مقایسه تغییرات فیزیولوژیکی ارقام مقاوم و حساس چغندرقند آلوده به ویروس زردی نکروتیک رگبرگ چغندرقند (Beet Necrotic Yellow Vein Virus)

Evaluation of physiological changes in resistant and susceptible sugar beet cultivars to Beet Necrotic Yellow Vein Virus

ابوذر قربانی[1]*، کرامت اله ایزدپناه[2]، حبیب اله حمزه زرقانی[3] و عفت عالم زاده[1]

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۳/۲ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۹/۲۰

ا. قربانی، ک.ا. ایزدپناه، ح.ا. حمزه زرقانی و ع. عالم‌زاده. ۱۳۹۶. مقایسه تغییرات فیزیولوژیکی ارقام مقاوم و حساس چغندرقند آلوده به ویروس زردی نکروتیک رگبرگ چغندرقند (Beet Necrotic Yellow Vein Virus). **چغندرقند، ۳۳(۲): ۲۰۹- ۲۱۹.** DOI:10.22092/jsb.2017.110056.1153

چکیده

ویروس زردی نکروتیک رگبرگ چغندرقند (Beet Necrotic Yellow Vein Virus, BNYVV) عامل بیماری مهم و خطرناک ریشه‌ریشی در این گیاه می‌باشد. تحقیقات بسیار گسترده‌ای روی این بیماری تاکنون انجام شده و چندین رقم مقاوم نسبت به آن معرفی گردیده است. در این مطالعه تغییرات فیزیولوژیکی دو رقم مقاوم و دو رقم حساس در برهمکنش با BNYVV مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج آزمون الیزا نشان داد که ارقام حساس دارای غلظت بالاتری از ویروس در مقایسه با ارقام مقاوم می‌باشند. ارقام مقاوم تغییرات کمتری را در میزان وزن تر و خشک ریشه، کلروفیل و آنتی‌اکسیدان نشان دادند. ارقام مقاوم با تغییرات بیشتر در میزان کربوهیدرات، فنول و پروتئین کل در مقایسه با گیاه کنترل واکنش نشان دادند. به طور کلی ویروس زردی نکروتیک رگبرگ چغندرقند در ارقام مقاوم سبب ایجاد پاسخی سریع و تغییرات فیزیولوژیکی بیشتر را در مقایسه با ارقام حساس می‌شود.

واژه‌های کلیدی: تغیرات فیزیولوژیکی، چغندرقند، ویروس زردی نکروتیک رگبرگ چغندرقند

۱- دانشجوی دکترای بخش گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران. *- نویسنده مسئول ghorbani.abozar@gmail.com
۲- استاد بخش گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.
۳- دانشیار بخش گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

مقدمه

چغندرقند (*Beta vulgaris* L.) یکی از گیاهان مهم صنعتی محسوب می‌گردد. این گیاه توسط طیف وسیعی از عوامل بیماری‌زا تهدید می‌شود که در بیشتر موارد منجر به کاهش در وزن ریشه و درصد قند می‌شوند. تمام اندام‌های این گیاه در طول فصل رویشی مورد حمله عوامل بیماری‌زا قرار می‌گیرد (Pavli 2010; Grimmer *et al*. 2007). بنابراین عوامل بیماری‌زا نقش مهمی در خسارت‌های رایج به این محصول و صنعت شکر دارند.

ویروس زردی نکروتیک رگبرگ چغندرقند (Beet Necrotic Yellow Vein Virus, BNYVV) عامل بیماری مهم و خطرناکی بنام ریشه ریشی (root beardiness) یا ریشه گنائی (rhizomania) در چغندرقند است (Tamada and Baba 1973). این ویروس به دلیل توانایی بالقوه در کاهش محصول، دوام تقریباً نامحدود در خاک آلوده و فقدان راه کارآمد و مناسب جهت کنترل آن مورد توجه زیادی قرار گرفته است. میزان خسارت بیماری چشمگیر بوده و معمولاً به بیش از ۳۰ درصد، و در آلودگی‌های شدید گاهی به صددرصد می‌رسد (Woodruff *et al*. 1986).

فتوسنتز فرایندی است که طی آن انرژی نورانی به انرژی شیمیایی تبدیل شده و از این انرژی در فعالیت‌های حیاتی گیاه استفاده می‌شود. با کاهش میزان فتوسنتز برگ‌ها زرد رنگ شده، میزان پروتئین، کلروفیل و محتویات کارتنوئید کاهش می‌یابد. ترکیبات فنولی دارای نقش فعال در مقاومت سیستمیک علیه عوامل بیماری‌زا هستند، به طوری که تجمع آنها منجر به تقویت دیواره‌ی سلولی (با رسوب لیگنین و سوبرین)، مرگ سریع سلول و توقف تکثیر عامل بیماری می‌گردد (Nicholson and Hammerschmidt 1992). ترکیبات فنولی در ارقام مقاوم و واکنش با بیماری به مقدار بیشتر و سریع‌تر از ارقام حساس و واکنش سازگار تولید می‌شوند (Keen and Littlefield 1979).

گیاهان طیف وسیعی از مکانیسم‌های دفاعی در برابر تهاجم بیمارگرها و آفات مختلف دارند. این مکانیسم‌های دفاعی شامل موانع فیزیکی، شیمیایی و پاسخ‌های دفاعی القا شده است (Pieterse *et al*. 2001). هنگامی‌که گیاهان مورد حمله بیمارگرها قرار می‌گیرند، در ابتدا پاسخ‌های دفاعی موضعی و سپس پاسخ‌های دفاعی سیستمیک فعال می‌شوند. این استراتژی دفاعی به طور ویژه نسبت به باکتری‌ها و قارچ‌های بیوتروف و هم‌چنین نسبت به ویروس‌ها موفق عمل کرده است (Thomma *et al*. 2001).

هنگامی که گیاهان، مورد حمله‌ی بیمارگرها قرار می‌گیرند میزان پروتئین در آنها افزایش می‌یابد که ناشی از مکانیسم‌های دفاعی گیاه میزبان و حمله‌ی عامل بیماری‌زا است. از بین پروتئین‌هایی که توسط گیاهان میزبان تولید می‌شود، پروتئین‌های مرتبط با بیماری‌زایی (که توسط گیاهان میزبان در پاسخ به حمله‌ی حشرات یا میکروارگانیسم‌ها رمزگذاری می‌شوند) ازجمله پراکسیداز، پلی فنول اکسیداز و بتا-۱ و ۳ گلوکاناز از اهمیت بیشتری برخوردارند (Agrios 2005).

تنش‌های غرقابی، نور شدید، خشکی، حرارت بالا، سرما، شوری، آلوده کننده‌های هوا مانند اوزون، تنش‌های فیزیکی-مکانیکی و بیمارگرها باعث ایجاد انواع مختلف اکسیژن فعال (ROS) مانند یون سوپراکسید (O_2^-)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال هیدروکسیل (OH) می‌گردند (Mehra *et al*. 2003; Bandyopadhyay *et al*. 1999).

برای مقابله با تنش اکسیداتیو ایجاد شده یک سیستم

دفاعی آنتی‌اکسیدانی با کارایی بالا در گیاهان وجود دارد که می‌تواند رادیکال‌های آزاد را از بین برده یا خنثی نماید. این سیستم دفاعی شامل سازوکارهای آنزیمی و غیرآنزیمی است. آنزیم‌های این سیستم دفاعی شامل سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، آسکوربیت پراکسیداز (APX)، دهیدرو آسکوربیت ردوکتاز (DHAR) و گلوتاتیون ردوکتاز (GR) است. سیستم غیرآنزیمی شامل آسکوربیک اسید (ASA)، گلوتاتیون (GS)، ویتامینE و کاروتنوئیدها می‌باشد (Blokhin *et al*. 2003; Yordanova 2004). کاتالاز در حقیقت اکسیدوردوکتازی است که بدون نیاز به عامل احیا کننده، پراکسید هیدروژن را به اکسیژن و آب تبدیل می‌نماید (Mittler *et al*. 2004). کاتالاز در میتوکندری، سیتوسول و به طور عمده در پراکسی زوم‌ها وجود دارد (Sairam 2001). با توجه به نقش پاسخ شیمیایی و زیستی گیاه در برهمکنش با عوامل بیماری زا در این مطالعه سعی بر این شده است پاسخ های گیاه چغندرقند آلوده شده به BNYVV در ارقام مقاوم و حساس بررسی شود.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر سه جدایه BNYVV در تغییرات آنزیمی مرتبط با تنش ها، وزن‌تر و خشک، کلروفیل، فنول کل و کربوهیدرات کل در ارقام مقاوم و حساس چغندرقند، این مطالعه صورت گرفت.

منبع ویروس و ارقام مورد مطالعه

در این مطالعه سه جدایه BNYVV زرقان، دلفان (استان لرستان) و مغان با استفاده از گیاهان چغندرقند کشت شده در خاک مزارع آلوده، به کمک آزمون ELISA تشخیص و انتخاب شدند. آنتی‌سرم مورد استفاده در آزمون ELISA از مرکز تحقیقات ویروس‌شناسی گیاهی، شیراز تهیه شد. بذر ارقام مورد مطالعه در این تحقیق شامل دو رقم مقاوم ایزابلا و سوکارا و دو رقم حساس جلگه و شریف از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند کرج تهیه گردید.

مایه‌زنی مکانیکی

جهت مایه‌زنی مکانیکی ریشچه‌های ظریف به نسبت یک گرم بافت در پنج میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار با pH=۷ له و عصاره حاصله برروی ارقام مقاوم و حساس (ایزابلا و سوکارا، جلگه و شریف) کشت شده در گلخانه که با پودر کاربوراندوم گردپاشی شده بودند، استفاده گردید. از هر رقم پنج بوته به وسیله سه جدایه به صورت مجزا مایه‌زنی شد و پنج گیاه هم به عنوان گیاه سالم برای هر رقم انتخاب گردید. گیاهان مورد آزمایش در شرایط گلخانه و دمای ۳۰-۱۹ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ روز نگه‌داری شدند. ردیابی گیاهان آلوده با روش DAS-ELISA صورت گرفت.

آزمایش‌های زیست‌سنجی

آزمایش‌های زیست‌سنجی در سه دوره زمانی یک، دو و سه هفته بعد از مایه‌زنی از هر پنج بوته آلوده به طور جداگانه برای تمام تیمارها صورت گرفت.

استخراج پروتئین محلول کل

استخراج پروتئین محلول کل به روش گارمندیا و همکاران (Garmendia *et al*. 2004) انجام شد.

به این منظور نمونه‌های نیم گرمی برگ‌های گیاه از هر زمان نمونه برداری (سه مرتبه با فاصله یک هفته) داخل هاون

سرد با استفاده از ازت مایع پودر شد. سپس ۲ میلی‌لیتر بافر استخراج به آن اضافه گردید. محتویات داخل هاون در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد کاملاً مخلوط و به لوله‌های ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل شد. لوله‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد سانتریفوژ گردیدند. رونشین به آرامی برداشته شد، در حجم‌های کوچک‌تر تقسیم و بعد از انجماد در ازت مایع به فریزر با دمای ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد منتقل شد.

تعیین غلظت پروتئین

تعیین غلظت پروتئین به روش برافورد (Bradford 1976) انجام شد. مبنای این روش اتصال رنگ کوماسی بریلیانت بلو G250 موجود در معرف اسیدی به مولکول پروتئین است که میزان آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر تخمین زده می‌شود.

سنجش آنزیم‌ها

فعالیت آنزیم‌ها در دمای آزمایشگاه (۲±۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد) و با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه گیری گردید.

فعالیت آنزیم کاتالاز به روش ابی و همکاران (Aebi *et al.* 1984)، پراکسیداز به روش چنس و ماهلی (Chance and Maehly 1955) و آسکوربیت پراکسیداز به روش نانکو و اسدا (Nakano and Asada 1987) اندازه‌گیری شد. از مخلوط واکنش بدون عصاره‌ی آنزیمی در یک کیووِت ۴ میلی‌لیتری به عنوان شاهد اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۴۰ نانومتر استفاده گردید.

استخراج فنول کل، کربوهیدارت و کلروفیل

استخراج فنول کل به روش اسورا و دالی (Seevera and Daly 1970) انجام شد.

استخراج و اندازه‌گیری میزان کربوهیدرات به روش بایسی و مرکیکس (Buysee and Merckx 1993) و استخراج و اندازه‌گیری میزان کلروفیل به روش آرنون (Arnon 1949) انجام شد.

محاسبه غلظت ویروس با استفاده از آزمون ELISA

تست ELISA برای ریشه گیاهان آلوده و سالم تحت تیمار بعد از هفته سوم به منظور تعیین غلظت ویروس انجام گرفت. آنالیز داده‌های حاصل از ELISA با استفاده از نرم‌افزار تحلیل‌گر الایزا (آستانه آلودگی =۱) (Ghorbani *et al*. 2014) انجام گرفت.

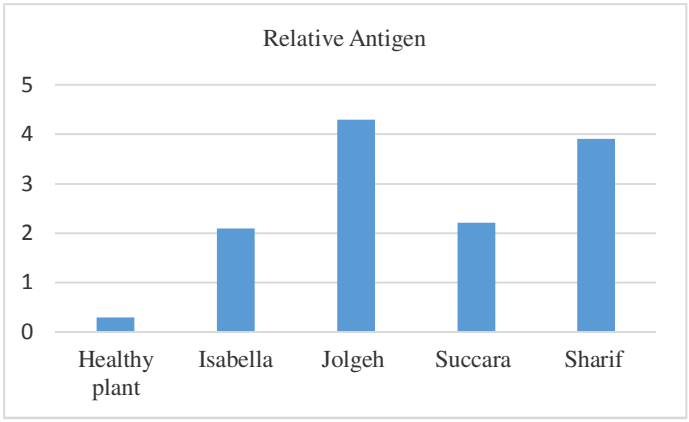
محاسبات آماری

آنالیز واریانس برای هر رقم آلوده شده به BNYVV و کنترل آن رقم و اثر ویروس و برهمکنش آنها در پارامترهای مختلف بیولوژی و بیوشیمایی با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 صورت گرفت. داده‌های پروتئین کل و فعالیت‌های آنزیمی با روش آنالیز آماری ناپارامتری آنوا (ANOVA) محاسبه شدند. در صفاتی که تفاوت معنی‌دار و اثر برهمکنش‌ها مشخص گردید، آزمون دانکن جهت مقایسه میانگین تیمارها مورد استفاده قرار گرفت. در نمودارها نسبت به گیاه کنترل (گیاه سالم) مقایسه شده‌اند و نشان دهنده میزان تولید در تیمار نسبت به کنترل (گیاه سالم) می‌باشد.

نتایج

غلظت ویروس

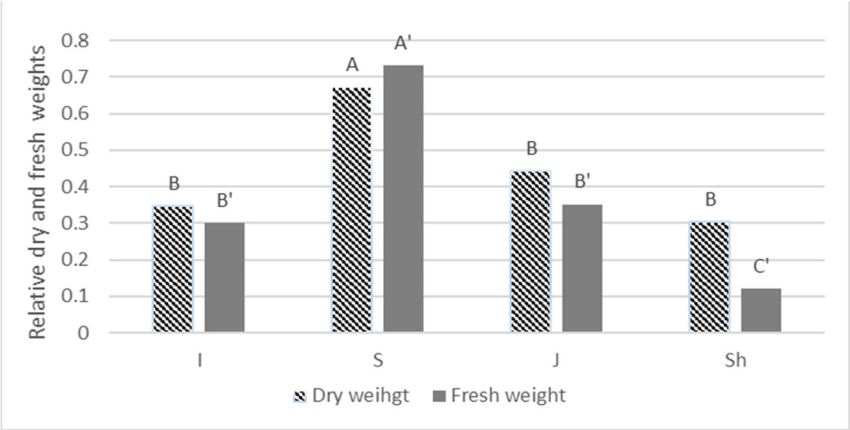
در هفته سوم بعد از مایه‌زنی غلظت ویروس با استفاده از آزمون الایزا (DAS-ELISA) به دست آمد. ارقام حساس جلگه و شریف بیشترین غلظت ویروس را نسبت به ارقام مقاوم ایزابلا و سوکارا نشان دادند. رقم ایزابلا کمترین غلظت ویروس را داشت. (شکل ۱).



شکل ۱ غلظت BNYVV در ارقام چغندرقند جلگه، شریف، ایزابلا و سوکارا (بر مبنای میزان جذب در آزمون الیزا)

وزن‌تر و خشک ریشه

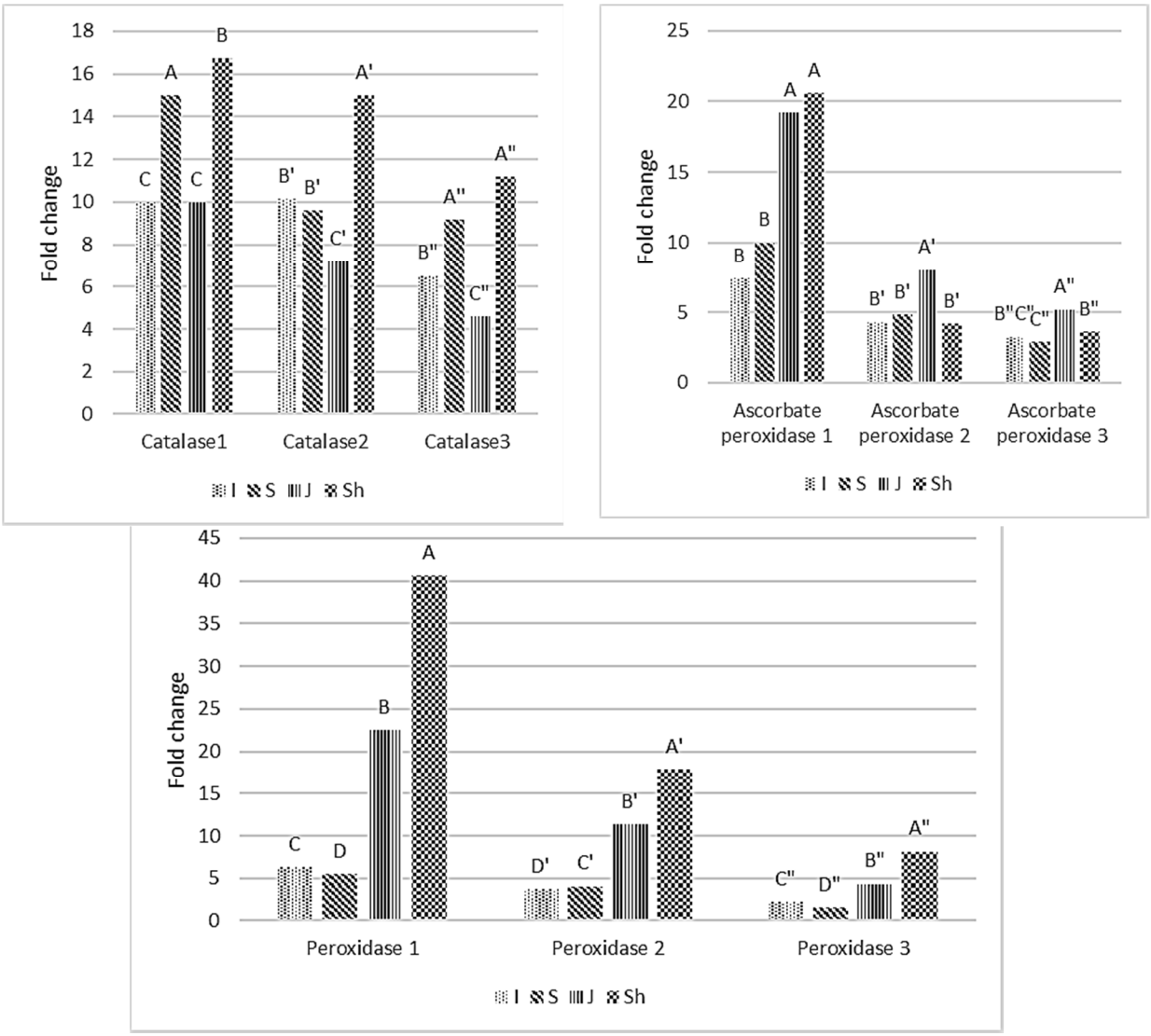
میزان وزن خشک ریشه در رقم مقاوم سوکارا بیشترین مقدار را نشان داد اما در سایر ارقام اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۲). از نظر وزن‌تر ریشه رقم مقاوم سوکارا بیشترین مقدار و رقم حساس شریف کمترین مقدار وزن‌تر ریشه را نشان داد (شکل ۲).



شکل ۲ مقایسه میانگین اثر BNYVV بر روی وزن‌تر و خشک ریشه در ارقام حساس (Sh شریف و J جلگه) و مقاوم (S سوکارا و I ایزابلا)

بررسی فعالیت‌های زیست‌سنجی

سه آنزیم کاتالاز، آسکوربیت پراکسیداز و پراکسیداز بیشترین مقدار فعالیت را در هفته اول بعد از آلودگی داشتند (شکل ۳). ارقام شریف و جلگه بیشترین و ارقام مقاوم ایزابلا و سوکارا کمترین تغییرات را در فعالیت آنزیمی را نشان دادند.



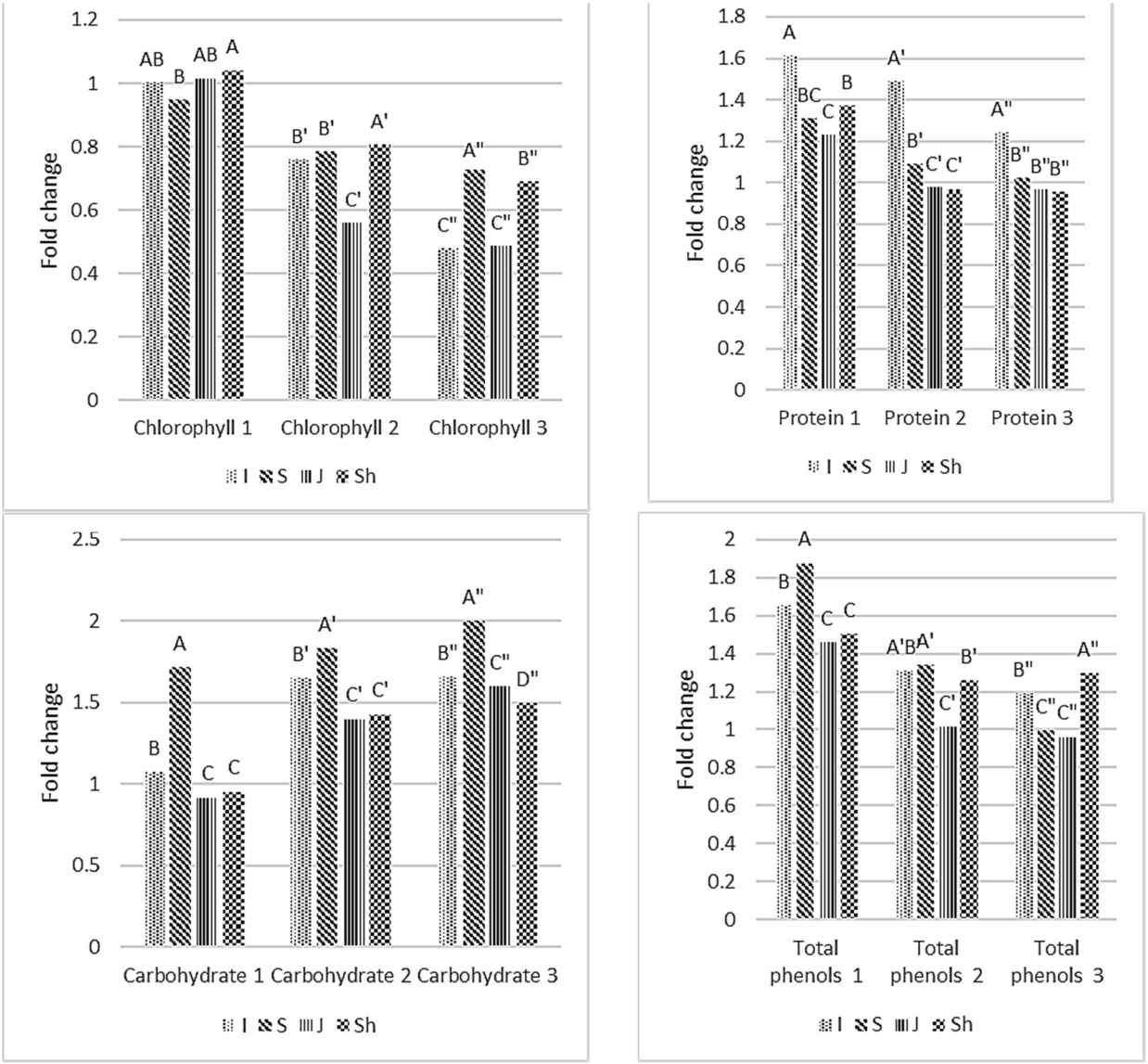
شکل ۳ مقایسه میانگین اثر BNYVV بر روی میزان آنزیم کاتالاز، آسکوربیت پراکسیداز و پراکسیداز در ارقام حساس (Sh شریف و J جلگه) و مقاوم (S سوکارا و I ایزابلا)

میزان کلروفیل در برگ‌ها به مرور زمان کاهش پیدا کرد. در هفته سوم بعد از مایه‌زنی نشان داد که کمترین مقدار کلروفیل مربوط به رقم جلگه و بیشترین مقدار مربوط به رقم سوکارا بود (شکل ۴). میزان پروتئین کل در ارقام مقاوم و حساس در هفته سوم بعد از مایه‌زنی کاهش پیدا کرده است، هرچند که رقم سوکارا بیشترین مقدار را با اختلاف معنی‌داری نسبت به سایر ارقام نشان

داد (شکل ۴).

نتایج نشان می‌دهد میزان کربوهیدارت در گذر زمان در ارقام مقاوم و حساس افزایش پیدا کرده است. رقم سوکارا بیشترین میزان کربوهیدارت را در هفته سوم بعد از مایه زنی نشان می‌دهد.

دو رقم مقاوم سوکارا و ایزابلا در هفته اول بعد از مایه‌زنی بیشترین مقدار فنول کل را در مقایسه با ارقام حساس تولید کرده بودند.



شکل ٤ مقایسه میانگین اثر BNYVV بر روی میزان کلروفیل، پروتئین، کربوهیدرات و فنول در ارقام حساس (Sh شریف و J جلگه) و مقاوم (S سوکارا و I ایزابلا)

بحث

مقایسه وزن تر و خشک ارقام با هم نشان داد رقم سوکارا با کمترین تغییر تحمل بیشتری در مقابل آلودگی به BNYVV دارد. از طرف دیگر رقم شریف با کاهش بیشتر در وزن‌تر و خشک ریشه نشان داد که حساسیت بیشتری به ویروس دارد.

نتایج فعالیت آنتی‌اکسیدانی ارقام در پاسخ به آلودگی به BNYVV نشان داد که تولید آنزیم‌های وابسته به استرس در هفته اول بعد از آلودگی افزایش می یابد. ارقام حساس (جلگه و شریف) بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در پاسخ به آلودگی نشان دادند. در نتیجه، این ارقام میزان انرژی بیشتری را در برهمکنش با ویروس مصرف می‌کنند. مطالعات بر روی گیاه خیار آلوده به ویروس موزائیک خیار (Cucumber Mosaic Virus) نشان داد که آنزیم پروکسیداز در سه روز اول بعد از آلودگی بیشترین فعالیت را از خود نشان می‌دهد (Riedle-Bauer *et al*. 1998). در این مطالعه پاسخ آنتی‌اکسیدانی به BNYVV در هفته‌های دوم و سوم بعد از آلودگی کاهش یافت که نشان دهنده نقش این آنزیم‌ها در مرحله اولیه آلودگی در پاسخ گیاه چغندرقند به ویروس می‌باشد. مطالعه آنتی‌اکسیدانت‌ها در انگور آلوده به ویروس برگ بادبزنی مو (Grapevine Fanleaf Virus) نیز نشان داد که فعالیت این گروه از آنزیم‌ها در مراحل اول آلودگی به بیشترین مقدار خود می رسد (Sgherri *et al*. 2013). ارقام حساس (جلگه و شریف) بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیداتیو را در مقایسه با ارقام مقاوم از خود نشان دادند که این نتیجه نشان دهنده این است که مقاومت این ارقام به فعالیت این آنزیم‌ها ارتباط ندارد و احتمالاً مکانیسم مقاومت وابسته به ژن‌ها و یا به مسیرهایی می‌باشد که مستقل از فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو می‌باشند. نتایج مطالعه بر روی ارقام جو حساس به سمیت بور نشان داد که فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در ارقام حساس بیشتر است که نتایج این مطالعه در خصوص پاسخ آنزیمی گیاه چغندرقند به استرس ویروس را تأیید می‌کند (Karabal *et al*. 2003).

تولید و تجمع ترکیبات فنولی در بافت‌های گیاهی آلوده شده به بیمارگرها در چندین مطالعه برهمکنش پاتوژن–میزبان مورد تایید قرار گرفته است (Nicholson and Hammerschmidt 1992; Pérez-Bueno *et al*. 2014). این ترکیبات فنولی به عنوان سطوح فیزیکی و شیمیایی دفاع در پاسخ به عوامل بیماری ایجاد می گردد. در این مطالعه میزان فنول کل در تمامی ارقام مقاوم و حساس در پاسخ به ویروس افزایش یافت. بیشترین میزان تولید ترکیبات فنولی در هفته اول بعد از آلودگی مشاهده گردید. به عبارتی دیگر تولید ترکیبات فنولی با مسیرهای مقاومتی که در مرحله اول آلودگی به BNYVV فعال می‌باشند، مرتبط است. افزایش ترکیبات فنولی در مراحل اولیه آلودگی می‌تواند سبب افزایش راندمان فعالیت‌های سیستم آنتی‌اکسیدانت گردد (Sgherri *et al*. 2013). ارقام مقاوم ببیشترین میزان تولید ترکیبات فنولی را در مقایسه با ارقام حساس نشان دادند که این نکته نشان دهنده فعال بودن مکانیسم مقاومت و مسیرهای مقاومتی در مقابل آلودگی حاصل از BNYVV می‌باشند.

کربوهیدارت‌ها ممکن است سبب پیام‌رسانی در زمان آلودگی گیاهان به عوامل بیماری‌زا گردند (Herbers *et al*. 2000). در زمان آلودگی گیاه چغندرقند به BNYVV میزان کربوهیدارت‌ها افزایش یافت. رقم ایزابلا (رقم مقاوم) بیشترین مقدار کربوهیدارت را در هفته اول و دوم بعد از آلودگی نشان داد. این نتیجه می‌تواند نشان دهنده این موضوع باشد که مقاومت رقم

مقاوم به مسیرهایی مرتبط است که به مصرف کربوهیدارت وابسته هستند و پاسخ سریع‌تری را به آلودگی نشان می‌دهند. در یک مطالعه مشابه بر روی سیب زمینی آلوده به ویروس y (Potato virus Y^N) مشخص شد که میزان قندها در چهار روز اول بعد از آلودگی افزایش می‌یابد (Herbers *et al*. 2000).

میزان کلروفیل در گیاه خردل آلوده به (Turnip Mosaic Virus) بعد از دو هفته در مقایسه با گیاه کنترل به شدت کاهش یافت که این نتایج مشابه با مطالعه کنونی می‌باشد (Guo *et al*. 2005). در این مطالعه هر دو گروه رقام مقاوم و حساس کاهش شدید کلروفیل را در مقایسه با گیاه کنترل نشان دادند. BNYVV در گیاه چغندرقند سبب نکروز شدن رگبرگ‌ها می‌شود اما نکروز کامل رگبرگ‌ها در مدت سه هفته بعد از آلودگی در سرایط گلخانه مشاهده نگردید. میزان پروتئین کل در همه ارقام چغندرقند بعد از آلودگی افزایش پیدا کرد. این احتمال وجود دارد که مقاومت ارقام مقاوم وابسته به تولید پروتئین کل باشد به دلیل این که میزان پروتئین کل در ارقام مقاوم بیشتر تولید گردید. بنابراین ممکن است ارقام مقاوم با تولید پروتئین‌های مرتبط با مقاومت بیماری‌زایی ویروس را در گیاه کاهش دهند. مقدار بیشتر پروتئین‌ها در هفته اول بعد از آلودگی نشان دهنده فعال‌تر بودن این سیستم مقاومت در مراحل اولیه بیماری‌زایی می‌باشد. به منظور بررسی بیشتر و آشکار شدن نوع و مسیرهای مقاومت پیشنهاد می‌شود که در تحقیق‌های بعدی میزان بیان PR-proteins یا پروتئین‌های مرتبط با بیماری‌زایی و یا با استفاده از تکنیک RNA-Seq مسیرهای فعال در ارقام مقاوم و حساس در پاسخ به BNYVV مشخص گردد.

منابع مورد استفاده: References:

Aebi H. Catalase in vitro. Methods in enzymology. 1984;105:121-6.

Agrios G. Plant Pathology., 5th edn. (Academic Press: San Diego). 2005.

Arnon D. Copper enzymes in isolated chloroplasts: Polyphenol oxidase in Beta dulgaris. Pl Physiol. 1949; 24:1-15.

Bandyopadhyay U, Das D, Banerjee RK. Reactive oxygen species: oxidative damage and pathogenesis. Current Science. 1999:658-66.

Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt KV. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. Annuals of Botany. 2003; 91(2):179-94.

Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry. 1976;72(1-2):248-54.

Buysse J, Merckx R. An improved colorimetric method to quantify sugar content of plant tissue. Journal of Experimental Botany. 1993;44(10):1627-9.

Chance B, Maehly A. [136] Assay of catalases and peroxidases. Methods in enzymology. 1955; 2:764-75.

Garmendia I, Goicoechea N, Aguirreolea J. Effectiveness of three Glomus species in protecting pepper (*Capsicum annuum*

L.) against verticillium wilt. Biological Control. 2004;31(3):296-305.

Ghorbani A, Ghorbani S, Hamzehzarghani H, Izadpanah K. ELISA Analyzer•, a Software to Analyze and Optimize ELISA Data. Iranian Journal of Virology. 2014;8(4):42-34.

Grimmer M, Trybush S, Hanley S, Francis S, Karp A, Asher M. An anchored linkage map for sugar beet based on AFLP, SNP and RAPD markers and QTL mapping of a new source of resistance to Beet necrotic yellow vein virus. Theoretical and applied genetics. 2007;114(7):1151-60.

Guo D-P, Guo Y-P, Zhao J-P, Liu H, Peng Y, Wang Q-M, et al. Photosynthetic rate and chlorophyll fluorescence in leaves of stem mustard (*Brassica juncea* var. tsatsai) after turnip mosaic virus infection. Plant Science. 2005;168(1):57-63.

Herbers K, Takahata Y, Melzer M, Mock HP, Hajirezaei M, Sonnewald U. Regulation of carbohydrate partitioning during the interaction of potato virus Y with tobacco. Molecular Plant Pathology. 2000;1(1):51-9.

Karabal E, Yücel M, Öktem HA. Antioxidant responses of tolerant and sensitive barley cultivars to boron toxicity. Plant Science. 2003;164(6):925-33.

Keen N, Littlefield L. The possible association of phytoalexins with resistance gene expression in flax to Melampsora lini. Physiological Plant Pathology. 1979;14(3):265-80.

Mehra V, Tripathi J, Powell A. Aerated hydration treatment improves the response of Brassica juncea and Brassica campestris seeds to stress during germination. Seed Science and Technology. 2003;31(1):57-70.

Mittler R, Vanderauwera S, Gollery M, Van Breusegem F. Reactive oxygen gene network of plants. Trends in Plant Science. 2004;9(10):490-8.

Nakano Y, Asada K. Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts; its inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydro ascorbate radical. Plant and Cell Physiology. 1987;28(1):131-40.

Nicholson RL, Hammerschmidt R. Phenolic compounds and their role in disease resistance. Annual Review of Phytopathology. 1992;30(1):369-89.

Pavli OI. Molecular characterization of Beet necrotic yellow vein virus in Greece and transgenic approaches towards enhancing rhizomania disease resistance2010.

Pérez-Bueno ML, Granum E, Pineda M, Flors V, Rodriguez-Palenzuela P, López-Solanilla E, et al. Temporal and Spatial Resolution of Activated Plant Defense Responses in Leaves of Nicotiana benthamiana Infected with Dickeya dadantii. Frontiers in Plant Science. 2014;6:1209-.

Pieterse CM, Ton J, Van Loon L. Cross-talk between plant defence signalling pathways: boost or burden? Ag Biotech Net. 2001;3(June):1-8.

Riedle-Bauer M. Activities of antioxidant enzymes in cucumber plants infected with cucumber mosaic virus. Phyton. 1998.

Sairam R, Chandrasekhar V, Srivastava G. Comparison of hexaploid and tetraploid wheat cultivars in their responses to

water stress. Biologia Plantarum. 2001;44(1):89-94.

Seevers P, Daly J. Studies on Wheat stem rust resistance controlled at the Sr6 locus. I. The role of phenolic compounds. Phytopathology. 1970;60(9):1322-8.

Sgherri C, Ranieri A, Quartacci MF. Antioxidative responses in Vitis vinifera infected by grapevine fanleaf virus. Journal of plant physiology. 2013;170(2):121-8.

Tamada T, Baba T. Beet necrotic yellow vein virus from rizomania-affected sugar beet in Japan. Japanese Journal of Phytopathology. 1973;39(4):325-32_1.

Thomma BP, Penninckx IA, Cammue BP, Broekaert WF. The complexity of disease signaling in Arabidopsis. Current opinion in immunology. 2001;13(1):63-8.

Woodruff D, Lewellen R, Duffas J, Whitney E. An investigation into the effects of soil compaction and irrigation on sugar beet infected with rhizomania. Soil and Tillage Research. 1986;8:353.

Yordanova RY, Christov KN, Popova LP. Antioxidative enzymes in barley plants subjected to soil flooding. Environmental and Experimental Botany. 2004;51(2):93-101.