نشریهٔ پژوهش‌های حبوبات ایران
جلد۵ شمارهٔ۱، صفحهٔ۱۶۸-۱۵۹، نیمهٔ اول۱۳۹۳

Iranian Journal of Pulses Research
Vol. 5, No. 1, 2014, p. 159-168

بررسی توزیع ژن‌های مقاوم به ویروس موزائیک معمولی لوبیا در ژنوتیپ‌های لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) با استفاده از نشانگرهای مولکولی اسکار

محمدمجتبی کامل‌منش[۱]، آنیتا نماینده[۲*] و محمدرضا بی‌همتا[۳]

۱- استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شیراز، گروه گیاهپزشکی، شیراز، ایران
۲- استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شیراز، گروه علوم باغبانی، شیراز، ایران
۳- استاد، پردیس کشاورزی و منابع‌طبیعی، دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۰۹/۲۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۸/۲۷

چکیده

به‌منظور تعیین پتانسیل ژنتیکی مقاومت برخی از ژنوتیپ‌های لوبیا نسبت به ویروس موزائیک معمولی لوبیا، دو آزمایش مجزا هر یک در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۲۵تیمار (ژنوتیپ‌های لوبیا) و سه تکرار در دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز اجرا گردید. آزمایش اول در شرایط نرمال و آزمایش دوم در شرایط آلودگی با ویروس موزائیک معمولی لوبیا انجام شد. آلوده‌سازی مزرعه در دو مرحله (برای اطمینان بیشتر) ظهور برگ‌های کوتیلدونی و ظهور اولین سه‌برگچه به‌صورت مکانیکی و با پودر کاربراندوم انجام گردید.پس از ۲۱روز از آلودگی اول، جهت انجام آزمون الایزا از بوته‌های هر کرت که دارای علایم ظاهری بودند، نمونه‌گیری شد. جهت تعیین آلودگی از روش PTA- ELISA استفاده گردید. براساس نتایج به‌دست‌آمده، ژنوتیپ‌هایی که دارای ژن *I* و حداقل یکی از ژن‌های *bc-3* و *bc-1*^{2} بودند، به‌طور معنی‌داری (P-value=0.001) نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها افت عملکرد کمتری را در شرایط آلودگی نشان دادند. کمترین میزان تغییرات عملکرد مربوط به ژنوتیپ WA8528-9 (۵/۶۷درصد) بود که حاوی ژن‌های *I* و *bc-3* بود. در بین کل ژنوتیپ‌ها، ژنوتیپ۱۱۸۰۵ تنها نمونه‌ای بود که هر سه ژن *I* ، *bc-3* و *bc-1*^{2} را داشت. میزان تغییرات عملکرد این ژنوتیپ نیز نسبتاً کم (۹/۰۵درصد) بود. درکل،۶۰درصد ژنوتیپ‌ها حاوی ژن *I* ، ۴۴درصد دارای ژن *bc-3* و ۸درصد حاوی ژن مغلوب *bc-1*^{2} بودند. از دیگر نتایج مهم این تحقیق، واکنش منفی دو ژنوتیپ Local Khomein و Capsoli در آزمون الایزا نسبت به ویروس موزائیک معمولی لوبیا و همچنین تغییرات عملکرد کمتر از میانگین کل این ژنوتیپ‌ها بود. از آنجایی‌که این دو ژنوتیپ فاقد هر سه ژن مقاوم مورد بررسی بودند، لذا این احتمال وجود دارد که ترکیبات ژنی مقاوم جدید در ژنوتیپ‌های Local Khomein و Capsoli وجود داشته باشد. بنابراین باتوجه به نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق پیشنهاد می‌شود در مطالعات اصلاحی آتی در خصوص ارقام مقاوم به ویروس موزائیک معمولی لوبیا به این دو ژنوتیپ اخیر توجه ویژه‌ای بشود.

واژه‌های کلیدی: تغییرات عملکرد، لوبیا، نشانگر اسکار، ویروس موزائیک معمولی لوبیا

مقدمه

ویروس موزائیک معمولی لوبیا[۱] (BCMV) از مهم‌ترین بیماری‌های ویروسی است که امروزه به‌طور وسیعی درجهان و ایران گسترش پیداکرده است (Hasani & Sharaeen, 2001; Shree, 2001). BCMV ازطریق کاهش کمیت و کیفیت محصول، خسارت قابل‌توجهی به لوبیا وارد می‌کند. گزارش‌های متعددی در این زمینه وجود دارد که نشان می‌دهد خسارت BCMV بسته به نوع رقم و زمان آلودگی بین ۴ تا ۱۰۰درصد متغیر می‌باشد (Eduardo *et al*., 2006; Prasad *et al*., 2007; Singh *et al*., 2007). به‌طور کلی این ویروس به‌عنوان یکی از عوامل عمده کاهنده عملکرد در لوبیا شناخته شده است. این مسئله برای بِه‌نژادگران بسیار بااهمیت است تا با به‌کارگیری هر روش ممکن و ابزارهای موجود، مقاومت به BCMV را توسعه داده و در نهایت عملکرد و کیفیت لوبیا افزایش یابد. در این راستا، شناسایی ژن‌های مقاوم و نحوه عمل آنها در ژنوتیپ‌ها می‌تواند بسیار مؤثر باشد (Kamelmanesh *et al*., 2008). در خصوص ژن‌های مقاوم شناسایی‌شده علیه BCMV برای نخستین‌بار درسال ۱۹۵۰، ژن *I* کشف شد (Ali, 1950). این ژن غالب روی تمام نژادهای BCMV مؤثر است و واکنش آن نسبت به آلودگی به‌صورت فوق‌حساسیت بروز

* **نویسندهٔ مسئول:** شیراز، پردیس دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز، دانشکده کشاورزی، گروه علوم باغبانی، تلفن: ۰۷۱۱۶۴۱۰۰۴۲، همراه: ۰۹۱۷۳۰۲۸۴۶۴
namayandeh@iaushiraz.ac.ir

[1] Bean Common Mosaic Virus

می‌کند. درگیاهان آلوده‌شده حاوی این ژن، بافت‌مردگی سیستمیک توسعه می‌یابد. این واکنش، یک خسارت بزرگ ناشی از مقاومت به‌وسیله ژن غیرحمایت‌شده *I* است. به هرحال ژن *I* می‌تواند به‌وسیلهٔ ژن‌های مغلوب مقاوم همراهی و حمایت شود. این ترکیبات ژنی درگیاه می‌توانند واکنش شدید فوق‌حساسیت را محدود نمایند (Miklas *et al*., 2000). محل شِش ژن مغلوب مقاوم در چهار مکان ژنی تعیین شده است. این ژن‌های مغلوب عبارتند از: *bc-1, bc-1², bc-2, bc-2², bc-u,bc-3* نشان داده شده است که ژن‌های *bc-u* و *bc-1* پیوستگی ضعیفی با یکدیگر دارند (Drijfhout, 1995). با استفاده از نشانگرهای RAPD[1] (OC16, OH14) مشخص شده است که ژن‌های *bc-1* و *bc-u* هر دو در یک گروه پیوسته قرار دارند و فاصله آنها ۲۲/۸سانتی‌مورگان گزارش شده است (Strausbaugh *et al*., 1999). در این سیستم ژن *bc-u* اختصاصی نبوده ولی برای بیان ژن‌های خانواده *bc* لازم است، مگر این‌که درغیاب آن ژن *I* حضورداشته باشد. درحضور ژن *I* ژن‌های *bc-1², bc-1,* و*bc-3* بدون حضور *bc-u* مقاومت را بروز خواهند داد. همچنین نشان داده شده است که درحضورژن *I*، *bc-1²* بر *bc-1* غالب است (Kelly, 1997; Miklas *et al*., 2000). ترکیب ژن‌های *bc-u* و *bc-3* نیز به تمام نژادهای ویروس مقاومت نشان می‌دهند (Drijfhout, 1991). بعد از اضافه‌کردن ژن‌های مغلوب مقاوم به ژنوتیپ‌هایی که حاوی ژن*I* بودند، واریته های حاصل حاوی ژن‌های ترکیبی مقاوم، در برابرطیف وسیعی از نژادهای ویروس مقاومت پایدار بیشتری ازخود نشان دادند (Miklas *et al*., 2000). در سال‌های اخیر، نشانگرهای مولکولی پیوسته به ژن‌های مقاوم در لوبیا توسط تعدادی از محققان گزارش گردیده است. با استفاده از نشانگرهای مولکولی RAPD محل ژن *I* بر روی گروه پیوسته ۲ (=Linkage Group2) با فاصله ۱/۴سانتی‌مورگان از نشانگر A10.1750 تعیین شده است (Ariyarathne *et al*., 1999). همچنین در ایزولاین‌های مقاوم و حساس لوبیا به BCMV توانستند برای ژن مقاوم *I* نشانگر مولکولی RAPD (OW13) را پیدا کنند که با این ژن پیوستگی نزدیکی نشان می‌داد و عنوان شد که این نشانگر جهت انتخاب غیرمستقیم می‌تواند مؤثر واقع شود (Haley *et al*., 1994). دو سال بعد با استفاده و بر اساس نشانگر OW13 پیوسته به ژن *I* توانستند نشانگر SCAR[2] (SW13) را معرفی نمایند. پیوستگی بین این نشانگر و ژن *I* در سه جمعیت تفرق‌یافته F2 آزمون شد. نتایج حاکی از پیوستگی کمتر از ۱سانتی‌مورگان بین این نشانگر و ژن *I* بود. بیان شد که نشانگرSCAR (SW13) ابزار مفید و قوی جهت شناسایی ژنوتیپ‌های حاوی ژن *I* در خزانه‌های ژنی مختلف جهت برنامه‌های اصلاحی است (Melloto *et al*., 1996). بر اساس نشانگرهای مولکولی RAPD نشانگرSCAR (SBD5) برای ژن مقاوم و مغلوب *bc-1²* معرفی شد. این نشانگر پیوستگی بسیاربالایی با ژن *bc-1²* داشت و در گروه پیوسته B3 قرار دارد و مستقل از ژن *I* (بر روی گروه پیوسته B2) و ژن *bc-3* (بر روی گروه پیوسته B6) می‌باشد. همچنین نشان داده شد که *Bc-1*، *bc-1* و *bc-1²* هم‌آلل بوده به‌طوری‌که *Bc-1* بر *bc-1²* و *bc-1²* بر *bc-1* غالب است (Miklas *et al*., 2000). نشانگرمولکولیSCAR (ROC11) نیز که پیوستگی بالایی با ژن *bc-3* داشته، در گروه پیوسته B6 شناسایی شد (Johnson *et al*., 1997). با توجه به موارد مذکور و همچنین عدم وجود تحقیقات لازم روی خسارت این ویروس (BCMV) در شرایط مزرعه و عدم شناسایی ژن‌های مقاوم ارقام و لاین‌های مورد مطالعه و استفاده در مراکز تحقیقاتی کشور، این تحقیق با اهداف ارزیابی ژنوتیپ‌ها از نظر واکنش به BCMV در شرایط مزرعه و آزمایشگاه (آزمون الایزا)، تعیین خسارت ناشی از آلودگی بر عملکرد دانه و تعیین وجود یا عدم وجود ژن یا ژن‌های مقاوم معرفی‌شده، در ارقام و لاین‌های مورد مطالعه با استفاده از نشانگرهای مولکولی SCAR (ناحیه تکثیرشونده با ردیف مشخص) اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

تعداد ۲۵رقم و لاین لوبیا از انواع مختلف قرمز، چیتی و سفید از ایستگاه ملی تحقیقات لوبیای خمین تهیه گردید. فهرست اسامی ارقام ولاین‌های تحت بررسی، همراه با کدهای مربوطه در جدول ۴ آمده است. دو آزمایش مجزا هر یک در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۲۵ تیمار (ارقام ولاین‌های لوبیا) و سه تکرار اجرا گردید، به‌طوری‌که تا شعاع ۱۰۰۰متری اطراف محل آزمایش، کشتی صورت نگرفته بود. فاصله دو آزمایش از یکدیگر، ۵۰متر بود و به‌منظور ایزوله‌بودن دو آزمایش، حاشیه دو مزرعه توسط گیاه ذرت به‌طور متراکم کشت گردید. آزمایش اول در شرایط نرمال(عدم آلودگی) و آزمایش دوم در شرایط آلودگی باBCMV انجام شد. لازم به ذکر است که غیر از شرایط آلودگی، بقیه شرایط دو آزمایش کاملاً یکسان بود. هر کرت ۳×۳ شامل چهار خط کاشت با فاصله بین خطوط ۵۰سانتی‌متر بود که پس از تنک‌کردن در هر کرت، ۳۰بوته نگه داشته شد. بافت خاک، لومی‌رسی بود و عملیات کاشت برای هر دو آزمایش، کاملاً یکسان و به‌صورت

[1] Random Polymorphic Amplified DNA
[2] Sequence Characterized Amplified Region

دستی انجام گرفت. آبیاری بر اساس عرف منطقه انجام شد و برای مبارزه با علف‌های‌هرز، پنج مرحله وجین دستی انجام شد.

تهیه و تکثیر ویروس و نحوه آلوده‌سازی

ویروس موردنظر به‌صورت جدایه‌ای از یک مزرعه تحقیقاتی در یاسوج، جداسازی و پس از خالص‌سازی بیولوژیکی با استفاده از آنتی‌سرم به‌دست‌آمده از خرگوش (اهدایی از دکتر ایزدپناه، دانشگاه شیراز) و تکنیک پی‌تی‌ای-الایزا-PTA) (Clark & Adams, 1977) ELISA[1]) مورد تأیید قرار گرفت. سپس این ویروس جهت تکثیر روی گیاهچه‌های حساس لوبیا (رقم دانشجو) مایع‌زنی شد. آلوده‌سازی مزرعه در دو مرحله (برای اطمینان بیشتر) یعنی در مراحل ظهور برگ‌های کوتیلدونی و ظهور اولین سه‌برگچه به‌صورت مکانیکی و با پودر کارباراندوم انجام شد. ۲۱روز بعد ازآلودگی اول، جهت انجام آزمون الایزا از بوته‌های هر کرت که دارای علایم ظاهری بودند، نمونه‌گیری شد. جهت تعیین آلودگی با استفاده از آزمون الایزا از روش PTA- ELISA استفاده گردید. تعداد نمونه ارزیابی‌شده برای هر ژنوتیپ، ۲۴عدد بود (هر ژنوتیپ دارای سه تکرار و از هر تکرار چهار نمونه و هر نمونه در دو چاهک پلیت). در پلیت، شش چاهک به‌عنوان نمونه‌های منفی(شاهد) و دو چاهک فقط حاوی بافر نمونه بود (جذب نور صفر). پس از ثبت میزان جذب نور چاهک‌های پلیت توسط دستگاه الایزا ریدر[2](مارک بایورد[3] مدل۶۸۰) ، میانگین جذب نور شش چاهک شاهد (نمونه‌های شاهد) محاسبه گردید. نمونه‌هایی که جذب نور بیش از میانگین شاهد به‌علاوه سه‌برابر انحراف معیار (نمونه‌های شاهد) داشتند، به‌عنوان نمونه‌های مثبت و آنهایی که کمتر از این میزان جذب نور داشتند، به‌عنوان نمونه‌های منفی ثبت گردیدند (Clark & Adams, 1977).

(انحراف معیارنمونه‌های شاهد)۳ + میانگین نمونه‌های شاهد ≤ جذب نورنمونه مثبت(آلوده)

(انحراف معیارنمونه‌های شاهد)۳ + میانگین نمونه‌های شاهد < جذب نورنمونه منفی(غیرآلوده)

برای برآورد درصد تغییرات ایجادشده در اثر آلودگی BCMV در عملکرد لوبیا از رابطه زیر استفاده گردید:

$$a=[(b-c)/b]\times 100$$

a درصد تغییر عملکرد دانه؛ b میانگین عملکرد در شرایط نرمال؛ c میانگین عملکرد در شرایط آلودگی.

در نهایت، تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای Excel 2007، Minitab 15 و SAS-ver6.12 انجام شد.

استخراج DNA و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز

DNAی ژنومی از ۹۰میلی‌گرم برگ جوان که قبلاً در دمای ۷۰-درجه سانتی‌گراد ذخیره شده بود، استخراج شد (Gowel & Jarret, 1991). پنج میکرولیتر از DNAی ژنومی استخراج‌شده بر روی ژل ۰/۷درصد آگارز که با ۵۰۰نانوگرم در لیتر اتیدیوم بروماید مخلوط شده بود، بارگذاری شد. پس از الکتروفورز، کیفیت و کمیت DNA با توجه به DNAی لامبدا به‌عنوان کنترل ارزیابی شد و تنها DNAهایی استفاده شدند که فاقد اسمیر روی ژل آگارز بودند و نسبت A260/A280 آنها بین ۱/۸ تا ۲ بود. سپس DNAهای مناسب به غلظت ۲۵نانوگرم در میکرولیتر رسید و در دمای ۴درجه سانتی‌گراد(یخچال) جهت انجام واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز نگهداری شد. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در حجم۱۰میکرولیترانجام گرفت که مواد واکنش شامل DNA با غلظت ۲۵نانوگرم در میکرولیتر (به‌مقدار ۲میکرولیتر)، یک واحد Taq DNA Polymerase (به‌مقدار ۰/۱۳میکرولیتر)، ۰/۸میکرولیتر آغازگر (ازهرکدام ۰/۴میکرولیتر)، ۰/۱میکرولیتر dNTPs، یک‌میکرولیتر بافر 10xPCR و ۰/۴میکرولیتر $MgCl_2$ بود. محصولات تکثیرشده حاصل از نشانگرهای SCAR (جدول ۱) با استفاده از دستگاه ترموسایکلر و برنامه ارائه‌شده در آخر همین بخش به‌دست آمد. سپس نتایج در ژل آگارز ۱/۲درصد با بافرTBE (1x) در الکتروفورز بارگذاری و پس از پایان کار با دستگاه عکس‌برداری ژلUVidoc مدل GAS9000 از آنها عکس گرفته شد.

برنامه زمانی و چرخه‌های دمایی نشانگرها نیز به شرح زیر بود:

دمای اولیه $94^{\circ}C$ به‌مدت ۶۰ثانیه، دمای واسرشت‌سازی $94^{\circ}C$ به‌مدت ۱۰ثانیه، دمای اتصال برای نشانگرSW13 ($40^{\circ}C$) به‌مدت ۴۰ثانیه) برای نشانگر ROC11 ($55^{\circ}C$) به‌مدت ۴۰ثانیه) و برای نشانگر SBD5 ($65^{\circ}C$) به‌مدت ۴۰ثانیه)، دمای بسط $72^{\circ}C$ به‌مدت۲دقیقه، دمای نهایی $72^{\circ}C$ به‌مدت ۵دقیقه و تعداد چرخه۳۴.

نتایج و بحث

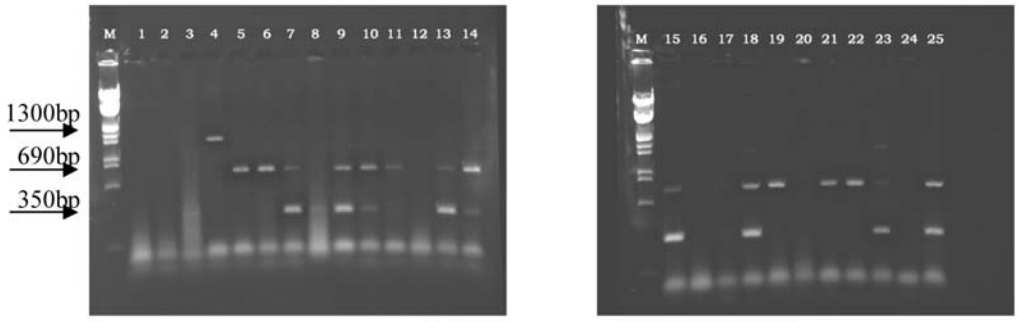
نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین عملکرد دانه در هر دو شرایط نرمال و آلودگی در جداول ۲ و ۳ آمده است. نتایج نشان داد که بین ژنوتیپ‌ها از نظر عملکرد دانه در هر دو شرایط نرمال و آلودگی تفاوت معنی‌داری وجود دارد. در شرایط

[1] Plate-Trapped Antigen-Enzyme Linked Immune Sorbent Assay
[2] ELISA-Reader
[3] Bio Rad

نرمال، بیشترین عملکرد مربوط به ژنوتیپ‌های WA8563-4 و Capsoli و کمترین عملکرد مربوط بـه ژنوتیـپ Khomein-5 بـــود. در شـــرایط آلـــودگی نیـــز دو ژنوتیـــپ WA8563-4 و Capsoli بیشترین عملکرد را داشتند و کمترین عملکرد مربوط به ژنوتیپ‌های Daneshjo و Akhtar بود (جدول ۳).

جدول۱ - نشانگرهای مولکولی SCAR مورد استفاده برای ژن‌های مقاوم به ویروس BCMV
Table 1. SCAR molecular marker used for BCMV resistant genes

ژن مقاوم Resistant Gene	نشانگراسکار SCAR marker	توالی Sequence
I	SW13	F:5□ CACAGCGACATTAATTTTCCTTTC3□ R: 5□CACAGCGACAGGAGGAGCTTATTA3□
bc-1²	SBD5	F:5□GTGCGGAGAGGCCATCCATTGGTG3□ R:5□GTGCGGAGAGTTTCAGTGTTGACA3□
bc-3	ROC11	F:5□ CCAATTCTCTTTCACTTGTAACC3□ R: 5□GCATGTTCCAGCAAACC3□



شکل۱- باندهای اختصاصی مربوط به محصولات سه نشانگر (SW13, ROC11, SBD5) در ژنوتیپ‌های ۱ تا ۲۵
Fig. 1. Separate bands related to products of three markers (SW13, ROC11, SBD5) at 1-25 genotypes

جدول ۲- تجزیه واریانس عملکرد دانه در شرایط نرمال و آلودگی به BCMV
Table 2. Analysis of variance of seed yield in normal and BCMV infected conditions

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی (df)		میانگین مربعات (MS)		F		Pr > F	
	نرمال Normal	آلودگی Infected	نرمال Normal	آلودگی Infected	نرمال Normal	آلودگی Infected	نرمال Normal	آلودگی Infected
ژنوتیپ Genotype	24	24	597929.4	493244.1	38.31	88.95	0.0001	0.0001
بلوک Block	2	2	88416.1	1582.6	5.66	0.29	0.0062	0.7530
خطا Error	48	48	15607.5	5544.9	---	---	---	---
C.V.%			8.88	8.00				

ارزیابی ژنوتیپ‌ها با اسـتفاده از آزمـون الایـزا و نشـانگرهای اختصاصی SCAR

جدول ۳ نتایج حاصل از ارزیابی ژنوتیپ‌ها بـا آغازگرهـای اختصاصـــی SW13 (مشـــخص‌کننـــده ژن *I*)، ROC11 (مشخص‌کننده ژن *bc-3*) و SBD5 (مشـخص‌کننـده ژن *bc-1²*) را نشان مـی‌دهـد. همچنـین در ایـن جـدول(۳) اطلاعـات به‌دست‌آمده از واکنش ژنوتیپ‌ها به ویروسBCMV در آزمـون الایزا و تغییرات عملکرد آنها در شرایط آلودگی نسبت به شرایط نرمال آورده شده است. بنابراین با توجه به این اطلاعات، تمامی ژنوتیپ‌ها در۱۰گروه مختلف به شرح زیر قرارگرفتند:

گروه اول: شامل ژنوتیپ‌های Khomein-5, Akhtar G5710, WA8563-6, Cifemcave همگی فاقد سه ژن مورد بررسی بوده و نتیجه آزمون الایزا در آنها مثبت می‌باشد (جدول ۳). متوسط افت عملکرد در شرایط آلودگی نسبت به شرایط عدم آلودگی در این ژنوتیپ‌ها ۵۰/۳۷درصد بود.

جدول ۳- تغییرات عملکرد، آزمون الایزا و وجود یا عدم وجود ژن‌های مقاوم به BCMV در ژنوتیپ‌های لوبیا
Table 3. Yield variation, ELISA test and resistant genes to BCMV in bean genotypes

ژنوتیپ Genotype	عملکرد درشرایط نرمال (کیلوگرم در هکتار) Yield in normal conditions (kg/ha)	عملکرد درشرایط آلودگی (کیلوگرم در هکتار) Yield in infected conditions (kg/ha)	درصد تغییرات عملکرد Yield variation %	آزمون الایزا ELISA test	*I*	*bc-3*	*bc-1²*
Khomein-5	863 l	495 kl	42.61	+	−	−	−
Local Khomein	1203 g-k	948 e-h	21.25	−	−	−	−
Daneshjo	1198 g-k	367 l	69.34	+	−	+	−
Cardinal	1633 cd	1030 ef	36.88	−	−	−	+
Cran 75	1722 c	698 i	59.64	+	+	−	−
Pinto	1360 efg	539 jk	60.34	+	+	−	−
MCD4012	1349 e-h	1198 cd	11.18	−	+	+	−
COS16	2135 b	1489 b	30.29	−	−	+	−
Taylor	1396 eg	829 h	40.65	+	+	+	−
Goli	1009 kl	885 gh	12.35	−	+	+	−
Naz	1264 f-j	647 ij	48.85	+	+	−	−
Capsoli	2654 a	1902 a	28.33	−	−	−	−
D81083	986 kl	902 fgh	8.58	−	+	+	−
Sayad	1287 f-i	1052 e	18.25	+	+	+	−
Derakhshan	1104 ijk	925 fgh	16.21	−	+	+	−
Akhtar	1025 jkl	378 l	63.09	+	−	−	−
G5710	1045 jkl	684 i	34.61	+	−	−	−
WA8528-9	1249 f-j	1178 d	5.67	−	+	+	−
WA8563-2	1688 c	1316 c	22.01	−	+	−	−
WA8563-6	1539 cde	859 h	44.16	+	−	−	−
WA8563-4	2450 a	1889 a	22.92	−	+	−	−
WA8563-3	1363 efg	906f gh	33.57	+	+	−	−
11805	1121 h-k	1019 efg	9.05	−	+	+	+
Cifemcave	1455 def	475 kl	67.36	+	−	−	−
WA4502-1	1051 i-l	666 ij	36.61	+	+	+	−

مقادیر هر ستون برای هر تیمار که حرف مشترکی با یکدیگر ندارند، بر اساس آزمون دانکن در سطح آماری ۰/۰۵ تفاوت معنی‌داری با هم دارند.
Means by the uncommon letter in each column and treatment are significantly different according to Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

گروه دوم: ژنوتیپ‌های این گروه (Local Khomein, Capsoli) فاقد سه ژن مورد بررسی بوده و نتیجه آزمون الایزا در رابطه با واکنش آنها به آلودگی BCMV منفی بود. گزارش شده است ژن‌های مغلوب *bc-1, bc-1², bc-2, bc-2²* و *bc-3* که باعث ایجاد مقاومت به BCMV در لوبیا می‌شوند، ژن‌های اختصاصی نژاد هستند و *bc-u* غیراختصاصی است و برای بیان ژن‌های خانواده *bc-x* ضروری می‌باشد. به‌عبارت دیگر، ترکیب *bc-u* با یکی از ژن‌های خانواده *bc-x* می‌تواند مقاومت را القاء کند (Silbernajel *et al*., 2001; Miklas *et al*., 2002) همچنین اعلام شده است گیاهچه‌هایی که حاوی ژن‌های *bc-u* و *bc-3* بودند، صرف‌نظر از حضور یا عدم حضور ژن *I* هنگامی که با نژادهای BCMV و BCMNV آلوده شدند، هیچ علایمی بروز ندادند (Drijfhout *et al*., 1978). لذا می‌توان گفت که احتمالاً ژنوتیپ‌های Local Khomein وCapsoli حاوی

ژن‌های مقاوم دیگری مانند *bc-u* و حداقل یکی از ژن‌های خانواده *bc-x* غیر از *bc-1²* و *bc-3* است و یا این‌که ژن‌های مقاوم جدیدی در این ژنوتیپ وجود دارد که با مطالعات تکمیلی بیشتر بایستی این موضوع را مشخص کرد. متوسط تغییرات عملکرد در این ژنوتیپ‌ها ۲۴/۷۹ درصد بود.

گروه سوم: Daneshjo تنها ژنوتیپی است که در این گروه قرار می‌گیرد. نتیجه آزمون الایزا نسبت به ویروس BCMV در این ژنوتیپ مثبت بود. نتایج جدول ۳ نشان می‌دهد که ژنوتیپDaneshj با آغازگر اختصاصی ROC11 باند ایجاد کرده است. به‌عبارت دیگر، این ژنوتیپ واجد ژن مقاوم *bc-3* است. نشان داده شده است که ژن‌های مغلوب خانواده *bc-x* بدون حضور ژن *I* یا *bc-u* نمی‌توانند واکنش‌های مقاومتی را بروز دهند (Vandermark & Miklas, 2002) که این مطلب توجیه‌کنندهٔ واکنش مثبت این ژنوتیپ به BCMV در عین دارابودن ژن مقاوم *bc-3* است. تغییرات عملکرد در این ژنوتیپ در بین کل ژنوتیپ‌های مطالعه‌شده بیشترین مقدار (۶۹/۳۴درصد) بود.

گروه چهارم: تنها موردی که در این گروه قرار گرفت، ژنوتیپ Cardinal بود. واکنش این ژنوتیپ به BCMV طی آزمون الایزا منفی تشخیص داده شد. جدول ۳ مشخص می‌کند که ژنوتیپ Cardinal با آغازگر SBD5 ایجاد باند کرده است. به‌عبارت دیگر، این ژنوتیپ حاوی ژن مقاوم *bc-1²* می‌باشد. اما همان‌طور که قبلاً اشاره شد، ژن‌های خانواده *bc-x* به‌تنهایی نمی‌توانند واکنش‌های مقاومتی را بروز دهند و بایستی با یکی از ژن‌های *I* یا *bc-u* همراه باشند. ازآنجایی‌که این ژنوتیپ با آغازگر SW13 تولید باند نکرده است، می‌توان عنوان کرد که احتمالاً ژنوتیپ Cardinal واجد ژن غیراختصاصی *bc-u* می‌باشد. تغییرات عملکرد این ژنوتیپ ۳۶/۸۸درصد بود.

گروه پنجم: این گروه شامل چهار ژنوتیپ (Cran75, Pinto, Naz, WA8563-3) است. جدول۳ نشان می‌دهد که این ژنوتیپ‌ها با آغازگرSW13 ایجاد باند کرده‌اند؛ یعنی دارای ژن مقاوم *I* می‌باشد. گزارش شده است ارقامی که فقط دارای ژن *I* هستند علایم بیماری را بروز دادند. ژن *I* زمانی می‌تواند مفید واقع شود که با ژن‌های مقاوم مغلوب خانواده *bc-x* همراهی شود (Strausbaugh *et al*., 2003). همچنین زمانی که ژن *I* به‌تنهایی در مقابل نژادهایBCMV قرار می‌گیرد، یک واکنش فوق‌حساسیت در گیاه بروز می‌کند که Black root نامیده می‌شود و نهایتاً باعث مرگ گیاه می‌گردد (Collmer *et al*., 2000). درصورتی‌که اگر این ژن با ژن‌های خانواده *bc-x* همراهی گردد، سبب کاهش و کندشدن تکثیر سیستمیک ویروس شده و تراکم ویروس در گیاه کاهش می‌یابد (Day, 1983). با توجه به مطالب ذکرشده، منطقی به‌نظر می‌رسد که این ژنوتیپ‌ها باوجود دارابودن ژن *I* (به‌تنهایی) واکنش مثبت به ویروس نشان دهند. همچنین می‌توان عنوان کرد که این ژنوتیپ‌ها احتمالاً فاقد دیگر ژن‌های خانواده *bc-x* هستند. تغییرات عملکرد در این ژنوتیپ‌ها ۵۰/۶۰درصد بود.

گروه ششم: پنج ژنوتیپ (MCD4012, Goli, Derakhshan, WA8528-9, D81083) از ۲۵ژنوتیپ مورد مطالعه، در این گروه قرار گرفتند. واکنش این ژنوتیپ‌ها به BCMV منفی بود. نتایج جدول۳ نیز وجود ژن‌های مقاوم *I* و *bc-3* را در این ژنوتیپ‌ها تأیید می‌کند. طی مطالعاتی اعلام شده است که ترکیب ژن *I* و *bc-3* می‌تواند مقاومت خوبی در برابر طیف وسیعی از نژادهای BCMV و BCMNV ایجاد نماید (Day, 1983; Makeshimana *et al*., 2005). بنابراین با وجود ژن‌های *I* و *bc-3*، مقاوم‌بودن این ژنوتیپ منطقی به‌نظر می‌رسد. تغییرات عملکرد ژنوتیپ WA8528-9 در بین کل ژنوتیپ‌ها کمترین مقدار (۵/۶۷درصد) بود و از این نظر می‌تواند حایز اهمیت باشد. متوسط تغییرات عملکرد ژنوتیپ‌های این گروه ۱۰/۸۶درصد بود که کمترین میزان افت عملکرد در شرایط آلودگی نسبت به شرایط عدم آلودگی در بین کل گروه‌ها است.

گروه هفتم: این گروه فقط شامل ژنوتیپCOS16 بود که نتیجه آزمون الایزای آن منفی بود. با توجه به نتایج جدول۳ مشخص شد که COS16 حاوی ژن *bc-3* است. از آنجایی‌که لازمه بروز مقاومت ژن *bc-3*، همراهی آن با ژن *I* یا *bc-u* می‌باشد و با توجه به این‌که این ژنوتیپ فاقد ژن *I* است، می‌توان گفت واکنش منفی به BCMV احتمالاً به‌دلیل حضور ژن *bc-u* در این ژنوتیپ می‌باشد. تغییرات عملکرد آن نیز ۳۰/۲۹درصد بود.

گروه هشتم: این گروه شامل ژنوتیپ‌های Tylor, Sayad, WA4502-1 بود. نتیجه آزمون الایزا در این ژنوتیپ‌ها مثبت بود، اما نتایج جدول۳ وجود ژن‌های مقاوم *I* و *bc-3* را در این ژنوتیپ‌ها تأیید می‌کند. از آنجاکه ترکیب ژن‌های *I* و *bc-3* باعث القای مقاومت می‌شود (Mukeshimana *et al*., 2005)، حساس‌بودن این ژنوتیپ با مطلب ذکرشده، در تناقض است. در توجیه این موضوع بایستی عنوان کرد که در زمینه مقاومت به BCMV، مکانیسم‌های اپیستازی متعددی گزارش شده است. نشان داده شده است که *bc-3* بر روی ژن‌های *bc-1²* و *bc-2²* اپیستاتیک است. از طرفی خود *bc-2²* نیز بر *bc-1²* اپیستاتیک می‌باشد (Kelly *et al*., 1995). با توجه به این مطالب شاید بتوان عنوان کرد که ژن‌های دیگری در این ژنوتیپ اثر اپیستاتیکی بر روی ژن *I* یا *bc-3* ایجاد کرده‌اند که باعث عدم

بروز مقاومت شده است. همچنین مشخص گردیده است که دوزهای متفاوت ژن *I* می‌تواند واکنش‌های مقاومتی متفاوتی ایجاد کند (Collmer *et al*., 2000). البته جواب قاطع به این موضوع، نیازمند مطالعات تکمیلی بیشتری است. متوسط تغییرات عملکرد ژنوتیپ‌های این گروه ۳۱/۸۴درصد بود.

گروه نهم: ژنوتیپ‌های WA8563-4 و WA8563-2 در این گروه قرار گرفتند. واکنش این ژنوتیپ‌ها به BCMV منفی بود. نتایج جدول ۳ وجود ژن مقاوم *I* را در آنها تأیید می‌کند. نشان داده شده است که ژن *I* به‌تنهایی نمی‌تواند مقاومت مناسبی علیه BCMV ایجاد نماید و بایستی با یکی از ژن‌های خانواده *bc-x* همراهی گردد. از طرفی مشخص گردیده است که دوزهای متفاوت ژن *I* می‌تواند واکنش های مقاومتی متفاوتی ایجاد کند (Collmer *et al*., 2000). با توجه به این مطالب می‌توان بیان کرد که جهت بروز مقاومت در این ژنوتیپ، احتمالاً ژن *I* با یکی دیگر از ژن‌های خانواده *bc-x* (به‌جُز *bc-3* و *bc-1*^{2}) همراهی شده است. متوسط تغییرات عملکرد ژنوتیپ‌های این گروه ۲۲/۴۶درصد بود.

گروه دهم: ژنوتیپ 11805 تنها ژنوتیپی است که در این گروه قرار گرفت. آزمون الایزا برای این ژنوتیپ منفی بود و نتایج جدول ۳ وجود ژن‌های مقاوم *I* ، *bc-3* و *bc-1*^{2} را در آن تأیید می‌کند. بنابراین، مقاومت مشاهده‌شده در این ژنوتیپ منطقی به‌نظر می‌رسد. البته بایستی توجه داشت که ژن *bc-3* بر روی ژن *bc-1*^{2} اثر اپیستاتیکی دارد (Kelly *et al*., 1995). تغییرات عملکرد در این ژنوتیپ، کم (۹/۰۵درصد) بود که از این لحاظ، قابل‌توجه است.

مقایسه تغییرات عملکرد گروه های مختلف لوبیا با یکدیگر

میانگین تغییرات عملکرد برای گروه لوبیاچیتی ۴۱/۳۳درصد، لوبیاسفید ۳۰/۶۶درصد، و لوبیاقرمز ۲۷/۹۵درصد بود؛ اما هیچ‌کدام از این گروه‌ها با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند (جدول ۴). در مقایسه دیگر، ژنوتیپ‌هایی که دارای ژن *I* و حداقل یکی از ژن‌های *bc-3* یا *bc-1*^{2} بودند، در یک گروه (A) و باقی ژنوتیپ‌ها در گروهی دیگر قرار گرفتند (B). میانگین درصد تغییرات عملکرد برای گروه اول (A) ۱۷/۶۲ و برای گروه دوم (B) ۴۲/۸۲ به‌دست آمد. نتایج جدول ۴ نشان می‌دهد که اختلاف میانگین این دو گروه، معنی‌دار است (P-value=0.001). به عبارت دیگر، افت عملکرد در اثر ویروس BCMV در ژنوتیپ‌هایی که حاوی ژن *I* و یکی از ژن‌های bc-3 یا *bc-1*^{2} بودند، به‌طور معنی‌داری کمتر از ژنوتیپ‌هایی می‌باشد که فاقد هرگونه ژن مقاوم یا ژن *I* به‌تنهایی یا یکی از ژن‌های *bc-3* و *bc-1*^{2} است. گزارش‌های متعدد تأکید بر آن دارند که بهترین ترکیب ژنی برای مقاومت در برابر اکثر نژادهای BCMV، ترکیب ژن *I* با یکی از ژن‌های *bc-3* یا *bc-1*^{2} می‌باشد (Strausbaugh *et al*., 2003; Makeshimana *et al*., 2005).

در گروه لوبیاچیتی، ژنوتیپ MCD4012 دارای ترکیب ژنی *I* و *bc-3* بود و کمترین میزان تغییرات عملکرد را نشان داد (۱۱/۱۸درصد). در گروه لوبیاقرمز، ژنوتیپ D81083 (۸/۵۸درصد) و Goli (۱۲/۳۵درصد) به‌ترتیب کمترین میزان تغییرات عملکرد را نشان دادند. این دو ژنوتیپ نیز هر دو دارای ترکیب ژنی *I* و *bc-3* بودند. کمترین میزان تغییرات عملکرد در گروه لوبیاسفید مربوط به ژنوتیپ WA8528-9 (۵/۶۷درصد) بود که ترکیب آن نیز به‌صورت *I* و *bc-3* بود. در این گروه و در بین کل ژنوتیپ‌ها، ژنوتیپ ۱۱۸۰۵ تنها ژنوتیپی بود که هر سه ژن *I*، *bc-3* و *bc-1*^{2} را داشت. میزان تغییرات عملکرد این ژنوتیپ نیز نسبتاً کم (۹/۰۵درصد) می‌باشد.

جدول ۴- مقایسه میانگین تغییرات عملکرد گروه‌های مختلف لوبیا در شرایط نرمال و آلودگی BCMV با آزمونt

Table 4. Mean comparison of bean different groups for yield variation in normal and BCMV infected conditions using t-test

مقایسه Comparison		درجه آزادی df	میانگین Mean		t	P-value
Chiti-Red	چیتی-قرمز	14	Chiti 41.33	Red 27.95	1.35	0.200
Chiti-White	چیتی-سفید	16	Chiti 41.33	White 30.66	1.19	0.250
Red-White	قرمز-سفید	14	Red 27.95	White 30.66	0.28	0.787
A-B		23	A 17.62	B 42.82	3.93	0.001

به‌طور کلی، ژنوتیپ‌های مورد بررسی از نظر ژن‌های مقاوم به BCMV در سطح خوبی قرار داشتند. میزان ۶۰درصد ژنوتیپ‌ها حاوی ژن *I*، ۴۴درصد دارای ژن *bc-3* و ۸درصد حاوی ژن مغلوب *bc-1*^{2} بودند که در این بین، در رابطه با ژن *I* و *bc-3* بیشترین سهم مربوط به گروه لوبیاقرمز بود. در بین ژن‌های مورد بررسی، کمترین سهم مربوط به ژن *bc-1*^{2} بود؛

به‌طوری‌که تنها یک ژنوتیپ گروه لوبیاچیتی (Cardinal) و یک ژنوتیپ گروه لوبیاسفید (۱۱۸۰۵) حاوی آن بودند و هیچ‌یک از ژنوتیپ‌های گروه لوبیاقرمز، این ژن را نداشتند (جدول ۳).

ژنوتیپ‌های MCD4012 (چیتی)، D81083 (قرمز)، WA8528-9 (سفید) و 11805 (سفید)، همگی در آزمون الایزا واکنش منفی نشان دادند و تغییرات عملکرد آنها نیز نسبت به بقیه ژنوتیپ‌ها در سطح بسیار پایین‌تری بود. همچنین این ژنوتیپ‌ها همگی حاوی ترکیب ژنی *I* و *bc-3* هستند که بر اساس گزارش‌های مختلف (Strausbaugh *et al*., 2003; Makeshimana *et al*., 2005)، بهترین ترکیب ژنی مقاوم علیه ویروس BCMV می‌باشد. لذا باتوجه به نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق، پیشنهاد می‌شود در مطالعات اصلاحی آتی در خصوص ارقام مقاوم به ویروسBCMV، به این ژنوتیپ‌ها توجه ویژه‌ای بشود. همچنین دو ژنوتیپ Local Khomein و Capsoli در آزمون الایزا واکنش منفی به ویروسBCMV نشان دادند و تغییرات عملکرد آنها نیز کمتر از میانگین کل بود. از آنجاکه این دو ژنوتیپ فاقد هر سه ژن مقاوم مورد بررسی بودند، لذا این احتمال وجود دارد که ترکیبات ژنی مقاوم جدید در ژنوتیپ‌های Local Khomein و Capsoli (براساس نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق) وجود داشته باشد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از ایستگاه ملی تحقیقات لوبیای خمین به‌دلیل همکاری در تهیه بذور مورد آزمایش، سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

1. Ali, M. 1950. Genetic of resistance to the common bean mosaic virus (bean virus 1) in the bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Phytopathology 40: 69-79.
2. Ariyarathne, H.M., Coyne, D.P., Jung, G., Skroch, P.W., Vidaver, A.K., Steadman, J.R., Miklas, P.N., and Bassett, M.J. 1999. Molecular mapping of disease resistance genes for halo blight, common bacterial blight, and bean common mosaic virus in a segregating population of common bean. Journal of the American Society for Horticultural Science 124(6): 654-662.
3. Clark, M.F., and Adams, A.N. 1977. Characteristics of the micro plate method of enzyme-linked immune sorbent assay for detection of plant viruses. Journal of Genetic Virology 34: 475-483.
4. Collmer, C.W., Marston, M.F., Taylor, J.C., and Jahn, M. 2000. The *I* gene of bean: A dosage-dependent allele conferring extreme resistance, hypersensitive resistance, or spreading vascular necrosis in response to the potyvirus bean common mosaic virus. Molecular Plant-Microbiology Interaction 13: 1266-1270.
5. Day, K.L. 1983. Resistance to bean common mosaic virus in *Phaseolus* bean. Annual Report pp: 19- 21.
6. Drijfhout, E. 1978. Genetic interact *Phaseolus vulgaris* and bean common mosaic virus with implications for strain identification and breeding for resistance. PhD. Dissertation. Wageningen Agriculture Research Report. 872.
7. Drijfhout, E. 1991. Bean Common Mosaic. In: R. Hall (Ed.). Compendium of Bean Diseases. APS Press, The American Phytopathological Society, Minnesota: 37-39.
8. Drijfhout, E., Silbernagel, M.J., and Burke, D.W. 1978. Differentiation of strains of bean common mosaic virus. Netherland Journal Plant Pathology 84: 13-26.
9. Eduardo, C.V., Gustavo, A.M., Valerie, J., Tommy, R.P., Ney, S.S., and Sally, A.M. 2006. Genetic and molecular characterization of the *I* locus of *Phaseolus vulgaris*. Genetics 172: 1229-1242.
10. Gowel, N.J., and Jarret, R.L. 1991. A modified CTAB DNA extraction procedure for *Musa* and *Ipomoea*. Plant Molecular Biology Report 9: 262-266.
11. Haley, S.D., Afanador, L., and Kelly, J.D. 1994. Identification and application of a random amplified polymorphic DNA marker for the *I* gene (potyvirus resistance) in common bean. Phytopathology 84: 157-160.
12. Hassani, M., and Shahraeen, N. 2001. Determine of resistance bean genetically sources to CMV, BYMV and BCMV. Final Report, Central Province Agriculture Research Center.
13. Johnson, W.C., Guzman, P., Mandala, D., Mkandawire, A.B.C., Temple, S., Gilbertson, R.L., and Gepts, P. 1997. Molecular tagging of the bc-3 gene for introgression into Andean common bean. Crop Science 37: 248-254.
14. Kamelmanesh, M.M., Dorri, H.R., Ghasemi, S., Bihamta, M.R., and Darvish, F. 2008. Gene action for resistance to Bean common mosaic virus (BCMV) in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Iranian Journal of Field Crops Research 6(2): 363-370.

15. Kelly, J.D. 1997. A review of varietal response to bean common mosaic potyvirus in *Phaseolus vulgaris*. Plant & Seed 10: 1-6.
16. Kelly, J.D., Afanador, L., and Haley, S.D. 1995. Pyramiding genes for resistance to bean common mosaic virus. Euphytica 82: 207-212.
17. Makeshimana, G., Pandea, A., Rodriguez, S.C., and Ferreira, J.J. 2005. Markers linked to the bc-3 gene conditioning resistance to bean common mosaic potyviruses in common bean. Euphytica 144(3): 291-299.
18. Melloto, M., Afanador, L., and Kelly, J.D. 1996. Development of a SCAR marker linked to the *I* gene in common bean. Genome 39: 1216-1219.
19. Miklas, P.N., Hang, A.N., Kelly, J.D., Strausbaugh, C.A., and Forster, R.L. 2002. Registration of three kidney bean germplasm lines resistance to bean common mosaic and necrosis potyvirus: USLK-2 light red kidney, USDK-4 dark red kidney, and USWK-6 white kidney. Crop Science 42: 674-675.
20. Miklas, P.N., Larsen, R.C., Riley, R., and Kelly, J.D. 2000. Potential marker-assisted selection for *bc-1²* resistance to bean common mosaic potyvirus in common bean. Euphytica 116: 211-219.
21. Prasad, S.M., Barnwal, M.K., Sharma, R.B., and Prasad, N. 2007. Influence of different dates of sowing on incidence of virus diseases of French bean. 18(1): 44- 46.
22. Shree, P.S. 2001. Broadening the genetic base of common bean cultivars: A review. Crop Science 41: 1659-1675.
23. Silbernagel, M.J., Mink, G.L., Zhao, R.L., and Zhang, G.Y. 2001. Phenotypic recombination between bean common mosaic virus and bean common mosaic necrosis potyvirus in vivo. Archives of Virology 146: 1007-1020.
24. Singh, S.P., Teran, H., Lema, M., Webster, D.M., Strausbaugh, C.A., Miklas, P.N., Schwartz, H.F., and Brick, M.A. 2007. Seventy-five years of breeding dry bean of the Western USA. Crop Science 47(3): 981-989.
25. Strausbaugh, C.A., Miklas, P.N., Singh, S.P., Myers, J.R., and Forster, R.L. 2003. Genetic characterization of differential reaction among host group 3 common Bean cultivars to NL-3 K strain of Bean common mosaic necrosis virus. Phytopathology 93: 683-690.
26. Strausbaugh, C.A., Myers, J.R., Forster, R.L., and Mc Clean, P.E. 1999. *Bc-1* and *Bc-u* Two loci controlling bean common mosaic virus resistance in common bean are linked. Journal of American Society Horticulture Science 124: 644-648.

Iranian Journal of Pulses Research
Vol. 5, No. 1, 2014, p. 159-168

Distribution study of resistant genes to Bean Common Mosaic Virus in bean genotypes (*Phaseolus vulgaris* L.) using SCAR molecular markers

Kamelmanesh[1], M.M., Namayandeh[2*], A. & Bihamta[3], M.R.

1. Department of Plant Protection, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz-Iran
2. Department of Horticulture Science, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz-Iran
3. Department of Agriculture Biotechnology of Tehran University

Received: 13 December 2011
Accepted: 17 November 2012

Abstract

In order to determine resistance genetically potential of some bean genotypes to Bean Common Mosaic Virus, two separated experiments in randomized complete block design with 25 genotypes and three replications was conducted in IAU Shiraz Branch. The first experiment and the second one were performed in normal and BCMV infected conditions, respectively. Plants were inoculated in cotyledon leaf and first triple leaflet stage in the method of mechanical using carborundum powder. After 21 days, the first inoculation, sampling for PTA-ELISA test was done. According to the results, the genotypes that have *I* gene and at least one of the *bc-3* and *bc-1*^{2} genes showed less yield decline in BCMV infected conditions than other genotypes (p-value=0.001). The least yield variation was relevant to WA8528-9 genotype (5.67%) which containing of *I* and *bc-3* genes. Among the genotypes, only 11805 had all of three (*I*, *bc-3* and *bc-1*^{2}) genes. Yield variation of this genotype was 9.05%. Evidences have shown that 60% of genotypes had *I*, 44% had *bc-3* and 8% had *bc-1*^{2} genes, respectively. One of the other important results of this research was negative reaction of two genotypes (Local Khomein and Capsoli) to ELISA test. These genotypes were devoid of each three resistant genes, whereas yield variations of them were low in BCMV infected conditions. Existence of new combinations of genes are possible in Local Khomein and Capsoli genotypes, so these genotypes should be considered specially.

Key words: BCMV, Bean, SCAR marker, Yield variation

* **Corresponding Author:** namayandeh@iaushiraz.ac.ir, Mobile: 09173028464