إنتقال فيروس إلتفاف أوراق البطاطا PLRV بالتغذية عبر الغشاء بواسطة حشرات من الدراق الأخضر *Myzus persicae*

ميادة حاج علي* **هدى قواص**** **ويوسف أبو أحمد*****

الملخص

يعد فيروس إلتفاف أوراق البطاطا *Potato leafroll virus* (*Luteovirus*; PLRV) من الفيروسات الهامة التي تصيب محصول البطاطا في مناطق زراعتها في سورية وينتقل بوساطة حشرات المن بالطريقة المثابرة. أمكن الحصول على مستحضر فيروسي منقى جزئياً لعزلة سورية محلية (SP 25–12) من فيروسPLRV* من نباتات بطاطا مصابة (صنف سبونتا) بمنطقة خان الشيح في محافظة ريف دمشق في عام 2012. تم نقل الفيروس حيوياً إلى النبات الدال *Physalis floridana* بوساطة حشرات منّ الدراق الأخضر *Myzus persicae* وتم إكثار النباتات المصابة منها خضرياً واستخدمت في تنقية الفيروس. تمت التنقية باستخدام محلول فوسفات الصوديوم المنظم تركيز 0.01 جزيئي، بعد ترويق المستخلص وترسيبه باستخدام مادة الجلايكول متعدد الإيثلين وبعد سلسلة من مراحل الطرد المركزي التفاضلي السرعة. أُجري إختبار نقل عدة تخفيفات من الفيروس المنقى جزئياً إلى نباتات *P. floridana* من خلال تغذية حوريات المن *M. persicae* عبر أغشية البارافيلم

* طالبة ماجستير في قسم وقاية النبات، كلية الهندسة الزراعية، جامعة دمشق، الجمهورية العربية السورية.
** أستاذ في قسم وقاية النبات، كلية الهندسة الزراعية، جامعة دمشق، الجمهورية العربية السورية.

*** باحث في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، دمشق، سورية.

المغطاة بطبقة رقيقة من محلول السكروز 20% الحاوي على الفيروس ثم نقل الحشرات إلى نباتات سليمة. أظهرت نتائج الإختبار المصلي نجاح حشرات المنّ في نقل الفيروس عبر أغشية البارافيلم وإحداث الإصابة على نباتات *P. floridana* من خلال ظهور أعراض الشحوب والإصفرار والشفافية بين العروق على الأوراق بعد 3إ لى 4 اسابيع من العدوى وتراوحت نسبة إنتقال الفيروس 26–70%. يعد هذا الإختبار الأول من نوعه حول نقل عزلة من سورية من فيروس التفاف أوراق البطاطا PLRV بوساطة *M. persicae* والتغذية عبر الغشاء.

الكلمات المفتاحية: فيروس التفاف أوراق البطاطا PLRV، تنقية جزئية، نقل حشري، *Myzus persicae*، أغشية البارافيلم، DAS–ELISA.

Potato leafroll virus (PLRV) transmission through membranes feeding by green peach aphid *Myzus persicae*

Mayadah Hajali* **H. Kawas**** **Y. Abu-Ahmad*****

ABSTRACT

Potato leafroll virus (genus *Polerovirus*,family *Luteoviridaae*, PLRV) is one of important viruses that infect potato crop in Syria and transmitted by aphids in a persistent manner. Partially purified viral preparation was obtained from local Syrian PLRV isolate (SP 25-12) from Sponta cultivar in potato fields in Khan-Alsheih in Damascus Countryside during survey 2012. The virus was semi-purified from infected or inoculated leaves of *Physalis floridana* by using sodium phosphate buffer 0.01 M and by clarifying extracts, precipitation of virus with polyethylene glycol (PEG) and differential centrifugation. The efficiency of virus transmission was also tested in an experiment by using several dilutions of partially-purified PLRV isolate and conducted by green peaches aphids *Myzus persicae* through parafilm membranes covered with a thin layer of sucrose solution 20%. Results of ELISA showed the success of aphids in transmitting the virus through membranes on *P. floridana*, and the infection was assessed through symptom expression of chlorosis and veins clearing on the leaves after 3-4 weeks of infection. The transmission rate of PLRV ranged 20 - 70%. This is the first test of local PLRV isolate and transmission of *M. persicae* virus through parafilm membranes.

Keywords: Potato leafroll virus, partial-purification, aphid transmission, Myzus persicae, parafilm membranes, DAS-ELISA.

* Master's Student, Faculty of Agriculture, Damascus University, Syria

** Prof. Dr., Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Damascus University, Syria.

*** Dr. General Commission for Scientific Agricultural Research (GCSAR), Damascus, Syria.

المقدمة:

يعد فيروس إلتفاف أوراق البطاطا *Potato leafroll virus* (*Luteovirus*; PLRV) من الفيروسات الهامة إقتصادياً التي تصيب محصول البطاطا (*Solanum tuberosum* L.) (Solanaceae)، ويتراوح الفقد في الإنتاج بين 33 و50% (Brunt،2001)، وتبلغ أعلى مستوياتها عندما تترافق الإصابة به مع الإصابة بفيروس PVX أو مع فيروس PVY مشكلاً معقداً فيروسياً. تظهر أعراض الإصابة على النبات بشكل شحوب واصفرار للأوراق القمية مع إلتفافها، وتتلون قمم النباتات باللون البنفسجي. يعد فيروس PLRV من الفيروسات المرتبطة باللحاء وينتقل بوساطة العديد من حشرات المنّ بالطريقة المثابرة (Harrison،1984، Kennedy وزملاؤه،1962). يعد منّ الدراق الأخضر *Myzus persicae* Sulzer (Homoptera:Aphididae) الأكثر كفاءة في نقل الفيروس ومنّ البطاطا *Macrosiphum euphorbiae* أقل كفاءة في نقل الفيروس (Beemster و De Bokx ، 1987، Djilani Khoudja وزملاؤه،2003، Hewings وزملاؤه، 1986، Gibbs و Harrison ، 1976).

نظراً لصعوبة تنقية فيروس PLRV نتيجة تركيزه المنخفض في النبات وارتباطه بجدر خلايا الأوعية اللحائية (Takanami و Kubo،1979، Kojima و Murayama، 1972)، وعدم توفر الدراسات المحلية حول قابلية العزلات المحلية في نقل فيروس PLRV بوساطة المجتمعات المحلية لحشرات المن وعبر أغشية البارافيلم، فقد اتجه هذا البحث نحو تنقية الفيروس جزئياً من عزلة سورية محلية وتحديد كفاءة نقلها بواسطة سلالة محلية من حشرات المنّ عبر أغشية البارافيلم ودراسة العلاقة بين كفاءة ونسبة إنتقال الفيروس وقيم الامتصاص الضوئي لإختبار إليزا في النباتات المعداة.

مواد البحث وطرائقه:

العزلة الفيروسية والإختبار المصلي:

استُخدمت عزلة محلية (SP 12–25) من فيروس إلتفاف أوراق البطاطا PLRV من نبات بطاطا (صنف سبونتا) مزروع في منطقة خان الشيح ربيع عام 2012 في محافظة ريف دمشق في سورية تبدي أعراض مميزة للإصابة الفيروسية وأعطت تفاعلا إيجابيا باستخدام إختبار إليزا (DAS–ELISA) وفق الطريقة المتبعة من قبل Clark وAdams (1977) في مختبرالفيروسات في قسم وقاية النبات في كلية الزراعة جامعة دمشق، ومختبرات الهيئة العامة للتقانة الحيوية بدمشق. تم المحافظة على العزلة الفيروسية من خلال سلسلة من الإعداءات الحيوية بواسطة حشرات منّ الدراق الأخضر *M. persicae* على نباتات بطاطا وعلى *P. floridana*.

تم التأكد من نقاوة العزلة الفيروسية باستخدام الفحص الروتيني لأهم الفيروسات التي تصيب البطاطا من خلال ستة أمصال مضادة متعدد النسيلة (Polyclonal) من شركة Bioreba وفق تعليمات الشركة: فيروس إلتفاف أوراق البطاطا PLRV وفيروس البطاطا إكس *Potato virus X* (PVX،جنس *Potexvirus*) وفيروس البطاطا ام *Potato virus M* (PVM، جنس *Carlavirus*) و فيروس البطاطا اس *Potato virus S* (PVS ، جنس *Carlavirus* فصيلة *Flexiviridae*) و فيروس البطاطا واي *Potato virus Y* (PVY، جنس *Potyvirus*) وفيروس البطاطا أ Potato virus A (PVA ، جنس *Potyvirus* فصيلة *Potyviridae*).

إكثار العزلة الفيروسية وحشرات المن:

تم الإكثار الخضري الدقيق لنباتات سليمة من *P. floridana* وتربيتها ضمن شروط النهار الطويل (8:16) عند درجة حرارة (22±3 °س) في مخبر زراعة الأنسجة في كلية الزراعة بدمشق، ثم تم إعداء النباتات بعمر الورقة الرابعة بطول 10سم بواسطة سلالة من حشرات منّ الدراق الأخضر *M. persicae* التي جمعت من شجرة دراق في

ربيع 2014، وربيت الأفراد البالغة غير المجنحة والحوريات بالعمر الرابع على نباتات سليمة من الملفوف (غير قابل للإصابة بفيروس PLRV) في ظروف إضاءة (8:16) عند درجة حرارة 22 سْ في المختبر. تُركت حوريات حشرات المن الحديثة السن لمدة 2–3 أيام لاكتساب العزلة الفيروسية المحلية SP25–12 من أوراق نباتات *P. floridana* المصابة (معداة حيويا سابقاً بالفيروس عن طريق حشرات المن *M. persicae* ضمن أقفاص بلاستيكية خاصة في الظروف المخبرية وتم التخلص من حشرات المن باستخدام مبيد متخصص. تم حصاد أوراق النباتات المصابة بعد 6 أسابيع من العدوى، وحُفظت عند درجة حرارة – 80 سْ لحين استخدامها في التنقية.

التنقية الجزئية لفيروس PLRV:

تمت عملية تنقية الفيروس وفق طريقة Arif وزملاؤه (1995) و Takanami و Kubo (1979) مع بعض التعديلات: أضيف لكل 1غ من المادة النباتية 3 مل من محلول الاستخلاص الفوسفاتي البوتاسي المنظم بتركيز 0.5 جزيئي ودرجة حموضة pH7.4 يحتوي 1% من مادة Triton X–100 وتركيز 0.01 جزيئي من مادة EDTA غ/ مل. طُحنت المادة النباتية في محلول الاستخلاص بدرجة 4 سْ، ثم حضنت مع التحريك لمدة ساعتين عند درجة حرارة المخبر 25 سْ. مُرر المستخلص من خلال أربع طبقات من الشاش، ثم قيس حجم الراشح الناتج. أضيف مزيج متجانس من الكلوروفورم: بوتانول (1:1) للراشح وبنسبة 10% مع التحريك لمدة 10 دقائق عند درجة حرارة المختبر. ثفل المستحلب الناتج بالطرد المركزي عند السرعة 6000 دورة/دقيقة لمدة 15 دقيقة عند درجة حرارة 4 سْ، ثم أضيف 1% من كلوريد الصوديوم إلى الرائق و8% الجلايكول متعدد الايتلين (PEG,6000)، مع التحريك لمدة ساعة عند درجة حرارة 4°س. ترك بعدها لمدة ساعة عند درجة حرارة 4 سْ، ثم ثفل عند سرعة 6000 د/د لمدة 15د عند درجة حرارة 4 سْ . أضيف إلى الراسب محلول فوسفاتي منظم بتركيز 0.5 جزيئي ودرجة حموضة pH7.4 يحتوي على مادة اليوريا

بتركيز 0.75 جزيئي مع التحريك طوال الليل عند درجة حرارة 4 سْ. ثقل المزيج بعدها عند سرعة 8000 د/د لمدة 10 د عند درجة حرارة 4 سْ، وثقل الرائق عند سرعة 28000د/د لمدة 2 ساعة عند درجة حرارة 4 سْ باستخدام جهاز الطرد المركزي فائق السرعة، ثم تم تعليق الراسب الحاوي على الفيروس في 1 مل من محلول فوسفاتي منظم تركيزه 0.05 جزيئي عند درجة حموضة ph7.4.

بهدف التأكد من وجود الفيروس في المحضر الفيروسي المنقى جزئياً، وإختبار قابليته للتفاعل مع المصل المضاد التشخيصي المتخصص، تم إختبار ثلاثة تخافيف للمحضر الفيروسي المنقى جزئياً (1:0، 1:2 ، 1:10) ومقارنتها مع مستخلص عصارة النبات المصاب الذي تم تنقية الفيروس منه وفق إختبار إليزا DAS–ELISA.

تجربة النقل الحيوي لفيروس PLRV :

أجريت تجربة نقل الفيروس حيوياً بتغذية الحوريات الحديثة السن من حشرات منّ الدراق الأخضر *M. persicae* لمدة 24 ساعة على مادة الفيروس المنقى جزئياً عبر غشاء البارافيلم تحت ظروف المخبر قبل نقلها إلى نباتات سليمة من *Physalis floridana* وفق طريقة Leiser وزملاؤه (1992)، تم استخدام تخفيفان من المستحضر الفيروسي: 1/ 2 و 10/1، مُزجت كل واحدة منها في محلول منظم سكري 20% درجة الحموضة pH7 وفق الطريقة الموصوفة من قبل Bahner وزملاؤه (1990)، ثم وضعت قطرة من المزيج الحاوي على الفيروس ضمن أغشية مزدوجة من البارافيلم مشدودة إلى أطباق بتري وفق طريقة van den Heuvel وزملاؤه (1991). وضعت في كل طبق 10–15 فرد من *M. persicae* بعد تجويعها لمدة ساعة وتركت الحشرات ضمن أقفاص لمدة 48 ساعة لاكتساب الفيروس، ثم نقلت حشرات المن إلى نباتات *P. floridana* سليمة بمعدل 5–8 حشره لكل نبات (10 نباتات لكل تركيز) ، بينما غذيت حشرات المن في الشاهد السلبي فقط على المحلول السكري المنظم. نُقلت الحشرات إلى النباتات السليمة *P. floridana* وتُركت لمدة ثلاثة أيام لنقل الفيروس وإحداث العدوى. تم التخلص من حشرات المن باستخدام مبيد حشري متخصص في نهاية اليوم الخامس من التجربة.

تقييم النقل الحشري:

تم تقييم العدوى بالفيروس من خلال ظهور أعراض الإصابة بعد مرور ثلاثة أسابيع بعد العدوى وتم تأكيد النتائج من خلال إختبار إليزا DAS–ELISA وفق طريقة Clark و Adams (1977) في الأسبوع الخامس بعد العدوى. أُعتبر النباتات المختبرة مصابة بالفيروس عندما تكون قيم الامتصاص الضوئي لكل حفرة في طبق الإليزا عند طول موجة 405 نانومتر أعلى من ضعف متوسط القيم نبات *P. floridana* الشاهد السليم.

النتائج والمناقشة:

تنقية الفيروس:

أظهرت الطريقة المستخدمة في التنقية نتائج جيدة في إمكانية الحصول على فيروس PLRV منقى جزئيا من العزلة المحلية المدروسة SP25–12 بدءاً من نباتات *P. floridana* مصابة بالفيروس من خلال سلسلة من مراحل الترويق وعمليات الطرد المركزي المنخفض والمتوسط السرعة والترسيب بمادة الجليكول متعدد الاتيلين PEG ثم التثفيل على السرعة العالية بوجود محلول الفوسفات المنظم ووسادة السكر 20%، ونتائج التفاعل الإيجابي للمستحضر الفيروسي المنقى جزئيا وبتخفيفاته الثلاث مع المصل المضاد التشخيصي المتخصص لفيروس PLRV وفق إختبار إليزا بالمقارنة مع مستخلص عصارة أوراق النبات المصاب الذي تم تنقية الفيروس موضح بالجدول (1)، حيث بلغ متوسط قيم الامتصاص الضوئي OD عند طول موجه 405 نانومتر للفيروس المنقى جزئياً إلى 1.88 وعند التخفيفات 10^{-1} ، 10^{-2} و 10^{-3} بلغ متوسط قيم OD 1.46، 0.99 و 0.68 على الترتيب في حين تراوح المتوسط لقيم OD لشاهد النبات السليم 0.03 حيث يبين التركيز الجيد للفيروس في المستحضر المنقى جزئياً مقارنة مع عصارة النبات الخام الذي استخدم فيما بعد بنجاح في التغذية عبر غشاء البارافيلم. تم الاستغناء في هذه الطريقة عن مرحلة التثفيل العالي السرعة في عمود السكروز المتدرج الكثافة.

في هذه التجربة، مع عدم استخدام أي أنزيم مساعد لتحرير جسيمات الفيروس من خلايا اللحاء وزيادة كمية الفيروس المتحصل عليه في التنقية كما في طريقة Takanami و Kubo (1979) فقد أبدت إمكانية الحصول على كمية مقبولة من الفيروس بدون استخدام عمود السكروز المتدرج الكثافة وفق الإمكانيات المتاحة.

الجدول(1). قيم الامتصاص الضوئي في إختبار إليزا لعزلة PLRV محلية منقاة جزئيا بالمقارنة مع عصارة النبات المصاب.

	التخافيف			
	الخام	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
الفيروس المنقى جزئياً	1.88	1.46	0.99	0.68
عصارة النبات المصاب	1.79	1.01	0.88	0.56
نبات سليم	0.034	0.031	0.029	0.029

(*) قيم اليزا بعد فترة تحضين ساعتين، بمتوسط 4 مكررات لكل تركيز ولكل مستحضر.

نقل الفيروس باستخدام أغشية البارافيلم بوساطة *M. persicae* :

يعد نبات *P. floridana* أفضل النباتات الدالة المستخدمة في الكشف الحيوي عن وجود فيروس PLRV عن طريق من الدراق الأخضر *M. persicae* (de Boxy وزملاؤه،1987). أمكن نقل العزلة المحلية لفيروس PLRV بنجاح بواسطة حشرات من الدراق الأخضر *M. persicae* عبر أغشية البارافليم. وترافقت بداية أعراض الإصابة مع ظهور الإصفرار والشفافية بين العروق على والتفاف الأوراق وأعراض تقزم النمو على نباتات *P. floridana* المعداة بعد مرور 3–4 أسابيع من عملية النقل، بينما بقي الشاهد السلبي المعدى بحشرات المنّ غير المغذاة على المحضر الفيروسي سليماً وبدون أية أعراض تدل على الإصابة. وبلغت نسبة الإنتقال 70% عند تخفيف المستحضر الفيروسي للنصف (1:2) أما عند استخدام المستحضر بدون تخفيف أو المخفف لعشر مرات (1:10) فقد إنخفضت نسبة الإنتقال إلى 20 و 30% على الترتيب (الجدول 2).

وبينت نتائج الإختبار المصلي DAS–ELISA للنباتات المعداة عدم وجود علاقة بين النسبة المئوية للانتقال الفيروسي وبين كمية وتركيز الفيروس حيث أن أفضل نسبة

لنقل الفيروس كانت عندما خفف المستحضر بنسبة 1:2، بينما لم تختلف النسبة بشكل كبير بين التخفيف عشر مرات أو المستحضر بدون تخفيف، وتعد نتائج هذه الدراسة متوافقة مع نتائج دراسات كل من Tamada وزملاؤه (1984) و Djilani Khouadja وزملاؤه (2004) التي بينت أن إنخفاض نسبة نقل العزلة التونسية PLRV–15 لم تكن بسبب إنخفاض تركيز PLRV بالنباتات المصابة، كما أن إنتقال الفيروس عن طريق حشرات المن تحت الظروف المخبرية الموحدة قد تعكس التذبذب في تركيزه (Syller،1987)، ومن جانب آخر إختلفت النتائج عن دراسة Harrison و Barker (1986) التي أوضحت وجود إرتباط بين كفاءة النقل الحشري للفيروس وبين تركيزه، ويمكن في المنظور المستقبلي من خلال دراسات إضافية باستخدام تقنيات أكثر دقة وحساسية أن نصل إلى الكفاءة الحقيقة لإنتقال عزلات فيروسية مختلفة عبر أنواع مختلفة من حشرات المن وعلى أصناف مختلفة من البطاطا متباينة بدرجة حساسيتها لفيروس إلتفاف أوراق البطاطا.

الجدول (2). نسبة انتقال العزلة السورية SP25–12 لفيروسPLRV بوساطة من الدراق الأخضر *M. persicae* عبر أغشية البارافيلم.

التخفيف	عدد النباتات المصابة/ العدد الكلي	الأعراض
1:0	2/10	شحوب
1:2	7/10	شحوب، إلتفاف أوراق، تقزم نباتات
1:10	3/10	شحوب، شفافية عروق، تقزم نباتات
شاهد سلبي	0/10	لا يوجد

يعد هذا الإختبار الأول من نوعه حول قابلية انتقال عزلة فيروسية محلية منقاة جزئيا من فيروس إلتفاف أوراق البطاطا PLRV بوساطة *M. persicae* عبر أغشية البارافيلم المزدوجة مع قدرتها على إحداث الإصابة في نباتات *P. floridana* السليمة تحت الظروف المخبرية.

المراجع:

- **Arif, M.; S.M. Mughal; S. Khalid and S. Hassan. (1995).** Some biological physical and serological properties of potato leafroll virus (PLRV) in Pakistan. Pak. J. Bot. 27(1): 233-241.
- **Bahner, I.; J. Lamb; M. A. Mayo and R. T. Hay. (1990).** Expression of the genome of potato leafroll virus: readthrough of the coat protein termination codon in vivo. Journal of General Virology. 71:2251-2256.
- **Beemster, A. B. R. and J. A. De Bokx. (1987).** Survey of properties and symptoms. Pages 84-113. In: Viruses of potatoes and seed-potato production. J.A. De Bokx and J.P.H. van der Want (eds.). Wageningen, Netherlands: PUDOC.
- **Brunt, A. A. (2001).** The Main Viruses Infecting Potato Crops. In " Virus and virus-like diseases of potatoes and production of seed-potatoes" G. Lobenstein, P. H. Berger, A. A. Brunt, and R. H. Lawon, eds., Pp. 65 -134.
- **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 of General Virology. 34:475-483.
- **de Boxy J.A. and J.P.H. van der Want. eds. (1987).** Viruses of Potatoes and Seed-potato Production. Pudoc Wageningen. 2ed ed.Pp.259
- **Djlani Khoudja, F.; S. Guyader; F. Gorsane; N. Khamassy; J. Rouzé; M. Marrakchi and H. Fakhfakh. (2003).** Diagnosis and Molecular analysis of potato leafroll virus isolates in Tunisia. OEPP/EPPO Bulletin. 33: 361-368.
- **Gibbs, A.J. and B.D. Harrison. (1976).** Physical and chemical methods of assay and analysis. In Plant Virology: The Principles, pp. 110-128. London: Edward Arnold Ltd.
- **Harrison, B.D.(1984).** Potato leafroll virus. Commonwealth Mycological Institute/Association of Applied Biologists (CMI/AAB) Descriptions of plant viruses, 291.
- **Hewings, A.D.; V.D. Damsteegt and S. A. Tolin. (1986).** Purification and some properties of two strains of soybean dwarf virus. Phytopathology. 76: 759-763.
- **Kennedy, J.S.; M.F. Day and V.F. Eastop. (1962).** A Conspectus of Aphids as Vectors of Plant Viruses. Wallingford, UK: CAB International.

- **Kojima, M. and D. Murayama. (1972).** The application of polyethylene glycol precipitation for purification of potato leaf-roll virus. Annals of the Phytopathological Society of Japan 38: 431-433.
- **Leiser, R.M.; V. Ziegler-Graff; A. Reutenauer, ; E. Herrbach; O. Lemaire; H. Guilley; K. Richards and G. Jonard. (1992).** Agroinfection as an alternative to insects for infecting plants with beet western yellows luteovirus. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA. 89:9136-9140.
- **Rouze-Jouan J.; L. Terradot; F. Pasquer; S. Tanguy and D. Giblot Ducray-Bourdin. (2001).** The passage of Potato leafroll virus through Myzus persicae gut membrane regulates transmission efficiency. Journal of General Virology. 82, 17–23.
- **Syller, J. (1987).** The influence of temperature on transmission of potato leaf roll virus by Myzus persicae Sulz. Potato Research. 30: 47-58.
- **Takanami, Y. and S. Kubo. (1979).** Enzyme-assisted purification of two phloem-limited plant viruses: tobacco necrotic dwarf and potato leafroll. Ann. Appl. Biol. 44: 153-159.
- **Tamada, T.; B. d. Harrison and I.M. Roberts. (1984).** Variation among British isolates of potato leafroll virus. Annals of Applied Biology. 104(1): 107-116.
- **Van den Heuvel, J. F. J. M.; T. M. Boerma and D. Peters. (1991).** Transmission of potato leafroll virus from plants and artificial diets byMyzus persicae. Phytopathology. 81: 150–154.