DOI: http://dx.doi.org/10.22092/jsb.2015.6942

ردیابی ویروس زردی نکروتیک رگبرگ چغندرقند در برخی از علف‌های هرز رایج در مزارع چغندرقند استان فارس

Detection of *Beet Necrotic Yellow Vein Virus* (BNYVV) in some common weeds of sugar beet fields in Fars province

سعید دارابی*[1]، محمد جمالی[1]،محسن بذرافشان[1] و سیدباقر محمودی[2]

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۲/۲۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۴/۳

س. دارابی، م. جمالی، م. بذرافشان و س.ب. محمودی. ۱۳۹۳. ردیابی ویروس زردی نکروتیک رگبرگ چغندرقند در برخی از علف‌های هرز رایج در مزارع چغندرقند استان فارس. **چغندرقند، ۳۰(۲): ۱۵۵- ۱۴۱**

چکیده

بیماری ریزومانیا (Rhizomania) در حال حاضر یکی از مهم‌ترین بیماری‌های چغندرقند در دنیا است. در تحقیق حاضر آلودگی تعدادی از علف‌های هرز مهم مزارع چغندرقند در شرایط آلودگی طبیعی به ویروس عامل بیماری *Beet necrotic yellow vein virus*, BNYVV) در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس بررسی شد. بدین منظور ریشه علف‌های هرز موجود در مزارع چغندرقند آلوده به بیماری ریزومانیا جمع‌آوری و برای ردیابی BNYVV در آنها از آزمون الایزا استفاده شد. نتایج نشان داد در بین علف‌های هرز مورد بررسی، بیشترین آلودگی به ویروس عامل بیماری مربوط به چغندروحشی *Beta vulgaris* subsp. *maritima* بود و BNYVV در سایر علف‌های هرز مورد بررسی شامل تاج‌خروس (*Amaranthus retroflexus*)، خرفه (*Portulaca oleracea*)، سلمک (*Chenopodium album*)، تاجریزی(*Solanum nigrum*)، پیچک صحرایی (*Convolvulus arvensis*)، کنف‌وحشی (*Hibiscus trionum*) و آفتاب‌پرست (*Heliotropium europaeum*) ردیابی نشد. گیاهچه‌های *B.maritima* در خاک آلوده به ریزومانیا در گلخانه کشت شدند و حدود دو ماه پس از کاشت، علائم برگی بیماری شامل موزائیک سیستمیک، زردی رگبرگ، تشکیل برگ‌های کوچک و ریز به صورت مجتمع (رزت) و توقف رشد شدید را نشان دادند. انتقال مکانیکی BNYVV در شرایط گلخانه نیز علائم برگی بیماری در گیاهچه‌های *B. maritima* را نشان داد. در انتقال مکانیکی BNYVV از عصاره برگ آلوده *B. maritima* به گیاهچه‌های سه رقم چغندرقند حساس به بیماری ریزومانیا (IC، PP8 و۷۲۳۳)، علائم لکه‌های موضعی زرد رنگ و سپس نکروز تشکیل گردید. در اندازه‌گیری مقدار ویروس در ریشه *B. maritima* در مقایسه با ریشه سه رقم چغندرقند یاد شده، مشخص شد غلظت ویروس در ریشه چغندر وحشی به‌طور معنی‌دار (در سطح احتمال ۰/۰۵) بیشتر از سایر ارقام است. نتیجه این بررسی اولین گزارش معرفی *B. maritima* به‌عنوان میزبان سیستمیک و آزمایشی برای ردیابی BNYVV در ایران است. این جمعیت (*B.maritima* accession number 8901) برخلاف سایر علف‌های هرز در مناطق آلوده به ریزومانیا دارای توان افزایش زادمایه بیماری در خاک می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: *Beta maritima*، ریزومانیا، علف‌هرز، مایه‌زنی مکانیکی، ELISA

۱- مربی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی فارس- شیراز * - نویسنده مسئول saeed.darabi@yahoo.com

۲- دانشیار مؤسسه تحقیقات چغندر قند- کرج

مقدمه

بیماری ریزومانیا (Rhizomania) در حال حاضر یکی از مهم‌ترین بیماری‌های چغندرقند در دنیا است (McGrann *et al*. 2009; Rush *et al.* 2006). عامل این بیماری *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV) می‌باشد (Tamada 1975; Tamada and Baba 1973). این ویروس در حال حاضر متعلق به جنس *Benyvirus* است (Rush 2003). این بیماری در ایران اولین بار در سال ۱۳۷۵ از فارس گزارش شد (Izadpanah *et al*. 1996). سپس وجود آن در اکثر نواحی چغندرکاری کشور به اثبات رسید (Darabi *et al.* 2003; Mehrvar *et al.* 2009). میزان خسارت بیماری به ژنوتیپ چغندرقند، پاتوتیپ ویروس، میزان زادمایه (Inoculum) بیماری، برهمکنش BNYVV با سایر بیمارگرها، زمان آلودگی و شرایط اقلیمی بستگی دارد (McGrann *et al.* 2009; Rush *et al*. 2006; Scholten and Lange 2000; Stevens and Asher 2005). در آلودگی‌های شدید بر روی رقم حساس، عملکرد شکر بین ۵۰ تا ۶۰ و در مواردی تا ۹۰ درصد کاهش می‌یابد (Asher 1993; Henry 1996; Johansson 1985). دامنه میزبانی طبیعی ویروس عمدتاً به گونه‌های جنس *Beta* محدود است و چغندرقند تنها میزبان مهم و اقتصادی ویروس محسوب می‌شود. اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) و بعضی گونه‌های *Chenopodium* از جمله *C. polyspermum* L.، *C. murale* L. و *C. capitatum* (L.) Asch. نیز توسط ویروس مبتلا می‌شوند (Abe and Tamada 1986; Hugo *et al*. 1996). در حال حاضر تنها ناقل شناخته شده BNYVV در طبیعت شبه‌قارچ *Polymyxa betae* Keskin است. این شبه-قارچ پارازیت اجباری ریشه چغندرقند است و در چرخه زندگی خود زئوسپور و اسپور مقاوم تولید می‌کند (Barr and Asher 1996; Keskin 1964). دامنه میزبانی *P. betae* نسبتاً محدود بوده و به‌طور عمده منحصر به خانواده‌های *Chenopodiaceae*، *Amaranthaceae*، *Caryophyllaceae* و *Portulacaceae* است. هم‌چنین جمعیت‌های *P. betae* در یک مزرعه نایکنواخت (heterogeneous) بوده و تنوع زیادی در تختصیص میزبانی دارند، به‌طوریکه *P. betae* جدا شده از یک گونه گیاهی مشخص ممکن است سایر گیاهان حساس در دیگر خانواده‌های گیاهی و یا حتی سایر گیاهان مربوط به همان خانواده را آلوده نکند (Abe and Tamada 1986; Barr and Asher 1992). بار و اشر (Barr and Asher 1992) در بریتانیا سه بیوتیپ *P. betae* را تشخیص دادند. بیوتیپ اول دامنه وسیعی از گونه‌های *Chenopodium* را آلوده می‌کند، بیوتیپ دوم دامنه میزبانی محدود دارد و چغندرقند را آلوده می‌کند و بیوتیپ سوم فقط کوزه قلیانی (*Silene alba* L.) را آلوده می‌کند. هم‌چنین برخی اشکال تخصص‌یافته *P. graminis* Ledingham که به طور معمول غلات را آلوده می‌کنند، چغندرقند را نیز مبتلا می‌سازند ولی معلوم نیست که قادر به انتقال BNYVV نیز باشند (Rush 2003). شدت بیماری ریزومانیا به‌طور مستقیم بستگی به مقدار (غلظت) ویروس در گیاهان آلوده دارد و مقدار ویروس در گیاهان آلوده نیز بستگی زیاد به مقدار زادمایه بیماری (اسپورهای مقاوم قارچ دارای ویروس) در خاک دارد (Asher *et al*. 2002; Buttner *et al.* 1995; Giunchedi *et al*. 1987). بنابراین هر چه مقدار زادمایه بیماری بیشتر باشد، شدت بیماری و به دنبال آن میزان خسارت وارده افزایش خواهد یافت. ازجمله مهم‌ترین عواملی که باعث افزایش چشمگیر میزان زادمایه بیماری در خاک می‌شود، وجود میزبان حساس برای BNYVV است (Buttner *et al.* 1995; Hugo *et al*. 1996; Tuitert *et al*. 1994). پژوهش‌های

متعددی برای تعیین نقش علف‌های هرز و میزبان‌های ثانوی در انتقال BNYVV و انتشار بیماری در مناطق آلوده دنیا انجام شده است. در ژاپن BNYVV فقط در اسپورهای مقاوم *P. betae* که در چغندرقند، اسفناج، *Chenopodium murale* و *C. capitatum* تشکیل شده بودند، ردیابی شد. بنابراین علف‌های هرز مزارع در ذخیره سازی ویروس و انتشار بیماری نقشی نداشتند (Abe and Ui 1986). در آلمان نیز علف‌های هرز از مزارع آلوده به ریزومانیا جمع‌آوری شده و آلودگی آن‌ها به BNYVV مورد بررسی قرار گرفته است. در این آزمایش‌ها، هیچکدام از گیاهان مورد بررسی از جمله گونه‌های *Chenopodium*، غلظت قابل توجهی از ویروس را نداشتند (Hess *et al*. 1982). در این کشور و نیز در آمریکا با وجودی‌که بعضی از گیاهان از جمله *Gomphrena globosa* L. به عنوان میزبان ویروس شناخته شده‌اند، ولی غلظت ویروس در این گیاه نسبت به چغندرقند بسیار پائین بوده است (Al Musa and Mink 1981). در ترکیه در بین گیاهان مورد بررسی برخی از جمله کاسنی (*Cichorium intybus* L.)، بارهنگ (*Plantago major* L.) ، علف هفت‌بند (*Polygonum aviculare* L.)، تاتوره (*Datura stramonium* L.)، تاجریزی(*Solanum nigrum* L.) و آفتاب پرست به BNYVV آلوده بودند(Yanar *et al*. 2006). در انگلستان نیز در بین علف‌های هرز مورد بررسی فقط گونه *C. polyspermum* به عنوان میزبان BNYVV شناخته شده است (Hugo *et al*. 1996). به طورکلی بسیاری از علف‌های هرز مورد بررسی در نقاط مختلف دنیا ازجمله علف‌های هرز مهم چغندرقند (اکثر گونه‌های *Chenopodium*، تاج‌خروس، خرفه، پیچک) به‌طور طبیعی به ویروس آلوده نبوده و بعضی دیگر مانند تاجریزی با وجود آلودگی به BNYVV غلظت قابل توجهی از ویروس را نداشته‌اند (Hugo *et al*. 1996; Mouhanna *et al*. 2008; Yanar *et al*. 2006). در تحقیق حاضر نیز در بین علف‌های هرز مورد بررسی (به استثنای *B. maritima*) آلودگی به BNYVV دیده نشد. بنابراین شناسایی و سپس مبارزه با میزبان‌های طبیعی ویروس که بتوانند به‌صورت منبع آلودگی عمل کرده و باعث افزایش زادمایه بیماری شوند، ضروری می‌باشد. در تحقیق حاضر حساسیت تعدادی از علف‌های هرز مهم مزارع چغندرقند در شرایط آلودگی طبیعی به BNYVV به منظور شناسایی‌آن‌ها به عنوان میزبان ثانوی بیماری بررسی شده است. هم‌چنین حساسیت چغندر وحشی *Beta vulgaris* subsp. *maritima* L. Arcang نیز نسبت به بیماری ریزومانیا مورد ارزیابی قرار گرفته است. این گیاه در دنیا از نظر حساسیت نسبت به بیماری ریزومانیا تنوع زیادی دارد و در بعضی از جمعیت‌های آن منابع مقاومت به بیماری ریزومانیا یافت شده است (Biancardi *et al*. 2002; Geyl *et al*. 1995) از این منابع به طور وسیع در برنامه‌های به‌نژادی چغندرقند برای تولید ارقام مقاوم چغندرقند به این بیماری استفاده شده است. این گیاه در بعضی از مناطق ایران گسترش دارد و در این مناطق به‌عنوان علف‌هرز (چغندرهرز) شناخته می‌شود (Mir Kamali 1999).

مواد و روش‌ها

علف‌های هرز مورد بررسی عبارت از تاج خروس، خرفه، سلمک (*Chenopodium album* L.)، تاجریزی (*Solanum nigrum* L.)، پیچک‌صحرایی (*Convolvulus arvensis* L.)، کنف‌وحشی (*Hibiscus trionum* L.) و آفتاب‌پرست (*Heliotropium europaeum* L.) بودند. این علف‌های هرز از مزارع تحقیقاتی چغندرقند آلوده به بیماری ریزومانیا در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس (زرقان) جمع‌آوری شدند. در این مزارع به دلیل کشت

متوالی چغندرقند برای غربال ژنوتیپ‌های مقاوم به بیماری، علاوه‌بر افزایش شدید زادمایه بیماری ریزومانیا، تراکم علف‌های هرز نیز بسیار بالا بود. جمع‌آوری ریشه علف‌های هرز در خاک مرطوبت انجام شد. از هر گونه علف‌هرز بین ۲۵–۲۰ گیاهچه ارزیابی شد. همراه با برداشت هر ریشه انتخابی علف‌های هرز، ریشه چغندرقند مجاور آن نیز به عنوان شاهد مثبت برداشت و مورد آزمون الیزا قرار گرفت. هم‌چنین در این تحقیق، ریشه علف‌های هرز مورد بررسی از مزرعه چغندرقند عاری از بیماری ریزومانیا جهت مقایسه با ریشه‌های جمع‌آوری شده از مزرعه آلوده به عنوان شاهد منفی جمع‌آوری شد. بذر علف‌هرز *B. maritima* از مزارع چغندرقند سالم (عاری از بیماری ریزومانیا) واقع در روستای مربویه شهرستان داراب (۲۰ کیلومتری شمال غرب این شهرستان) جمع‌آوری شد.

ردیابی BNYVV در نمونه‌های مورد بررسی

به منظور ردیابی BNYVV در نمونه‌های مورد بررسی و نیز تعیین نمونه‌های عاری از بیماری، آزمون الایزا به روش ساندویچ دو طرفه(DAS- ELISA)، با بافرها و مشخصات ارائه شده توسط کلارک و بارجوزف (Clark and Bar-Joseph 1984) انجام شد. آنتی‌سرم مورد استفاده در این تحقیق مربوط به جدایه ایرانی ویروس بود (Darabi *et al*. 2010). مراحل مختلف این آزمون به روش معمول انجام شد و در نهایت مقادیر جذب در ۴۰۵ نانومتر پس از ۳۰ دقیقه اندازه‌گیری شد. برای آماده‌سازی نمونه‌های ریشه، پس از شستشو و خشک کردن ریشه‌ها، از هر ریشه میزان ۰/۲ گرم بافت ریشه‌های فرعی یا انتهای دم ریشه، توزین و در ۱/۵ میلی‌لیتر بافر نمونه عصاره‌گیری شد. برای تهیه نمونه‌های برگی نیز از هر نمونه ۰/۲ گرم بافت دارای علائم بیماری (آلوده به BNYVV) انتخاب و در همان میزان بافر عصاره‌گیری شد. در هر پلیت الایزا تعداد شش چاهک به عنوان شاهد منفی (عصاره‌های ریشه چغندرقند و ریشه علف‌های هرز سالم) تعداد هشت چاهک نیز به‌عنوان شاهد مثبت (عصاره برگ *Chenopodium quinoa* Willd آلوده به BNYVV و عصاره ریشه چغندرقند آلوده به ریزومانیا) در نظر گرفته شد. مقادیر جذب بیشتر از سه برابر متوسط جذب عصاره ریشه سالم به عنوان نمونه‌های مثبت (آلوده به BNYVV) تعیین شد (Wisler *et al*. 2003).

بررسی واکنش علف هرز *B. maritima* به ریزومانیا در شرایط گلخانه و مزرعه

به منظور بررسی واکنش *B. maritima* به BNYVV، بذرهای این گیاه در خاک آلوده به ریزومانیا در گلخانه کشت گردید. خاک آلوده به بیماری از ترکیب یک سوم خاک مزرعه آلوده به ریزومانیا، یک سوم خاک سالم و یک سوم مخلوط خاک برگ و ماسه تهیه شد. گیاهان در شرایط دمایی ۳۰–۲۰ درجه سامتی‌گراد در گلخانه نگه‌داری شدند. پنج تا شش هفته بعد از کشت، ریشه ۵۰ گیاهچه *B. maritima* با آزمون الیزا بررسی شدند. علاوه بر آن بذرهای این گیاه در مزرعه آلوده به ریزومانیا در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی فارس (زرقان) کشت شدند. چهار تا پنج هفته بعداز کشت، ریشه‌های ۴۰ گیاهچه حاصل برداشت شد و با آزمون الیزا مورد بررسی قرار گرفت.

مایه‌زنی‌های مکانیکی

در تحقیق حاضر امکان انتقال مکانیکی BNYVV روی *B. maritima* و حساسیت این گیاه نسبت به این آلودگی بررسی شد. بدین منظور بذرهای *B. maritima* در خاک سالم در گلخانه کشت شد. شش هفته بعد از کشت آن در خاک سالم

در گلخانه، گیاهچه‌های حاصل در مرحله چهار تا هفت برگی توسط سه زادمایه مختلف ویروس مایه‌زنی شدند. این زادمایه‌ها شامل عصاره برگ چغندرقند آلوده به BNYVV با علائم زردی و نکروز رگبرگ، عصاره برگ *C. quinoa* مبتلا به BNYVV با علائم لکه موضعی و زردی رگبرگ و عصاره ریشه چغندرقند (رقم حساس IC) آلوده به بیماری ریزومانیا بودند. هر زادمایه ویروس بر روی۴۰-۳۰ گیاهچه سالم *B. maritima* مایه‌زنی شد. همچنین واکنش سه رقم چغندرقند در انتقال مکانیکی ویروس از *B. maritima* آلوده بررسی شد. بدین منظور گیاهچه‌های سه رقم چغندرقند حساس به بیماری ریزومانیا (IC، PP8 و۷۲۳۳) در مرحله شش تا هشت برگی توسط عصاره برگ *B. maritima* آلوده به BNYVV مایه‌زنی مکانیکی شدند. علاوه‌بر آن عصاره برگ آلوده *B. maritima* بر روی گیاهچه‌های سالم *C. quinoa* نیز مایه‌زنی شد. برای انجام مایه‌زنی مقدار یک گرم از بافت منبع ویروس در شش تا هفت میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار، اسیدیته ۷/۱ در هاون خرد و عصاره بر روی برگ گیاهچه‌های مورد نظر که با پودر کاربوراندوم گردپاشی شده بودند، مایه‌زنی مکانیکی شد. گیاهان مایه‌زنی شده، در شرایط گلخانه و دمای ۳۰-۲۱ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند.

مقایسه مقدار ویروس در ریشه *B. maritima* با سه رقم حساس چغندرقند

بدین منظور بذرهای سه رقم چغندرقند حساس به ریزومانیا (IC، PP8 و۷۲۳۳)، بذر *B. maritima* و نیز بذر یک رقم چغندرقند تجاری مقاوم به ریزومانیا (Dorothea) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار در خاک آلوده به ریزومانیا که به صورت یکنواخت تهیه شده بود، در گلخانه کشت شدند. برای هر رقم (تیمار) در هر تکرار چهار گلدان حاوی سه تا چهار گیاهچه در نظر گرفته شد. هشت هفته بعد از کشت، از هر واحد آزمایشی بین شش تا هشت گیاهچه برداشت شد. سپس از هر گیاهچه میزان ۰/۲ گرم بافت انتهای دم ریشه، توزین و در ۱/۵ میلی لیتر بافر نمونه عصاره‌گیری شد. با انجام آزمون الیزا مقدار ویروس در هر ریشه (تک ریشه) اندازه گیری‌شد. تجزیه واریانس داده‌های حاصل از مقادیر جذب در آزمون الیزا با استفاده از نرم افزار SAS انجام و برای مقایسه میانگین‌ها نیز از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد.

نتایج:

بررسی آلودگی ریشه علف‌های هرز به BNYVV با استفاده از آزمون الایزا نشان داد که هیچ کدام از آن‌ها به BNYVV آلوده نبودند. متوسط مقدار جذب مربوط به ریشه علف‌های هرز جمع‌آوری شده از مزرعه آلوده به ریزومانیا در جدول یک نشان داده شده است. همچنین در این آزمون اختلافی بین مقادیر جذب ریشه علف‌های هرز سالم (عاری از بیماری ریزومانیا) و ریشه علف‌های هرز برداشت شده از خاک آلوده به عامل بیماری دیده نشد. در عوض بوته‌های چغندرقند مجاور ریشه علف‌های هرز مزارع آلوده، آلودگی بالا به BNYVV را نشان دادند. در این تحقیق متوسط مقدار جذب ریشه‌های *B. maritima* که در مزرعه آلوده به ریزومانیا در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی فارس (زرقان) کشت شده بودند نیز بالا (۰/۷۴۷) بود (جدول۱).

جدول ۱نتایج مقدار جذب در آزمون الایزا برای ردیابی BNYVV در ریشه علف‌های هرز بررسی شده

خانواده	نام علمی	میانگین جذب*
Amaranthaceae	*Amaranthus retroflexus*	۰/۰۰۹
Portulaceae	*Portulaca oleracea*	۰/۰۱۶
Solanaceae	*Solanum nigrum*	۰/۰۱۱
Convolvulaceae	*Convolvulus arvensis*	۰/۰۰۷
Malvaceae	*Hibiscus trionum*	۰/۰۱۲
Boraginaceae	*Heliotropium europaeum*	۰/۰۱۷
Chenopodiaceae	*Chenopodium album*	۰/۰۰۳
Chenopodiaceae	*Beta maritima*[1]	۰/۷۴۷
Chenopodiaceae	*Beta maritima*[2]	۰/۸۱۲
Chenopodiaceae	*Beta maritima*[3]	۰/۸۸۶
Chenopodiaceae	*Beta vulgaris*[4]	۰/۶۱۸
Chenopodiaceae	*Beta vulgaris*[5]	۰/۰۱۷
Chenopodiaceae	*Chenopodium quinoa*[6]	۰/۸۹۲

۱- ریشه چغندروحشی کشت شده در مزرعه آلوده به ریزومانیا در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، ۲- ریشه چغندروحشی کشت شده در خاک آلوده به ریزومانیا در گلخانه، ۳- برگ چغندروحشی آلوده به BNYVV با علائم موزائیک سیستمیک، ۴- ریشه آلوده چغندرقند (رقم IC، شاهد مثبت)، ۵- ریشه سالم چغندرقند (رقم IC،شاهد منفی) و ۶- برگ *C. quinoa* آلوده به BNYVV با علائم لکه موضعی زرد و نکروز (شاهد مثبت)

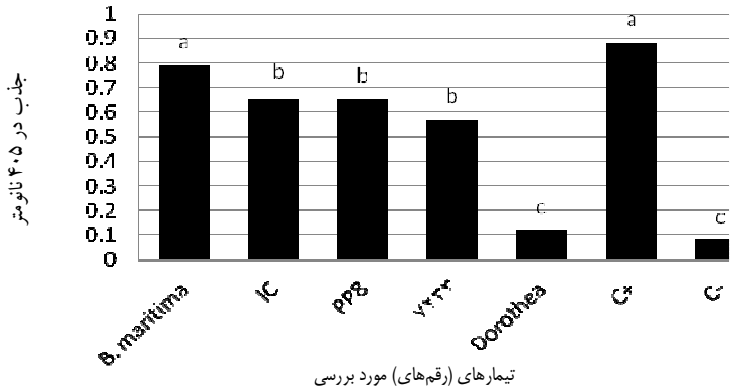
* جذب در طول موج ۴۰۵ نانومتر

با انجام آزمون الایزا از ریشه گیاهچه‌های *B. maritima* (۵۰ گیاهچه)که در خاک آلوده به ریزومانیا در گلخانه کشت شده بودند، آلودگی بالا به BNYVV در تمامی ریشه‌ها مشخص شد. متوسط میزان آلودگی (مقادیر جذب در آزمون الایزا) در مورد این ریشه‌ها (۰/۸۱۲) بود (جدول ۱). علاوه بر آلودگی بالای ریشه‌ها به BNYVV، تعدادی از گیاهچه‌های آلوده (۲۰گیاهچه)، علائم برگی شامل موزائیک سیستمیک، زردی رگبرگ، تشکیل برگ‌های کوچک و ریز به صورت مجتمع (رزت) و توقف رشد (Stunting) را نشان دادند (شکل ۱). آزمون الایزا وجود BNYVV در گیاهچه‌های دارای علائم برگی را تائید کرد. متوسط مقادیر جذب مربوط به عصاره برگ گیاهچه‌های آلوده *B. maritima* نیز بالا (۰/۸۸۶) بود (جدول ۱). تشکیل علائم سیستمیک برگی در گیاهچه‌ها همزمان نبوده، بلکه معمولاً چهار تا شش هفته بعد از کشت نمایان شدند. گیاهچه‌های دارای علائم برگی به دلیل توقف شدید رشد، توانایی تولید بذر را نداشتند و اکثر آن‌ها پس از مدتی از بین رفتند.

در مایه‌زنی مکانیکی BNYVV با استفاده از زادمایه‌های *C. quinoa*، برگ و ریشه چغندرقند آلوده به BNYVV روی گیاهچه‌های *B. maritima* سالم ابتدا در برگ‌های مایه‌زنی شده علائم لکه‌های موضعی زرد رنگ و سپس موزائیک سیستمیک (شکل‌های ۲ و ۳) تشکیل شد. علائم تشکیل شده روی *B. maritima* در نتیجه مایه‌زنی با زادمایه‌های *C. quinoa*، برگ و ریشه چغندرقند آلوده به ترتیب و به طور متوسط پس از شش، نه و چهارده روز ظاهر گردیده، سپس توسعه یافت. در این حالت نیز گیاهچه‌های آلوده دچار توقف رشد شده و معمولاً پس از مدتی از بین رفتند. همچنین در مایه‌زنی مکانیکی ویروس از عصاره برگ آلوده *B. maritima*، روی گیاهچه‌های سالم این گیاه، علائم یاد شده معمولاً پس از شش روز ظاهر گردید. بر خلاف آلودگی طبیعی گیاهچه‌ها (آلوده شدن گیاهچه‌های کشت شده در خاک آلوده

به ریزومانیا توسط *P. betae*) که علائم سیستمیک برگی به تدریج (به طور غیرهمزمان) و در تعدادی از گیاهچه‌ها ظاهر شد، این علائم در مایه‌زنی مکانیکی در اکثریت و در مواردی در تمامی گیاهچه‌های مایه‌زنی شده و عمدتاً به‌طور همزمان تشکیل شد. در انتقال مکانیکی BNYVV از عصاره برگ آلوده *B. maritima* بر روی گیاهچه‌های سه رقم چغندرقند مورد آزمایش، علائم لکه‌های موضعی زرد رنگ و سپس نکروز تشکیل گردید (شکل ۴). گاهی علائم زردی به طور محدود در اطراف بعضی از رگبرگ‌ها توسعه می‌یافت ولی در رقم‌های یاد شده علائم سیستمیک بیماری (علائم برگی) از جمله زردی و نکروز رگبرگ و یا موزائیک سیستمیک تشکیل نشد. در مایه-زنی مکانیکی ویروس از عصاره برگ آلوده *B. maritima* بر روی گیاهچه‌های *C. quinoa* نیز علائم لکه موضعی زرد و سپس نکروز ظاهر گردید. علائم زردی معمولاً پس از مدتی در اطراف رگبرگ‌ها توسعه می‌یافت (شکل ۵).

با بررسی و مقایسه غلظت ویروس در ریشه *B. maritima* با ریشه سه رقم حساس چغندرقند (ارقام IC، PP8 و۷۲۳۳) کشت شده در خاک آلوده به ریزومانیا در گلخانه، مشخص شد که مقدار ویروس در ریشه *B. maritima* در مقایسه با سه رقم چغندرقند یاد شده به طور معنی‌دار (در سطح احتمال ۰/۰۵) بیشتر است. نتایج مقایسه میانگین مقادیر جذب در آزمون الایزا در شکل ۶ نشان داده شده است. در این آزمایش کمترین مقدار آلودگی به ویروس عامل بیماری (۰/۱۲) مربوط به رقم Dorothea (رقم مقاوم به ریزومانیا) بود.



شکل ٦ مقایسه میانگین میزان جذب در آزمون الیزا برای تیمارهای (رقم‌های) مورد بررسی(c^+ برگ *C. quinoa* آلوده به BNYVV (شاهد مثبت) c^- برگ *C. quinoa* سالم (شاهد منفی))

شکل ۱ موزائیک سیستمیک و تشکیل رزت در *B. maritima* ناشی از آلودگی طبیعی با BNYVV

شکل ۲ لکه موضعی و موزائیک سیستمیک در *B. maritima*، ۱۲ روز بعد از مایه‌زنی مکانیکی BNYVV از طریق عصاره برگ چغندرقند آلوده

شکل ۳ موزائیک سیستمیک و رزت در *B. maritima*، ۱۴ روز بعد از مایه‌زنی مکانیکی BNYVV از طریق عصاره برگ آلوده *C. quinoa*

شکل ٤ لکه موضعی زرد و نکروز در برگ چغندرقند (رقم IC) ۱۲ روز بعد از مایه‌زنی مکانیکی BNYVV از طریق عصاره برگ آلوده *B .maritima*

شکل ۵ لکه موضعی، زردی رگبرگ و نکروز در برگ *C. quinoa*، ۱۲ روز بعد از مایه‌زنی مکانیکی BNYVV از طریق عصاره برگ آلوده *B. maritima*

بحث

نتایج این تحقیق مشابه نتایج حاصل از تحقیقات در سایر کشورها است. با این وجود و با توجه به تنوع جدایه‌های BNYVV (Gerik and Duffus 1988; Kastirr *et al.* 1994) و نیز وجود تیپ‌ها و واریانت‌های مختلف ویروس در ایران (Mehrvar *et al.* 2009) برای نتیجه‌گیری قطعی در مورد میزبان‌های ثانوی BNYVV، لازم است که گیاهان مختلف (به خصوص علف‌های هرز مزرعه چغندرقند) در سایر مناطق آلوده کشور نیز ارزیابی شوند. علاوه‌بر آن ممکن است که مقدار BNYVV در ریشه علف‌های هرز کمتر از آستانه تشخیص آن توسط آزمون الیزا باشد. بنابراین کاربرد روش‌های حساس‌تر تشخیص ویروس از جمله روش‌های مولکولی ضروری است (Mouhanna *et al.* 2008). هم‌چنین نتایج حاصل از تحقیق موهنا و همکاران (2008) در آلمان نشان داده است که بعضی از گیاهان کاشته شده در خاک آلوده به ریزومانیا (از جمله تعدادی از گیاهان تک‌لپه‌ای) که در آزمون الیزا آلودگی به ویروس عامل بیماری را نشان ندادند، در آلودگی طبیعی (انتقال با شبه قارچ ناقل) از ریشه این گیاهان، ویروس عامل ریزومانیا به ارقام حساس چغندرقند منتقل شده است. این موضوع نشان دهنده وجود مقدار اندک ویروس در ریشه گیاهان مورد بررسی بوده که توسط آزمون الیزا قابل تشخیص نبوده است. این محققین بهترین روش بررسی حساسیت گیاهان به BNYVVرا انتقال طبیعی ویروس (انتقال با *P.betae*) از ریشه گیاهان مورد بررسی به چغندرقند می‌دانند. در مجموع نقش علف‌های هرز در انتشار بیماری در مقایسه با چغندرقند ناچیز بوده و در نتیجه فقط چغندرقند به عنوان میزبان طبیعی و با اهمیت ویروس قلمداد می شود (Hess *et al.* 1982; Hugo *et al.* 1996). بدین ترتیب جمعیت *P. betae* با کشت رقم حساس چغندرقند ممکن است تا ده هزار برابر در طول یک فصل زراعی افزایش یابد (Asher 2003).

چغندروحشی *B. maritima* که به آن چغندر دریایی (Sea beet) نیز گفته می‌شود، عمدتاً یگ گیاه ساحلی است و در سواحل مدیترانه و سواحل شمالی اقیانوس اطلس، از جزایر بریتانیا تا جزایر قناری رشد می‌کند (Doney *et al.*1990). این گیاه نسبت به عرض جغرافیایی و چرخه زندگی دارای تنوع زیادی است، به طوریکه جمعیت‌های دو ساله و چند ساله آن در مناطق شمالی یعنی انگلستان، هلند و بلژیک و جمعیت‌های

یک ساله که متداول‌ترین نوع آن است، در نواحی مدیترانه دیده می‌شود. تلاقی *B. maritima* با چغندرهای زراعی به دلیل سازگاری زیر گونه‌ای آنها به سهولت انجام می‌شود (Hjerdin *et al.* 1994). مقاومت نسبت به بیماری‌های لکه‌برگی سرکوسپورایی (*Cercospora beticola* Sacc.) و ریزومانیا مهم‌ترین نتیجه به دست آمده از انتقال ژن از این گونه به چغندرقند است (Skaracis and Biancardi 2000; Biancardi *et al*. 2002). تاکنون چند منبع مقاومت (ژن) به ریزومانیا در *B. maritima* یافت شده است (Biancardi *et al.* 2002; Geyl *et al.* 1995). یکی از مهمترین منابع مقاومت از کشور دانمارک و از یک نمونه چغندروحشی با شماره شناسه ۴۲ (wild beet 42, WB42) گرفته شده و به نام *Rz2* مشهور است (Scholten *et al*. 1999). در حال حاضر این ژن مؤثرترین منبع مقاومت در برابر بیماری است. هم‌چنین منابع مقاومت *Rz3* و *Rz5* نیز از نمونه‌های چغندروحشی به شماره شناسه ۴۱ (WB41) و ۲۵۸ (WB258) به‌دست آمده است (Gidner *et al*. 2005; Grimmer *et al*. 2008). علاوه‌بر آن، از این گیاه برای انتقال ژن مقاومت به چغندرقند در مورد تعدادی بیماری دیگر ازجمله سفیدک پودری چغندرقند، *P. betae* ناقل BNYVV و گونه‌های نماتود ریشه گرهی(*Meloidogyne* spp) استفاده شده است (Asher *et al.* 2008; Lewellen and Schrandt 2001; Yu *et al*. 1999). هم‌چنین در *B. maritima* منبع مقاومت به تنش‌های محیطی (شوری و خشکی) نیز یافت شده است (Luterbacher and Smith 1998). علاوه‌بر جمعیت‌های مقاوم *B. maritima*، جمعیت‌هایی با درجات متفاوت حساسیت نسبت به این بیماری مشخص شده است. به طور مثال بعضی از نمونه‌های *B. maritima* جمع‌آوری شده از ترکیه نسبت به بیماری ریزومانیا بسیار حساس بوده و در مایه‌زنی مکانیکی علائم موزائیک سیستمیک و توقف رشد را نشان دادند. این نمونه به نام لاین (رگه) M8 چغندروحشی (*Beta vulgaris* subsp. *maritima* M8) نامیده شده است (Tamada 2007). در مورد پراکنش *B. maritima* در ایران اطلاعات دقیقی در دسترس نمی‌باشد. این گیاه در گذشته فقط از مزارع چغندرقند خوزستان گزارش شده است ولی اکنون در مزارع گندم استان فارس نیز خودنمایی نموده و علاوه‌بر آن در مزارع گندم استان‌های بوشهر، هرمزگان و سمنان به صورت پراکنده دیده شده است(Mir Kamali 1999). به نظر می‌رسد *B. maritima* در ایران پراکنش وسیعی دارد. *B. maritima* در مزارع به جای تولید ریشه ذخیره ای، به‌سرعت به ساقه رفته و تولید تعداد زیادی بذر می‌کند. تولید زیاد بذر بقای گیاه را در طبیعت تضمین می‌نماید. گیاه یاد شده در مناطق جمع‌آوری شده مانند داراب در طول یک فصل زراعی، چندین نسل ایجاد می‌کند. این گیاه که در مزارع به عنوان چغندر هرز شناخته می‌شود، مشکل جدی برای چغندرکاران می‌باشد زیرا به دلیل تشابه مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی آن با چغندرقند کاربرد روش‌های معمول مبارزه ازجمله شیمیایی امکان‌پذیر نمی‌باشد. علاوه‌بر آن با توجه به گسترش *B. maritima* در مناطقی از کشور که مستعد کشت پائیزه چغندرقند هستند (مناطق جنوب و جنوب غرب کشور) در صورت توسعه کشت پاییزه، زادمایه بیماری (شبه قارچ ناقل و ویروس عامل بیماری) در این گیاه و در نهایت در خاک افزایش می‌یابد. بدیهی است با افزایش بیماری ریزومانیا، خسارت وارده به کشت‌های پائیزه چغندرقند نیز افزایش خواهد یافت. BNYVV در اکثر میزبان‌ها ازجمله انواع چغندر زراعی، گونه‌های مختلف چغندروحشی و سایر میزبان‌های آزمایشی که با انجام مایه‌زنی مکانیکی و یا به‌طور طبیعی آلوده شده‌اند، سیستمیک نمی‌شود (Tamada 1999). هر چند در انتقال مکانیکی ویروس

بـر روی گیـاهچه‌هـای سـالم *Beta macrocarpa* Guss.، معمولاً علائم لکه موضعی زرد و سپس پیسک سیستمیک زرد (systemic yellow mottle) تشـکیل مـی شـود. BNYVV به‌طور طبیعی تا حدودی در اسفناج سیستمیک می‌شود و در آن علائم پیسک زرد (yellow mottle) و توقف رشد را پدید مـی آورد (Tamada 1975). علائـم سیسـتمیک BNYVV در چغندرقند، زردی و نکروز رگبرگ‌ها است کـه اختصاصـی‌تـرین علائم بیماری است (شکل ۶) و با علائم سیستمیک ویروس در *B. maritima* متفاوت می‌باشد. علائم یاد شده به‌دلیل محدود بودن ویروس به ریشه چغندرقند بـه نـدرت در ارقـام حسـاس چغندرقند مبتلا به BNYVV دیده می‌شـود (Kaufmann *et al*. 1992; Tamada and Baba 1973; Tamada 2002). در تحقیق حاضـر نـیز در مـایه‌زنـی ویـروس از عصـاره بـرگ آلـوده *B. maritima* بر روی سه رقم چغندرقند مورد آزمایش، علائم بیماری به برگ‌های مایه‌زنـی شـده محـدود ماند و در آن‌ها تنها لکه‌های موضعی زرد رنگ و سپس نکـروز تشکیل شد. این تحقیق اولین گزارش معرفی جمعیت ایرانی *B. maritima* به عنوان میزبان سیستمیک و آزمایشی BNYVV است. با این یافته‌ها و با توجه به ایـن کـه BNYVV میزبـان سیستمیک مناسبی ندارد، از *B. maritima* می‌توان بـه‌عنـوان میزبان سیستمیک مناسب در تحقیقات مرتبط بیمـاری ازجملـه برای تکثیر و تشخیص BNYVV و نیز بـرای ارزیـابی شـدت بیماری‌زایی جدایه‌های مختلف ویروس عامل بیمـاری اسـتفاده کرد (Tamada 2007). بذر این گیاه از مزارع چغندرقند استان فارس جمع‌آوری و تحت شماره ۸۹۰۱ (accession number 8901) در بانـک ژن مأسسـه تحقیقـات چغندرقنـد نگـه‌داری می‌شود. در مجموع *B. maritima* با داشتن ویژگـی‌هـایی از قبیل تولید سریع و زیاد بذر، حساسیت بالا به بیماری ریزومانیـا و پراکنش وسیع در برخی از مناطق کشور (به ویـژه در منـاطق مستعد کشت پائیزه چغندرقند) برخلاف سـایر علـف‌هـای هـرز می‌تواند نقش به‌سـزایی در ازدیـاد و انتشـار بیمـاری ریزومانیـا داشته باشد. بنابراین تعیین مناطق انتشار و نیز مبارزه مـؤثر بـا این گیاه توصیه مـی‌شـود. عـلاوه‌بـر آن مـی‌تـوان حساسـیت جدایه‌های مختلف *B. maritima* موجود در کشور نسـبت بـه بیمـاری ریزومانیـا را ارزیـابی کـرد و در صـورت شناسـایی جمعیت‌های مقاوم، از آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی و بـه‌نـژادی چغندرقند استفاده کرد.

سپاسگزاری

نگارندگان از همکاران بخش به‌نژادی مؤسسه تحقیقات چغندرقند به خاطر در اختیار قرار دادن بذرهای ارقام چغندرقند و نیز از همکـاران بخـش تحقیقـات چغندرقنـد مرکـز تحقیقـات کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس به خاطر همکـاری‌هـای تحقیقاتی تقدیر و تشکر می‌نمایند.

منابع مورد استفاده:

References:

Abe H, Tamada T. Association of *Beet necrotic yellow vein virus* with isolates of *Polymyxa betae* Keskin. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 1986; 52: 235-247.

Abe H, Ui T. Host range of *Polymyxa betae* Keskin strains in rhizomania-infested soils of sugar beet fields in Japan. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 1986; 52: 394-403.

Al Musa AM, Mink GI. *Beet necrotic yellow vein virus* in North America. Phytopathology 1981; 71: 773-776.

Asher M J C. Rhizomania. 1993; pp. 311-346 *In* : The Sugar Beet Crop (D. A. Cooke and R. K. Scott, eds.) Chapman and Hall, London.

Asher MJC, Chwarszczynska DM, Leaman M. The evaluation of rhizomania resistant sugar beet for the UK. Ann. Appl. Biol. 2002; 141:101-109.

Asher MJC, Grimmer MK, Mutasa-Gottgens ES. Selection and characterisation of resistance to *Polymyxa betae*, vector of *Beet necrotic yellow vein virus*, derived from wild sea beet. Plant Pathol. 2009; 58: 250-260.

Barr KJ, Asher MJC. The host range of *Polymyxa betae* in Britain. Plant Pathol. 1992. 41:64-68.

Barr D, Asher MJC. Studies on the life cycle of *Polymyxa betae* in sugar beet roots. Mycol. Res. 1996; 100: 203-208.

Biancardi E, Lewellen RT, De Biaggi M, Erichsen AW, and Stevanato P. The origin of rhizomania resistant in sugar beet. Euphytica 2002; 127: 383-397.

Büttner G, Märländer B, Manthey R. Breeding for resistance to rhizomania in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). J. Plant Breed. 1995; 114: 160-164.

Clark M F, Bar- Joseph M. Enzyme immunosorbent assay in plant virology. 1984; pp. 51-58. *In*: Methods in Virology (K. Maramorosch and H. Koprowsky, eds.). Vol. VII. Academic Press, New York.

Darabi S, Masumi M, Izadpanah K. Sugar beet rhizomania. Publication of Plant Virology Research Center, College of Agriculture, Shiraz University. 2003; 50 pp. (in Persian)

Darabi S, Yassaie M, Izadpanah K. Purification and antiserum preparation of Iranian isolate of *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV), the causal agent of sugar beet rhizomania disease. J. Sugar Beet. 2010; 26: 53-66. (in Persian)

Doney DL, Whitney ED, Terry J, Frese L, Fitzgerald R. The distribution and dispersal of *Beta vulgaris* L. ssp. *maritima* germplasm in England, Wales and Ireland. J. Sugar Beet Res. 1990. 27: 29-37.

Gerik J, Duffus J. Differences in vectoring ability and aggressiveness of isolates of *Polymyxa betae. Phytopathology* 1988; 78: 1340-43

Geyl L, Garcia Heriz M, Valentin P, Hehn A, Merdinoglu D. Identification and characterization of resistance to rhizomania in an ecotype of *Beta vulgaris* subsp. *maritima*. Plant Pathol. 1995; 44: 819-828.

Gidner S, Lennefors BL, Nilsson NO, Bensefelt J, Johansson E, Gyllenspetz U, Kraft T. QTL mapping of BNYVV resistance from the WB41 source in sugar beet. Genome 2005; 48: 279-285.

Giunchedi LM, De Biaggi M, Poggi-Pollini CP. Correlation between tolerance and *Beet necrotic yellow vein virus* in sugar beet genotypes. Phytopath. Medit. 1987; 26: 23-28.

Grimmer MK, Kraft T, Francis SA, Asher MJC. QTL mapping of BNYVV resistance from the WB258 source in sugar beet. Plant Breed. 2008; 127: 650-652.

Henry C. Rhizomania-its effect on sugar beet yield in the UK. Br. Sugar Beet Rev. 1996; 64: 24-26.

Hess W, Horak I, Schlosser E. Rhizomania. V. Spinat in der Rubenfruchtfolge. Gersunde Pflanzen, 1982; 34: 118-119.

Hjerdin A, Sall T, Nilsson NO, Bornman CH, Hallden C. Genetic variation among wild and cultivated beets of the section *Beta* as revealed by RFLP analysis. J. Sugar Beet Res. 1994; 31: 59- 67.

Hugo S, Henry C, Harju V. The role of alternative hosts of *Polymyxa betae* in transmission of *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV) in England. Plant Pathol. 1996; 45:662- 666.

Izadpanah K, Hashemi P, Kamran R, Pakniat M, Sahandpour A, Masumi M. Widespread occurrence of rhizomania-like disease of sugar beet in Fars. Iran J. Plant Pathol 1996; 32: 200- 206. (in Persian)

Johansson E. Rhizomania in sugar beet- a threat to beet growing that can be overcome by plant breeding. Sveriges Utsadesforenings Tidskrift 1985; 95: 115- 121.

Kastirr U, Pfeilstetter E, Burgermeister W. Virus content and virulence of *Polymyxa betae* Keskin isolates obtained from different regions in Europe. J. Phytopathol. 1994; 141: 369- 374.

Kaufmann A, Koenig R, Lesemann D-E. Tissue print- immunoblottingre veals an uneven distribution of *Beet necrotic yellow vein* and *Beet soilborne viruses* in sugar beets. Arch. Virol. 1992; 126: 329- 335.

Keskin B. *Polymyxa betae* n.sp., a parasite on *B. vulgaris* roots, particularly during early growth stages of sugar beet. Arch. Mikrobiol. 1964; 49: 348-374.

Koenig R, Lennefors B. Molecular analyses of European A, B and P type sources of *Beet necrotic yellow vein virus* and detection of the rare P type in Kazakhstan. Arch. Virol. 2000; 145: 1561- 1570.

Lewellen RT, Schrandt JK. Inheritance of powdery mildew resistance in sugar beet derived from *Beta vulgaris* subsp. *maritima.* Plant Dis. 2001; 85: 627-631.

Luterbacher M, Smith J. Improving disease resistance and drought tolerance in sugar beet using wild *Beta* germplasm. Brit. Sugar Beet Rev. 1998; 66: 26- 29.

McGrann GRD, Grimmer MK, Mutasa- Gottgens ES, Stevens M. Progress towards the understanding and control of sugar beet rhizomania disease. Mol. Plant Pathol. 2009; 10: 129- 141.

Mehrvar M, Valizadeh J, Koenig R, Bragard CG. Iranian *beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV): pronounced diversity of the p25 coding region in A-type BNYVV and identification of P-type BNYVV lacking a fifth RNA species. Arch. Virol. 2009; 154: 501-506.

Mir Kamali H. Weeds of the wheat fields of Iran. Agricultural Research, Education and Extension Organization, Agricultural Education Publishing, 1999; 268 pp. (in Persian)

Mouhanna AM, Langen G, Schlösser E. Weeds as alternative host for BSBV, BNYVV, and the vector *Polymyxa betae* (German isolate). J. Plant. Dis. Protect. 2008; 115: 193- 198.

Rush CM. Ecology and epidemiology of Benyviruses and plasmodiophorid vectors. Annu. Rev. Phytopathol. 2003; 41: 567- 592.

Rush CM, Liu HY, Lewellen RT, Acosta-Leal R. The continuing saga of rhizomania of sugar beets in the United State. Plant Dis. 2006; 90: 4- 15.

Scholten OE, Lange W. Breeding for resistance to rhizomania in sugar beet: A review. Euphytica 2000; 112: 219-231.

Scholten OE, De Bock TSM, Klein-Lankhorst RM, Lange W. Inheritance of resistance to *Beet necrotic yellow vein virus* in *Beta vulgaris* conferred by a second gene for resistance. Theor. Appl. Genet. 1999; 99: 740-746.

Skaracis GN, Biancardi F. Breeding for cercospora resistance in sugar beet. Adv. Sugar Beet Res. IIRB, 2000; 2: 177-196.

Stevens M, Asher MJC. Preliminary investigations into the interactions between *Beet mild yellowing virus* (BMYV) and *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV) in susceptible and rhizomania-resistant varieties. Asp. App. Biol. 2005; 76: 13-17.

Tamada T. *Beet necrotic yellow vein virus*. 1975 CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 144.

Tamada T. *Benyviruses*. 1999; pp. 154-160 *In*: Encyclopedia of Virology. Vol 2 (R.G. Webster and A. Granoff, eds.) Academic Press, London.

Tamada T. *Beet necrotic nellow vein virus*. 2002; CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 391. Wellesbourne: Association of Applied Biologists.

Tamada T. Susceptibility and resistance of *Beta vulgaris* subsp. *maritima* to foliar rub-inoculation with *Beet necrotic yellow vein virus*. J. Gen. Plant. Pathol. 2007; 73: 76- 80.

Tamada T, Baba T. *Beet necrotic yellow vein virus* from rhizomania-affected sugar beet in Japan. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 1973; 39: 325- 332.

Tuitert G, Musters-Van Oorschot PMS, Hiejbroek W. Effect of sugar beet cultivars with different levels of resistance to *Beet necrotic yellow vein virus* on transmission of virus by *Polymyxa betae*. Eur. J. Plant Pathol. 1994; 100: 201-220.

Wisler GC, LewellenRT, Sears JL, Wasson JW, Liu H-Y, Wintermamel WM. Interactions between *Beet necrotic yellow vein virus* and *Beet soilborne mosaic virus* in sugar beet. Plant Dis. 2003; 87:1170- 1175.

Yanar Y, Kutluk ND, Erkan S. Alternative weed hosts of *Beet necrotic yellow vein virus* and *Beet soil borne virus* in North East of Turkey. Int. J. Virol. 2006; 2: 50- 54.

Yu MH, Heijbroek W, Pakish LM. The sea beet source of resistance to multiple species of root-knot nematode. Euphytica 1999; 108: 151- 155.