proteins in higher plants. LRC Press. New York.

Chui Eng Wong, R. A. J. Carson, and J. A. Carr (2002). Chemically induced virus resistance in Arabidopsis thaliana is independent of pathogenesis-related protein expression and the NPR1 Gene. Molecular Plant-Microbe Interactions 15:57-81.

Grasso, S. and R. J. Shephered (1978). Isolation and partial characterization of virus inhibitors from plant species taxonomically related to Phytolacca. Phytopathology 68: 199-205.

Hammerschmidt, R., J. P. Metraux and L. C. Vanloon (2001). Inducing resistance: A summary of papers presented at the first international symposium on induced resistance to plant disesase. Europ. J. Plant Pathol. 107: 1-6.

Kataoka J., N. Habuka, M. Miyano, C. Masuta and A. Koiwai (1992). Nucleotide sequence of cDNA encoding B-Luffin another ribosome-inactivating protein from Luffa cylindrica. Plant Molec. Biol. 19: 887. Cited from cheesin, M., A.E.

Zipf and A. Mitra (1994). Anti-viral protein in higher plants. LRC Press, New York.

Lin, Q., Z. C. Chen, J. F. Antonico and R. F. White (1991). Isolation and Characterization of cDNA clone encoding the anti-viral protein form Phytulacca americana, Plant Molec. Biol. 17:609. Citd from cheesin, M., A.E



https://digitalcommons.aaru.edu.jo/jpu/vol7/iss1/1 

Zi. pf and A. Mitra (1994). Anti-viral protein in higher plants. LRC Press, New York.

Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227:680-68.

Mitra, A. (1985). Role of anti -viral substances in induced resistance in tobacco mesophyll protoplasts. Ph.D. Thesis, Department of Botany, Univrsity of Montana Missoula MT.

Singh, I. And J. P. Varma (1981). Virus inhibitor from Datura metel. Indian Phytopath. 34: 452-457.

Tomlinson, J. A., V. M. Walker, T. H. Flewett and G. H. Barclay (1974). The inhibition of infection by cucumber mosaic virus and influenza virus by extracts from Phytolacca americanan. J. Gen. Virol. 22:225-232.

Vivanco, J. N., M. Querci and L. F. Salazar. (1999). Antiviral and antiviroid activity of MAP - containing extracts from Mirabilis jalaba roots. Plant Dis, 83: 1116-1121.

Whitake, J. A. and P.E. Granum (1980). An absolute method for protein deterination based on difference in absorbance at 235 and 280 nm. J. Anal. Biochem. 109: 156-159.

Zipf, A. E. (1987). The isolation and characterization of an ecogenous antiviral protein from Datura stramonium. Ph. D. thesis, Department of Botany, University of Montana Missoula MT. 116pp.