مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (35) العدد (5) 2013
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (35) No. (5) 2013

التحري عن الانتقال الطبيعي لبعض الفيروسات ببذور اللوبياء.

الدكتور عماد دأود اسماعيل*
يولا درويش**

(تاريخ الإيداع 21 / 4 / 2013. قبل للنشر في 20 / 6 / 2013)

□ ملخّص □

أشارت نتائج اختيار البصمة النسيجية المناعية (TBIA) لـ 754 بذرة لوبياء جمعت من مناطق مختلفة من محافظة اللاذقية انتقال فيروسٍ واحدٍ فقط وهو فيروس موزاييك البازلياء المنقول بالبذور (PSbMV) من بين خمسة فيروسات استخدمت أمصالها في الاختيار (CMV, BYMV, PSbMV, BBMV and AMV). وتضمنت جميع المصادر بذوراً تحمل الفيروس وكانت نسبة الانتقال عالية حيث تراوحت ما بين 24,64% و% 37,50. تُعدّ هذه النتيجة التسجيل الأول محلياً لانتقال فيروس موزاييك البازلياء المنقول بالبذور إلى بذور اللوبياء.

الكلمات المفتاحية: بذور لوبياء, انتقال فيروسات بالبذور, اختبار البصمة النسيجية المناعية.

* أستاذ– قسم وقاية النبات– كلية الزراعة– جامعة تشرين– اللاذقية– سورية.
** مشرفة على الأعمال– قسم العلوم الطبيعية – كلية العلوم– جامعة تشرين–اللاذقية– سورية.

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (35) العدد (5) 2013
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (35) No. (5) 2013

Survey of natural transmission of some viruses by cowpea seeds.

Dr..Imad D.Ismail*
Youla Darwish**

(Received 21 / 4 / 2014. Accepted 20 / 6 /2013)

□ ABSTRACT □

The results of Tissue-blot immunobinding assay (TBIA) of 754 samples of cowpea seeds collected from various regions in Lattakia province has showed the transmission of *Pea seed borne mosaic virus* (PSbMV) among five virus studied (CMV, BYMV, PSbMV, BBMV and AMV). *Pea seed borne mosaic virus* was detected on seeds collected from various locations in 24, 64% to 37, and 50%.
This result is the first record of seed transmission of PSbMV in cowpea seeds.

Keywords : cowpea seeds, Seed transmitted viruses. TBIA

* **Professor, Department of Plant Protection, faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria.**
** **Work Supervisor, Tishreen university, Lattakia, Syria**.

مقدمة:

للبقوليات المرتبة الثانية بعد النجيليلات من حيث أهميتها الغذائية, وتُعدّ من أهم المحاصيل الزراعية في المناطق الآسيوية والإفريقية وأمريكا اللاتينية والمناطق الاستوائية وشبه الاستوائية وأوروبا الجنوبية و بلغ الإنتاج الأعلى من اللوبياء في أفريقيا حوالي 4099 مليون طن وكانت المساحة المزروعة 10.1 مليون هكتار (FAO,2008). تزرع اللوبياء في سورية على مساحة 1129 هكتار وإنتاج 5508 طن (المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية لعام 2008). واللوبياء تتميز بغناها بالنياسين والثيامين والكربوهيدرات والألياف والدهون والبروتين والرايبوفلافين. (Timko *et al*,, 2007).

وتعد اللوبياء cb *Vigna unguiculate* محصولاً علفياً تساهم في تخصيب التربة (Bashir and Hampton,1996) وتصاب بأكثر من 20 فيروساً مسجلين في دول مختلفة من العالم (Singh *et al*, ,1997; Baukar,2004) وينتقل ببذورها 16 فيروساً (Hampton,1983). يشكل انتقال الفيروسات بالبذور عاملاً بالغ الخطورة في إدخال ونشر العديد منها, وخاصة في المراحل الأولى للموسم الزراعي, كذلك في حماية الفيروس وحفظه داخل أنسجتها, وفي نقلها لمسافات بعيدة في المنطقة الواحدة, ومن بلد إلى بلد آخر, ومن قارة إلى قارة أخرى عن طريق التبادل التجاري (Mathews,1970; Albrechtsen,1997) و تؤكد المراجع العالمية أن 14% من فيروسات النبات تنتقل ببذور عائل واحد على الأقل من عوائلها النباتية (Stace-Smith & Hampton,1983) وأن نسبة الانتقال تتراوح ما بين أقل من 1% حتى 100% (عمار وشتا، 2008). يعدُّ فيروس موزاييك الخيار *Cucumber mosaic virus* (CMV, *Cucumovirus*, Bromoviridae) من الأمثلة المهمة على خطورة انتقال الفيروسات بالبذور (Zitter,2004)، سجل انتقال الفيروس ببذور 19 نوعاً نباتياً بعضها محاصيل زراعية ومن ضمنها اللوبياء وبعضها أعشاب برية (Fegla and El-Mazaty,1981) وفشلت معظم الإجراءات والوسائل التي استخدمت في الحد من انتشار فيروس موزاييك الخيار في دول عديدة من العالم, وتبين أن الطريقة الأكثر فاعلية هي استخدام بذور خالية من الإصابة الفيروسية (Fegla,*et al*,1983,1990). ينتقل كذلك فيروس موزاييك الفصة *Alfalfa mosaic virus* (AMV, *alfamovirus*, Bromoviridae) ببذور أنواع عديدة من النباتات البرية والمزروعة (Sutic *et al*,1999) وببذور الفليفلة بنسبة 0.6% إلى 8% (إسماعيل وآخرون، 2008). وأشار (راعي، 2011) إلى انتقال كل من فيروسي موزاييك الخيار وموزاييك الفصة ببذور البندورة. وأشير إلى انتقال فيروس الموزاييك الأصفر في الفاصولياء *Bean yellow mosaic virus* (BYMV, *Potyvirus*, Potyviridae) ببذور العدس والفول والبازلياء (Kumari *et al,* 1994; Makkouk *et al*., 1982). وينتقل فيروس موزاييك البازلياء المنقول بواسطة البذور *Pea-seed born mosaic virus* (PSbMV, *Potyvirus*, Potyviridiae) ببذور البازلياء والفول والبيقية (Musil,1996, 1980) وببذور الحمص والعدس والفول (Latham and Jones. 2001), وينتقل بنسبة 95% ببذور البازلياء (Cockbain,1988). وأُشير إلى انتقال فيروس تبرقش الفول *Broad Bean Mottle Virus* (BBMV, *Bromovirus*, Bromoviridlae) ببذور الفول والحمص والبازلياء (Fortass and Bos,1992).

وتؤكد المراجع العلمية المختلفة على خطورة استخدام بذور المحصول السابق في الزراعات اللاحقة وأن البذور الحاملة للفيروس يجب أن تكون بحدودها الدنيا وبما لا تزيد عن 0.1% عند بعض الفيروسات وأن العامل المحدد لزراعة بعض المحاصيل الزراعية هو انتقال بعض الفيروسات ببذورها (Tomlinson, 1962; Grogan and Bardin,1950).

أهمية البحث وأهدافه:

تعود أهمية البحث إلى: الأهمية الغذائية والاقتصادية لمحصول اللوبياء، واستخدام الكثير من المزارعين بذور المحصول السابق في الزراعة في الموسم القادم. انتقال العديد من الفيروسات النباتية ببذور اللوبياء. وإلى عدم وجود دراسات محلية متعلقة بانتقال بعض الفيروسات ببذور اللوبياء.

يهدف البحث إلى الكشف والتحري عن انتقال فيروسات: موزاييك الخيار, موزاييك الفصة, الموزاييك الأصفر في الفاصولياء, تبرقش الفول, وموزاييك البازلياء المنقول بالبذور, في بذور اللوبياء وذلك بغية التعرف على نسب الانتقال, والعمل مستقبلاً على الحد من انتشار الإصابات الفيروسية باستخدام بذور خالية من الفيروس.

طرائق البحث ومواده:

- **البذور المستخدمة في الزراعة:**

تم الحصول على بذور اللوبياء من مناطق مختلفة في اللاذقية، جبلة، بانياس، مشقيتا، فديو حيث اعتاد المزارعون على تأمين البذور من المواسم السابقة وزراعتها في المواسم القادمة بالإضافة إلى بذور صنف مستورد Coltes والمعقمة بمادة التيترام من إنتاج شركة MAY.

- **تحضير صواني الإنبات:**

تم تحضير صواني إنبات مصنوعة من الفلين الأبيض بأبعاد 63×45 سم تحوي حفراً أبعادها 17×12 وبعمق 7سم غسلت جيداً وجففت ثم ملئت جميع الحفر بالتورب الزراعي المعقم باتجاه قعر الحفرة بحيث يشكل التورب الزراعي ثلاثة أرباع حجم الحفرة الواحدة, ووضعت بذور كل صنف على حدة وبذرة واحدة في كل حفرة الواحدة الشكل الآتي:

220 بذرة من الصنف المستورد، 204 بذورة محلية/جبلة، 170 بذرة محلية/مشقيتا، 170 بذرة محلية/بانياس، 204 بذورة محلية/فديو. تمت تغطية جميع البذور بكمية قليلة من التورب الزراعي وضغطت قليلا ورطبت بكمية مناسبة من الماء العادي, ثم وضعت جميع الصواني في مكان مناسب في مخبر الأمراض البكتيرية والفيروسية في كلية الزراعة– جامعة تشرين, وتم تغطيتها بالنايلون الأسود حفاظا على الرطوبة والحرارة اللازمتين حتى الإنبات. بلغ المجموع الكلي للبذور المزروعة في صواني الإنبات 968 بذرة, وأجري الكشف الدوري على البادرات, وتقديم الخدمة اللازمة حتى وصلت إلى طول 20 سم تقريباً.

- **الاختبار المصلي المستخدم في الدراسة:**

استخدم اختبار البصمة النسيجية المناعية Tissue Blot Immunobinding Assay (TBIA) واستخدم لهذا الغرض ورق السيليلوز المُنترت Nitrocellulose membrane قطر ثقوبها 0.45 ميكرون من إنتاج شركة Scheicher & Schuell الألمانية. والأمصال المضادة لكل من فيروسات موزاييك االخيار (CMV)، والموزاييك الأصفر في الفاصولياء (BYMV)، وموزاييك البازلياء المنقول بواسطة البذور (PSbMV)، تبرقش الفول (BBMV)، وموزاييك الفضة (AMV). طبعت مقاطع سوق بادرات كل مصدر على حدة على أوراق السيليلوز المُنترت بمعدل (9–15) بادرة لكل طبعة وعدَّت بمثابة عينةً مركبةً حيث ضُمَّ بعضها إلى بعض بواسطة أغشية البارافيلم, وتمت عملية القطع بواسطة شفرة حادة معقمة. أجري الاختبار حسب الطريقة الموصوفة من قبل (مكوك وقمري، 1996) في مخبر الأمراض الفيروسية في المركز الدولي للبحوث الزراعية في المناطق الجافة (إيكاردا) حلب/سورية. حسبت النسبة المئوية للانتقال بالبذور وفق القانون:

$$\text{النسبة المئوية للانتقال بالبذور} = \frac{\text{عدد البادرات ءابة المص}}{\text{عدد البادرات المختبرة}} \times 100$$

النتائج و المناقشة:

من خلال المتابعة والمراقبة الدورية لبادرات اللوبياء المزروعة في صواني الإنبات شوهدت أعراض مشابهة للأعراض التي تسببها فيروسات النبات مثل: اصفرار العروق، الموزاييك، شحوب عام، تجعد وتشوه، اختزال في سطح الأوراق الخ.

استخدم المجهر الضوئي Binocular في قراءة الاختبار المصلي (TBIA) الذي اجري على أوراق السيليلوز المُنترت حيث يدل اللون الأزرق الأرجواني على الإصابة وعدم ظهوره يدل على نفي الإصابة, وكانت النتائج كما هو مبين في الجدول (1).

جدول(1): نتائج اختبار البصمة النسيجية المناعية لبادرات البذور التي جمعت من مناطق مختلفة في اللاذقية و النسبة المئوية للبذور الحاملة للعدوى الفيروسية:

مصدر البذور	رقم العينة المركبة /النباتات في العينة	عدد النباتات المصابة بفيروس CMV	عدد النباتات المصابة بفيروس BYMV	عدد النباتات المصابة بفيروس PSbMV	عدد النباتات المصابة بفيروس BBMV	عدد النباتات المصابة بفيروس AMV	النسبة المئوية للبذور الحاملة للفيروس				
							CMV	BYMV	PSbMV	BBMV	AMV
صنف مستورد Coltes	15\1	–	–	–	–	–	%0	%0	%0	%0	%0
	15\2	–	–	–	–	–	%0	%0	%0	%0	%0
	15\3	–	–	+\15	–	–	%0	%0	%100	%0	%0
	15\4	–	–	+\15	–	–	%0	%0	%100	%0	%0
	15\5	–	–	+\15	–	–	%0	%0	%100	%0	%0
	15\6	–	–	–	–	–	%0	%0	%0	%0	%0
	15\7	–	–	–	–	–	%0	%0	%0	%0	%0
	15\8	–	–	–	–	–	%0	%0	%0	%0	%0
	15\9	–	–	–	–	–	%0	%0	%0	%0	%0
	15\10	–	–	–	–	–	%0	%0	%0	%0	%0
	15\11	–	–	+\15	–	–	%0	%0	%100	%0	%0
	15\12	–	–	–	–	–	%0	%0	%0	%0	%0
	15\13	–	–	–	–	–	%0	%0	%0	%0	%0
	15\14	–	–	–	–	–	%0	%0	%0	%0	%0
المجموع	\14 210	0	0	+\60	0	0	%28.57				
جبلة	15\1	–	–	–	–	–	%0	%0	%0	%0	%0
	15\2	–	–	+\12	–	–	%0	%0	%80	%0	%0
	15\3	–	–	+\13	–	–	%0	%0	86.62 %	%0	%0
	15\4	–	–	–	–	–	%0	%0	%0	%0	%0
	15\5	–	–	–	–	–	%0	%0	%0	%0	%0
	15\6	–	–	–	–	–	%0	%0	%0	%0	%0
	15\7	–	–	–	–	–	%0	%0	%0	%0	%0

	15\8	–	–	+\8	–	–	0%	0%	53.33 %	0%	0%
	15\9	–	–	+\5	–	–	0%	0%	%100	0%	0%
	15\10	–	–	–	–	–	0%	0%	%0	0%	0%
	15\11	–	–	–	–	–	0%	0%	%0	0%	0%
	15\12	–	–	–	–	–	0%	0%	%0	0%	0%
	15\13	–	–	–	–	–	0%	0%	%0	0%	0%
المجموع	\13 190	0	0	+\48	0	0	0%	%25.26			

مصدر البذور	رقم العينة المركبة /النباتات في العينة	عدد النباتات المصابة بفيروس CMV	عدد النباتات المصابة بفيروس BYMV	عدد النباتات المصابة بفيروس PSbMV	عدد النباتات المصابة بفيروس BBMV	عدد النباتات المصابة بفيروس AMV	النسبة المئوية للبذور الحاملة للفيروس				
							CMV	BYMV	PSbMV	BBMV	AMV
مشقتا	15\1	–	–	+\15	–	–	0%	0%	%100	0%	0%
	15\2	–	–	–	–	–	0%	0%	0%	0%	0%
	15\3	–	–	–	–	–	0%	0%	0%	0%	0%
	15\4	–	–	–	–	–	0%	0%	0%	0%	0%
	15\5	–	–	–	–	–	0%	0%	0%	0%	0%
	15\6	–	–	–	–	–	0%	0%	0%	0%	0%
	15\7	–	–	+\15	–	–	0%	0%	%100	0%	0%
	15\8	–	–	+\15	–	–	0%	0%	%100	0%	0%
المجموع	120\8	0	0	+\45	0	0	0%	%37.5			
بانياس	15\1	–	–	+\2	–	–	0%	0%	%13.33	0%	0%
	15\2	–	–	+\15	–	–	0%	0%	%100	0%	0%
	15\3	–	–	–	–	–	0%	0%	0%	0%	0%
	15\4	–	–	–	–	–	0%	0%	0%	0%	0%
بانياس	9\5	–	–	–	–	–	0%	0%	0%	0%	0%
المجموع	69\5	0	0	+\17	0	0	0%	%24.64			
فنيو	15\1	–	–	+\13	–	–	0%	0%	%86.67	0%	0%
	15\2	–	–	+\5	–	–	0%	0%	%33.33	0%	0%
	15\3	–	–	+\6	–	–	0%	0%	%40	0%	0%
	15\4	–	–	+\6	–	–	0%	0%	%40	0%	0%
	15\5	–	–	+\6	–	–	0%	0%	%40	0%	0%
	15\6	–	–	+\8	–	–	0%	0%	%53.33	0%	0%
	15\7	–	–	+\14	–	–	0%	0%	%93.33	0%	0%
	15\8	–	–	–	–	–	0%	0%	%0	0%	0%
	15\9	–	–	–	–	–	0%	0%	%0	0%	0%
	15\10	–	–	–	–	–	0%	0%	%0	0%	0%
	15\11	–	–	–	–	–	0%	0%	%0	0%	0%
المجموع	165\11	0	0	+\58	0	0	0%	%35.15			

(+ نبات مصاب, – لا توجد إصابة)

يتبين لنا من الجدول (1) أن جميع البادرات التي تم فحصها بواسطة الاختبار المصلي (TBIA) والناتجة عن البذور التي تم جمعها من مناطق مختلفة في اللاذقية كانت خالية من الإصابة بفيروسات موزاييك الخيار والموزاييك الأصفر في الفاصولياء وتبرقش الفول وموزاييك الفصة، في حين سُجّل انتقال فيروس واحد فقط هو فيروس موزاييك البازلياء المنقول بالبذور ببذور اللوبياء التي جمعت من مناطق جبلة ومشقيتا وبانياس وفديو وفي البذور المستوردة وبنسب مئوية مختلفة 25.26%، 37.50%، 24.64%، 33.15%، 28.57%، على التوالي وتراوحت نسبة الانتقال في البذور المختبرة ما بين 24.64% و 37.50%.

لم تتوافق نتائجنا مع نتائج Gillapsie وآخرين (1995) و Bashir و Hampton (1996) من حيث انتقال بعض الفيروسات المستخدمة أمصالها في دراساتهم, ومن الراجح أن يعود ذلك إلى واحدٍ أو أكثر من العوامل الآتية: اختلاف موعد جمع البذور، الصنف النباتي المزروع والمختبر، السلالة الفيروسية المنتشرة في مناطق جمع البذور، الاختيار المصلي المستخدم، وبغض النظر عن نوع الفيروس تتوافق نتائجنا مع Bashir و Hampton (1996) حول الكشف عن انتقال سبعة فيروسات معروفة بإصابتها للوبياء فقد تبين أن فيروساً واحداً من أصل سبعة فيروسات استخدمت أمصالها ينتقل ببذور اللوبياء.

بما أن فيروس موزاييك البازلياء المنقول بالبذور يتميز بانتقاله ببذور البازلياء (Cockbain, 1988) وهي إحدى أنواع نباتات الفصيلة البقولية فمن المنطقي توقع انتقاله ببذور اللوبياء باعتبار اللوبياء نوعاً نباتياً ينتمي إلى الفصيلة البقولية.

تُعدُّ هذه النتيجة التسجيل الأول محليا لانتقال فيروس موزاييك البازلياء ببذور اللوبياء التي جمعت من مناطق مختلفة في اللاذقية وبنسب تتراوح ما بين 24.64% و 37.50%.

الاستنتاجات والتوصيات:

الاستنتاجات:

1- انتقال فيروس موزاييك البازلياء المنقول بالبذور ببذور اللوبياء التي تم جمعها من مناطق مختلفة في اللاذقية ويشير ذلك إلى وجود بؤر طبيعية للعدوى في مناطق الجمع. كما سُجل انتقال الفيروس في البذور المستوردة.

2- ينتقل فيروس موزاييك البازلياء المنقول بالبذور بنسب عالية تراوحت ما بين 24.64% و37.50% والأخيرة كانت عند البذور التي جمعت من منطقة مشقيتا.

3- يدل التعدد والتنوع للأعراض التي ظهرت على البادرات على إصابة البذور بأكثر من فيروس لم تستخدم أمصالها في الدراسة.

التوصيات:

1- عدم توزيع البذور المستوردة على المزارعين قبل التأكد من خلوها من الإصابة الفيروسية.

2- لا يجوز جمع البذور نهاية الموسم الحالي واستخدامها للزراعة في الموسم القادم ما لم تُختبر.

3- التقصي عن نقل بذور اللوبياء لفيروسات أخرى باستخدام أمصال لم تستخدم في الدراسة.

المراجع:

1- إسماعيل,عماد دأود, الفاعي, باسل فهمي, يوسف, ريم نوفل: *انتقال فيروسي موزاييك الخيار وموزاييك الفصة بواسطة بذور الفليفلة*. مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية, سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (30) العدد (11), 2008, 181-189.

2- المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية لعام 2008.

3- راعي, سليم يونس: *انتقال فيروسي موزاييك الخيار وموزاييك الفصة ببذور البندورة*. مجلة جامعة تشرين, سلسلة العلوم البيولوجية للبحوث والدراسات العلمية, قيد النشر بموجب المدافعة رقم 672 تاريخ 13-6-2011.

4- عمار, الدسوقي أبو اليزيد وشتا, هاني محمد: *طرائق انتقال أمراض النبات الفيروسية والعوامل المؤثرة في وبائيتها*, صفحات 77-146, من كتاب الأمراض الفيروسية للمحاصيل الزراعية المهمة في المنطقة العربية, إعداد خالد محي مكوك وجبر فجلة وصفاء قمري, مطبعة دار النهضة العربية, بيروت, لبنان.2008, 631.

5- مكوك, خالد محي الدين وقمري, صفاء غسان: *الكشف عن عشرة فيروسات تصيب المحاصيل البقولية بالاختبار المصلي لبصمة النسيج النباتي*. مجلة وقاية النبات العربية, 1996, (14)(1):3-9.

6- Al-BRECHTESN, S. E.; *Seed-borne viruses (lecture notes) Danish Government Institute of seed pathology for Developing countries*,1997,34 pp.

7- BASHIR, M, and HAMPTON, R.O.: *Detection and identification of seed-borne viruses from cowpea (vigna unguculata (L) walp) germplasm*. plant pathology. 1996, 45:54-58.

8- BASHIR, M, & HAMPTON, R, O.; *Serological and biological comparisons of blackeye cowpea mosaic and cowpea aphid-borne mosaic potyvirus isolates seed-borne in vigna unguiculate (L) walp germplasm*. Journal of phytopathology-phtopathologhische Zeitschrift. 1996, 144, 257-263.

9- BAUKAR,O.; *Serological dedication of seed borne viruses in cowpea germplasm using protein a sandwich enzyme linked Immune Sorbent assay*. African crop science journal, 2004 vol.17,no.3, sep. pp.125-132.

10- COCKBAIN, A. J.; *Pea seed-borne mosaic virus (PSBMV)*. Rothmasted Annual Report. 1988; 70-71.

11- FAO, 2008, *food and agriculture organization*.

12- FEGLA, G. I. and El-MAZATY.; *Distribution of certain viruses affecting cucurbits in Egypt and susceptibility of cucurbit cultivars to the most prevalent one*. Alexandria journal of Agricultural research. 1981, 29:247-258.

13 - FEGLA, G., L, A. L. B. SHAWKAT and N, A. RAMADAN: *Effect of infection date of lettuce mosaic virus on seed transmission, vegetative growth and certain contents of lexuce plants*, Iraq journal of agricultural sciences, 1983, 1;91-101.

14- FEGLA, G,, I, Y, M. EL-FAHAM,, E. E. WAGIH and EL-KARTON: *Occurrence of lettuce mosaic virus in Alexandria and effect of infection on seed yield and transmissibility*. journal of king sound university, Agricultural science, 1990, 1:93-103.

15- FORTASS, M. and L. BOS.; *Broad bean mottle virus in Morocco: variability, infection with food legume species and seed transmission in faba bean and chick pea*, Netherlands journal of plant pathology, 1992, 98:329-342.

16- GILLASPIE, A, G,, HOPKINS, M, S, and PINNOW D.L.; *Seed-borne viruses in pre introduction cowpea seed lots and establishment of virus–Free Accessions*. Plant Disease,1995,79,388-391.

17- GROGAN, R, G. and BARDIN, R.; *Some aspects concerning the seed transmission of lettuce mosaic virus*. phytopathology. 1950, 40, 965.
18- HAMPTON, R. O.; *Seed-borne viruses in crop germplasm resources: disease dissemination risks and germplasm reclamation technology*. Seed science technology, 1983. 11, 596-546.
19- KUMARI, S. G., K. M MAKkOUK and I. D. ISMAIL.; *Seed transmission and yield loss induced in lentil (lens culinaris med) by bean yellow mosaic potyvirus*. LENS newsletter, 1994, 21, 42-44.
20- LATHAM, L. J. and R. A. C. JONES; *Incidence of virus infection in experimental plots. commercial crops and stock of cool season crop legumes*. Australian journal of Agricultural Research, 2001, 52, 397-413.
21- MAKKOUK, K. M., L. LESEMANN, D.E. and HADDAD. N.A; *Bean yellow mosaic virus from broad bean in Lebanon, incidence, host range, purification and serological properties* . Journal of Plant Diseases Reporter.1982, 89;50-60.
22- MATTHEWS R, E, F.; *Plant virology*. Academic press, New York, 1970.
23- MUSIL, M; *uber das Vorkommen des virus des Blattrollens des Erbse in der slowakei: (vorlaufige Mitteilung)*. Biologia (Bratislava), 1996, 21: 133-138.
24- MUSIL, M.; *Seed transmission of pea leaf rolling mosaic virus (pea seed-borne mosaic virus).* Tagungsberiche Akademic der Landwirtschafsstswissenscften (DDR) Berline 1980,184,345-352.
25- SINGH, B.B., O.L. CHAMBLISS and B. SHARMA. "*Recent advances in cowpea breeding*", pages 30–49, In: Advances in Cowpea Research, edited by B.B. Singh, D.R. Mohan Raj, K.E. Dashiell, and L.E.N. Jackai. Copublication of International Institute of Tropical Agriculture (IITA) and Japan International Research Center for Agricultural Sciences (JIRCAS). IITA, Ibadan, Nigeria (1997).
26- SUTIC, D, D, R. E. FORD and M. T. TOSIC.; *Hand book of plant viruses Diseases*. Boca Raton, Florida, CRC Press, 1999, P. P 553.
27- TIMKO,M.P., EHLERS,j.A.and ROBERTS,P.A: *Cowpea*. chapter 3 in Genome Mapping and Molecular Breeding in plants, Volume,2007 pp.49-67.
28- TOMLINSON,j.A.; *Control of lettuce mosaic virus by use of healthy seeds*. plant pathology 1962,11,61-64.
29- ZITTER,T.A.: *Pepper diseases control it starts with the seed* .Cornel university, vegetable MD online; htt://vegtablemdonline.ppath.comell.edu/2004.