تنقية فايروس التفاف أوراق البطاطا PLRV وتحديد خصائصه المصلية وحركته في النبات

صابر نبات حافظ ديوان مصطفى علي عذاب رقيب عاكف العاني
قسم وقاية النبات – كلية الزراعة – جامعة بغداد
Email: maa_adhab@hotmail.com

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة بهدف تنقية فايروس التفاف أوراق البطاطا ودراسة خصائصه المصلية وأهميته وحركته في النبات. أظهرت النتائج أن أفضل عائل تكثيري للفايروس هو نبات البطاطا إذ أمكن الحصول على حصيلة من الفايروس ٥,٧٦ ملغم/١٠٠ غم ذي نقاوة ١,٤٦ من الأوراق والسيقان للنباتات المصابة. واحتفظ الفايروس بحيويته وقدرته على التمنيع عند حقنه في أرنب نيوزيلاندي. أمكن الحصول على مصل مضاد للفايروس ذي عيارية ١٠٢٤/١ بعد أربعة حقنات للفايروس بمعدل ١ مل بتركيز ٠,٨ ملغم/مل لكل حقنة ، الثلاث حقنات الأولى في عضلة الفخذ مع حجم مماثل من مساعد فروند غير الكامل ، وحقنة رابعة منشطة في الوريد الخارجي للأذن. اختبرت كفاءة المصل المضاد باختبار اليزا مع عينات من الفايروس المنقى ومستخلص من نبات مصاب بالفايروس. وجد ان مقدار الامتصاص لوسط تفاعل اليزا على الطول الموجي ٤٠٥ نانوميتر كان ٠,٦١٦ في التخفيف ١٠-٢ لعينة من الفايروس تركيزها ٠,٨ ملغم/مل ، و ٠,٣٩٦ لمستخلص نبات بطاطا مصاب بالفايروس ولنفس التخفيف أعلاه مقارنة بـ ٠,٠٣ لمستخلص نبات سليم و ٠,٠٠٩ لمحلول دارئ الاستخلاص. كما أظهرت النتائج أن نسبة الدرنات المصابة والناتجة من نباتات بطاطا معداة بالفايروس بعد ١٠ – ٣٠ يوما من الإنبات بلغت ١٠٠% بعد أربعة أسابيع من آخر عدوى ، و ٨٠% من نباتات معداة بعد ٤٠ يوما من الإنبات جمعت بعد أسبوعين من آخر عدوى ، و ٨٧,٥% من نباتات أخذت بعد ٤ أسابيع من آخر عدوى. انخفضت نسبة إنبات الدرنات المصابة إلى ٥٥,٥٥ و ٦٥,٠% عند إجراء العدوى بعد ٥٠ يوما من الإنبات بعد ٢ و ٤ أسابيع من آخر عدوى بالتتابع ، و ٣٤,٧٨ و ٤٠,٠ % إذا أجريت العدوى بعد ٦٠ يوما من الإنبات ولنفس المدد أعلاه.

المقدمة

يعد فايروس التفاف أوراق البطاطا *Potato leaf roll virus* (PLRV ، جنس *Polerovirus*، عائلة *Luteoviridae*) من بين أكثر الفايروسات أهمية على البطاطا في العالم ويسبب انخفاضا في الحاصل يزيد عن ٧٥% فضلا عن التدهور في نوعية الدرنات الناتجة من نباتات مصابة (Beemister و Rozendaal، ١٩٧٢ و Jayasingh، ١٩٨٨). أشارت دراسات أخرى إلى أن الفايروس يسبب خسارة في عدد ووزن الدرنات بنسبة ٢٩,٢ و ٥٣,٨% في الجيل الأول و ٤٣,٥ و ٧٧,٣% في الجيل الثاني والثالث على التوالي (Kurppa، ١٩٨٣).

أدت زراعة درنات بطاطا مصابة إلى خفض الحاصل بنسبة تراوحت بين ٣٣,٤٣ – ٤٦,٤٨% (Mariano، ١٩٨٩). ذكر Hamm و Hane (١٩٩٩) ان زراعة درنات بطاطا مصابة بـ PLRV سبب خسارة في الحاصل بنسبة ٦٠% بتأثيره في عدد ووزن الدرنات.

تتأثر حركة الفايروس PLRV في النبات بمرحلة حدوث الإصابة والمدة بين الإصابة وجني الحاصل (Storch و Manzer، ١٩٨٥) إذ تزداد نسبة الدرنات المصابة كلما طالت تلك المدة ، وينخفض عدد الدرنات المصابة اذا حدثت الإصابة بالفايروس في مرحلة متقدمة من عمر النبات (Beemster، ١٩٧٢ و Robert وآخرون، ٢٠٠٠).

توصل عدد من الباحثين الى استخلاص وتنقية الفايروس باستعمال عوائل تكثيرية مختلفة منها نبات المنطاد *Physalis floridana* (Singh و Somervill، ١٩٩٢ و Jouan وآخرون، ٢٠٠١)، والداتورة *Datura stramonium* L. (Hepp و de Zoeten، ١٩٧٨)، ونباتات البطاطا *Solanum tuberosum* (Rowhani و Stace-Smith، ١٩٧٩ و Clarke، ١٩٨١).

استعملت محاليل دارئة مختلفة لاستخلاص الفايروس من الانسجة النباتية المصابة ، فقد استعمل دارئ فوسفات الصوديوم ٠,١ مولاري بدالة حامضية ٧,٤ (Hepp و de Zoeten، ١٩٧٨)، ودارئ فوسفات البوتاسيوم ٠,١ مولاري بدالة حامضية ٧,٤ (Rowhani و Stace-Smith، ١٩٧٩)، ودارئ

تاريخ تسلم البحث ٢٠١٠/٦/٢٠ وقبوله ٢٠١٠/١٠/٢٧

سترات الصوديوم ٠,١ مولاري بدالة حامضية ٧,٢ (Singh و Somervill، ١٩٩٢)، واضيف الى دارئ الاستخلاص مواد مخلبية (EDTA) تمنع تجمع جسيمات الفايروس، واستعملت اليوريا

والميركبتوايثانول لـ لغرض نفسه (Hepp و Zoeten de، ١٩٧٨ و Jouan وآخرون، ٢٠٠١). روق المستخلص بواسطة البيوتانول والكلوروفورم على انفراد او خليط منهما بنسبة ١:١ (حجم/حجم) وبنسبة ٢٥% (Rowhani و Stace-Smith، ١٩٧٩ و Singh و Somervill، ١٩٩٢). رسب الفايروس من المحلول الراقق بواسطة PEG وزنه الجزيئي ٦٠٠٠ دالتون بنسبة ٧%، ووزن جزيئي ٨٠٠٠ بنسبة ٨% مع ٠,٢ مولاري NaCl (Scagliusi و Lockhart، ٢٠٠٠).

أجريت هذه الدراسة بهدف تنقية PLRV ودراسة خصائصه المصلية وتحديد المرحلة الحرجة لحدوث الإصابة وانتقال الفايروس إلى الدرنات وحجم الخسائر الناجمة عن ذلك.

مواد البحث وطرائقه

استخلاص وتنقية الفايروس: جمعت عينات من نباتات بطاطا تظهر عليها اعراض التفاف وتقزم توحي باصابتها بفايروس PLRV ، من حقول بطاطا في ابي غريب. شخص الفايروس من هذه العينات باختبار اليزا باستعمال اجسام مضادة متعددة النسيلة لفايروس PLRV من الهيأة العامة لفحص وتصديق البذور (Al-Ani وآخرون، ٢٠١٠). نقل الفايروس PLRV من نباتات بطاطا مصابة الى مجموعة من نباتات بطاطا ومنطاد وداتورة بواسطة من الخوخ الاخضر *M. persicae* لتكثيره. وضعت مجموعة من حشرات المن على النبات المصاب مدة ٤٨ ساعة بمعدل ١٠ حشرات/نبات، ثم نقلت الى النباتات المعدة لتكثير الفايروس مدة ٤٨ ساعة. وضعت النباتات المعداة في البيت الزجاجي داخل اقفاص خشبية مغلفة بقماش الململ واستعملت النباتات التي ظهرت عليها اعراض اصابة مصدرا للفايروس. واعتمدت طريقة Rowhani و Stace-Smith (١٩٧٩) لاستخلاص وتنقية الفايروس.

سحق ١٠٠ غم من المجموع الخضري لنباتات التكثير المصابة بالفايروس (أخذت بعد أربعة أسابيع من العدوى) في خلاط كهربائي مع دارئ الاستخلاص (فوسفات الصوديوم ٠,٥ مولاري بدالة حامضية ٧,٤ يحوي ٠,١% ميركابتوايثانول، و ٠,١% Na-DIECA (Na- Diethyl dithio carbamate)) بمعدل ١ : ٢ (وزن:حجم). رشح المستخلص من خلال أربع طبقات من قماش الململ. أضيف للراشح مزيج من الكلوروفورم والبيوتانول بالنسب ١٠ و ٢٥ و ٦٠% من حجم المستخلص. عرض الخليط للرج بواسطة رجاج كهربائي مدة ساعة بدرجة ٤°س واجريت له عملية انتباذ مركزي بسرعة ١٠٠٠٠ دورة/دقيقة مدة ١٠ دقائق في جهاز انتباذ مركزي نوع (ALC R4239 High Speed Refrigerated Centrifuge).

اضيف للطافي مادة PEG (Polyethylene glycol) بوزن جزيئي ١٠٠٠٠ بنسبة ٧% مع ٠,٢ مولاري كلوريد الصوديوم واخضع للرج بواسطة رجاج مغناطيسي بدرجة ٤°س لليوم التالي. اجريت على المحلول عملية انتباذ مركزي بسرعة ٥٠٠٠ دورة/دقيقة مدة ٣٠ دقيقة في الجهاز الذي سبق ذكره. اذيب الراسب في ١ مل من محلول دارئ فوسفاتي ٠,٠٧ مولاري بدالة هيدروجينية ٧,٤ يحوي ٠,٧٥ مولاري يوريا، واخضع لعملية انتباذ مركزي بسرعة ١٠٠٠٠ دورة/دقيقة مدة ١٠ دقائق في الجهاز اعلاه للتخلص من المواد غير الذائبة. مرر الطافي من خلال راشح Millipore قطر فتحاته ٠,٤٥ مايكرومتر وعرض لعملية فصل غشائي في كيس ديلزة ذي نفاذية ١٢٠٠٠ في ٥٠٠ مل ماء مقطر مع التحريك على رجاج مغناطيسي بدرجة ٤°س.

تقدير تركيز الفايروس: قدر امتصاص المعلق الفايروسي للضوء فوق البنفسجي بواسطة جهاز قياس الطيف الضوئي Spectrophotometer على الطولين الموجيين ٢٦٠ و ٢٨٠ نانومتر وقدر تركيز الفايروس حسب المعادلة:

$$\text{التركيز (ملغم/مل)} = \frac{\text{مقدار الامتصاص على ٢٦٠ نانومتر}}{\text{معامل الاطفاء (٠,٥)}} \times \text{مقلوب التخفيف}$$

وحددت نقاوة الفايروس حسب المعادلة

$$\frac{\text{مقدار الامتصاص على ٢٦٠ نانومتر}}{\text{مقدار الامتصاص على ٢٨٠ نانومتر}} \quad \text{(العاني وراثي ١٩٨٤)}$$

تحضير المصل المضاد للفايروس: حقن أرنب نيوزيلاندي عمر ٩ اشهر بأربع حقنات من تحضيرة الفايروس النقي بمعدل ١ مل تركيز ٠,٨ ملغم/مل لكل حقنة. أجريت الحقنات الثلاث الأولى في عضلة الفخذ بمعدل حقنة أسبوعيا مع حجم مماثل من مساعد فروند غير الكامل Incomplete Freunds's Adjuvant من شركة (Sigma Chemical co. USA). وأجريت الحقنة الرابعة المنشطة بعد ثلاثة أسابيع من الحقنة

الثالثة في وريد الأذن (Rowhani و Stace-Smith، ١٩٧٩). جمع المصل بعد أسبوع من الحقنة الأخيرة عن طريق قطع وريد الأذن الخارجي في إناء زجاجي نظيف. ترك الإناء في حاضنة بدرجة ٣٧°س مدة ساعتين للتجلط. اخذ الجزء السائل وعرض لعملية انتباذ مركزي بسرعة ٣٠٠٠ دورة/دقيقة مدة ٥ دقائق وحفظ بدرجة -٢٠°س.

نقي المصل المضاد للحصول على الكاماكلوبيولين IgG (γ-globuline) وعدل تركيزه إلى ١ ملغم وفق المعادلة: (امتصاص مقداره ١,٤ على الطول الموجي ٢٨٠ نانومتر يعادل ١ ملغم/مل). ربط الـ IgG بالإنزيم Alkaline phosphatase واستعمل للكشف عن الفايروس بتقنية اليزا (DAS-ELISA) في التجارب اللاحقة وفي تقدير نسبة الإصابة (deBox و Van der Want، ١٩٨٧).

تحديد مدة انتقال الفايروس إلى الدرنات بعد العدوى والخسارة في الحاصل جراء الإصابة: زرعت درنات بطاطا صنف ديزري خالية من الفايروس (اختبرت مصليا) في أصص بلاستيكية حاوية تربة مزيجية معقمة. اعديت النباتات بعد ١٠ ، ٢٠ ، ٣٠ ، ٤٠ ، ٥٠ ، ٦٠ يوما من الإنبات. كررت المعاملات ٦ مرات و تركت نباتات بدون عدوى للمقارنة. جمعت الدرنات من نصف النباتات (٣ نباتات) بعد أسبوعين من العدوى ، ومن النصف الآخر بعد ٤ أسابيع من العدوى. أخذت عينات من الدرنات من منطقة العيون من كل معاملة بواسطة ثاقب فلين ، سحقت في هاون خزفي مع دارئ الاستخلاص PBS متعادل بنسبة ١ : ٢ (وزن:حجم) وأخضعت لاختبار اليزا بطريقة Clark و Adams (١٩٧٧) وقدرت نسبة الإصابة في الدرنات.

النتائج والمناقشة

تشير النتائج التي تم الحصول عليها من هذه الدراسة ان العائل التكثيري الأفضل لتضاعف الفايروس هو نبات البطاطا ، وان الأجزاء النباتية الطازجة اكثر ملائمة للحصول على فايروس فعال وبتركيز جيد. اذ بلغ تركيز الفايروس المستخلص من الأجزاء النباتية الطازجة ٠,٨٢٠ ملغم/مل مقارنة بـ ٠,٧٣٠ ملغم/مل من الأنسجة المحفوظة بدرجة -٢٠°س. وتم الحصول على تركيز للفايروس مقداره ٠,٦٩٠ ملغم/مل و ٠,٦٠ ملغم/مل من العائلين التكثيريين الداتورة والمنطاد بالتتابع. وقد أشارت الدراسات إلى أن الأجزاء الخضرية الطازجة تعطي تركيزا من الفايروس أعلى من التركيز المتحصل عليه من الأنسجة المجمدة أو المبـــــردة (Sarker، ١٩٧٦ و Gugerli، ١٩٧٩ و Rowhani و Stace-Smith، ١٩٧٩ و Clarke، ١٩٨١).

كانت حصيلة الفايروس المنقى ٥,٧٦ ملغم/١٠٠غم من الأنسجة النباتية وتعد هذه الحصيلة جيدة إذا ما قورنت بما توصل إليه باحثون آخرون بهذا الخصوص ، ٠,٤ ملغم/كغم من أوراق وسيقان البطاطا (Rowhani و Stace-Smith، ١٩٧٩ و Clarke، ١٩٨١) ، ٠,٨ – ١,٩ ملغـــم/كغـــم أوراق بطاطـــا (Goszczynski، ١٩٨٧)، ٠,٣ – ٠,٤ ملغم/كغم من أوراق نبات منطاد مصابة (Jouan وآخرون، ٢٠٠١). وربما تعود الحصيلة الواطئة من الفايروس لهؤلاء الباحثين الى كثرة خطوات التنقية وان زيادتها يؤدي إلى حصول فقد بالفايروس كما أشار إلى ذلك Kado و Agrawal (١٩٧٢).

وجد أن استعمال مزيج من الكلوروفورم والبيوتانول ١:١ بنسبة ٢٥% من حجم العصير لترويق المستخلص كانت أفضل من النسب الأخرى إذ بلغت نقاوة الفايروس ١,٤٦ مقارنة بـ ١,٢٦ و ١,٤٠ للنسب ١٠ و ٦٠% بالتتابع. وقد أشار Hepp و de Zoeten (١٩٧٨) إلى نتائج مماثلة.

اظهر اختبار اليزا تفاعلا موجبا مع مستخلص نبات سبق وان اعدي بالفايروس النقي عبر غشاء parafilm بواسطة *M. persicae*. وقد أشارت دراسات إلى إمكانية نقل الفايروس عبر غشاء البارافلم بواسطة المن (Hepp و de Zoeten، ١٩٧٨ و Jouan وآخرون، ٢٠٠١). ان هذا يشير إلى كفاءة الطريقة المعتمدة في تنقية الفايروس والحفاظ على حيويته أثناء مراحل التنقية المختلفة. وربما يشير هذا إلى أن احتواء دارئ الاستخلاص على مواد مختزلة أدت إلى منع أكسدة المواد الفينولية وبالتالي منع تثبيط الفايروس (Rowhani و Stace-Smith، ١٩٧٩ و Clarke، ١٩٨١).

المصل المضاد وكفاءته: ظهر تفاعلا موجبا (لون اصفر) في حفر طبق المعايرة الدقيقة Microtiter plate لاختبار اليزا الحاوية على المستحضر النقي للفايروس او مستخلص نبات منطاد او داتورة معداة بواسطة المن ، ونباتات بطاطا مصابة طبيعيا أخذت من الحقل. بلغت نسبة امتصاص وسط التفاعل للضوء على الطول الموجي ٤٠٥ نانومتر للعينات ١,٧٦٢ و ١,١١١ و ٠,٦١٦ و ٠,٢٥٣ للتخافيف ١ و 10^{-1} و 10^{-2} و 10^{-3} بالتتابع لتحضيرة الفايروس المنقاة ، و ١,١١٨ و ٠,٧٣٠ و ٠,٣٩٦ و ٠,٢٦٠ للتخافيف نفسها

لمستخلص نبات طماطة مصابة بـ PLRV مقارنة بـ ٠,٠٤١ و ٠,٠٣٣ و ٠,٠٣٠ و ٠,٠١٦ للتخافيف أعلاه لمستخلص نبات سليم ، و ٠,٠٠٩ لمحلول دارئ الاستخلاص.

أظهرت نتائج اختبار اليزا أن نسبة الدرنات المصابة من النباتات المعداة بعد ١٠ – ٣٠ يوما من الإنبات وصلت إلى ١٠٠% بعد ٤ أسابيع من آخر عدوى .. وان نسبة الدرنات المصابة من نباتات معداة بعد ٤٠ يوما من الإنبات كانت ٨٠% أخذت بعد أسبوعين من آخر عدوى ، و٨٧,٥% أخذت بعد أربعة أسابيع من آخر عدوى. انخفضت نسبة الدرنات المصابة من النباتات المعداة بعد ٥٠ و ٦٠ يوما من الإنبات لتصل إلى ٥٥,٥٥ و ٦٥,٠% بالتتابع و ٣٤,٧٨ و ٤٠,٠% بعد ٢ و ٤ أسابيع من آخر عدوى بالتتابع (الجدول ١).

الجدول (١): نسب اصابة درنات البطاطا صنف ديزري في مراحل مختلفة من عدوى النباتات بفايروس التفاف أوراق البطاطا PLRV

ت	العدوى بعد الإنبات/يوم	عدد الدرنات المختبرة		عدد الدرنات المصابة		نسبة الإصابة	
		بعد أسبوعين من آخر عدوى	بعد ٤ أسابيع من آخر عدوى	بعد أسبوعين من آخر عدوى	بعد ٤ أسابيع من آخر عدوى	بعد أسبوعين من آخر عدوى	بعد ٤ أسابيع من آخر عدوى
١	١٠	٩	١١	٩	١١	١٠٠	١٠٠
٢	٢٠	١١	١٣	١١	١٣	١٠٠	١٠٠
٣	٣٠	١٢	١٣	١١	١٣	٩٢.٥	١٠٠
٤	٤٠	١٥	١٦	١٢	١٤	٨٠	٨٧.٥
٥	٥٠	١٨	٢٠	١٠	١٣	٥٥.٥٥	٦٥.٠
٦	٦٠	٢٣	٢٠	٨	٨	٣٤.٧٨	٤٠.٠

أشار العديد من الباحثين في هذا الموضوع إلى نتائج مقاربة ، إذ أشاروا إلى انه كلما طالت المدة من عدوى النباتات حتى جني الحاصل تزداد نسبة الدرنات المصابة بالفايروس. وبالنسبة لفايروس PLRV حيث ينقل بالمن فان انتقاله يكون أسرع إذ تقوم الحشرة بحقنه مباشرة في اللحاء وبالتالي تكون حركته أسرع (Storch و Manzer، ١٩٨٥ و Hull، ٢٠٠٣). يلاحظ انه عند إجراء العدوى في مرحلة متأخرة من عمر النبات ٥٠ و ٦٠ يوما من الإنبات فان حركة الفايروس تكون أبطأ وقد لا يكون الوقت كافيا لانتقاله من الأوراق إلى الدرنات حيث يكون النبات في هذه الحالة أكثر مقاومة وأطلق على هذه الظاهرة مقاومة النبات البالغ Mature Plant Resistance (MPR) (Robert وآخرون، ٢٠٠٠).

يستخلص مما تقدم أن فايروس التفاف أوراق البطاطا يمثل مشكلة حقيقية على محصول البطاطا في العراق. ويلاحظ انه عند حدوث الإصابة في مرحلة مبكرة فان جميع الدرنات الناتجة من النبات المصاب تكون مصابة وعند زراعتها ثانية فان الخسائر الناتجة تكون أكثر. وقد أشارت مصادر عدة أن PLRV يسبب خسائر تتجاوز ٧٥% فضلا عن تدهور نوعية الدرنات (Kurppa، ١٩٨٣ و Jayasingh، ١٩٨٨ و Mariano، ١٩٨٩ و Hamm و Hane، ١٩٩٩). إن حساسية النباتات الفتية للإصابة ونقل الفايروسات بواسطة حشرات المن ربما يعود لهما الدور الأساس في سرعة انتشار الفايروس إلى الدرنات والخسائر الكبيرة في حاصل الدرنات (العدد والوزن) (Robert وآخرون، ٢٠٠٠). إن هذا يبين أهمية الحصول على تقاوي خالية من الفايروس واتخاذ الإجراءات الكفيلة بمنع وصول الناقل إلى الحقل في المراحل الأولى من نمو النباتات.

إن الحصول على كمية ملائمة من الفايروس من النباتات المصابة يعتمد كثيرا على العائل المناسب الذي يسمح بأكبر تضاعف ممكن له ، وقد وجد أن نبات البطاطا هو العائل الأكثر ملائمة بهذا الخصوص وانه بالامكان الحصول على كمية مناسبة من الفايروس على الرغم من أن تضاعفه يقتصر على اللحاء. وان الفايروس المنقى بالطريقة المتبعة في هذه الدراسة احتفظ بحيويته وقدرته على التمنيع. وقد أشارت دراسات عدة إلى المكانية تنقية الفايروس وتحضير مصل مضاد له (Rowhani و Stace-Smith، ١٩٧٩ و Clarke، ١٩٨١ و Jouan وآخرون، ٢٠٠١) وان الفايروس يعد من المستضدات متوسطة القدرة على التمنيع ، واعتمد اختبار اليزا في هذه الدراسة لأنه يعد أكثر الاختبارات المصلية حساسية (Hull، ٢٠٠٢) وأمكن بواسطتها متابعة الفايروس وتضاعفه في أجزاء النبات المختلفة.

PURIFICATION OF POTATO LEAF ROLL VIRUS (PLRV), DETERMINATION ITS SEROLOGICAL PROPERTIES AND MOVEMENT WITHIN THE PLANT

Sabir N.H. Diwan Mustafa A. Adhab Rakib A. Al-Ani
Plant Protection Department- College of Agriculture – University of Baghdad
Email: maa_adhab@hotmail.com

ABSTRACT

This study was conducted to purify of Potato leaf roll virus (PLRV), study its serological properties, importance, and its movement within the plant. It was found that the more suitable host for virus multiplication was potato plants. An average of 5.76 mg of purified virus per 100 g of leaves and stems at purity of 1.46 was obtained. The purified virus had preserved its infectivity and immunogenicity. An antiserum against the virus was obtained after 4 injections of pure virus, each of 1 ml at 0.8 mg/ml. The first 3 injections were intramascular with Incomplete Freund's Adjuvant weekly. The fourth booster one was in the external ear vein after 2 weeks. The efficiency of the AS was tested by ELISA test with pure virus and extracts from virus infected plants. It was found that the absorbance of ELISA reaction at 405 nm is 0.616 at 10-2 dilution for pure virus (at 0.8 mg/ml), and 0.396 for extract from virus infected plants at the same dilution as compared with 0.03 for extract from healthy plants, and 0.009 for extraction buffer. Results showed that the percent of infected tuber from virus inoculated plants after 10 – 30 days of germination reached to 100% after 4 weeks of the last inoculation, 80% and 87.5% from virus inoculated plants after 40 days of germination collected after 2 and 4 weeks of the last inoculation respectively. The percent of infected tubers was decreased to (55.55 and 65.0)% , (34.78 and 40.0)% from plants inoculated after 50 and 60 days of germination, collected after 2 and 4 weeks of the last inoculation.

المصادر

العاني، رقيب عاكف وياش بال راثي (١٩٨٤). فايروسات النبات أساسيات التجارب العملية، مطبعة جامعة بغداد. ٢٧٤ صفحة.

Al-Ani, R.A., S.N.H. Diwan and M.A. Adhab (2010). Efficiency of *Thuja orientalis* and *Artimisia campestris* extracts to control of *Potato leaf roll virus* (PLRV) in potato plants. Agriculture and Biology J. of North America (ABJNA) 1(4): 579-583.

Beemster, A.B.R. (1972). Virus translocation in potato plant mature-plant resistance. p. 144-150. Cited from de Bokx, J.A. (1972). Viruses of potatoes and seed-potato production. Wageningen, Center for Agricultural Publishing and Documentation. pp. 233.

Beemster, A.B.R. and A. Rozendaal (1972). Potato Viruses: Properties and Symptoms. p.115-142. Cited from de Bokx, J.A. (1972). Viruses of Potatoes and Seed–Potato Production. Wageningen, Centre for Agricultural Publishing and Documentation. pp. 233.

Clark, M.F. and A.N. Adams (1977). Characteristic of the microplate methods of enzyme–linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. J. General Virology 34: 475-483.

Clarke, R.G. (1981). Potato leaf roll virus, purification and antiserum preparation for Enzyme-Linked Immunosorbent-Assays. American Potato J. 58: 291-298.

de Bokx, J.A. and J.P.H. Van der Want (1987). Viruses of potatoes and seed potato production. Center of Agricultural publishing and Documentation (PUDOC). Wageningen. The Netherland.

Goszczynski, D. (1987). Potato leaf roll virus (PLRV) purification, obtaining of specific serum. Biuletyn–Instytytu-Ziemniaka. pp. 35. (Abst.).

Gugerli, P. (1979). Potato virus A and Potato leaf roll virus: purification, antiserum production and serological detection in potato and test plants by Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA). Phytopatholgy Z.96: 97-107.

Hamm, P.B. and D.C. Hane (1999). Effects of seed-borne Potato leaf roll virus on Russet Norkotah potato. Plant Disease 83: 1122-1124.

Hepp, R.F. and G.A. de Zoeten (1978). Purification of Potato leaf roll virus and an evaluation of methods for its diagnosis. American Potato J. 55:125-139.

Hull, R. (2002). Matthews' Plant Virology. 4th edition. Academic Press, London, UK. 1001 pp.

Jayasingh, U. (1988). Potato leaf roll virus; PLRV. Technical information bulletin 22. International Potato Center (CIP), lima, Peru. pp.21.

Jouan, J.R.; L. Terradot; F. Pasquer; S. Tanguy and D. Bourdin (2001). The passage of Potato leaf roll virus through Myzus persicae gut membrane regulates transmission efficiency. J. of General Virology 82:17-23.

Kado, C. and H.O. Agrawal (1972). Principles and techniques in Plant Virology. Van. Nostrand Reinhold Company. New York. pp. 688.

Kurppa, A. (1983). Potato viruses in Finland and their identification. J. of the Scientific Agricultural Society of Finland 55: 183-301.

Mariano, J.S. (1989). Yield losses due to potato viruses: Potato leaf roll virus and Potato virus S. Bureau of Plant Industry, Baguio City (Philippines). (Abst.).

Robert, Y.; T. Woodford and D. Bourdin (2000). Some epidemiological approaches to the control of aphid–borne virus diseases in seed potato crops northern Europe. Virus Research 71:33-47.

Rowhani, A. and R. Stace-Smith (1979). Purification and characterization of Potato leaf roll virus. Virology 98: 45-54.

Sarkar, S. (1976). Potato leaf roll contains a double-stranded DNA. Virology 70: 265-273.

Scagliusi, S.M. and B.E.L. Lockhart (2000). Transmission, characterization , and serology of a luteovirus associated with yellow leaf syndrome of sugarcane. Phytopathology 90: 120-124.

Singh, R.P. and T.H. Somervill (1992). Evaluation of the enzyme-amplified Elisa for the detection of Potato viruses A, M, S, X, Y, and leaf roll. American Potato J. 69:21-30.

Storch, R.H. and F.E. Manzer (1985). Effect of time and data of inoculation, plant age, and temperature on translocation of Potato leaf roll virus into potato tubers. American Potato J. 62:137-143.