VI. SUMMARY

Sugar beet (*Beta vulgaris L.*) crop is considered as the second important sugar crops after sugarcane as a source for sugar in Egypt. Also, it is important for several complementary industries. Its cultivate area and productivity have been doubled several folds, (from 11,000 feddans in 1981 to 170,000 feddans in 2006 with average of 22 ton /feddan. Sugar beet can be affected with several plant viruses; some of these viruses cause significant economic reduction in the yield of the crop. Therefore, this study aimed to isolate one, or two of them, then studying biological and chemical properties of the virus(es), the effect on growth and some chemical constitunets of yield, and analysis of genetic variation among some different sugar beet cultivars.

The results of this study could be summarized as follows:

Collection of sugar beet plants exhibited virus-like symptoms appear to be suggested having three viruses, i.e., BtMV, BNYVV and BCTV from open fields, El-Riad district, Kafer El-Sheikh Governorate, Egypt, but the symptoms concerning BtMV was observed to be dominant, therefore, the characterized of BtMV was performed

I) Biological studies:

a) After isolation of BtMV by single local lesion, the result of mechanical inoculation of different host range revealed that the virus was mechanically transmitted to 17 hosts belonging to four different families.

b) The virus was able to transmit by aphids of *Myzus persicae* (Sulz) and *Aphis fabae* (Glover) in non-persistent manner with percentage of 70 and 57.5%, respectively.

c) Virus-infected leaves showed the presence of cylindrical inclusions as pinwheels and laminated aggregates, at which assigned to Subdivision II of CI-potyviruses.

II) Chemical studies:

a) The purified virus preparation showed a typical curve of nucleoprotein with a minimum and a maximum at wave length of 245 and 260 nm, respectively. Values of Amax/Amin and $A_{260/280}$ ranged from 1.6-1.7 and 1.3-1.4, respectively.

b) The average yield of the purified virus was estimated to be 20-30 mg of virus / Kg infected leaf tissues.

c) Purified virus preparation showed flexible filamentous virus particles measuring 700-750 x13 nm when negatively stained in 2% uranyl acetate and examined by transmission electron microscope.

d) BtMV-coat protein was estimated to be about 34 kDa by SDS-PAGE.

e) The ssRNA of BtMV genome was isolated and its size length was determined to be about 10 kb by agarose gel electrophoresis.

f) The complete BtMV-*cp* gene was amplificated from the full BtMV-RNA genome and its size estimated to be about 755 bp by RT-PCR.

III) Serological studies:

a) A diagnostic antiserum for BtMV was prepared (when the rabbit was injected with 7 mg purified virus) since it reached to a titer 1:4096 after two weeks post last injection and showed negative result with healthy beet plant extracts.

b) TBIA was successfully used as a serological technique for detection of BtMV from infected sugar beet leaves. DBIA was found to be sensitive and rapid method for detection of BtMV. The test gave positive results in the form of purple color with the purified virus preparations and with the infectious sap dilutions up to 10^{-6}.

IV)Effect of BtMV on sugar beet plant:

a) BtMV was found to affect fresh and dry weight of shoots and roots, the percentage of reduction ranged from 21-51, 25-49 % and 27-57, 29-56 %, respectively,

obeikandl.com

b) BtMV caused significantly reduction of sucrose content in storage roots of different cultivars of sugar beet which ranged from 29-50%. Wherea, sodium content was ranged from 7-17 %. The amino nitrogen content in the storage roots was affected by BtMV infection with varied from 2-15 % increased, whereas the potassium content was non-significantly reduced in all sugar beet cultivars.

V) ISSR-PCR analysis

ISSR dendrogram obtained from cluster analysis of genetic distances and similarity index for sugar beet cultivars are revealed that the strongest relationship was scored between Desprez poly (N) and 9002 (90%), while cultivars FD9402 and Pamher were shown to be the most genetically distant accessions (79%). This result is compatible with that obtained with biological results at which, cultivars Desprezpoly (N) and 9002 gave 60 and 50 % resistance to BtMV. The ISSR-based coefficients of genetic similarity among the ten cultivars of sugar beet resulted in dendrogram, where comprised into three clusters, the first one was included four sugar beet cultivars, i.e., Desprez poly(N), 9002, Pamher and LP12 (60, 50, 45 and 40 % resistance to BtMV); the second cluster includes four cultivars, Gloriuspoly, Raspoly, M9651 and LP13 (30, 25, 20 and 15 % resistance to BtMV); the third cluster includes cultivars Gazel and FD9402 (10 and zero % resistance to BtMV).

Obeikandl.com

VII. REFERENCES

Abdel-Gaffar, M.H. and Eman S.H. Farrag (2004). Detection and some characteristics of beet necrotic yellow vein benyvirus from Rhizomani-affected sugar beet in Egypt. J. Biotechnol. 18:215-232.

Abdel-Ghaffar, M.H.; K.A. El-Dougdoug and A.S. Sadik (1998). Serology and partial characterization of the Egyption isolate of zucchini yellow mosaic potyvirus. Arab Univ. J. Agric. Sci., Ain Shams Univ., Cairo, 6(2): 313-327.

Abdel-Ghaffar, M.H.; M.I. Salama and S.Y.M. Mahmoud (2003). Electron microscopy, serological and molecular studies on an Egyptian isolate of beet mosaic potyvirus . **Arab Univ. J. Agric. Sci., Ain Shams Univ., Cairo, 11(2): 469-484.**

Nashwa, M.A. Abd El-Mohsen; A.S. Gamal El-Din; Sohair, I. El-Afifi; A.S. Sadik and H.M. Abdelmaksoud (2003). Characterization of potato virus Y strain "N-Egypt". Annals Agric. Sci., Ain Shams Univ., Cairo, 48(2): 485-504.

Abdel-Salam, A.M. (1999). Effect of Triton X-100 inclusion in extraction buffer in reducing non-specific backgrounds in dot blot immuno binding assay (DBIA) of plant viruses. Arab Journal of Biotechnology, 2 (1): 89-96.

Abdel-Salam, A.M. and Manal A. El-Shazly (2001). Occurrence of rhizomania of sugar beet in Egypt associated with beet necrotic yellow vein benyvirus infection. Arab Journal of Biotechnology, 5 (1): 135-150.

Abdel-Salam, A.M.; A.A. Hassan; M.M. Merghany; K.M. Abdel Ati and Y.A. Ahmed (1997). The involvement of a geminivius, a closterovius, and a spherical virus in the interveinal mottling and yellows diseases of cucurbits in Egypt. Bull. Fac. Agic. Univ. of Cairo 48: 707-722.

obeikandi.com

Adams, M.G.; G.S. Antoniw and C.M. Faucuet (2005). Molecular criteria for genus and species discrimination within the family *Potyviridae*. Arch. Virol. 150 (3): 459-479.

Allam, E.K., Sohair I. El-Afifi and A.S. Sadik (2000). Inclusion bodies as a rapid mean for detection of some plant viruses. Proceedings 9th Congress of the Egyptian Phytopathology Soc., Giza, May 8-10, 2000, pp. 117-141.

AOAC, (1975). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 12th Eddition, DC 20044, Washington.

Avgelis, A. and N. Katis (1992). Occurrence of beet mosaic potyvirus on sugar beet in Greece. Phytopathologia Mediterranea. 31 (1): 49-52.

Badr, A.E. (1986). Studies on some sugar beet virus diseases, PP. 39-41. Ph.D. Thesis, Dept. of Agric. Botany, Fac. of Agric., Moshtohor, Banha Branch, Zagazig University, Egypt.

Becher-Andre, M. and K. Hahlbrock (1989). Absolute mRNA quantification using the polymerase chain reaction (PCR). A novel approach by PCR aided transcript titration assay (PATTY). Nucleic Acids Res. 17: 9437.

Bennet, C.W. (1964). Isolates of beet mosaic virus with different degrees of virulence. J. Amer. Soc. Sugar Beet Technol. 13: 27-32.

Brunt, A.A.; K. Cratree; M.J. Dallwitz; A.J. Gibbs and L. Watson (1996). Viruses of Plants. pp. 211-214, C.A.B. International, Wallinggford, U.K.

Carruthers, A. and J.F.T. Oldfield (1961). Methods for the assessment of beet quality. Part II. Determination of non-sugars in beet. International Sugar Journal 63:103-105.

Chng, C.G.; K.C. Lee; P.H. Mahton and S.M. Wong (1997). Sequence and phylogenetic analysis of the cytoplasmic inclusion protein gene of Zuchinii yellow mosaic potyvirus. Its role in classified of *Potyviridae*. Virus Genes, 14 (1): 41-53.

obeikandi.com

Chod, J. and D. Chodova (2004). The development of diagnostic methods for sugarbeet viruses. II. Primary diagnostic methods. Listy Cukrovarnicke a Reparske. VUC Praha A.S., Prague, Czech Republic. 120(12): 332-333.

Clark, M.F. and N.E. Adams (1977). Characteristics of the microtiter plate method of enzyme-linked immunoassay (ELISA), for the detection of plant viruses. J. Gen. Virol. 37:475-483.

Collins, N.C.; C.A. Webb; S. Seah; J.G. Ellis; S.H. Hulbert and A. Pryor (1998). The isolation and mapping of disease resistance gene analogues in maize. Mol. Plant Microbe Interact. 11:968-978.

De Lourdes, V.B.; J.C. Sequeira and D. Louro (1981). Potyviruses recorded in Portugal. Purification, serology and host-virus ultrastructural relationships. Biol. Soc. Brot., Ser. 53 (2):935-942.

Dent, K.C.; J.R. Stephen and W.E Finch-Savage (2004). Molecular profiling of microbial communities associated with seeds of *Beta vulgaris* subsp. Vulgaris (sugar beet). Jurnal of Microbiological Methods. Elsevier Science Ltd, Oxford, UK. 56(1): 17-26.

Detavernier, R. (1979). Organic non-sugars. In Sugar Analysis, pp. 103-105. Ed F Schneider. Brussels, Belgium: International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis.

D'Onghia, A.M.; K. Djelouah; D. Frasheri and O. Potere (2001). Detection of Citrus psorosis virus by direct tissue blot immunoassay. Journal of Plant Pathology. 83(2), 139-142.

Dusi, A.N. (1999). Beet mosaic virus: epidemiology and damage. Beet mosaic virus: epidemiology and damage.. Landbouwuniversiteit Wageningen (Wageningen Agricultural University), Wageningen, Netherlands: 1999. 137 pp.

Dusi, A.N. and D. Peters (1999). Beet mosaic virus: its vectors and host relationships. J. Phytopathol. 147: 293-298.

Dussle, C.M.; A.E. Melchinger; L. Kuntze; A. Stork and T. Lubberstedt (2000). Molecular mapping and gene action of *Scm1* and *Scm2*, two major QTL contributing to SCMV resistance in maize. Plant Breeding. 119(4):299-303.

Edwardson, J.R. (1974). Some properties of the potato virus Y group. Flor. Agric. Exp. Stn. Monogr. 4: 185-187.

Edwardson, J.R. and R.G. Christie (1996). Cylindrical inclusions. Univ. of Floridae, Agric. Exp. Station Bull. 894: 79-84.

Edwardson, J.R.; R.G. Christie and N.J. Ko (1984). Potyvirus cylindrical inclusions subdivision IV. Phytopathology 74: 1111-1114.

El-Afifi, Sohair I. (1997). Detection of some viruses affecting banana, potato and soybean plants in tissue culture by ELISA. Proc. of the 1st Sci. Conf. of Agric., Assuit Univ., December, 13-14.

Emilio Rodrignaz Cerezo Cim Findlay, Gohn G. Shaw, Gorge B. Lomonossofs, Shirley G. Qui, Paul Linstead, Michael Shanks and Cristine Risco (1997). Annalysis of cytoplasmic inclusions protein genes of Tobbaco vein mottling virus. Virol. 236: 296-306.

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 2006.

Fitch, M.M.M.; A.T. Lehrer; E. Komor and P.H. Moore (2001). Elimination of sugarcane yellow leaf virus from infected sugarcane plants by meristem tip culture visualized by tissue blot immunoassay. Plant Pathology. 50(6): 676-680.

Flegg, C.L. and M.F. Clark (1979). The detection of apple chlorotic leafspot virus by modified procedure of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Ann. Appl. Biol. 91: 61-65.

Friesen, T.L.; J.J. Weiland; M.L. Aasheim; S. Hunger; D.C. Borchardt and R.T. Lewellen (2006). Identification of a SCAR marker associated with *Bm*, the beet mosaic virus resistance gene on chromosome 1 of sugar beet. Plant Breeding 125: 167-172.

openkanal.com

Fujisawa, I.; T. Tsuchizaki and N. Iizuka (1983). Purification and serology of beet mosaic virus. Annals of Phytopathological Society of Japan 49: 22-31.

Gadysiak, K. and W. Peczynski (1998). Infestation of fodder beets by beet mosaic virus (BMV) dependent on factors of agrotechnics and environments. Progress in Plant Protection. 38(2): 558-561.

Ghorbani, S.; G.H. Mossahebi; S. Jalali and M. Okhovvat (2001). Purification and concentration determination of 2 viruses causing mosaic in sugarbeet in Karaj region, Iran. Iranian Journal of Agricultural Sciences. Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran. 32 (1):41-51.

Gibbs, A. and B. Harison (1976). Plant Virolory, the Principles. P. 116, John Wiley and Sons, New York.

Glasa, M.; Z. Subr; F. Ciampor and O. Kudela (2000). Some properties of a beet mosaic virus isolate from western Slovakia. Biologia, Bratislava 55: 85-89.

Glasa, M.; O. Kudela and Z. Subr (2003). Molecular analysis of the 3' terminal region of the genome of beet mosaic virus and its relation with other potyviruses. Archives of Virology. Springer-Verlag Wien, Wien, Austria: 148(9): 1863-1871.

Griffin, R.L. (1990). Using the transmission electron microscope in the biological sciences. Ellis Horwood, New York.

Gupta, M., Y.S. Chyi, S.J. Romero and J.L. Owen (1994). Amplification of DNA markers, from evolutionary diverse genomes using single primers of simple sequence repeats. Theor. and Appl. Genet. 89: 998-1006.

Hammond, J. and R.H. Lawson (1981). An improved purification procedure for preparing potyviruses and cytoplasmic inclusions from the same tissue. J. Virol. Methods 3: 203-217.

Hibi, I. and Y. Saito (1985). A dot immunobinding assay for the detection of tobacco mosaic virus in infected tissues. J. of Gen. Virol. 66: 1191-1194.

Obeikandi.com

Hill, J.H. and R.J. Shepherd (1972). Molecular weights of plant virus coat proteins associated with viruses in the potato Y group. Virology. 56: 349-361.

Ismail, M.H. (1997). The use of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for quantitive detection of potato virus Y in potato and other test plants. Microbiol. Res. 152: 307-313.

Jalali, S.; G.H. Masahebi and M. Okhoyat (2003). Effect of beet mosaic virus on sugarbeet in green house condition. Journal of Sugar Beet Seed Institute, Karaj, Iran. 18(2): 109-118.

Hammond, J. (1998). Serological relationships between the cylindrical inclusion proteins of potyviruses. Virol. 88(9): 965-971.

Jordan, R. and J. Hammond (1991). Comparative and differentiation of potyvirus isolates and identification of strain-, virus-, subgroup-specific and potyvirus group-common epitopes using monoclonal antibodies. J. of Gen. Virol. 72: 25-36.

Juretic, N. (1998). First report of beet mosaic potyvirus on sugar beet in Croatia. Acta Botanica Croatica. 58: 141-145.

Kaffka, S. and R.T. Lewellen (2001). UCIPM Pest Management Guidelines: Sugar beet diseases. Agronomy and Range Science, UC Davis. UC ANR Publication 3469.

Kamenova, I. and S. Adkins (2004). Comparison of detection methods for a novel tobamovirus isolated from Florida hibiscus. Plant Dis. 88:34-40.

Kassim, N.A.; Al-Mallah and N.A. Ramadan (1993). Susceptibility of some varieties of sugar beet to beet mosaic virus (BMV). Arab Univ. J. Agric. Sci., Ain Shams Univ., Cairo, 1(1): 89-95.

Koening, R. (1981). Indirect ELISA methods for the broad specificity detection of plant viruses. J. of Gen. Virol. 55: 53-62.

Kolesnik, L.V. (1987). Cylindrical inclusions in cells of plants infected by beet mosaic virus. Mikrobiologicheskii Z. 49: 85-86.

obeikandi.com

Kumari, S.G.; K.M. Makkouk and N. Attar (2006). An improved antiserum for sensitive serologic detection of chickpea chlorotic dwarf virus. Journal of Phytopathology vol. 154 :129-133.

Kwon, S.Y.; C.S. An; J.R. Liu and K.H. Paek (1997). Aribosome-inactivating protein from *Amaranthus viridis*. Biosc. Biotech. and Bioch. 61: 1613-1614.

Laemmli, U.K. (1970). Cleavage of structure proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature, London 227 : 680-785.

Laurent, V.; P. Devaux; T. Thiel; F. Viard; S. Mielort; P. Touzet and M.C. Quillet (2007). Comparative effectiveness of sugar beet microsatellite markers isolated from genomic libraries and GenBank ESTs to map the sugar beet genome. TAG Theoretical and Applied Genetics. Springer-Verlag GmbH, Berlin, Germany. 115(6) : 793-805

Le Docte A. (1927). Commerical determination of sugar in the beet root. International Sugar Journal 29: 488-492.

Lin, N.S. and Hus, Y.H. (1990). Immunological detection of plant virus and a mycoplasmalike organism by direct tissue blotting in nitrocellulose membranes. Phytopathology. 80: 824-828.

Lubberstedt, T.; X.C. Xia; M.L. Xu; L. Kuntze and A.E. Melchinger (1999). Inheritance of resistance to SCMV and MDMV in European maize. Genetics and breeding for crop quality and resistance. Proceedings of the XV EUCARPIA Congress, Viterbo, Italy, September 20-25, 1998. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Germany: 1999. 241-250.

Lubberstedt, T.; C. Ingvardson; A.E. Melchinger; Y. Xing; R. Salomon and M.G. Redinbaugh (2006). Two chromosome segments confer multiple potyvirus resistance in maize. Plant Breeding. Blackwell Publishing, Berlin, Germany. 125(4):352-356.

obeikandl.com

Mahmoud, T. and C.M. Rush (1999). Evidence of cross-protection between beet soilborne mosaic virus and beet necrotic yellow vein virus in sugar beet. ***Plant Dis.* 83: 512-526.**

Mahmoud, S.Y.M.; Galal, A.M. and Abdel-Ghaffar, M.H. (2005). Biological and molecular studies on an Egyptian isolate of beet curly top geminivirus . Egypt. J. Biotechnol. Vol. 20, June, 2005.

Makkouk, K.M. and A. Comeau (1994). Evaluation of various methods for the detection of barley yellow dwarf virus by the tissue-blot immunoassay and its use for virus detection in cereals inoculated at different growth stages. European Journal of Plant Pathology. 100 (1) :71-80.

Makkouk, K.M. and D.J. Gumpf (1976). Characterization of potato virus Y strain isolated from pepper. Phytopathology 66: 576-581.

Makkouk, K.M. and Kumari, Safaa G. (2002). Low-cost paper can be used in tissue-blot immunoassay for detection of cereal and legume viruses. Phytopathologia Mediterranea, 41(3): 275-278.

Mali, V.R. (2000). Natural infection of beet by beet mosaic potyvirus (BtMV) in west Slovakia. Zeitscrift-fur-pflanzen krankheiten-und-pflanzenschutz. 107(5): 539-547.

Mali, V.R.; M. Glasa; O. Kudela and F. Ciampor (2000). Natural occurrence of beet mosaic potyvirus (BtMV) on beet in west Slovakia. Sugar Tech. World Media, New Delhi, India. 2: 44-53.

Matthews, R.E.F. (1970). Plant Virology. Acad. Press, New York and London, pp. 169-170.

Mayo, M.A.; G. Maniloff and L.A. Ball (2005). Virus taxonomy: 8 th Report of the International Committee on Taxonomy of Virus. 1162 pp.; 2 nd edition (June 28, 2005).

Melchinger, A.E.; L. Kuntze; R.K. Gumber; T. Lubberstedt and E. Fuchs (1998). Genetic basis of resistance to sugarcane mosaic virus in European maize germplasm. Theoretical and Applied Genetics. 96(8): 1151-1161.

obeikandi.com

Moran, J.; B. Van Rijswijk; V. Traicevski; E.W. Kitajima; A.M. Mackenzie and A.J. Gibbs (2000). Potyviruses, noval and known, in cultivated and wild species of the family Apiaceae. Arch. Virol. 147(10): 1855-1867.

Nemchinov, L.G.; J. Hammond; R. Jordan and R.W. Hammond (2004). The complete sequence, genome organization, and specific detection of beet mosaic virus. Arch. Virol. (online) DOI 10. 1007 / SOO705-003-0278-3.

Njukeng, A.P.; G.I. Atiri and J.A. Hughes (2005). Comparison of TAS-ELISA, dot and tissue blot, ISEM and immunocapture RT-PCR assays for the detection of *Yam mosaic virus* in yam tissues. Crop Protection, 24 (6): 513-519.

Noordam, D.D. (1973). Identification of plant viruses. Methods and experiments. Center for Agricultural Published and Documentation. Wageningen, Netherlands, pp. 207-280.

Okhoyvat, M.; S. Jalali; G.H. Massahebi and S. Ghorbani (2001). Purification and concentration determination of 2 viruses causing mosaic in sugarbeet in Karaj region, Iran. Iranian Journal of Agricultural Sciences. Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran. 32(1): 41-51.

Owolabi, T.A.; M.A. Taiwo; G.A. Thottappilly; S.A. Shoyinka; E. Proll and F. Rabenstein (1998). Properties of a virus causing mosaic and leaf curl disease of *Celosia argentea* L. in Nigeria. Acta Virologica. 42(3): 133-139.

Peters, D.; E. Brooijmans and P.F.M. Grondhuis (1990). Mobility as a factor in the efficiency with which aphids can spread non-persistently transmitted viruses. A Laboratory study. Proceedings of the Section Experimental and Applied Entomology of the Netherlands Entromological Society No. 1, pp. 190-194.

Prito, H.; A. Bruna; P. Hinrichsen and C. Munoz (2001). Isolation and molecular characterization of a Chilean isolate of *Zucchini yellow mosaic virus*. Plant Dis. 85:644-648.

openkanari.com

Rae, S.J.; C. Aldam; I. Dominguez; M. Hoebrechts; S.R. Barnes and K.J. Edwards (2000). Development and incorporation of microsatellite markers into the linkage map of sugar beet (*Beta vulgaris* spp.). Theoretical and Applied Genetics. 100(8):1240-1248.

Redinbaugh, M.; M. Jones and R. Gingery (2005). The genetics of virus resistance in mize (*Zea mays* L.). Maydica 4 :183-190.

Revers F.; O. Le Gall; T. Candresse and A.J. Maule (1999). New advances in understanding the molecular biology of plant/ potyvirus interactions. MPMI 12: 367-376.

Riedel, D.; D.E. Lesemann and E. Maiss (1998). Ultrastructural localization of nonstructural and coat proteins of 19 potyviruses using antisera to bacterially expressed proteins of plum pox potyvirus. Archives of Virology. 143(11): 2133-2158.

Rogov, V.V.; A.F. Bobkova; A.V. Karasev; A.A. Agranovsky and N.I. Gorbunova (1989). Diagnosis of sugar beet mosaic virus by immunosorbent assay. Doklady Vsesoyuznoi Ordena Leninai Ordena Trudovogo Krasnogo Znameni Akademii Sel'skokhozyaistvennykh Naukim. V.I. Lenina. 8: 7-10.

Rogov, V.V.; A.V. Karasev; A.A. Agranovsky and N.I. Gorbunova (1991). Characterization of an isolate of beet mosaic virus from South Kazakhstan. ***Plant pathology*** 40: 515-523.

Russell, G.E. (1971). Beet mosaic virus. CMI / AABC Descreptions Plant Viruses. No. 53.

Sadik, A.S.; H.A. Hussein; I.A. Abdel-Hamid and S.O. AbdAllah (2003). Serological and molecular studies on potato Y potyvirus isolate. Annals Agric. Sci., Ain Shams Univ., Cairo 48(2): 505-532.

Salama, M.I.; M.H. Abdel-Ghaffar and A.S. Sadik (2003). Molecular and serological studies on an Egyption isolate of plum pox potyvirus. Arab J. Biotech. 6(2):313-326.

obeikandl.com

Sambrook, J.; E.F. Fritisch and T. Maniatis (1989). Molecular Cloning: A Laboratory Manual Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor New York.

SAS. (1996). Statistical Analysis System, SAS User's Guide: Statistics. SAS Institute Inc. Editors, Cary, NC.

Schenck, S.; J.S. Hu and B.E. Lockhart (1997). Use of a tissue blot immuno assay to determine the distribution of sugarcane yellow leaf virus in Hawaii. Sugar cane 4: 5-8.

Schmidt, T. and J.S. Heslop-Harrison (1996). The physical and genomic organization of microsatellites in the sugar beet. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 93: 8761-8770.

Shepherd, R. J. and B.B. Till (1965). Effect of strains of the beet mosaic virus on the yield of sugarbeets. Plant Disease Reporter. 49: 961-963.

Shepherd, R.J.; F.J. Hills, and D.H. Hall. (1964). Losses caused by beet mosaic virus in California grown sugar beets. J. Am. Soc.Sugar Beet Technol. 13 (3): 244-251.

Shepherd, R.J.; B.B. Till and N. Schaad. (1966). A severe necrotic disease of sugar beet caused by a strain of beet mosaic virus. J. Amer. Soc. Sugar Beet Technol. 14: 97-105.

Shukla, D.D. and C.W. Word (1989). Structerure of potyvirus coat proteins and its application the taxonomy of the potyvirus group. Adv. Virus Res., 36:273-314.

Sidek, Z. and N. Sako (1996). Isolation of five viruses naturally infecting cucurbit plants in Malaysia. Journal of BioScience 7(2): 114-121.

Staniulis, J. (1995). Preliminary notes on viruses affecting beets in Lithuania. Biologija. 3/4: 172-173.

Stevens, M. (2007). British Sugar Beet Review. British Sugar plc, Peterborough, U.K. 75(3): 10-12.

Obeikandl.com

Stevens, M.; P.B. Hallsworth and H.G. Smith (2004). The effects of Beet mild yellowing virus and Beet chlorosis virus on the yield of UK field-grown sugar beet in 1997, 1999 and 2000. Ann. Appl. Biol. 144:113-119.

Subikova, V. and E. Kollerva (1999). Monitoring of virus diseases of sugar beet in Slovakia. Listy Cukrovarnicke a Reparske. 115(11): 296-298.

Tamada, T.; Y. Shirako; H. Ade; M. Satio; T. Kiguchi and T. Harada (1989): Production and pathogencity of isolates of beet necrotic yellow vein virus with different numbers of RNA components. J. of Gen. Virol. 70: 3399-3409.

Tsumura, Y., K. Ohba and S.H. Strauss (1996). Diversity and inheritance of inter-simple sequence repeat polymorphisms in Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) and sugi (*Gryptomeria japonica*). Theor. and Appl. Genet. 92: 40-45.

Van Regenmortel, M.H.V. (1982). Serology and Immunochemistry of Plant Viruses. Academic Press, London.

Van Regenmortel, M.H.V.; C.M. Fauqut; D.H.L. Bishop; E.B. Carstens; M.K. Estes; S.M. Lemon; J. Maniloff; M.A. Mayo; D.J. Mcgeoch; C.R. Pringle and R.B. Wichner (2000). Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses. In: Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses, Academic Press, San Diego, 1162 p.

Walkey, D.G.A.(1985). Applied Plant Virology, *pp.* 93-102. Wiley-Interscience Publications, New York, USA.

Watson, D.J. and M.A. Watson (1953). Comparative physiological studies on the growth of field crops. III. The effect of infection with beet yellows and beet mosaic virus on the growth and yield of the sugar-beet root crop. Annals of Applied Biology 40: 1-37.

obeikandl.com

Watson, M.A.; R. Hull; J.W. Blencowe and **B.M.G. Hamlyn (1951).** The spread of beet yellows and beet mosaic viruses in the sugar-beet root crop. 1 . Field observations on the virus diseases of sugar beet and their vectors *Myzus persicae* (Sulz) and *Aphis fabae* (Koch). Ann. Appl. Biol. 38, 743-64.

Wiesner, K. and M. Krause (1990). On the localization of beet mild yellowing virus, beet yellows virus and beet mosaic virus in sugarbeets. Archive for Phytopathologie and Pflanzenschutz. 26(5): 441-452.

William V. Dougherly and James V. Verrington (1988). Expresion and function of potyviral gene product. Annual Rev. Phytopathol. 26: 123-143.

Wilson M.B. and P.K. Nakane (1978). Recent development in the periodate method of conjugating horseradish peroxidase to antibodies. In: Immunofluorescence and Related Staining Techniques (Ed. By W. Knapp. K. Holubar and G. Wick). Elselvier/North Holand. Amesterdam. Pp. 215-244.

Wintermantel, W.M. (2002). Closteroviruses, synergism and host effects in virus yellows of sugar beet. Phytopathology 90:s 92.

Wolfe, A.D. and A. Liston (1998). RAPD markers. Pp. 43-86. In: Soltis, D.E., Solties, P.S. and Doyle J.J. (eds.), Molecular Systematics of Plants II: DNA sequencing. Boston.

Xiang, H; Y.H. Han; C. Han; D. Li and J. Yu (2007). Molecular characterization of two Chinese isolates of beet mosaic virus. Virus Genes 35: 795-799.

Xing, Y.Z.; C. Ingvardsen, R.Salomon and T. Lubberstedt (2006). Analysis of sugarcane mosaic virus resistance in maize in an isogenic dihybrid crossing scheme and implications for breeding potyvirus-resistant maize hybrids. Genome. National Research Council of Canada, Ottawa, Canada. 49 (10): 1274-1282.

obeikandi.com

Yamamoto, T.; H. Lin; T. Sasaki and M. Yano (2000). Identification of heading date quantitive trail locus Hd6 and characterization of its epistatic interactions with Hd2 in rice using advanced backcross progeny. Genetic. 154: 885-891.

Yao, K.S.; Y.G. Liang and Y.T. Lu (1993). Isolation and identification of carnation symptomless virus. Plant Pathol. Bull. 2: 119-127.

Yuan, P. and W.F. Qiu (1991). Studies on sugarbeet mosaic virus disease I. Isolation and identification of the virus. Acta Phytopathologica Sinica 21: 257-261.

Zeyen, R.J. and P.H. Berger (1990). Is the concept of short relation times for aphid-borne nonpersistant plant viruses sound? Pytopathology 80:769-771.

Zimmermann, S.; S. Schillberg; Y.C. Liao and R. Fisher (1998). Intracellular expression of TMV-specific single-chain Fc fragment leads to improved virus resistance in *Nicotiana tabacum*. Molecular Breeding 4: 369-379.

obeikandi.com

دراسات بيولوجية وكيماوية على بعض الفيروسات التي تصيب بنجر السكر في مصر

رسالة مقدمة من

رقية مرزوق سيد أحمد

بكالوريوس علوم زراعية (تكنولوجيا الالبان- فرع الميكروبيولوجى) ، جامعة القاهرة ، 2003

للحصول على

درجة الماجستير في العلوم الزراعية
(فيروسات زراعية)

قسم الميكروبيولوجيا الزراعية
كلية الزراعة
جامعة عين شمس

2008

obeikandl.com

صفحة الموافقة على الرسالة

دراسات بيولوجية وكيماوية على بعض الفيروسات التي تصيب بنجر السكر في مصر

رسالة مقدمة من

رقية مرزوق سيد أحمد

بكالوريوس علوم زراعية (تكنولوجيا الألبان، فرع الميكروبيولوجي) ، جامعة القاهرة ، 2003

للحصول على درجة

الماجستير في العلوم الزراعية

(فيروسات زراعية)

وقد تمت مناقشة الرسالة والموافقة عليها

اللجنة

أ.د. أمين إبراهيم أبو الغار

أستاذ أمراض النبات المتفرغ ، كلية الزراعة ، جامعة المنوفية

أ.د. عاطف شكري صادق

أستاذ الفيروسات الزراعية ، كلية الزراعة ، جامعة عين شمس

أ.د. سهير إبراهيم العفيفي

أستاذ الفيروسات الزراعية المتفرغ ، كلية الزراعة ، جامعة عين شمس

أ.د. محمد أحمد أبو النصر

أستاذ الفيروسات الزراعية المتفرغ ، كلية الزراعة ، جامعة عين شمس

تاريخ المناقشة: 2008/6/22 .

obeikandl.com

جامعة عين شمس
كلية الزراعة

رسالة الماجستير

اسم الطالبـة : رقية مرزوق سيد أحمد
عنوان الرسالة : دراسات بيولوجية وكيماوية على بعض الفيروسات التي تصيب بنجر السكر في مصر
اسم الدرجـة : ماجستير في العلوم الزراعية (ميكروبيولوجيا زراعية)

لجنة الإشراف

أ.د. محمد أحمد أبوالنصر
أستاذ الفيروسات الزراعية المتفرغ ، قسم الميكروبيولوجيا الزراعية ، بكلية الزراعة ، جامعة عين شمس (المشرف الرئيسي)

أ.د.سهير إبراهيم العفيفي
أستاذ الفيروسات الزراعية المتفرغ ، قسم الميكروبيولوجيا الزراعية ، كلية الزراعة ، جامعة عين شمس

أ.د. ممدوح حسين عبد الغفار
أستاذ الفيروسات الزراعية ، قسم الميكروبيولوجيا الزراعية ، بكلية الزراعة ، جامعة عين شمس

تاريخ البحث: 14 / 2 / 2005

الدراسات العليا

ختم الاجازة

أجيزت الرسالة بتاريخ
2 / 6 / 2008

موافقة مجلس الكلية
/ / 2008

موافقة مجلس الجامعة
/ / 2008

obeikandl.com

شكر و تقدير

نتقدم بخالص الشكر والتقدير لأكاديمية البحث العلمي على ما قامت به مـــن تقديم المساهمة في نفقات هذه الرسالة وستظل أكاديمية البحث العلمي دوحة ظليلة وارفة الظلال بالثقافة والعلم والأدب حافلة بالعطاء ترعى البحث العلمي وتشجع العلماء وتحفز الباحثين من أجل نهضة علمية زاخرة بالتقدم حافلة بالرقى.

مع خالص إعزازنا وتقديرنا للدور الحيوي المتميز
لهذا الصرح الأكاديمي المتألق

obeikandl.com

الملخص العربي

يعتبر محصول بنجر السكر من المحاصيل الإستراتيجية الهامة حيث أنه ثاني المحاصيل السكرية بعد قصب السكر في مصر كمصدر للسكر. هذا بالإضافة إلي أهميه مكوناته للعديد من الصناعات التكاملية. وقد تضاعفت المساحات المنزرعة منه في مصر إلى أن وصلت إلى ما يقرب من 170 ألف فدان وإنتاجية الفدان حوالي 22 طن. وقد ثبت أن هذا النبات يصاب بالعديد من الفيروسات النباتية والتي قد تؤثر علي إنتاجيته. وبناء علي ذلك فإن هذه الدراسة استهدفت إلى عزل واحد أو أكثر من الفيروسات التي تصيب محصول بنجر السكر، ثم دراسة الخصائص البيولوجية والكيميائية لهذا لفيروس وتأثيره على محصول البنجر وكمية السكر وبعض العناصر الكيميائية الأخرى الهامة في الجذور المخزنة، ثم دراسة العلاقة بين نسبة اصابة الاصناف المختلفة بالفيروس والاختلاف في التركيب الوراثي لهذه الاصناف.

وقد كان من أهم الدراسات والنتائج المتحصل عليها كالاتي:

تم تجميع نباتات بنجر سكر صنف جازيل مصابة طبيعيا والتي كانت تظهر عليها أعراض إصابة فيروسية عبارة عن موزيك وتشوهات (مميزة لأعراض فيروس موزيك البنجر BtMV) واعراض اخرى تتمثل في حدوث تقزم وتشوه في جذور النبات (مميزه لاعراض فيروس اصفرار و موت عروق البنجرBNYVV) واخرى متمثلة في شفافية العروق والتفاف الاوراق (مميزه لاعراض فيروس تجعد قمة البنجر BCTV) من حقول بنجر السكر المنزرعة في منطقة الرياض بمحافظة كفر الشيخ والتي تزرع حوالي 55 % من كمية البنجر المنزرعة في مصر وقد وجد ان اعراض فيروس موزيك البنجر BtMV هي الاكثر انتشارا وقد تم دراسة خصائص هذا الفيروس كالاتي:

1- الدراسات البيولوجية:

الفيروس المعزول كان فيروس موزيك البنجر والذي أعطى بقع محلية صفراء chlorotic local lesions عند حقنه ميكانيكياً بالعصير على نبات الزربيح *Chenopodium quinoa* كعائل مشخص لهذا الفيروس.

- تم عزل هذا الفيروس بحالة نقية باستخدام التنقية البيولوجية من خلال سلسلة من النقل للبقع المحلية المفردة Single local lesion المتكونة على نباتات الزربيح *Ch. quinoa* (كعائل مشخص يعطي إصابة

محلية)، ثم نقلها ميكانيكيا إلى نباتات بنجر السكر صنف جازيل كعائل إكثار للفيروس.

- تم نقل فيروس BtMV بسهوله بالحقن الميكانيكي بالعصير من نباتات بنجر سكر صنف جازيل المصابة إلى نباتات أخرى سليمة، وقد أظهرت نتائج المدى العوائلي لفيروس BtMV أنه ذو مدى عوائلي واسع حيث انه أصاب 17 عائل نباتي تابعين لـ 4 عائلات نباتيه مختلفة.
- تم نقل الفيروس بواسطة حشرات من الخوخ *Myzus persicae* (Sulz) ومن الفول *Aphis fabae* (Glover) بطريقة غير باقية بنسبة 70 و 57.5 % على التوالي.
- أظهرت نتائج فحص القطاعات المصابة بالميكروسكوب الالكتروني أن هذا الفيروس يكون أجسام محتواه اسطوانية وكانت عبارة عن محتويات بريمية الشكل pinwheels وتجمعات حزمية طولية laminated aggregates في سيتوبلازم الخلايا المصابة وبناءً على ذلك تم تصنيف هذا الفيروس تحت القسم الثاني subdivision II من أقسام مجموعة البوتي فيروس بناءً على أشكال المحتويات الأسطوانية.

2- الدراسات الكيميائية:

- تم عمل تنقية للفيروس بطريقة معدلة والتي اشتملت على الترويق باستخدام ن_بيتانول والكلوروفورم Chloroform, n-butanol والطرد المركزي البطئ ، ثم ترسيب الفيروس باستخدام طبقة من السكروز 20 % Sucrose cushion والطرد المركزي السريع ، ثم الفصل باستخدام عمود السكروز متدرج الكثافة (10 – 40 %) . وقد اثبت منحنى امتصاص الاشعة فوق البنفسجية أن التحضيرات الفيروسية المنقاة لها صفة النيوكليوبروتينات، وقد أعطى منحنى الامتصاص الضوئي للتحضيرات الفيروسية المنقاة أقصي امتصاص للفيروس عند طول موجي 260 نانوميتر وأقل امتصاص عند 245 نانوميتر وان قيمة Amax/Amin و $A_{260/280}$ تراوحت بين 1.6- 1.7 و1.3 – 1.4 على التوالي. وقد قدر محصول الفيروس المنقي بحوالي 20 -30 مجم / كجم نسيج مصاب.
- وبفحص التحضيرات الفيروسية المنقاة بالميكروسكوب الألكترونى بعد صبغها بالصبغ السالب، أظهرت وجود جزيئات خيطية مرنة والتي قدرت أبعادها بـ 700-750 x 13 نانوميتر.

- وقد أثبتت النتائج أن جزيئات فيروس BtMV تتركب من غطاء بروتيني واحد بوزن جزيئي حوالي34 كيلو دالتون.
- أثبتت النتائج أن الحامض النووي الفيروسي ssRNA هو مكون من جزء واحد one partite genome وقدر حجمه الطولي size length بحوالي 10 كيلو قاعدة.
- اثبتت الدراسة ان الحجم الطولي لجين الغطاء البر وتيني الكامل لفيروس موزيك البنجر BtMV-*cp* gene حوالي 755 قاعدة نيوكليوتيدية.

3-الدراسات السيرولوجية:

- وجد أن الانتيسيرم المتخصص لفيروس الموزيك والمتحصل عليه بعد حقن الارانب بـ 7 مجم فيروس نقي يعطي اعلى نقطة تخفيف نهائية بعد اسبوعين من آخرحقنة وهي 1: 4096 ويعطي نتائج سالبة مع النباتات السليمة.
- تم استخدام الانتيسيرم المنتج في الكشف عن وجود فيروس موزيك البنجر في الأصناف المختلفة من بنجر السكر وذلك باستخدام بعض التكنيكات السيرولوجية مثل DBIA و TBIA . وقد أثبتت النتائج مدى كفاءة تكنيك TBIA في الكشف عن الفيروس في الأنسجة المصابة، بالإضافة إلى ذلك فقد تم أثبات وجود الفيروس في عصير النباتات المصابة حتى تخفيف 10^{-6} وذلك باستخدام تكنيك الـ DBIA.

4- تأثيرالفيروس على محصول البنجر:

أثبتت النتائج أن فيروس موزيك البنجر سبب انخفاض في الوزن الرطب والجاف للمجموع الخضري والجذري بنسب تتراوح بين (21-51 و 25-49 %) و (27-57 و 29-56 %)على التوالي. وقد وجد أن هذا الفيروس سبب انخفاض في كمية السكروز بنسبة تتراوح بين 29- 50 %.

5- العلاقة بين الاختلافات الوراثية بين أصناف البنجر وحساسيتها للاصابة بالفيروس:

أثبتت شجرة النسب الوراثية أن اكبر قرابة وراثية كانت بين صنفي 9002, Desprez poly (N) واللذان يصابان بالفيروس بنسبة 40 و 50 % على التوالي وأبعد قرابة وراثية كانت بين الصنف Pamher والذي يصاب بنسبة 55 % و الصنف FD9402 والذي يصاب بنسبة 100 %.