جهت تهیه فایل ورد این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۴، شماره ۳، پاییز ۱۳۸۹، ص ۲۵۷-۲۵۲

Journal of Plant Protection
Vol. 24, No. 3, Fall 2010, p. 252-257

بررسی آلودگی و تعیین پراکنش ویروس زردی چغندرقند (BYV) در مزارع استان خراسان رضوی

عطیه ذبیح نیا مقدم[1*]- بهروز جعفرپور[2]- ماهرخ فلاحتی رستگار[3]- ناهید گرایلی[4]

تاریخ دریافت:۸۷/۱۱/۲۶
تاریخ پذیرش:۸۹/۹/۲

چکیده

به منظور بررسی و تعیین پراکنش ویروس زردی چغندرقند (BYV) طی تابستان ۱۳۸۶ تعداد ۵۳۰ نمونه از مزارع چغندرقند استان خراسان رضوی جمع آوری شد. نمونه برداری به دو صورت جمع آوری گیاهان دارای علایم کوتولگی، زرد شدن یا روشن شدن رگبرگ، ضخیم و شکننده شدن برگها و همچنین به روش تصادفی جهت تعیین پراکنش انجام شد. برای شناسایی عامل این ویروس از روش های سرولوژیکی DAS-ELISA و مولکولی RT-PCR استفاده شد و نهایتاً در گیاهان بیمار با علایم مذکور، ویروس زردی چغندرقند(BYV) تشخیص داده شد. باند حاصل از واکنش RT-PCR، با اندازه ۳۳۲bp بر روی ژل آگارز ۱ درصد مشاهده شد. وجود این ناحیه تکثیر شده در نمونه های آلوده، نشان از آلودگی به ویروس مذکور را در مناطق بررسی شده دارد. بر اساس نتایج به دست آمده، شهرستان های تربت حیدریه با ۱۷/۸ درصد و نیشابور با ۴/۸ درصد به ترتیب بیشترین و کمترین میزان آلودگی را دارا بودند. متوسط میزان پراکنش BYV در استان خراسان رضوی در این سال،۱۰ درصد تعیین شد.

واژه های کلیدی: *Beet Yellows Virus*، DAS- ELISA، RT-PCR

مقدمه

اولین بار زردی های چغندرقند توسط کوانجر[5] در سال ۱۹۳۴ شرح داده شد. رونالد[6] و وان شرون[7] در سال ۱۹۳۶ ویروس را عامل این زردی دانستند و نشان دادند که عامل بیماری توسط شته ها منتقل می شود. در ابتدا همه عوامل تحریک کننده زردی به نام زردی‌های ویروسی نامیده می شدند (۱). در سال ۱۹۴۰ واتسون (۲۲) به طور قطع ویروس را در انگلستان شناسایی کرد و عنوان بیماری زردی چغندرقند را به کار برد. در همین سال این ویروس از آمریکا نیز گزارش شد (۱۶). در سال ۱۹۴۸ کلینچ و لوگنان (۸) شیوع دو ویروس زردی خفیف را در ایرلند مورد بحث قرار دادند، اما آنها نتیجه گرفتند که آن دو ویروس، نژادی از ویروس زردی چغندر می باشند. واتسون (۲۳) در سال ۱۹۵۲ اولین بار به این نکته اشاره کرد که امکان دارد زردی های ویروسی به وسیله ترکیبی از بیماری های زردی ایجاد شوند. وی زمانی به این نکته دست یافت که متوجه شد ویروس زردی خفیف از ایرلند قادر نیست با آنتی سرم اختصاصی ویروس زردی چغندرقند رسوب نماید. براین اساس راسل (۱۴) در سال ۱۹۵۸ انتشار وسیع و اهمیت اقتصادی یک ویروس زردی چغندرقند با نام ویروس زردی خفیف چغندرقند را به طور مفصل شرح داد.

وجود بیماری زردی ویروسی در چغندرکاری های کرج، اراک، کرمانشاه و بروجرد و در قزوین و همدان به اثبات رسیده است (۲). ایزدپناه در سال ۱۳۶۱ این بیماری را در بعضی از مزارع منطقه فارس مشاهده نموده است (۳). حسین بیات در سال ۱۳۷۹ آلودگی مزارع چغندرقند به این ویروس را در نواحی شمالی استان خراسان مورد بررسی قرار داد. نامبرده متوسط میزان پراکنش این ویروس را در سال های ۱۳۷۸ و ۱۳۷۹، به ترتیب ۴ و۷/۴ درصد گزارش نمود که شهرستان قوچان حداکثر آلودگی را به BYV دارا بود (۴).

BYV عضو شاخص جنس Closterovirus ، با پیکره های رشته ای خمش پذیر و طول ذره ۱۲۵۰ nm و قطر ۱۲ nm می باشد

۱، ۲، ۳ و ۴- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، استاد، استاد و دانشجوی کارشناسی ارشد گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول:Email:atiyeh.zabihnia@yahoo.com)

5- Quanjer
6- Ronald
7- Van Shreven

جهت تهیه فایل ورد این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

(۲۱). اسید نوکلئیک ویروس از نوع RNA تک رشته ای مثبت بوده، با وزن مولکولی KB ۱۴/۵ که حدود ۶-۵ درصد از کل وزن ویروس را تشکیل می دهد و شامل ۸ ، ORF[1] می باشد (۶ و۱۹). بزرگ ترین محصول، پروتئینی ۲۹۵ کیلو دالتونی با ماهیت متیل ترانسفرازی و هلیکازی است که توسط ORF1a تولید می شود. پروتئین تولید شده توسط ORF 1b، RNA-dependent RNA-polymerase با وزن مولکولی تقریبی ۵۳ کیلو دالتون است. محصول ORF 2 یک پروتئین ۶/۴ کیلو دالتونی است که احتمالاً امکان حرکت سلول به سلول ویروس را فراهم می کند (۶ و۱۰). فراورده ۶۵ کیلو دالتونی ORF 3 اولین عضو خانواده پروتئین های HSP[2] 70 است (۱۰). ORF 4 پروتئینی ۶۴ کیلو دالتونی را تولید می کند که توالی آن شبیه به پروتئین HSP 90 است. ORF 5 و ORF 6 پروتئین پوششی ذره ویروس را تولید می کنند. پروتئین های ۲۰ و ۲۱ کیلو دالتونی که به ترتیب توسط ORF 7 و ORF 8 تولید می شوند، شبیه به پروتئین های همولوگ CTV[3] هستند (۱۰).

تشخیص بیماری از روی خصوصیات ظاهری گیاهان آلوده مشکل می باشد. چون با بزرگ شدن و رشد گیاه علائم زردی ممکن است در اثر آلودگی قارچی *Peronospora farinose*، کمبود عناصر ریزمغذی، تنش خشکی، فشردگی خاک و یا خسارت ریشه توسط آفات مختلف ظاهر شود (۱۸). بوته های چغندرقند که در اوایل فصل رشد به ویروس آلوده می شوند، از نظر اندازه کوتاه باقی مانده، برگ ها حالت کلروتیک به خود گرفته و علائم زرد شدن یا روشن شدن رگبرگ ها را نشان می دهند. رگبرگ ها به رنگ زرد روشن درآمده و یا گاهی ظاهری نکروتیک پیدا می کنند. در برگ های مسن که معمولاً در قسمت خارجی بوته قرار دارند، نواحی بین رگبرگی به رنگ زرد تغییر رنگ می دهند. این نوع برگ ها ضخیم، چرمی و شکننده می شوند (۱۷).

انتقال مکانیکی این ویروس به سختی امکان پذیر است (۱۹و۱۱). انتقال ازطریق شته و به روش نیمه پایا می باشد (۱۸). از بین ۲۸ گونه شته ناقل، *Myzus persicae* کارآمدترین ناقل است (۱۰). حداقل زمان تغذیه برای دریافت ویروس و تلقیح به میزبان ۵ تا ۱۰ دقیقه است و حداکثر انتقال بین ۶ تا ۱۲ ساعت بعد از تغذیه صورت می گیرد. تاکنون نشانه ای دال بر دوره نهفتگی مشاهده نشده است. ناقلین بعد از تعویض جلد عاری از ویروس می شوند (۱). اکثر محققان برای انتقال ویروس در آزمونهای گلخانه ای از *M.persicae* استفاده کرده اند (۱۲،۱۳،۱۷و۲۰).

انتقال از طریق سس توسط گونه های متعددی انجام می شود. شته ها می توانند ویروس را از گونه های سس که انتقال دهنده ویروس نیستند و روی گیاهان آلوده رشد می کنند، دریافت کنند (۶). این ویروس توانایی انتقال با پیوند را نیز دارا می باشد. هیچ گزارشی مبنی بر انتقال از طریق بذر و دانه گرده این ویروس تأیید نشده است (۱۹).

ویروس زردی چغندرقند دامنه میزبانی متوسطی دارد. ۱۵ خانواده دارای ۱۲۱ گونه حساس به این ویروس می باشند. با این حال بیشتر گونه های حساس به این ویروس در ۴ خانواده Aizoaceae ، Amaranthaceae، Caryophyllaceae، Chenopodiaceae قرار دارند (۶ و۹).

اهمیت محصول چغندرقند در صنعت تولید قند کشور ایجاب می کند، عواملی که باعث وارد آمدن خسارت به این محصول و متعاقب آن کاهش سطح تولید قند می شوند، شناسایی و راه های مؤثر در جهت کنترل آنها ارائه گردد. از بین بیماری های چغندرقند که از مهم ترین عوامل جهت پائین آمدن سطح تولید می باشند، می توان به بیماری های ویروسی اشاره کرد. ویروس زردی چغندرقند جزو ویروس های مهم خسارت زا به گیاه چغندر می باشد (۲۱). با توجه به اهمیت موضوع بررسی آلودگی و تعیین پراکنش این ویروس به عنوان موضوع این تحقیق قرار گرفت.

مواد و روش ها

نمونه برداری

به منظور شناسایی و تعیین پراکنش ویروس زردی چغندرقند(BYV) در تابستان ۱۳۸۶ از مزارع چغندرقند استان خراسان رضوی (شهرستان های چناران، قوچان، فریمان، تربت جام، کاشمر، تربت حیدریه، نیشابور و حومه مشهد) نمونه برداری به عمل آمد. نمونه های مشکوک به بیماری که معمولاً دارای علائمی نظیر روشن شدن رگبرگ، زردی، ضخیم و شکننده شدن برگ ها و همچنین نقاط نکروتیک بر روی برگ ها بودند، جمع آوری شده و پس از ثبت مشخصات در پاکت های پلاستیکی قرار داده شد. در مجاورت یخ، به آزمایشگاه منتقل و در یخچال در دمای $4^{\circ}C$ نگهداری گردید. همچنین به منظور تعیین پراکنش ویروس مزبور از مزارع فوق، به صورت کاملاً تصادفی و در امتداد اقطار مزرعه نیز نمونه برداری انجام شد (۴).

بررسی آلودگی نمونه ها با استفاده از روش ساندویچ دوطرفه الایزا

آزمون ساندویچ دوطرفه الایزا(DAS-ELISA) طبق روش

1- Open Reading Frame
2- Heat Shock Proteins
3- Citrus Tristeza Virus

جهت تهیه فایل ورد این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

کلارک و آدامز انجام شد (۷). آنتی سرم مورد استفاده در این تحقیق جهت شناسایی ویروس موردنظر از مؤسسه DSMZ آلمان تهیه شد. به منظور ارزیابی نتایج نمونه ها براساس تغییر رنگ آنها نسبت به شاهد منفی مقایسه شدند. دامنه تغییر رنگ از بی رنگ تا زرد پررنگ بود که با چشم غیر مسلح یا با استفاده از دستگاه قرائت خوان الایزا در طول موج ۴۰۵ نانومتر مورد ارزیابی قرار گرفت.

استخراج RNA

استخراج RNA بر اساس روش رسوب با PEG6000[1] انجام شد (۱۵). کیفیت RNA به دست آمده، بر روی ژل آگارز ۱٪ در دستگاه الکتروفورز با ولتاژ ثابت ۷۵ ولت به مدت ۱ ساعت بررسی گردید.

سنتز cDNA از RNA استخراج شده (مرحله RT)

جهت سنتز cDNA از RNA ویروس، به آغازگرهای[2] اختصاصی جهت شروع واکنش نیاز می باشد. توالی آغازگر رفت (BYV(F)[3]) به صورت (13664-13686) -5' GCAATCGCGACTTTTGAAAACGT-3' و آغازگر برگشت (BYV(R)[4]) به صورت (13994-14016)-5' GATATGTAGTCCTTCTGAAAAGT-3' می باشد (۲۱). آغازگرهای مورد استفاده برای این ویروس، که مربوط به قسمتی از ژنوم که مسئول ساخت پروتئین پوششی ویروس است، با توجه به غلظت مورد نیاز با آب مقطر تزریقاتی سترون رقیق شدند. سنتز cDNA به دو روش انجام شد. یک روش به صورت معمولی و روش دیگر که توسط کیت Accu Power(R) RT Pre Mix صورت گرفت.

تکثیر قطعه cDNA با استفاده از واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR)

در این تحقیق واکنش زنجیره ای پلیمراز به صورت معمولی و نیز توسط کیت GenePak PCR Core در دستگاه ترموسایکلر[5] ساخت شرکت آلمانی Biometra انجام شد. برنامه دمایی PCR با توجه به دمای اتصال پرایمرهای رفت و برگشت، جهت مشاهده باند مورد نظر(۳۳۲bp)، با انجام مکرر آزمون تنظیم گردید. برنامه دمایی استفاده شده درآزمون PCR از این قرار بود: یک سیکل مرحله واسرشت سازی اولیه به مدت ۵ دقیقه و تحت دمای ۹۴°C، ۳۰ سیکل به ترتیب مراحل Denaturation به مدت ۶۰ ثانیه تحت دمای ۹۴ °C، Annealing به مدت ۶۰ ثانیه تحت دمای ۵۰ °C ، Extension به مدت ۶۰ ثانیه تحت دمای ۷۲ °C، در نهایت یک سیکل مرحله تکمیل پلیمریزاسیون به مدت ۱۰ دقیقه تحت دمای ۷۲ °C.

کیفیت قطعات تکثیر شده حاصل از واکنش بر روی ژل آگارز ۱٪ بررسی شد. بدین منظور ۷ میکرولیتراز هر نمونه همراه با ۲ میکرولیتر بافر رنگ در ۷۵ ولت به مدت ۹۰ دقیقه الکتروفورز شد. بعد از طی مراحل رنگ آمیزی ورنگ بری، عکسبرداری توسط دستگاه gel documentation انجام و سپس تجزیه و تحلیل بر روی آن صورت گرفت.

نتایج

بررسی پراکنش BYV بر اساس نتایج حاصله از آزمون الایزا

بر اساس نتایج به دست آمده، آلودگی به ویروس BYV در کلیه مناطق نمونه برداری شده مشاهده شد. به طور کلی متوسط میزان پراکنش این ویروس در این سال در استان خراسان رضوی دارای درصد پائینی (۱۰ درصد) می باشد. جدول۱ تعداد نمونه های جمع آوری شده، تعداد نمونه آلوده و درصد پراکندگی ویروس را در شهرستان های مختلف استان نشان می دهد.

از مجموع ۵۳۰ نمونه جمع آوری شده، ۵۳ نمونه آلوده به ویروس BYV بودند که بیشترین میزان آلودگی در شهرستان تربت حیدریه(۱۷/۸ درصد) و کمترین میزان در شهرستان نیشابور(۴/۸ درصد) تخمین زده شد.

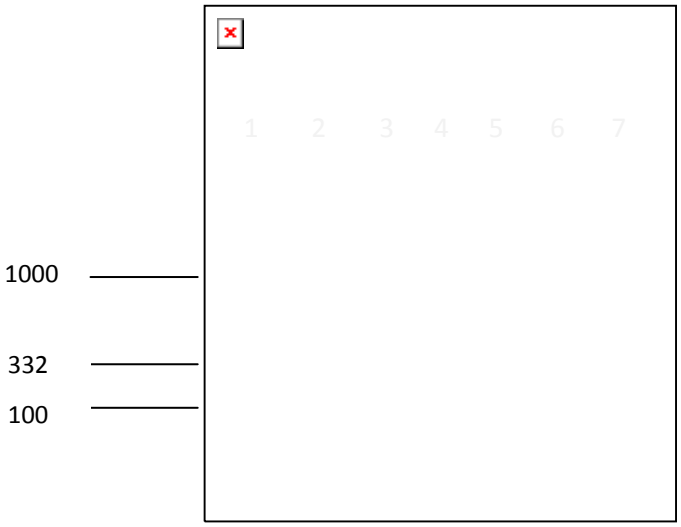
نتایج به دست آمده از واکنش زنجیره ای پلیمراز (RT-PCR)

شناسایی ویروس زردی چغندرقند در این تحقیق با استفاده از تکنیک RT-PCR و آغازگرهای اختصاصی، بر روی ۵۳ نمونه آلوده شناسایی شده با استفاده از آزمون الایزا، با موفقیت انجام گردید. با استفاده از سایز مارکر bp ۱۰۰[6] قطعه تکثیر یافته ای به اندازه ۳۳۲ جفت باز که مربوط به ویروس در نمونه های مورد آزمایش بود، مشخص گردید. در صورتیکه در شاهد منفی هیچ باندی مشاهده نشد، وجود ناحیه تکثیر شده مذکور در نمونه ها نشان از آلودگی این ویروس در مناطق بررسی شده است. این نتایج با نتایجی که در منابع آمده است، مطابقت دارد (۲۱)(شکل۱).

1- Poly ethylene glycole
2- primer
3- Forward
4- Reverse
5- Termocycler
6- 100bp DNA Ladder

جدولّ۱- تعداد نمونه های جمع آوری شده، تعداد نمونه آلوده و درصد فراوانی ویروس BYV در مناطق مختلف استان خراسان رضوی در سال ۱۳۸٦

ردیف	مناطق نمونه برداری شده	تعداد نمونه های جمع آوری شده	تعداد نمونه آلوده	درصد آلودگی
۱	فریمان	۷۵	۸	۱۰/۷
۲	تربت جام	۵۰	۳	۶
۳	قوچان	۹۰	۹	۱۰
۴	چناران	۶۰	۷	۱۱/۷
۵	تربت حیدریه	۹۰	۱۶	۱۷/۸
۶	کاشمر	۳۰	۳	۱۰
۷	نیشابور	۱۰۵	۵	۴/۸
۸	مشهد	۳۰	۲	۶/۷



شکل۱- قطعه تکثیر شده ۳۳۲bp مربوط به ویروس زردی چغندرقند بر روی ژل آگارز ۱٪،
چاهک اول و هفتم نشانگر DNA ، چاهک دوم و سوم و چهارم و پنجم قطعه تکثیر شده BYV، چاهک ششم شاهد منفی

بحث

وجود بیماری زردی ویروسی در چغندرکاری های کرج، اراک، کرمانشاه، بروجرد و احتمالاً در قزوین و همدان به اثبات رسیده است (۲). ایزدپناه (۳) در سال ۱۳۶۱ این بیماری را در برخی از مزارع منطقه فارس مشاهده نموده است. تا به این زمان بحث و بررسی درباره این ویروس ادامه دارد.

از آنجایی که استان خراسان رضوی به دلیل دارا بودن رتبه نخست از نظر سطح زیر کشت و میزان تولید، یکی از قطب های مهم کشت چغندر در سطح کشور است و همچنین به دلیل اهمیت ویروس زردی چغندرقند، بررسی و تعیین پراکنش این ویروس در سطح استان خراسان رضوی در سال ۱۳۸۶ با استفاده از آزمون های سرولوژیکی(DAS-ELISA) و مولکولی(RT-PCR) انجام گرفت.

از واکنش زنجیره ای پلیمراز به منظور تشخیص دقیق تر ویروس زردی چغندرقند در استان استفاده شد، که مقایسه دو روش ELISA و RT-PCR در تشخیص ویروسBYV، حاکی از این بود که روش RT-PCR با وجود زمان بر بودن و هزینه بری بالا، حساسیت بالایی نسبت به روش ELISA دارد و نیز اینکه RT-PCR نسبت به غلظت بسیار کم ویروس به خوبی و با حساسیت بالا عمل می کند. به عنوان مثال استیونس و همکاران در مقاله ای تحت عنوان مقایسه دو روش ELISA و RT-PCR جهت شناسایی ویروس زردی چغندرقند در گیاه و شته نشان دادند که یک دهم از RNA کل استخراجی ویروس از شته حامل، می تواند برای شناسایی ویروس از طریق RT-PCR مورد استفاده قرار گیرد (۲۱). از نتایج مؤثر در شناسایی مولکولی با کمک روش RT-PCR ، می توان به ردیابی و تعیین برخی از خصوصیات مولکولی ویروس زردی چغندرقند در استان

اصفهان توسط زهرا تابع جماعت اشاره کرد (۵).

در آزمون مولکولی انجام شده، جهت سنتز قطعه cDNA و همچنین تکثیر آن با کمک روش واکنش زنجیره ای پلیمراز(RT-PCR) علاوه بر روش معمول، به ترتیب از کیت های Accu Power(R) RT Pre Mix و GenePak PCR Core استفاده گردید. استفاده از کیت در مقایسه با روش معمول آن نشان داد که، علاوه بر سرعت و سهولت، میزان آلودگی و خطای آزمایش، در حین انجام کار بسیار کاهش می یابد.

در بررسی های صورت گرفته برروی نمونه های جمع آوری شده از مزارع سطح استان خراسان رضوی در سال ۱۳۸۶ مشخص گردیدکه پراکندگی ویروس زردی چغندرقند با اینکه در تمامی مناطق به نسبت های مختلف وجود داشت ولی خوشبختانه هنوز به درصد نگران کننده ای نرسیده است. با این حال ذکر این نکته ضروری است که متوسط میزان پراکنش تعیین شده در این سال(۱۰ درصد) در مقایسه با میزان تعیین شده در سال ۱۳۷۹ توسط بیات(۷/۴ درصد) نشانگر رشد صعودی انتشار این بیماری در سطح استان می باشد. با این حال با توجه به نبود روش مؤثر برای کنترل بیماری های ویروسی و همچنین احتمال افزایش میزان پراکنش این ویروس در صورت مساعد بودن شرایط در سال های آتی، اقدامات پیشگیرانه ای را می طلبد. از جمله این اقدامات پیشگیرانه می توان به بررسی وکشت ارقام، اجرای برنامه های سم پاشی علیه شته ها در اوایل فصل رشد و قبل تکثیر سریع آن ها در مزرعه، خودداری از کشت اسفناج زمستانی در مناطق چغندرکاری، کاشت زودهنگام چغندرقند، شناسایی کامل علف های هرز میزبان این ویروس و از بین بردن آن ها اشاره کرد.

در آخر ذکر این نکته ضروری است که در برخی از مناطق درصد آلودگی مزارع بسیار بالا بود و گیاهان علائم زردی شدید را نشان می دادند، در صورتی که بعد از انجام آزمون الایزا مشخص شد که بسیاری از نمونه های جمع آوری شده، آلوده به ویروس زردی چغندرقند نبوده بلکه احتمالاً به سایر ویروس هایی که علائم زردی را در گیاه ایجاد می کنند، آلوده بوده اند. لذا توصیه می شود در طرح جامعی، هم زمان ویروس های عامل زردی در چغندرقند(*Beet yellows virus*, *Beet western yellows virus*, *Beet mild yellowing virus*, *Beet chlorosis virus*, *Beet yellow stunt virus*,) مورد بررسی قرار گیرند تا سهم هر یک از ویروس ها در ایجاد آلودگی مشخص شود. به علاوه دامنه بررسی ها فراتر از استان خراسان رضوی رفته و در تمام استان های خراسان و حتی در استان های مجاور نیز انجام شود.

منابع

۱- ارجمند م.ن. ۱۳۷۷. بیماری های چغندرقند(۴۴۲-۳۵۷)، در"چغندرقند از علم تا عمل"، تألیف دی. آ. کوک، آر. کی. اسکات. چاپ اول، نشر علوم کشاورزی، تهران.

۲- اسکندری ف.، آل آقا ن.، حجارود ق. و همتی ک. ۱۳۴۸. بیماری های چغندرقند در ایران. نشریه شماره ۱۰۶ گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران.

۳- ایزدپناه ک. ۱۳۶۱. لیست مشروح بیماری های ویروسی و شبه ویروسی گیاهی در فارس. جهاد دانشگاهی شیراز، شیراز.

۴- بیات ح. ۱۳۷۹. شناسایی و تعیین پراکنش ویروس زردی چغندرقند(BYV) و ویروس زردی غربی چغندرقند(BWYV) در شمال استان خراسان. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه فردوسی مشهد.

۵- تابع جماعت ز.، مساح ا. و آهون منش ع. ۱۳۸۷. ردیابی و تعیین برخی از خصوصیات مولکولی ویروس زردی چغندرقند (*Beet yellows virus*) در استان اصفهان. خلاصه مقالات هجدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، جلد دوم بیماری های گیاهی. همدان.

6- Agronovsky A.A., Lesemann D.E. 2000. Homepage of Description of Plant viruses. *Beet yellows virus* Available online at: http://www.dpvweb.net/dpv/showdpv.php?dpvno=377 .

7- Clark M.F., and Adams A.N. 1977. Characterization of the microplate method of Enzyme-linked Immunosurbent Assay for the detection of plant virus. Journal of General Virology 34: 475-483.

8- Clinch P.E.M., and Loughnane J.B. 1948. Seed transmission of virus yellows of sugar beet (*Beta vularis* L.) and the existence of strains of this virus in Eire. Royal Dublin Society Proceedings 24: 307-18.

9- Dolja V.V. 2003. *Beet yellows virus*: the importance of being different. Molecular Plant Pathology 4: 91-98.

10- Dolja V.V., Karasev A.V., Koonin E.V. 1994. Molecular biology and evolution of closterovirus: Sophisticated Build-up of large RNA genomes. Annual Review of Phytopatology 32: 261-285.

11- Polak J. 1971. Physical properties and serological relationship *beet yellows virus* strains. Phytopatology 72: 235-244.

12- Reed R.R., and Falk B.W. 1989. Purification and partial characterization of *beet yellow stunt virus*. Plant Diseases 73: 358-362.

13- Rogov V.V., Karasev A.V., and Agronovsky A.A. 1993. Purification and some properties of an isolate of *beet yellows virus* from Ukrain. Journal of Phytopathology 137: 79- 88.
14- Russell G.E. 1958. Sugar beet yellows: a preliminary study of the distribution and interrelationships of viruses and virus strains found in East Auglia, 1955-57. Annals of Applied Biology 46: 393-8.
15- Schmitz A. 2003. Untersuchungen Zum Pathogenitatsmechanismus Von Viroid RNA. Thesis, Heinrich Heine Universitat Dusseldorf , Germany.
16- Sherf A.F., and MacNab A.A. 1986. Vegetable disease and their control. Second edition, A wiley Interscience Publication, John Wiley & Son. New york.
17- Smith H.G. 1989. Distribution and infectivity of yellowing viruses in field grown sugarbeet plants. Annual of Applied Biology 114: 481-487.
18- Smith H.G., and Hinckes J.A. 1987. Study of the distribution of yellowing viruses in the sugarbeet root crop from 1981 to 1984. Plant Pathology 39: 125-134.
19- Smith H.G., and Karasev A. 1991. Homepage of Plant Viruses Online, Descriptions and Lists from the VIDE Database. Beet yellows closterovirus Available online at: http://image.fs.uidaho.edu/vide/descr093.htm .
20- Stevens M., Smith H.G., and Hallsworth P.B. 1994. The host range of beet yellowing virus among common arable weed specieses. Plant Pathology 43: 579-588.
21- Stevens M., Hull R., and Smith H.G. 1997. Comparison of ELISA and RT-PCR for the detection of beet yellows closterovirus in plants and aphids. Journal of Virological Methods 68: 9-16.
22- Watson M.A. 1940. Studies on the transmission of sugar beet yellows virus by the aphid, Myzus persicae (Sulz.). Proceeding of the Royal Society, London, Ser.B 128:535-52.
23- Watson M.W. 1952. *Beet yellows virus* and other yellowing virus diseases of sugar beet. Rothamsted Experimental Station Report for 1951, 157-67.