

## بررسی ویروس X سیب زمینی در شمال خراسان

ناصر بیگ زاده<sup>۱</sup>، بهروز جعفرپور<sup>۲</sup>، ماهرخ فلاحتی رستگار<sup>۳</sup> و عبدالرضا وارسته<sup>۴</sup>

### چکیده

در سال زراعی ۱۳۷۵، در یکی از مزارع سیب زمینی در بجنورد تعداد زیادی بوته سیب زمینی که دارای علائم کوتولگی، رنگ پریدگی و موزائیک خفیف بودند نشانه گذاری شد. هنگام برداشت محصول، از هر بوته نشانه گذاری شده تعدادی غده جمع آوری نموده و تا سپری و شکسته شدن دوره خواب، در سردخانه تاریک با دمای چهار درجه سانتیگراد نگهداری شد. بعد از اتمام دوره خواب، غده‌ها در خاک معمولی زراعی کاشته و در گلخانه با دمای تقریبی ۲۵-۲۰ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. مطالعات دامنه میزبانی، آزمون‌های ساندویچ دو طرفه الیزا (direct double - antibody sandwich enzyme - linked immunosorbent assay; DAS) و ELISA - نقطه گذاری روی غشاء نیتروسولوز (dot immunobinding assay; DIBA) و میکروسکوپ الکترونی نشان داد که بوته‌های حاصله از رشد غده‌های مذکور، آلوده به ویروس X سیب زمینی (Potato Virus X, PVX) هستند. مایه زنی از برگ‌های دارای علائم به گیاهان آزمون، منجر به بروز علائم سیستمیک در *Nicotiana glutinosa* cv. *Turkish*، *Nicotiana tabacum* cv. *Xanthi*، *Nicotiana tabacum* cv. *Samsun* و *Capsicum frutescens* شد. در حالی که در *Chenopodium amaranticolor*، *C. quinoa* و *Gomphrena globosa* علائم موضعی ظاهر شد و در *Cucumis sativus* هیچگونه علائمی مشاهده نگردید. از *N. glutinosa* جهت تکثیر و خالص سازی ویروس استفاده شد و سپس آنتی سرم علیه ویروس خالص شده تهیه گردید. به منظور بررسی ویروس X سیب زمینی در شمال خراسان، از ۲۶ مزرعه در مناطق بجنورد، چناران، شیروان، طوس، فاروج و قوچان مجموعاً ۲۲۷ بوته بطور تصادفی نمونه برداری و از آزمون ساندویچ دو طرفه الیزا جهت تشخیص این ویروس در آنها استفاده شد. نتایج این آزمون نشان داد که مناطق فوق به ترتیب ۵۰، ۶۳/۶، ۳۲/۷، ۵۳/۳، ۶۲/۸ و ۳۷/۲ درصد آلودگی دارند.

### واژه‌های کلیدی: سیب زمینی، ویروس X سیب زمینی.

### مقدمه

آسانی از طریق پیوند و غده منتقل می‌شود اما انتقال آن از طریق بذور و شته گزارش نشده است (۱ و ۱۱). ویروس X سیب زمینی که یکی از ویروس‌های بیماریزای سیب زمینی می‌باشد، باعث کاهش محصول بین ۲۰-۱۰ درصد می‌شود (۹) و لازم است که این ویروس در کلیه مناطق

ویروس X سیب زمینی<sup>۵</sup> ابتدا در سال ۱۹۳۱ توسط اسمیت توصیف شد (۱۱). این ویروس، عضو شاخص ویروسهای گروه پوتکس بوده، رایج‌ترین و گسترده‌ترین ویروس آلوده کننده سیب زمینی در جهان می‌باشد (۵، ۱۴، ۱۷). ویروس مزبور به صورت رشته‌های خمش پذیر بوده، اندازه ذرات آن در حدود ۱۲×۵۵۰ نانومتر می‌باشد (۵). در سلولهای اپیدرمی میزبانهای آلوده به این ویروس، اجسام درون سلولی<sup>۶</sup> دیده می‌شود (۹). این ویروس به

۱- کارشناس ارشد مرکز تحقیقات کشاورزی خراسان - مشهد.

۲- استاد گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد.

۳- دانشیار گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد.

۴- استادیار گروه ایمونولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد.

5- Potato Virus X

۶- این اجسام از نوع Amorphous X-bodies می‌باشند.

جدول ۱- گیاهان آزمون

گیاهان آزمون	سن مایه زنی گیاه (بر اساس تعداد برگ‌ها)
<i>Capsicum frutescens</i> L.	۵ - ۶
<i>Chenopodium amaranticolor</i> Coste & Reyn	۵ - ۶
<i>C. quinoa</i> Willd	۶ - ۸
<i>Datura stramonium</i> L.	۴ - ۵
<i>G. globosa</i>	۶ - ۸
<i>Nicotiana debneyi</i> Domin	۵ - ۷
<i>N. glutinosa</i> L.	۵ - ۸
<i>N. tabacum</i> L. cv. <i>Samsun</i>	۵ - ۷
<i>N. tabacum</i> L. cv. <i>Turkish</i>	۵ - ۷
<i>N. tabacum</i> L. cv. <i>Xanthi</i>	۵ - ۷
<i>Cucumis sativus</i> L.	۲ (برگ‌های کوتیلدونی)
<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill	۵ هفته‌ای

روبرت برنز از موسسه علوم کشاورزی اسکاتلند ارسال شد که آنتی‌بادی به نسبت  $\frac{1}{500}$  در بافر پوششی و کانژوگه نیز به نسبت  $\frac{1}{2000}$  در بافر استخراجی، رقیق شده و در آزمون مورد استفاده قرار گرفت. برگ‌های گیاهان آلوده و همچنین نمونه‌های کنترل مثبت و منفی (بافر و نمونه برگ سالم) به نسبت (حجم) ۱:۳ در بافر استخراجی، له شده و عصاره گیری شد. سوپسترای مورد استفاده، پارانیتروفنیل فسفات<sup>۵</sup> به غلظت ۰/۶۷ میلی گرم بر میلی‌لیتر در بافر سوپسترا بود. پلیت‌های مورد استفاده، از نوع میکروپلیت‌های یکبار مصرف از جنس پلی استیرن با کف V شکل بود (نوع گرینر با ۹۶ چاهک). جهت ارزیابی نتایج این آزمون، نمونه‌هایی که در مقایسه با کنترل منفی (نمونه سالم)، تغییر رنگ (رنگ زرد) قابل رویتی را نشان می‌دادند، به عنوان نمونه‌های آلوده در نظر گرفته، و آنهایی که هیچگونه تغییر رنگ قابل رویتی را نشان

pH برابر ۷/۵ و ۲۰ برابر رقیق شده و سپس میزان جذب نور در طول موج ۲۶۰ نانومتر<sup>۱</sup> (توسط نوکلئیک اسید) و ۲۸۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر<sup>۲</sup> اندازه گیری شد. آنگاه با استفاده از رابطه زیر و بر اساس ضریب جذب  $2/97 \times 10^{11}$ ، غلظت ویروس تخمین زده شد:

$$C = \frac{OD_{260} \cdot Dilution}{EC}$$

آزمون الیزا

جهت شناسایی و تشخیص ویروس X سیب‌زمینی، علاوه بر استفاده از گیاهان آزمون از آزمون ساندویچ دو طرفه الیزا نیز استفاده شد. در این روش، از برگ‌های گیاهان آلوده که دن گلخانه رشد کرده بودند (بوته‌های سیب‌زمینی و گیاهان مندرج در جدول ۱)، به عنوان نمونه جهت شناسایی و تشخیص این ویروس در آنها استفاده شد. اساس آزمون الیزای انجام شده، روش کلارک و بار - ژوزف (۴) و سینگ و سامرویل (۱۵) می‌باشد. آنتی‌بادی<sup>۳</sup> و کانژوگه (متصله آنتی‌بادی - آنزیم آلکالین فسفاتاز) که دن این آزمون مورد استفاده قرار گرفت، توسط دکتر

- 1- A260nm
- 2- Shimadzu, UV. 160A, Japan
- 3-  $A_{260}^{0/1\%}$ , 1cm = 2.97 = EC (Extinction Coefficient)
- 4-  $IgG^+$  از نوع
- 5- P<sup>-</sup>- Nitrophenyl phosphate

جدول ۲- مناطق، تعداد مزارع و تعداد بوته‌های نمونه برداری شده

مناطق	تعداد مزارع	تعداد بوته ها
بجنورد	۶	۴۶
چناران	۶	۵۵
شیروان	۲	۲۳
طوس	۳	۴۵
فاروج	۴	۳۵
قوچان	۵	۴۳*
جمع کل	۲۶	۲۴۷

فوق، کاغذ یکبار دیگر با فسفات بافر سالین<sup>۱</sup> ۱۲۰ میلی مول با pH برابر ۷/۵ به مدت سه دقیقه شسته شد. بعد از خارج کردن فسفات با فرمالین، سوپسترای مخصوص (۲- کلرو- ۱- نفتول) روی کاغذ ریخته شد.

#### شناسایی ویروس X سیب زمینی و تعیین درصد آلودگی در شمال خراسان

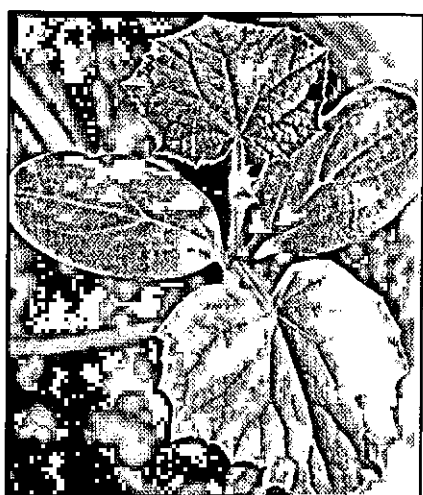
بدین منظور، در طی ماههای تیر و مرداد، از مزارع سیب زمینی در مناطق بجنورد، چناران، شیروان، طوس، فاروج و قوچان از تمام قسمت‌های هر مزرعه، بطور تصادفی و بدون توجه به علائم نمونه برداری شد (جدول ۲). نمونه‌های برگ‌ی در پاکت پلاستیکی مجزا قرار داده و به آزمایشگاه جهت بررسی، منتقل و از آزمون ساندریج دو طرفه الیزا جهت تشخیص ویروس X سیب زمینی در آنها، استفاده شد. به منظور تهیه عصاره از نمونه‌های برگ‌ی، نمونه‌های مربوط به هر بوته، بطور جداگانه، داخل یک پاکت پلاستیکی مجزا با بافر مناسب به نسبت (۱:۳) با کمک میله شیشه‌ای و یا دسته‌هاون، له شد. به منظور ارزیابی نتایج، نمونه‌هایی که در مقایسه با کنترل منفی (نمونه سالم)، تغییر رنگ قابل رؤیتی را نشان می‌دادند، به عنوان نمونه‌های آلوده در نظر گرفته شده و درصد آلودگی تعیین شد.

نمی‌دادند نیز به عنوان نمونه‌های سالم، در نظر گرفته شدند.

#### آزمون نقطه گذاری روی غشاء نیتروسولوز

در این آزمون با استفاده از بافر فسفات ۰/۰۱ مولار با pH برابر ۷/۵ از گیاهان آلوده و سالم عصاره‌گیری شده و در ۷:۰۰ p.m به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد و عصاره رویی جهت انجام این آزمون مورد استفاده قرار گرفت. مقدار دو میکرولیتر از عصاره آلوده و سالم بطور جداگانه روی کاغذ نیتروسولوز نقطه گذاری گردید. بعد از پنج دقیقه، به منظور اشباع محلهای اشغال نشده روی کاغذ، محلول یک درصد بویین سرم آلبومین<sup>۱</sup> روی کاغذ ریخته شد. بعد از ۳۰ دقیقه، محلول بویین سرم آلبومین خارج و سپس محلول آنتی بادی اولیه (حاوی آنتی بادی اختصاصی علیه ویروس X سیب زمینی تهیه شده از مؤسسه علوم کشاورزی اسکاتلند و رقیق شده به نسبت ۱/۵ در محلول یک درصد بویین سرم آلبومین) بر روی کاغذ ریخته شد. بعد از یک ساعت، محلول آنتی بادی اولیه خارج و کاغذ دو بار و هر بار به مدت پنج دقیقه با محلول یک درصد بویین سرم آلبومین شسته شد. سپس محلول آنتی بادی ثانویه (حاوی آنتی بادی خرگوش، تولید شده در گوسفند، متصل به آنزیم HRP و رقیق شده در محلول یک درصد بویین سرم آلبومین به نسبت ۱/۵) روی کاغذ ریخته شد. بعد از یک ساعت، ضمن خارج کردن محلول آنتی بادی ثانویه و شستشوی مجدد کاغذ همانند

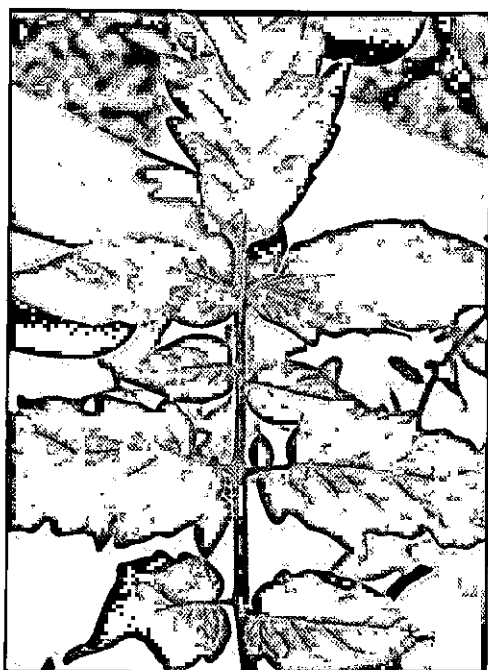
1- Bovine serum albumin 2- Phosphate buffered saline



ب



الف



د



ج

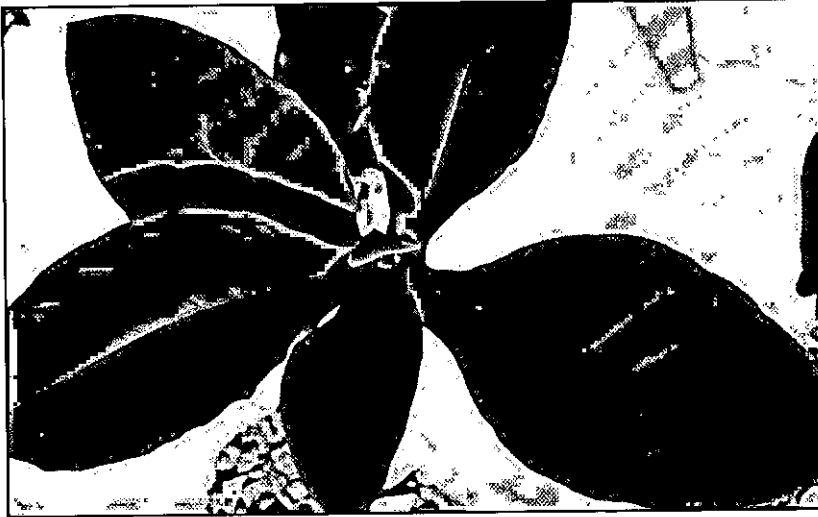
شکل ۱- علائم گیاهان آزمون

ب - *Cucumis sativus*

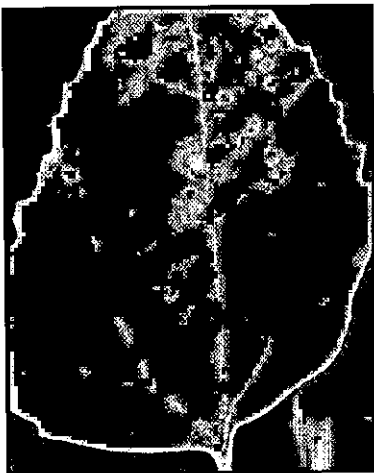
الف - *Solanum tuberosum L.*

د - *L. esculentum*

ج - *N. glutinosa*



الف



د

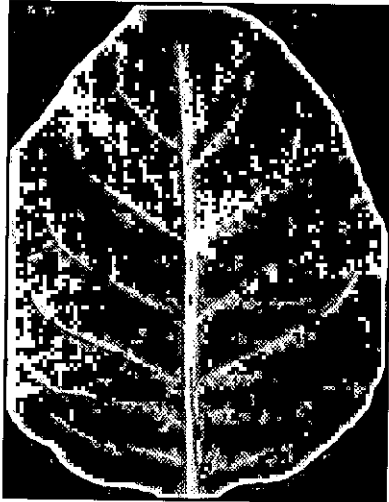


ج

شکل ۲- علائم گیاهان آزمون

ج و د - *C. amaranticolor*

الف و ب *N. tabacum* cv. Turkish



ب



الف

الف



د

د



ج

شکل ۳- علائم گیاهان آزمون

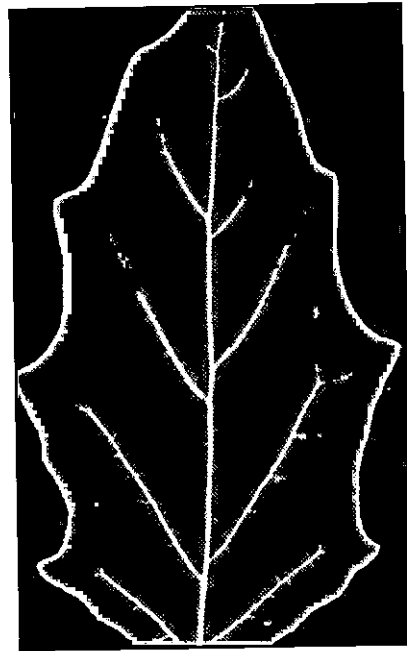
*N. tabacum* cv. *Xanthi* - ج

*N. tabacum* cv. *Samsun* - الف و ب

*C. quinoa* - د



ب



الف



ا



د



ج

شکل ۴- علائم گیاهان آزمون

ب و ج - *N. debneyi*

د - *Capsicum frutescens*

الف - *D. stramonium*

ج - *G. globosa*

## جدول ۳- واکنش گیاهان محک

گیاهان آزمون	علائم	دوره نهان یا کمون (بر حسب روز)
<i>Capsicum frutescens</i>	زخم موضعی نکروتیک - سیستیمیک	۱۴ - ۲۱
<i>C. amaranticolor</i>	لکه کلروتیک موضعی - لکه حلقوی کلروتیک موضعی - بدون آلودگی سیستیمیک	۵ - ۷
<i>C. quinoa</i>	لکه کلروتیک موضعی - بدون آلودگی سیستیمیک	۵ - ۶
<i>Cucumis sativus</i>	بدون آلودگی	۳۰
<i>D. stramonium</i>	موزائیک	۱۰ - ۱۲
<i>G. globosa</i>	زخم موضعی نکروتیک - بدون آلودگی سیستیمیک	۳ - ۴
<i>L. esculentum</i>	موزائیک شدید	۱۲ - ۱۴
<i>N. debneyi</i>	رگبرگ نواری سیستیمیک - لکه نکروتیک سیستیمیک - تغییر شکل برگ	۱۰ - ۱۲
<i>N. glutinosa</i>	موزائیک شدید	۱۴
<i>N. tabacum cv. Samsun</i>	لکه کلروتیک سیستیمیک - موزائیک	۱۴
<i>N. tabacum cv. Turkish</i>	رگبرگ روشنی سیستیمیک - موزائیک خفیف	۱۴
<i>N. tabacum cv. Xanthi</i>	رگبرگ روشنی سیستیمیک - لکه نکروتیک سیستیمیک	۱۰ - ۱۲

## غلظت

میزان جذب نور در ۲۶۰ نانومتر برابر ۲/۰۶۷ و در ۲۸۰ نانومتر برابر ۱/۷۱۹ بود که نسبت جذب در ۲۶۰، ۱/۲ جذب در ۲۸۰ تعیین شد. غلظت ویروس خالص شده به طریق زیر تعیین شد:

$$C = \frac{2/067 \times 20}{2/97} = 12/9 \text{ میلی گرم میلی لیتر}$$

با توجه به اینکه ۲۲۰ گرم برگ جهت خالص سازی مورد استفاده قرار گرفت، میزان محصول ویروس در یک کیلوگرم برگ، ۶۳/۱ میلی گرم تخمین زده شد.

## مطالعات الکترون میکروسکوپی

عکس الکترونی تهیه شده نشان داد که ذرات ویروس خالص شده رشته‌ای، نخ‌شکل و قابل انعطاف می‌باشد (شکل ۵).

## آزمون الیزا

نتیجه این آزمون نشان داد که سیبزمینی‌های رشد کرده در گلخانه و تمام گیاهان آزمون که مایه‌زنی شده بودند (به جز *Cucumis sativus*) و علائم آلودگی را نشان می‌دادند، آلوده به ویروس X سیبزمینی بوده و نمونه‌های مربوط به آنها در مقایسه با کنترل منفی (نمونه سالم)، تغییر رنگ (رنگ زرد) قابل رؤیتی را نشان می‌دادند.

## نتایج و بحث

## منبع ویروس

بوته‌های حاصله از غده‌های کاشته شده در گلخانه، علائم واضحی از آلودگی به ویروس X سیبزمینی به صورت سیستیمیک نشان دادند (شکل ۱). شرایط خنک حاکم بر گلخانه، نقش موثری در بروز چنین علائمی داشته است. تلقیح عصاره این بوته‌ها به *G. globosa* آزمون‌های ساندویچ دو طرفه الیزا و نقطه‌گذاری روی غشاء نیتروسولوز وجود ویروس X سیبزمینی را در آنها ثابت نمود.

## گیاهان آزمون

در گیاهان آزمون *N. tabacum cv. Samsun*، *N. tabacum cv. Turkish*، *N. tabacum cv. Xanthi*، *D. stramonium*، *N. glutinosa*، *N. debneyi*، *Capsicum frutescens* و *L. esculentum* سیستیمیک ظاهر شد در حالی که در *C. amaranticolor*، *C. quinoa* و *G. globosa* علائم آلودگی به صورت موضعی بوده و در *Cucumis sativus* هیچگونه علائمی مشاهده نگردید (شکل‌های ۱ و ۲ و ۳ و ۴).

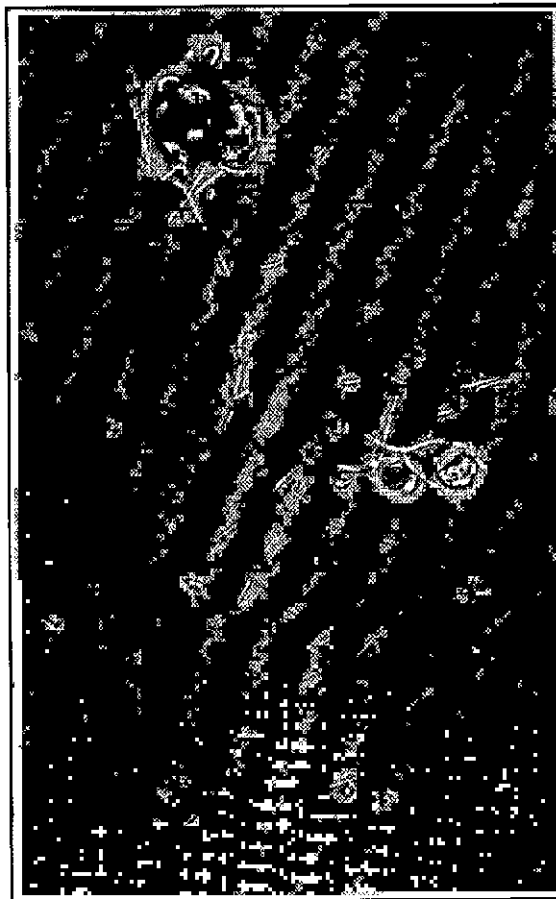


## آزمون نقطه گذاری روی غشاء نیتروسولولز

در این آزمون، اگر بعد از افزودن سوبسترا، در محلی که نمونه گذاشته شده است رنگ غیر محلولی رسوب نماید (به رنگ بنفش)، نتیجه واکنش مثبت بوده و این تغییر رنگ نشان می‌دهد که نمونه مورد آزمایش، دارای آنتی ژن مورد نظر است. چنین رسوبی در نمونه‌های آلوده به صورت لکه‌ای دایره‌ای شکل مشاهده گردید ولی در نمونه‌های سالم (کنترل منفی)، دیده نشد.

## شناسایی ویروس X سیب‌زمینی و تعیین درصد آلودگی در شمال خراسان

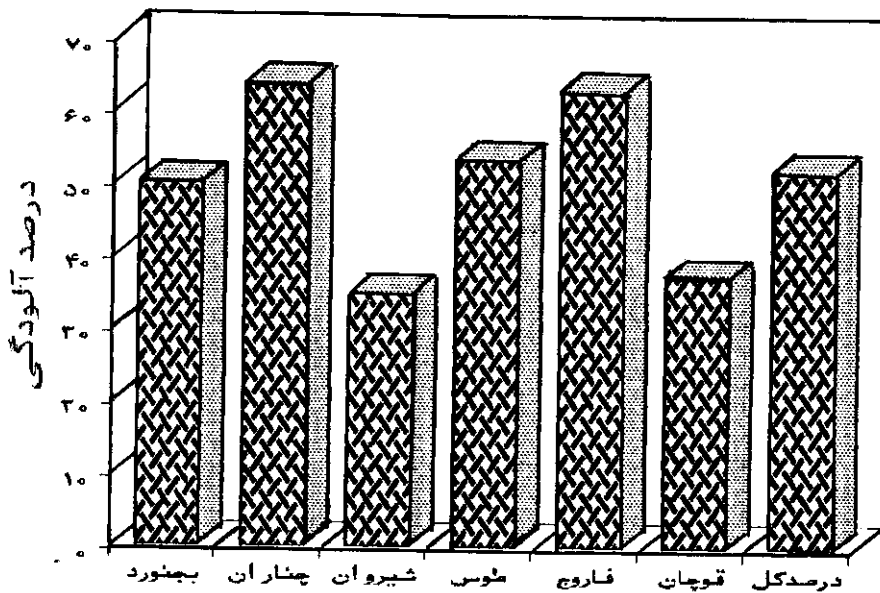
نتایج به دست آمده براساس آزمون الیزا، نشان داد که تمام مزارع سیب‌زمینی مورد بررسی در شمال خراسان، آلوده به این ویروس می‌باشد (جدول ۴)، که در بین این مناطق، چناران بالاترین درصد آلودگی و شیروان نیز پایین‌ترین درصد آلودگی را دارند.



شکل ۵ - عکس الکترونی ذرات ویروس خالص شده با بزرگنمایی ۵۷۰۰۰.

جدول ۴- مناطق، تعداد نمونه‌های آلوده و درصد آلودگی

مناطق	تعداد نمونه‌های آلوده	درصد آلودگی
بجنورد	۲۳	۵۰
چناران	۳۵	۶۳/۶
شیروان	۸	۳۴/۷
طوس	۲۴	۵۳/۳
فاروج	۲۲	۶۲/۸
توچان	۱۶	۳۷/۲
جمع کل	۱۲۸	۵۱/۸



شکل ۶- نمودار درصد آلودگی و درصد کل آلودگی مناطق نمونه‌برداری شده در شمال خراسان

## بحث

علائم بوته‌های سیب‌زمینی‌های رشد کرده در گلخانه، واکنش گیاهان آزمون و علائم آنها، آزمون‌های سرولوژیکی (ساندویچ دو طرفه الیزا و نقطه‌گذاری روی غشاء نیتروسولوز) و الکترون میکروسکوپی و همچنین نسبت جذب در ۲۶۰ بیانگر این است که نمونه خالص شده، جذب در ۲۸۰ ویروس X سیب‌زمینی بوده و غده‌های جمع‌آوری شده نیز آلوده به این ویروس از گروه پوتکس می‌باشد.

علائم موزائیک بر روی بوته‌های سیب‌زمینی‌های رشد کرده در گلخانه، شبیه علائمی است که توسط تعداد زیادی از محققان برای سیب‌زمینی‌های آلوده به ویروس X سیب‌زمینی گزارش شده است (۱۰، ۹، ۱ و ۱۱). تلقیح عصاره سیب‌زمینی‌های مذکور به *G.globosa* و آزمون‌های سرولوژیکی، وجود ویروس X سیب‌زمینی را در آنها ثابت کرد. اکثر محققان به منظور تشخیص این ویروس از *G.globosa* استفاده نموده و علائمی که ذکر کرده‌اند با علائم تشکیل شده بر روی این میزبان توسط ویروس مورد بررسی، مطابقت دارد. به منظور بررسی این ویروس در میزبان‌های بدون علائم و در سیب‌زمینی‌هایی که گرمادرمانی شده بودند، از *G.globosa* استفاده شده است (۶ و ۱۶). همچنین آزمون‌های سرولوژیکی، وجود ویروس X سیب‌زمینی را در *G.globosa* که با ویروس مورد بررسی مایه زنی شده بود و علائم آلودگی را نشان می‌داد، ثابت کرد. بنابراین، این میزبان جهت تشخیص ویروس X سیب‌زمینی بسیار مهم بوده و می‌توان جهت بررسی این ویروس در دیگر گیاهان آزمونی که مایه‌زنی شده‌اند، از آن استفاده کرد. ویروس مورد بررسی در *N.tabacum* cv. *Xanthi*، *N.tabacum* cv. *Samsun*، *N.glutinosa*، *N.debneyi*، *N.tabacum* cv. *Turkish Capsicum* و *L.esculentum* *D.stramonium* *frutescens* آلودگی سیستمیک ایجاد کرد که با علائم گزارش شده در منابع، مطابقت دارد (۱، ۳، ۹، ۱۱، ۱۲ و ۱۶). از طرفی، تلقیح عصاره آلوده آنها به *G.globosa* علائمی

شبیه علائم ویروس X سیب‌زمینی ایجاد نمود و همچنین آزمون‌های سرولوژیکی نیز وجود این ویروس را در آنها، نشان داد. نمونه مورد بررسی در *C.amaranticolor* و *C.quinoa* آلودگی موضعی ایجاد نموده که مشابه علائم گزارش شده توسط موریرا و همکاران (۱۲) می‌باشد و آزمون‌های سرولوژیکی و تلقیح عصاره آلوده آنها به *G.globosa*، وجود ویروس X سیب‌زمینی را در آنها ثابت نمود. از طرفی ویروس مورد بررسی در این تحقیق در *Cucumis sativus* هیچگونه آلودگی ایجاد نکرد و این بیانگر عدم حساسیت این میزبان به ویروس X سیب‌زمینی می‌باشد (۸). عکس الکترونی نشان می‌دهد که ذرات ویروس خالص شده، مشابه ذرات ویروس X سیب‌زمینی از گروه پوتکس بوده که توسط محققان گزارش شده است (۲، ۵ و ۱۱). بنابراین احتمال اینکه نمونه خالص شده، ویروس X سیب‌زمینی بوده و از گروه پوتکس باشد بیشتر است به علاوه نسبت جذب در ۲۶۰ جذب در ۲۸۰ برای این ویروس، ۱/۲ گزارش شده است (۱۱)، که نسبت تعیین شده برای ویروس خالص شده با آن مطابقت دارد. هر چند بررسی دقیق درصد آلودگی یک منطقه نیاز به نمونه برداری چند ساله داشته و باید کاملاً مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گیرد و جهت مثبت دانستن آلودگی یک نمونه در آزمون الیزا، نیاز به مقایسه میزان جذب آن با میزان جذب نمونه سالم می‌باشد (۵ و ۷)، و همچنین گاهی ممکن است واکنش‌های غیراختصاصی در صحت آزمون الیزا اثر داشته باشد که انجام دقیق آزمون و قرار دادن تکرارهای زیادتر ممکن است این نقص را جبران نماید، اما می‌توان گفت از آنجا که این ویروس به راحتی از طریق مکانیکی (تماس - وسایل کشاورزی - عصاره گیاه و غده) منتقل و در ایران نیز معمولاً از غدد برش داده شده جهت کاشت استفاده می‌شود (۹)، وجود چنین درصدی از آلودگی دور از انتظار نیست. از سویی دیگر، وارد کردن غده‌های بذری از دیگر استان‌های کشور و استفاده از غدد سال‌های قبل جهت کاشت، در افزایش آلودگی بی‌تأثیر

## سپاسگزاری

از دکتر روپرت برنز، دکتر کولین جفریز، دکتر سینگ، دکتر پل خورانا، دکتر کورسی، دکتر جونز، دکتر نوح شهرآیین، داریوش طیبی و سید مهدی مشهدی حسینی بخاطر همکاریهای علمی، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

نیست. بنابراین ماهیت انتقال، نقش موثری در افزایش آلودگی و آلوده نمودن تمام مناطق مورد بررسی، و احتمالاً تمام مناطق کشت سیب‌زمینی در ایران، به این ویروس دارد که لازم است مطالعات گسترده‌ای جهت جلوگیری از گسترش و انتشار این ویروس انجام گیرد تا از کاهش شدید محصول سیب‌زمینی، جلوگیری شود.

## منابع مورد استفاده

- 1- Beemster, A.B.R, and Rozendaal, A. 1972. Potato viruses : Properties and symptoms. pp. 115-143, In J.A. de Bokx(ed.). Viruses of potatoes and seed - potato production. PUDOC. Wageningen.
- 2- Bercks, R. 1970. Potato virus X.C.M.I./A.A.B. Descriptions of plant viruses. No. 4.
- 3- Bhardwaj, V.P, and Singh, S. 1975. Three new strains of potato virus X in India. Indian Phytopathology 28(2): 218-222.
- 4- Clark, M.F, and Bar. Joseph, M. 1984. Enzyme immunosorbent assay in plant virology. Methods Virol. 7: 51-85.
- 5- Eweida, M., Xu, H., Singh, R.P, and Abouhaidar, M.G. 1990. Comparison between ELISA and biotin - labelled probes cDNA of potato virus X for the detection of virus in crude tuber extracts. Plant Pathology 39 : 623-628.
- 6- Frances, C.M, and Stace - Smith, R. 1967. Eradication of potato virus X by thermotherapy. Phytopathology 57: 674-678.
- 7- Gillett, J.M., Morissey, S.M, and Ramsdell, D.C. 1986. Interpreting ELISA data and establishing the positive - negative threshold. Plant Dis. 70(8): 722-726.
- 8- Horvath, J. 1993. Host plants in diagnosis. pp. 15-48, In R.E.F. Matthews(ed.). Diagnosis of plant virus disease. CRC press.
- 9- Khurana, S.M.P. 1985. Potato viruses and virus - like disease : detection, diagnosis, identification and characterization. pp. 189-221, In B.M. Gupta, B.P.Singh, H.N. Verma and K.M. Srivastava(eds.). Prespectives in plant virology. Vol. 1. An International Annual Series. Print House(India).

- 10- Khurana, S.M.P. 1992. Potato viruses and viral diseases. Technical Bulletin. No. 35. ICAR. 23p.
- 11- Koeing, R. 1989. Potato virus X.C.M.I./A.A.B. Descriptions of plant viruses. No. 354(No. 4.Revised).
- 12- Moreira, A., Jones, R.A.C, and Fribourg, C.E. 1980. Properties of a resistance - breaking strain of potato virus X. *Annals of Applied Biology* 95:93-103.
- 13- Querci, M., Fernandez-Northcote, E.N., Bartolini, I., and Salazar, L.F. 1992. Detection of PVXA and PVXO serotypes by nucleic acid spot hybridization using a broad spectrum recombination probe. *Fitopatologia* 27(1): 38 - 44.
- 14- Querci, M., Vandervlugt, R., Golbach, R., and Salazar, L. F. 1993. RNA sequence of potato virus X strain HB. *J. Gen. Virol.* 74: 2251 - 2255.
- 15- Singh, R.P, and Somerville, T.H. 1992. Evaluation of the enzyme - amplified ELISA for the detection of potato virus A, M, S, X, Y and leafroll. *Am. Potato J.* 69: 21-30.
- 16- Singh, S. 1977. Hitherto unrecorded potato brown ringspot strain of potato virus X. *JIPA.* 4(2): 40-45.
- 17- Sinijarv, R., Jarvekulg, L., Andreeva, E., and Saarma, M. 1988. Detection of potato virus X by one incubation europium time - resolved flouoroimmunoassay and ELISA. *J. Gen. Virol.* 69: 991-998.