



دانشگاه الزهرا

دانشکده علوم پایه

پایان نامه

جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

رشته میکروبیولوژی

عنوان

اساتید راهنما

دکتر شیرین قربانی

دکتر نوح شهر آئین

استاد مشاور

دکتر سارا غروی

دانشجو

سمیه اصغری قرا

1388

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

دانشگاه الزهرا

دانشکده علوم پایه

پایان نامه

جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

رشته میکروبیولوژی

عنوان

اساتید راهنما

دکتر شیرین قربانی

دکتر نوح شهر آئین

استاد مشاور

دکتر سارا غروی

دانشجو

سمیه اصغری قرا

1388

عنوان:

**تعیین سویه های ویروس موزائیک معمولی لوبیا و ویروس موزائیک نکروتیک لوبیا
در استان مازندران**

نام و نام خانوادگی: سمیه اصغری قرا

رشته تحصیلی: ارشد میکروبیولوژی

استاد راهنما: دکتر شیرین قربانی، دکتر نوح شهرآئین

استاد مشاور: سارا غروی

سال 1388

چکیده: در طی سالهای 86 و 87 ، از مزارع لوبیا در مناطق لوبیا کاری استان مازندران (گلوگاه، قائم شهر و تنکابن) نمونه هایی با علائمی از قبیل موزائیک و بدشکلی جمع آوری گردید. ضمن عصاره گیری از نمونه های جمع آوری شده و مایه زنی بر روی انواع گیاهان آزمون، قابل انتقال بودن عارضه از نمونه های آلوده به گیاهان سالم به اثبات رسید. براساس نتایج بدست آمده از مایه زنی بر روی گیاهان آزمون و بکارگیری تکنیک های سرولوژیکی ELISA آلودگی نمونه های جمع آوری شده به ویروس BCMV و BCMNV به اثبات رسید.

بررسی های به عمل آمده نشان دهنده وجود آلودگی به ویروس های BCMV و BCMNV در استان مازندران می باشد. این ویروس ها علاوه بر انتقال توسط شته ها، قادر به انتقال از طریق بذر با درصد بالائی نیز می باشد.

در بررسی های مولکولی RT-PCR شناسایی این ویروس ها با استفاده از پرایمرهای اختصاصی تایید شد. در این نواحی تنکابن و گلوگاه و قائم شهر وجود آلودگی به BCMV و BCMNV از طریق تکنیک الایزا و همچنین PCR تائید گردید.

فهرست مطالب

فصل اول: مقدمه	1
مقدمه	2
فصل دوم: بررسی منابع	8
1-2 انتقال ویروس	9
1-1-2 انتقال بذر	9
2-1-2 انتقال به وسیله حشرات ناقل	9
3-1-2 انتقال مکانیکی	10
2-2 پاسخ ارقام های لوبیا به BCMV	10
1-2-2 موزائیک	10
2-2-2 سیتمی یا نکروز موضعی	11
3-2-2 ضایعات موضعی	11
4-2-2 ایمنی	11
3-2 اپیدمیولوژی BCMV	12

4-2) موقعیت تاکسونومیکی و ویروسهای موزائیک معمولی لوبیا (BCMV) و موزائیک معمولی نکروز

لوبیا (BCMV) ----- 17

17----- 1-4-2) کمپلکس BCMV

----- 2-4-2) پروتئین های پوتی ویروس ها

19

20----- 1-2-4-2) پروتئین P₁

21----- 2-2-4-2) HC-Pro

22----- 3-2-4-2) پروتئین P₃

23----- 4-2-4-2) پروتئین CI

24----- 5-2-4-2) پروتئین NIa

25----- 6-2-4-2) پروتئین NIb

25----- 7-2-4-2) پروتئین پوششی

28----- 5-2) طبقه بندی پوتی ویروسها

29----- 1-5-2) روش های کلاسیک

29----- 1-1-5-2) علائم شناسی و دامنه میزبانی

29----- 2-1-5-2) حفاظت تقاطعی

30----- 3-1-5-2) اندامک های ویژه درون سلولی

31----- 2-5-2) روشهای سرولوژیکی

----- 1-2-5-2) استفاده از آنتی بادی چندهمسانه

31

32----- 2-2-5-2) استفاده از آنتی بادی تک همسانه

33----- 3-5-2) شناسایی و طبقه بندی براساس ساختار مولکولی

33----- 1-3-5-2) ترادف نوکلئوتیدی و هیبریداسیون

33----- 2-3-5-2) ساختار پروتئین پوششی

34	-----	3-3-5-2	شبهات ترادف اسیدآمینہ ای
34	-----	4-3-5-2	نقشه پیتیدی با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)
35	-----	6-2	معیارهای مولکولی جهت تفکیک جنس ها و گونه ها در خانواده Potyviridae
--	-----	7-2	ویروس موزائیک معمولی لوبیا (BCMV) و ویروس موزائیک معمولی نکروز لوبیا (BCMVN)
36	-----		
44	-----		فصل سوم: مواد و روشها
45	-----	1-3	جمع آوری نمونه ها از مزارع لوبیا در استان مازندران
46	-----	2-3	مایه زنی گیاهی
46	-----	3-3	انجام تست ELISA
55	-----	4-3	RNA Extraction
55	-----	1-4-3	Tri-reagent
56	-----	2-4-3	روش استفاده از ماده AccuZol™
58	-----	3-4-3	روش Presting (1995)
58	-----	4-4-3	استفاده از RNeasy Plant Mini Kit
	-----	5-3	RT PCR
			61
62	-----	6-3	PCR
66	-----	7-3	Immunocapture/RT/PCR
67	-----	8-3	الکتروفورز محصول PCR
67	-----	9-3	خالص سازی قطعه تکثیر شده
70	-----		فصل چهارم: نتایج
71	-----	1-4	شناسایی ویروس معمولی موزائیک لوبیا
71	-----	1-1-4	علائم شناسی
71	-----	2-1-4	موزائیک معمولی

73	----- ریشه سیاه (3-1-4)
74	-----ELISA (2-4)
76	-----نتایج RNA Extraction (3-4)
78	-----PCR (4-4)
79	-----اوپتیمایز کردن آزمایش PCR (5-4)
82	-----فصل پنجم: بحث
88	-----پیشنهادات
89	-----منابع

فهرست اشکال

----- شکل 1-1. یک مزرعه لوبیا نمایانگر آلودگی شدید به عوامل ویروسی در طبیعت	3
----- شکل 1-2. شماتیکی از ساختار ژنی پوتی ویروسها	19
----- شکل 2-2. تقسیمات HC-Pro	21
----- شکل 2-3. محل تقریبی برش در NIa	24
----- شکل 2-4. تقسیمات CP	26
----- شکل 3-1. دیاگرام Sprimer در پوتی ویروسها	63
----- شکل 4-1. مقایسه بذر آلوده به ویروس موزائیک معمولی لوبیا با بذر سالم لوبیا	71
----- شکل 4-2. لوبیا چیتی آلوده به ویروس موزائیک معمولی لوبیا	72

شکل 4-3. علائم موزائیک و رگبرگ روشنی لوبیا چیتی آلوده به ویروس موزائیک -----72

شکل 4-4. لوبیا با علائم شدید پیچیدگی برگ و لوله ای شدن در اثر آلودگی بذری به ویروس ----73

شکل 4-5. برهم کنش Black root -----73

شکل 4-6 و 4-7 نتایج RNA Extraction -----77

شکل 4-8 و 4-9. نتایج PCR-----78

شکل 4-10. مقایسه غلظت ویروس در اوپتیمایز کردن PCR.-----

80

شکل 5-1. محل سنتز شده در تکنیک PCR با استفاده از پرایمرهای $Asp3'$ و $AspQ$ (شناسایی

83----- $AspQ$ و $BspQ$ و $BCMNV$ (شناسایی $BCMNV$))

فهرست جداول

جدول 1-1. گروه بندی نژادهای ویروس $BCMNV$ -----

3

جدول 1-2. درصد شباهت توالی CP -----

5

جدول 1-3. سطح زیرکشت و میزان تولید لوبیا در ایران براساس آمار FAO سال 1995-----

6

جدول 2-1. پروتئین های پوتی ویروسها-----

20

جدول 3-1. شماره آنتی بادیهای مورد استفاده و استرین ویروس های BCMV و BCMNV-----53

جدول 3-2. مراحل انجام RT-PCR-----61

جدول 3-3. پروتوکل استفاده شده در PCR-----64

جدول 3-4. توالی پرایمرهای مورد استفاده-----65

جدول 4-1. نتایج ELISA-----75

پیوست ها

پیوست 1. خصوصیات پرایمر AspQ-----

100

پیوست 2. خصوصیات پرایمر BSP Q-----

101

پیوست 3. خصوصیات پرایمر ASP₃-----102

پیوست 4. خصوصیات پرایمر B353-----103

فصل اول

مقدمه

علائم موزائیک در گیاه لوبیا، اولین بار در سال 1864 Iwanoski از روسیه گزارش شد. در سال 1908 Clinton نوعی زردی روی لوبیا مشاهده کرد که علت آن احتمالا ویروس موزائیک معمولی لوبیا بوده است (مصاحبی، 1351). ویروس موزائیک معمولی لوبیا به اسامی مختلف نامگذاری شده است، از جمله می توان به اسامی زیر اشاره نمود:

Bean Bean mosaic virus Bean Common Mosaic Virus (BCMV)

Phaseolus virus1 و virus1

اولین بار این ویروس توسط Stewart and Reddick در سال 1917 و Pierce در سال 1934 از مزارع لوبیا *Phaseolus vulgaris* در نیویورک جمع آوری گردیده است (Bos, 1971).

این بیماری بوسیله Gussow و Archibald در سال 1921 از کانادا، Olivie در سال 1934 از برمودا، Porter در سال 1926 از چین، Grainyer در سال 1929 از انگلیس و Chamberlin در سال 1933 از زلاندنو گزارش شد. در سال 1925 Rands و Brothertor، صدها واریته لوبیا را از نقاط مختلف جهان جمع آوری شده از آرژانتین، بلژیک، گواتمالا، کنگو، شیلی، برزیل، چک اوسلوواکی، کلمبیا، اکوادور، انگلستان، فرانسه، آلمان، ونزوئلا، هندوراس، ایتالیا، ژاپن، جاوه، مکزیک، هلند، شوروی، پرو و اوروگوئه گزارش کردند (مصاحبی، 1351).

در ایران برای اولین بار در سال 1342 توسط منوچهری وجود این ویروس از مزارع لوبیا در دماوند گزارش شده و آلودگی مزارع تا 100% نیز اعلام شده است (مصاحبی، 1351).



شکل-1-1. یک مزرعه لوبیا نمایانگر آلودگی شدید به عوامل ویروسی در طبیعت

Bean Common Mosaic Virus (BCMV) مهمترین عامل بیماری ویروسی لوبیا در ایران گزارش گردیده است (مصاحبی، 1351). در بررسی های به عمل آمده توسط مصاحبی در سال 1351 براساس بذور جمع آوری شده از مناطق و استانهای مختلف ویروس تقریباً در تمام مناطق ایران انتشار دارد، ولی درصد آلودگی بذر در استانهای آذربایجان و برخی شهرستان های غربی ایران کمتر و در شهرستانهای ملایر، اصفهان، مشهد و یزد بیشتر بوده است.

جدول 1-1. گروه بندی نژادهای ویروس BCMV (Silbernagel, 2001)

سرگروه	A		B				
	III	IV	I	II	IV	V	VIII
strain	NLA	NL-γ NLα TN1	US1 NL1 PR1	NL-γ US-γ	US-ε US-ε US-δ NL-φ CH-ε	NL-ε US-ε(Z) US-ε[D]	NL-η US-κ US-ι RU-1

لوبیا *Phaseolus Vulgaris L.* از تیره Leguminosae و از زیر تیره پروانه آسا Papilionoideae بوده، گیاهی یکساله و علفی است، خاستگاه اولیه، احتمالاً قسمتهای گرمسیری آمریکای جنوبی در مکزیک و غرب گواتمالا می باشد، با توجه به تنوع ژنتیکی و پراکندگی وسیع لوبیا در آمریکای مرکزی ممکن است تمام این منطقه خاستگاه این گیاه باشد. لوبیا 4-7 هزار سال

قبل از میلاد مسیح در مکزیک و 3-1 هزار سال قبل از میلاد توسط بومیان آمریکای غربی کشت داده می شده است و با کشف قاره آمریکا زراعت لوبیا در دنیا گسترش یافت (مصاحبی، 1351). لوبیا یکی از حبوبات عمده در دنیا محسوب می شود که دارای 25-20% پروتئین و 56-50% کربوهیدرات است و در بسیاری از کشورهای در حال توسعه به عنوان یکی از منابع مهم پروتئین گیاهی مورد استفاده قرار می گیرد (شهرآئین، 1381). خسارت ناشی از بیماری مذکور بسته به نژاد ویروس و نوع ویروس و نوع رقم متفاوت بوده و گاهی تا 80 درصد گزارش شده است (Drijfhout, E., 1991). انتشار این ویروس در مزارع لوبیا کاری رومانی زیاد و بالای 40% در مناطق جنوب و جنوب شرقی بوده است. زیرا در این مناطق وارپته های حساس کشت می شوند. ولی در مناطقی که ارقام مقاوم یا متحمل کشت می گردند آلودگی حداکثر 1/8% بوده است (Jilaveanu, A., 1988).

متوسط آلودگی مزارع لوبیا چیتی ترکیه به ویروس معمولی لوبیا در حدود 30% برآورد شده است و کاهش محصول در بوته های بیمار نسبت به بوته های سالم معنی دار بوده است (Acikgoz, S. & Citir, A., 1986). این ویروس در مزارع لوبیاکاری کشور عراق نیز شایع بوده و انتقال آن در مزارع اغلب توسط بذور آلوده و شته سیاه باقلا گزارش شده است (Al-Fadhil, F.H. & Al-Ani R.A. 1981).

در ایالات متحده با نمونه گیری از بذور پس از برداشت محصول و کشت دوباره آنها در گلخانه مشخص شده است که بذور آلوده به ویروس در مقایسه با بذور سالم کاهش عملکردی برابر با 60% داشته اند. درصد انتقال این ویروس توسط بذر در آمریکا در حدود یک درصد برآورد شده است (Klein, R.E. et al., 1989). در هندوستان خسارت ناشی از ویروس موزائیک معمولی لوبیا روی ارقام HUR1 و PDR14 لوبیا چیتی به ترتیب برابر با 55 و 65 درصد کاهش داشته است (Vishwa, D. & Gurha, S.N. 1990).

با افزایش روز افزون جمعیت جهان نیاز به تولید این محصول نیز افزایش می یابد. طبق آمار سازمان خواربار جهانی (FAO) سطح زیرکشت لوبیا در دنیا 27179 هزار هکتار است و با توجه به متوسط عملکرد 659 کیلوگرم در هکتار، تولید جهانی این محصول در سال 1995 میلادی

17906 هزار تن می باشد. سطح زیرکشت جهانی انواع لوبیا در حدود 24 میلیون هکتار می باشد. هندوستان با 9 میلیون هکتار سطح زیرکشت و تولید 3100000 تن دانه از بزرگترین تولیدکنندگان این محصول در آسیا است (FAO 1992). سطح زیرکشت این محصول در ایران 50 هزار هکتار با تولید سالانه 6700 تن می باشد (آمارنامه کشاورزی 1374). لوبیا محصول مهمی در تانزانیا و سایر کشورهای آفریقایی می باشد. در تانزانیا، لوبیا هم ارزش غذایی وهم اقتصادی دارد (Abdallah, R., 1995).

9 ایزوله BCMV در غلاف دارانی مانند لوبیا سیاه، لوبیا قرمز و امثال آنها در ویتنام یافت شده اند. مقایسه توالی آنالیزهای فیلوژنتیکی براساس توالی نوکلئوتیدی ناحیه کدکننده CP در ایزوله های یافت شده مربوط به سه استرین متفاوت BCMV است. درصد شباهت توالی CP در لوبیاهای در ویتنام در جدول 1-2 آمده است.

جدول 1-2. درصد شباهت توالی CP

Isolate	Accession number	Location	Natural host	Identity (%) in the CP nt sequence ^a	Most closely related virus in database
<i>Bean common mosaic virus (BCMV)</i>					
BCMV-BIC-VN/BB1	DQ925417	Hoa Binh	Black bean (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	96.6	AY575773-BCMV-[TW]-Taiwan
BCMV-BIC-VN/BB2-6 ^b	DQ925423	Hoa Binh	Black bean (<i>P. vulgaris</i>)	96.6	AY575773-BCMV-[TW]-Taiwan
BCMV-BIC-VN/RB1	DQ925420	Hue	Red bean (<i>P. vulgaris</i>)	96.6	AY575773-BCMV-[TW]-Taiwan
BCMV-BIC-VN/RB2	DQ925421	Hue	Red bean (<i>P. vulgaris</i>)	96.6	AY575773-BCMV-[TW]-Taiwan
BCMV-BIC-VN/YB1	DQ925424	Vinh Phuc	Yard-long bean (<i>Vigna unguiculata</i>)	98.0	AJ312438-BCMV-[Y]-China-cowpea
BCMV-PSI-VN/SB1	DQ925418	Dak Lak	Soybean (<i>Glycine max</i>)	98.4	Y11774-PSV-[T7]-Thailand-peanut
BCMV-PSI-VN/Cal	DQ925419	Dak Lak	Rabbit bell (<i>Crotalaria anagyroides</i>)	97.3	Y11774-PSV-[T7]-Thailand-peanut
BCMV-VN/BB2-5 ^c	DQ925422	Hoa Binh	Black bean (<i>P. vulgaris</i>)	76.1 (80.1)	Z15057-BCMV-[J8]-Spain
DCMV-VN/YD2	DQ925425	Yenbai	Yard-long bean (<i>V. unguiculata</i>)	76.3 (80.9)	Z15057-DCMV-[J8]-Spain

گیاهان *P. vulgaris* بدشکلی برگ، موزائیک شدید در برگها و غلافها، پیچش برگها و کاهش اندازه برگ در مزارع لوبیا مشاهده کرد و تمامی آنها نسبت به ELISA آنتی بادی مونوکلونال پوتی ویروسها مثبت بودند (Saqib, 2005).

در ایران نیز لوبیا از جمله محصولات صیفی مهم مورد مصرف می باشد. وضعیت کشت و تولید این محصول براساس آمار ارائه شده از سوی سازمان کشاورزی و خواربار جهانی به شرح

جدول 3 می باشد. از کل تولید حبوبات در کشور، محصول لوبیا با 31/42 درصد در رتبه سهم تولید در گروه، در رتبه دوم قرار گرفته است. استان مازندران رتبه 24 را در تولید لوبیا دارد که مقدار تولید لوبیا در این استان، 3039 تن، درصد تولید آن 0/43٪، درصد تجمعی تولید لوبیا نیز 95/59٪ می باشد و مقدار سطح زیرکشت لوبیا 1641 هکتار، درصد سطح آن 0/11٪ و درصد تجمعی سطح 99/74٪ می باشد (آمارنامه کشاورزی، سال 85-86).

جدول 1-3. سطح زیرکشت و میزان تولید لوبیا در ایران براساس آمار F.A.O سال 1995

سال	۱۹۷۹-۸۱	۱۹۹۳	۱۹۹۴	۱۹۹۵
سطح زیرکشت (هزار هکتار)	۶۴	۱۱۳	۱۵۹	۱۶۰
تولید (کیلوگرم در هکتار)	۹۸۸	۱۳۶۰	۱۴۹۶	۱۵۰۰
کل تولید (هزار تن)	۶۲	۱۵۴	۲۳۸	۲۴۰

تا سال 1993، حدود 47 ویروس گیاهی از گروههای مختلف و از مناطق مختلف جهانی به عنوان عوامل آلوده کننده طبیعی لوبیا گزارش گردیده است، که در مواردی خسارت ناشی از این ویروس ها محسوس بوده و باعث افت محصول لوبیا می گردند. (شهرآئین، 1381).

در کشور ایران ویروسهای *Bean Yellow mosaic*، *Bean common mosaic*، *Cucumber mosaic*، *Pea leaf roll mosaic*، *Alfalfa mosaic*، *Cowpea aphid-borne mosaic*، *Pea enation mosaic* به عنوان عوامل بیماریزا در لوبیا تشخیص داده شده اند (بهرامی، 1377).

ویروس موزائیک معمولی لوبیا (BCMV) یکی از مهمترین پاتوژنهای لوبیا است که دارای سویه های زیادی است که علائم مختلفی از خود بروز می دهند و سطوح بیماریزایی بستگی به شرایط محیطی و محیط کشت دارد. در طبیعت، ویروسها می توانند به صورت مختلط وجود داشته باشند. mixtureها ممکن است نتیجه تشکیل سویه های ویروس هیبرید باشد.

Mixtureها ممکن است جهت تکامل ویروس جدید از طریق نو ترکیب ضروری باشد
(Abdallah,R., 1995).

در بررسی های انجام شده در ایران ویروس موزائیک معمولی لوبیا به عنوان مهمترین ویروس ایجاد کننده خسارت در گیاه لوبیا مشخص شده ، میزان کاهش محصول در اثر آلودگی به ویروس 80% یا بیشتر ذکر گردیده است (Ha.,C.2008). این ویروس به دلیل دارا بودن نژادهای متعدد علائم مختلفی روی گیاهان میزبان ایجاد می کند، چگونگی این علائم تحت تاثیر وارپته گیاه ، نژاد ویروس و شرایط محیطی می باشد (Femi Lana.,A.G., 1988)

فصل دوم

بررسی منابع

1-2) انتقال ویروس

1-1-2) انتقال بذر

BCMV قدرت آلودگی جنین بذر را دارد و بنابراین در گیاهان لوبیای حساس از طریق بذر انتقال پیدا می کند و این یک عامل همه گیری اصلی است که در انتشار این ویروس نقش اساسی دارد.

میزان انتقال BCMV به گیاه رشد یافته از بذری که حاصل گیاهان لوبیای آلوده شده باشند به طور سیستمیک 10-30% است. انتقال بذری BCMV، به ژنوتیپ لوبیا و استرین

BCMV بستگی دارد. گیاهان لوبیای آلوده بعد از مرحله گل دهی آشکار می شوند. بذر آلوده به BCMV به میزان زیاد تولید نمی شود.

بذر آلوده به BCMV یک ویژگی تشخیصی دیگری دارد. *Bean Southern mosaic virus* و *Cucumber mosaic virus* قابل انتقال از طریق بذر به *P. Vulgaris* هستند، اما علائم مختلفی را در نهال های لوبیای آلوده بذری القا می کنند.

2-1-2) انتقال بوسیله حشرات ناقل

BCMV از طریق گونه های شته مانند *Aphis fabae* و *Myzus persicae* انتقال می یابد. BCMV به وسیله شته ها در یک روش ناپایدار *non persistent manner* انتقال پیدا می کند. به این معنی که از یک گیاه آلوده به گیاه لوبیای سالم در یک لحظه انتقال پیدا می کند. در آمریکای لاتین جایی که شته ها در لوبیاها به شکل کلونی قرار دارند، BCMV از طریق پرواز شته های ناقل به مزارع لوبیا انتقال پیدا می کند. در آفریقای شرقی، جایی که *Aphis fabae* آفت جدی لوبیا است، BCMV می تواند به گیاهان لوبیا با کارآرایی بالایی انتقال یابد. *Myzus pesicae* می تواند برآلودگی فلفل، تربچه و سایر میزبان های مناسب اثر بگذارد. نیمفها بهتر است که قدرت پرواز خود را بدست آورند چرا که بدون پرواز نمی توانند پربردهای انتقال و آلودگی ویروس را طی کنند.

3-1-2) انتقال مکانیکی manual

BCMV به طور مکانیکی یا مایه زنی مکانیکی نیز قابل انتقال است. مایع جهت مایه زنی از برگ های سه تایی ثانویه و اولیه گیاه 15 روزه خرد شده که قبلا در مرحله کوتیلدوئی به BCMV آلوده شده اند (تقریبا نهال 8 روزه) گرفته می شود. محلول استخراج می تواند 10 بار با آب یا بافر KPO_4 0/01M (PH=7.5) جهت مایه زنی رقیق شود.

محلول رقیق شده حاوی ویروس تا قبل از استفاده بر روی گیاه تست شده باید سرد نگه داشته شود. جهت سایش گیاه مورد آزمایش، از یک سری پودرهای ساینده مثل کاربراندوم استفاده

می شود. بعد از تلقیح ویروس بر روی گیاه مورد نظر، تا 16 روز بعد علائم موزائیک معمولی قابل مشاهده می شود.

2-2) پاسخ های ارقام مختلف لوبیا به BCMV

4 پاسخ گیاهان لوبیا مایه کوبی شده با BCMV قابل پیش بینی است. موزائیک، حالت نکروز سیستمیک یا نکروز آوندی محدود شده؛ ضایعات موضعی و ایمن (بدون علائم)

2-2-1) موزائیک

این علامت حاصل آلودگی سیستمیک ارقام حساس به BCMV است. این آلودگی مزمن مشخص می کند که ژنوتیپ لوبیای تلقیح شده فاقد ژن نکروزیس غالب I هستند. ژنوتیپ های تحت تاثیر موزائیک mosaic-affected genotypes ممکن است دارا یا فاقد ژنهای مغلوب باشند که مقاومت به سویه های BCMV را تایید می کند.

2-2-2) سیستمی یا نکروز موضعی

وجود نکروز نشان می دهد که گیاهان لوبیا دارای ژن I نکروز هستند. این برهمکنش نکروتیک ممکن است موضعی (نکروز دستجات آوندی) یا سیستمی باشند. این ژنوتیپهای لوبیای فوق حساس ممکن است دارا یا فاقد ژنهای مغلوب ویژه استرین BCMV باشند.

2-2-3) ضایعات موضعی

القای ضایعات موضعی حلقوی شکل که به طور مکانیکی بر برگهای اولیه رقم لوبیا Monroe ایجاد شده است اشکال قابل تشخیص BCMV هستند. این ضایعات زمانی که دمای محیط بین 16-28 درجه سانتیگراد باشند به بهترین شکل قابل مشاهده هستند، در صورتی که در دمای بالاتر یا پائین تر، ضایعه موضعی القا نمی شود. این ضایعات ممکن است درآلودگی به سایر ویروس ها نیز مشاهده شود مانند: *Soybean mosaic virus*.

در ژنوتیپ های این ضایعه حلقوی شکل احتمال حمل ژن مقاومت به BCMV غالب (ژن

I) وجود ندارد.