

تحسين كفاءة حشرات المنّ لغريلة أصناف من الحمص مقاومة لفيروسية التفاف أوراق الفول (BLRV) والإصفرار الغربي للشوندر السكري/البنجر (BWYV)

مصعب حلواني¹، صفاء غسان قمري¹ و عماد اسماعيل²

(1) مختبر الفيروسات، المركز الدولي للبحوث الزراعية في المناطق الجافة (إيكاردا)، ص.ب. 5466، حلب، سورية، البريد الإلكتروني: s.kumari@cgair.org؛ (2) قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية.

المخلص

حلواني، مصعب، صفاء غسان قمري و عماد اسماعيل. 2013. تحسين كفاءة حشرات المنّ لغريلة أصناف من الحمص مقاومة لفيروسية التفاف أوراق الفول (BLRV) والإصفرار الغربي للشوندر السكري/البنجر (BWYV). مجلة وقاية النبات العربية، 31(3): 208-215.

اختبرت أربعة أنواع من حشرات المنّ في نقل فيروس الإصفرار الغربي للشوندر السكري/البنجر (*Beet western yellows virus*) (BWYV)، جنس *Polerovirus*، عائلة *Luteoviridae* والتفاف أوراق الفول (*Bean leafroll virus*) (BLRV)، جنس *Luteovirus*، عائلة *Luteoviridae* وبأعداد مختلفة من حشرات المنّ (1، 2، 3، 5، 10 و 20 حشرة/نبات) وعلى مراحل مختلفة من عمر نباتات الحمص أثناء العدوى (1، 2، 3 و 4 أوراق حقيقية) بهدف الوصول إلى أعلى نسبة إصابة. عند إجراء عملية العدوى بحشرات المنّ حجزت بادرات الحمص المعدة كل على حدة بوساطة أقفاص بلاستيكية اسطوانية الشكل قطرها 15 سم ومزودة بفتحات للتهوية. أظهرت النتائج أن أفضل المعاملات كانت عند إعداء النباتات بأعمار مبكرة وعند استخدام حشرات منّ الدراق الأخضر *Myzus persicae* (Sulz.) الحاملة لفيروس الإصفرار الغربي للشوندر السكري/البنجر والمغذاة على نباتات فجل مصابة وحشرات منّ البازلاء الأخضر *Acyrtosiphon pisum* (Harris) الحاملة لفيروس التفاف أوراق الفول المغذاة على نباتات فول مصابة بالفيروس، وكانت حشرتين كافيتين لتحقيق نسبة نقل 100% لفيروس الإصفرار الغربي للشوندر للشوندر السكري/البنجر، وازدادت نسبة انتقال فيروس التفاف أوراق الفول مع زيادة عدد حشرات المنّ المستخدمة حتى وصلت إلى 83% عند استخدام 20 حشرة/نبات. تم التأكد من كفاءة النقل كنسبة مئوية لعدد النباتات المصابة من إجمالي النباتات المعدة عن طريق فحصها باختبار بصمة النسيج النباتي المناعي (TBIA) وباستخدام أجسام مضادة متخصصة وحيدة الكلون. كما أظهرت النتائج أن استخدام الأقفاص البلاستيكية لعب دوراً مهماً، حيث حسن من قدرة الحشرات على نقل الفيروسات لدى استخدامها لاحتجاز الحشرات الحاملة للفيروس أثناء فترة العدوى، وبخاصة تحت الظروف الحقلية. ومن خلال دراسة توليفة مناسبة من العوامل (نوع حشرات المنّ الناقلة، عدد حشرات المنّ وعمر النبات أثناء العدوى بالإضافة إلى استخدام الأقفاص البلاستيكية)، تم الحصول على نسب إصابة مرتفعة يمكن الاعتماد عليها في عمليات الغريلة لمدخلات الحمص.

كلمات مفتاحية: الحمص، منّ البازلاء الأخضر، منّ الدراق الأخضر، منّ الفول، منّ العدس، الأقفاص البلاستيكية، اختبار بصمة النسيج النباتي المناعي.

المقدمة

غرب آسيا وشمال أوروبا، كونها تسبب خسائر كبير في الإنتاج تصل في بعض الحالات إلى 95% (23، 30). ومن أهم الفيروسات التي تصيب الحمص فيروس الإصفرار الغربي للشوندر السكري/البنجر (*Beet western yellows virus*)، جنس *Polerovirus*، عائلة *Luteoviridae* الذي حظي باهتمام كبير لما له من مدى عوائل واسع وانتشاره في مختلف أنحاء العالم، يسبب هذا الفيروس أعراض الإصفرار والتقرم بشكل أساسي إضافة لتغير لون اللحاء إلى اللون البني، مسبباً خسائر في الغلة البذرية تتراوح ما بين 8-90% وفقاً لصنف الحمص ووقت حدوث الإصابة (17). ويعتبر فيروس التفاف أوراق الفول (*Bean leafroll virus*)، جنس *BLRV*، عائلة *Luteoviridae* أيضاً من أكثر الفيروسات أهمية على نباتات الحمص، ويعد من الفيروسات عالمية الانتشار وتعتبر

يعد محصول الخَمَص (*Cicer arietinum* L.) ثالث أهم المحاصيل البقولية الغذائية الحبية الغنية بالبروتينات عالمياً (28، 32)، ومصدراً رئيساً لغذاء نسبة عالية من سكان العالم، وحققت زراعته في السنوات الأخيرة قفزات نوعية في كمية الإنتاج، حيث بلغت المساحة الكلية المزروعة به في سورية عام 2009 حوالي 73797 هكتاراً، غلت حوالي 57351 طناً (13).

يصاب الحمص بالعديد من الآفات المرضية التي تؤثر في كمية الإنتاج ونوعيته، وتعد الأمراض الفيروسية من بين تلك الآفات المهمة التي تؤثر في إنتاجية الحمص ونوعية البذور المنتجة، كما تعتبر الفيروسات المسببة للإصفرار من الفيروسات الأكثر خطورة في منطقة

المحاصيل البقولية بما فيها العفوية العوائل الأكثر إصابة به (22)، وتتميز النباتات المصابة باصفرارها أو حتى تلونها باللون البرتقالي إضافة إلى تشوهات بلون بني وتقرم النباتات المصابة (17).

يعد الحصول على أصناف حمص مقاومة الأسلوب الأكثر كفاءة في مقاومة الأمراض الفيروسية والمحافظة على البيئة، بيد أن ما يحمله الحمص من صفات فيزيوكيميائية تجعله وسطاً غير ملائم لتشكل عليه حشرات المنّ مستعمراتها (22، 28، 30، 31)، وبالتالي صعوبة كبيرة في تقويم رد فعل أصناف الحمص إزاء الأمراض الفيروسية المنقولة بوساطة حشرات المنّ. لذلك كان لابد من تطوير طريقة للعدوى بهدف زيادة نسبة تعرض النبات لحشرات المنّ وانتقال الفيروس إليه.

طورت العديد من الطرائق لغرلة المدخلات الوراثية بهدف زيادة نسبة الإصابة وتوفير الوقت والجهد ولفهم آلية مقاومتها للأمراض الفيروسية من جهة ولمنع أي انتشار غير مناسب للفيروسات في البيئة المحيطة لمكان إجراء التجربة وبخاصة عند اختبار سلالات فيروسية جديدة من جهة أخرى (7)، ومن أهم هذه الطرائق: استخدام الأقفاص البلاستيكية وحقن المورثات المحمولة على بكتريا الأجرىوبكتريوم والقصف الحيوي للمورثات (Biolistic inoculation) (19).

هدف هذا البحث للحصول على نسبة إصابة فيروسية مرتفعة عن طريق تحديد أكفأ أنواع حشرات المنّ الناقلة لفيروس الإصفرار الغربي للشوندر السكري/البنجر والتفاف أوراق الفول على الحمص، وتحديد العدد المناسب من حشرات المنّ لكل نبات وعمر النبات الأنسب أثناء العدوى، إضافة لاختبار فعالية استخدام الأقفاص البلاستيكية كطريقة للعدوى تعمل على إرغام حشرات المنّ للتغذية على النبات سواءً في الحقل أو في البيت البلاستيكي.

مواد البحث وطرائقه

أنواع حشرات المنّ المستخدمة وتأسيس مستعمراتها وإكثارها
تم في هذا البحث اختبار أربعة أنواع مختلفة من حشرات المنّ لتحديد أكفأها في نقل الفيروسات المدروسة إلى صنف الحمص المحلي (غاب-4) وهي: من اللوبياء (*Aphis craccivora* (Kech)، من البازلاء الأخضر (*Acyrtosiphon pisum* (Harris)، من الفول (*Aphis fabae* (Scopoli) و من الدراق الأخضر (*Myzus persicae* (Sulz)). تم الحصول على الأنواع الثلاثة الأولى من مستعمرات مرياة على نباتات فول بصورة مستمرة في مختبر الفيروسات التابع للمركز الدولي للبحوث الزراعية في المناطق الجافة (إيكاردا) ومعزفة سابقاً، أما من الدراق الأخضر فقد جمعت من نباتات فريز مزروعة ضمن ظروف

البيوت البلاستيكية في قرية تكلخ التابعة لمحافظة حمص، وتم التأكد من تصنيفها من قبل مختصي الحشرات في إيكاردا بالإعتماد على الأطوار المجنحة بصورة أساسية، حيث تم حفظها على شرائح زجاجية ضمن سائل برليز (Berlese)، بعد تسخينها ببطء ضمن أنابيب زجاجية تحوي 60% ماء البوتاسيوم (KOH) وتركها لتبرد تدريجياً وبالاعتماد على مفاتيح تصنيفية متخصصة (9).

تم تأسيس مستعمرات نقيّة من أنواع المنّ المدروسة، بدءاً من نسل حشرة بالغة واحدة تمّت تغذيتها على أوراق نباتية سليمة ضمن أوعية بلاستيكية رطبة ومهواة لمدة 24 ساعة، بهدف الحصول على حوريات بعمر 0-24 ساعة، نُقلت تلك المواليد حديثة الولادة برفق إلى بادرات أحد عوائلها المفضلة نباتات الفول بالنسبة لمنّ البازلاء الأخضر ومنّ اللوبياء ومنّ الفول ونباتات الفجل بعمر ورقة حقيقية بالنسبة لمنّ الدراق الأخضر مزروعة في أصص بقطر 20 سم. حجزت حشرات المنّ بأقفاص بلاستيكية اسطوانية الشكل مصنوعة من مادة البولي فينيل كلوريد ومزودة بفتحات جانبية وعلوية مغطاة بنسيج شبكي يسمح بالتهوية ضمن حاضنة خاصة تم ضبطها وفق الظروف القياسية لتربية حشرات المنّ (درجة الحرارة $18 \pm 5^\circ\text{C}$ ، الرطوبة النسبية $5 \pm 65\%$ ، و 14 ساعة إضاءة يومياً).

استخدمت المستعمرات النقيّة أنفة الذكر كنواة لتربية تلك الأنواع بصورة منفصلة وإكثارها على نطاق واسع تحت ظروف البيت البلاستيكي (درجة حرارة $18-20^\circ\text{C}$ ، ورطوبة نسبية بحدود $70-80\%$) على نباتات الفول أو الفجل المزروعة ضمن أصص بلاستيكية بقطر 20 سم أو في صوان معدنية أبعادها 60×30 سم، وموضوعة ضمن أقفاص مصنوعة من الألمنيوم أبعادها $80 \times 80 \times 80$ سم، السطح العلوي مصنوع من الزجاج يسمح بمرور الضوء وثلاثة من أطرافه مغطاة بنسيج شبكي للتهوية، أما السطح الأمامي للقفص مزود بباب يسمح بتداول النباتات والعناية بها.

العزلات الفيروسية والأمصال المضادة والاختبارات السيرولوجية المستخدمة

تم في هذا البحث استخدام عزلتين فيروسيتين محليتين هما:
- العزلة الفيروسية SV64-95 لفيروس التفاف أوراق الفول، المعزولة من نبات فول من محافظة اللاذقية، سورية، والمعرفة سابقاً من قبل قمري (4). واتبع في حفظها طريقة الإكثار بالإعطاء الدوري بوساطة حشرات منّ البازلاء الأخضر على نباتات فول ضمن الظروف المناسبة لتضاعف الفيروس.
- العزلة الفيروسية SC23-07 لفيروس الإصفرار الغربي للشوندر السكري/البنجر المعزولة من نبات حمص من منطقة الغاب

بمحافظة حماة في عام 2007، والتي تم تعريفها في هذا البحث باستخدام مصل مضاد وحيد الكلون لفيروس الإصفرار الغربي للشوندر السكري/البنجر رقم A5977، من إنتاج Agdia، الولايات المتحدة الأمريكية، بالإضافة إلى الإختبارات الجزيئية بالنسخ العكسي والتفاعل المتسلسل لإنزيم البوليميراز (RT-PCR) باستخدام بادئ متخصص بفيروس الإصفرار الغربي للشوندر السكري/البنجر (18) تلا ذلك إعداء نباتات فجل باستخدام منّ الدراق الأخضر بشكل دوري بالفيروس بهدف المحافظة عليه.

تم الكشف عن وجود الفيروسات المدروسة في جميع النباتات المعدة باستخدام اختبار بصمة النسيج النباتي المناعي Tissue-blot Immunoassay (TBIA) وفقاً للطريقة الموصوفة من قبل مكوك وقمري (6). باستخدام مصلين مضادين وحيد الكلون، الأول متخصص لفيروس الإصفرار الغربي للشوندر السكري/البنجر رقم A5977، من إنتاج Agdia، الولايات المتحدة الأمريكية، والثاني متخصص لفيروس التفاف أوراق الفول رقم 4B10، مقدم من الدكتور لينا كاتول، ألمانيا (16).

تقدير كفاءة أنواع حشرات المنّ في النقل

غذيت أنواع المنّ الأربعة المدروسة على العوائل المستخدمة كمصدر للفيروس (الفول بالنسبة لفيروس التفاف أوراق الفول، والفجل بالنسبة لفيروس الإصفرار الغربي للشوندر السكري/البنجر)، ضمن أقفاص بلاستيكية اسطوانية الشكل مصنوعة من مادة البولي فينيل كلوريد، لمدة تتراوح بين 24-48 ساعة لاكتساب الفيروس. نقلت بعدها حشرات المنّ الحاملة للفيروس بحذر إلى نباتات حمص من الصنف المحلي (غاب-4) مزروعة ضمن أقفاص بلاستيكية تحوي خمسة نباتات في كل منها ضمن ظروف البيت الزجاجي، وبمعدل 20 حشرة/نبات بوساطة فرشاة دقيقة، مع مراعاة عزل النباتات المعدة بوساطة أقفاص بلاستيكية تسمح بالتهوية وتمنع تبادل الحشرات مع الوسط الخارجي. اشتملت التجربة على 20 أصيصاً (100 نبات) لكل نوع من حشرات المنّ ولكل فيروس بشكل مستقل.

بعد مضي 48 ساعة من الإعداء رُشت النباتات المعدة بالمبيد الحشري شركونيل (ميثوميل) لقتل جميع حشرات المنّ. اختبرت النباتات المعدة للكشف عن الفيروسات بوساطة اختبار TBIA بعد ثلاثة أسابيع من العدوى، ولكل نبات على حدا باستخدام الأمصال المضادة المناسبة، واحتسبت كفاءة النقل كنسبة مئوية لعدد النباتات المصابة من إجمالي النباتات المعدة لكل معاملة.

تحديد كفاءة أعداد المنّ المستخدمة

بعد تحديد أفضل أنواع حشرات المنّ نقلاً لكلا الفيروسين المدروسين، كررت التجربة السابقة مع اقتصارها على دراسة أفضل نوع من حشرات المنّ لكل فيروس دون غيره، وبوضع أعداد مختلفة من المنّ على كل نبات (1، 2، 3، 5، 10 و 20 حشرة/نبات).

تحديد عمر النبات الأنسب لإجراء العدوى

أعدي 100 نبات من صنف الحمص المحلي (غاب-4) بالفيروسين المدروسين بمعدل 50 نبات/فيروس في أربعة مراحل مختلفة (1، 2، 3 و 4 أوراق حقيقية) من النمو الخضري لنباتات الحمص وبمعدل 20 حشرة/نبات. كما احتفظ في كل مرحلة من مراحل عمر نبات الحمص بـ 50 نبات دون إعداء كشاهد للمقارنة. قطعت نباتات كل معاملة ووزنت وتم قياس طول النبات ومن ثم تحديد النسبة المئوية للإصابة استناداً لنتائج الإختبارات المصلية / السيرولوجية بعد ثلاثة أسابيع على آخر عدوى.

تقدير كفاءة حجز حشرات المنّ ضمن الأقفاص البلاستيكية أثناء

العدوى

تم العمل على دراسة مدى فعالية حجز النباتات أثناء العدوى ضمن أقفاص بلاستيكية اسطوانية الشكل مصنوعة من مادة البولي فينيل كلوريد قطرها 15 سم ومزودة بفتحات للتهوية، طبقت هذه المعاملة على 200 نبات بمعدل 100 نبات/فيروس، مقارنة مع 200 نبات أعديت بالطريقة الإعتيادية (دون استخدام الأقفاص)، وذلك على نباتات صنف الحمص المحلي (غاب-4)، ضمن ظروف البيت البلاستيكي والحقل، خلال الموسم الزراعي 2007/2008.

النتائج

كفاءة أنواع المنّ في نقل الفيروسات المدروسة

أبدت حشرات منّ الدراق الأخضر فعالية مميزة في نقل العزلة الفيروسية SC 23-07 لفيروس الإصفرار الغربي للشوندر السكري/البنجر من نباتات فجل مصابة إلى نباتات حمص من الصنف المحلي (غاب-4)، حيث وصلت نسبة الإصابة إلى 100%. بينما انخفضت نسبة الإصابة عند استخدام حشرات منّ اللوبياء إلى 23%، وكانت قدرة حشرات منّ الفول على نقل الفيروس ضعيفة ونسبة وصلت إلى 4% في أفضل أحواله، في حين لم تستطع حشرات منّ البازلاء الأخضر من نقل الفيروس ضمن الظروف المدروسة (جدول 1).

على الوصول إلى مرحلة الإزهار، فيما انخفضت الحساسية الظاهرية للنباتات بالإصابة مع تقدم النبات في العمر (جدول 3).

جدول 2. كفاءة نقل عزلتين محليتين لفيروس الإصفرار الغربي للشوندر السكري/البنجر (BWYV) بواسطة منّ الدراق الأخضر (*Myzus persicae* (Sulz.) وفيروس التفاف أوراق الفول (BLRV) بواسطة منّ البازلاء الأخضر (*Acyrtosiphon pisum* (Harris) وباستخدام أعداد مختلفة من حشرات المنّ/نبات ضمن ظروف البيت البلاستيكي.

Table 2. Transmission efficiency of Syrian isolates of *Beet western yellows virus* (BWYV) by *Myzus persicae* (Sulz.) and *Bean leafroll virus* (BLRV) by *Acyrtosiphon pisum* (Harris) using different insect numbers per plant under greenhouse conditions.

% of infection	النسبة المئوية للإصابة					الفيروس Virus
	عدد الحشرات المستخدمة/نبات No. of insects/plant					
	20	10	5	3	2	1
100	100	98	99	100	63	BWYV
83	76	53	16	10	0	BLRV

أعدى 100 نبات في كل معاملة

100 plants were inoculated per treatment

تقدير كفاءة حجز حشرات المنّ ضمن الأقفاص البلاستيكية أثناء العدوى

لم يكن للأقفاص البلاستيكية تأثيراً في زيادة نسبة الإصابة بكلا الفيروسين ضمن ظروف البيت البلاستيكي، أما تحت الظروف الحقلية فقد كان استخدام الأقفاص البلاستيكية إحدى العوامل المحددة لنجاح عملية العدوى (جدول 4).

المناقشة

عند إجراء اختبار النقل الحيوي، تميزت حشرات منّ الدراق الأخضر بقدرتها العالية على نقل فيروس الإصفرار الغربي للشوندر السكري/البنجر وضعف قدرته في نقل فيروس التفاف أوراق الفول، وعلى النقيض من ذلك فقد تمكنت حشرات منّ البازلاء الأخضر من نقل فيروس التفاف أوراق الفول بنسبة مرتفعة ولم يتمكن من نقل فيروس الإصفرار الغربي للشوندر السكري/البنجر، على الرغم من استخدامه كناقل مهم لفيروس الإصفرار الغربي للشوندر السكري/البنجر على محاصيل البقول المختلفة في كثير من الدراسات المحلية (1، 4، 5) ولعل ذلك يعود إلى صعوبة حصوله على جزيئات الفيروس من العائل المضيف لفيروس الإصفرار الغربي للشوندر السكري/البنجر وهو

جدول 1. كفاءة أربع أنواع من حشرات المنّ في نقل عزلتين محليتين لفيروس الإصفرار الغربي للشوندر السكري/البنجر (BWYV) وفيروس التفاف أوراق الفول (BLRV) ضمن ظروف البيت البلاستيكي.

Table 1. Transmission efficiency of Syrian isolates of *Beet western yellows virus* (BWYV) and *Bean leafroll virus* (BLRV) using four aphid species under plastic house conditions.

نوع المنّ Aphid species	النسبة المئوية للإصابة % of infection	
	BLRV	BWYV
منّ الدراق الأخضر <i>Myzus persicae</i>	0	100
منّ البازلاء الأخضر <i>Acyrtosiphon pisum</i>	83	0
منّ العدس <i>Aphis craccivora</i>	36	23
منّ الفول <i>Aphis fabae</i>	43	4

أعدى 100 نبات في كل معاملة بمعدل 20 حشرة/نبات

100 plants were inoculated per treatment using 20 viruliferous aphids/plant

تفوقت حشرات منّ البازلاء الأخضر في نقل العزلة الفيروسيّة SV 64-95 لفيروس التفاف أوراق الفول من نباتات فول مصابة إلى نباتات حمص من الصنف المحلي (غاب-4)، ووصلت نسبة الإصابة إلى 83%، بينما انخفضت نسبة نقل الفيروس عند استخدام حشرات منّ اللوبياء ومنّ الفول إلى 36 و 43%، على التوالي، ولم تتمكن حشرات منّ الدراق الأخضر من نقل الفيروس (جدول 1).

تأثير عدد حشرات المنّ في كفاءة نقل الفيروسات المدروسة

كان أداء حشرات منّ الدراق الأخضر متميزاً جداً في نقل فيروس الإصفرار الغربي للشوندر السكري/البنجر، فقد استطاعت حشراته نقل الفيروس بنسبة 100% عند إجراء عملية العدوى بمعدل حشريتين/نبات (جدول 2).

كما لوحظ ارتفاع النسبة المئوية لنقل فيروس التفاف أوراق الفول مع زيادة عدد حشرات منّ البازلاء الأخضر ووصلت إلى 83% عند استخدام 20 حشرة/نبات (جدول 2).

تأثير عمر النبات أثناء العدوى في كفاءة نقل الفيروسات المدروسة

لم يكن لعمر نبات الحمص أثناء العدوى تأثيراً في نسبة نقل فيروس الإصفرار الغربي للشوندر السكري/البنجر، فيما انخفضت نسبة نقل فيروس التفاف أوراق الفول مع تقدم النبات بالعمر. وكان لعمر النبات أثناء العدوى بكلا الفيروسات تأثير واضح للعيان من حيث شدة الإصابة وظهور أعراض الإصابة. حيث كانت أعراض الإصابة شديدة على النباتات التي أعديت بأعمار مبكرة، وكانت أعراض اصفرار وتقرم وصغر حجم الأوراق واضحة وبالتالي تدهور كامل النبات وعدم قدرته

الزراعات المتأخرة يعود إلى زيادة نشاط النواقل الحويوية (5). وقد بات معلوماً أن أكثر الإصابات شدةً وضرراً للمحصول تلك التي تحدثها حشرات المنّ الحاملة للإصابة فور انبثاق النبات (3، 11، 14). في العديد من الدراسات السابقة (2، 5، 8، 25، 34)، لوحظ انخفاض نسبة الإصابة عند العدوى تحت ظروف حقلية عنها عند العدوى ضمن ظروف البيت الزجاجي، وهذا ما لوحظ في هذه الدراسة، حيث انخفضت نسبة نقل الفيروسات بشكل ملحوظ من 96% إلى 32% بالنسبة لفيروس الإصفرار الغربي للشوندر السكري ومن 76% إلى 22% بالنسبة لفيروس التفاف أوراق الفول. أما عند استخدام الأقفاص البلاستيكية ارتفعت نسبة نقل الفيروسات ضمن الظروف الحقلية والزجاجية، فقد حسنت من إمكانية نقل فيروس الإصفرار الغربي للشوندر السكري بوساطة حشرات منّ الدراق الأخضر بكفاءة عالية (100%)، ونقل فيروس التفاف أوراق الفول بوساطة منّ البازلاء الأخضر بكفاءة أقل نسبياً (89%) إلى نباتات الحمص. مع الإشارة إلى صعوبة نقل العديد من الفيروسات بوساطة حشرات منّ البازلاء الأخضر إلى نبات الحمص مقارنةً بالمحاصيل الأخرى، الأمر الذي أرجعه الباحثون إلى التفضيل الغذائي لحشرات المنّ (1، 5، 15). وكان التحسن في كفاءة النقل أكثر تمايزاً ضمن الظروف الحقلية، ولعل ذلك يعود إلى تخفيفها من الأثر الضار للنقل المفاجئ لحشرات المنّ من الظروف المثالية في البيت الزجاجي إلى الظروف الحقلية إضافة إلى كون حشر المنّ يحدّ بشكل كبير من ظاهرة التفضيل الغذائي للحشرات الناقلة للفيروس.

الفجل. وكانت حشرات منّ اللوبياء قادرة على نقل كلا الفيروسين وينسب متوسطة، أما حشرات منّ الفول فكانت ضعيفة الكفاءة في نقل فيروس الإصفرار الغربي للشوندر السكري/البنجر على عكس سلوكه في النقل الجيد لفيروس التفاف أوراق الفول وهذا ما يتوافق مع النتائج التي حصل عليها Bosque- Perez و Buddenhagen (10).

أدت زيادة عدد حشرات منّ البازلاء الأخضر المستخدمة في العدوى إلى 20 حشرة/نبات إلى ارتفاع نسبة نقل فيروس التفاف أوراق الفول إلى 83%، ولكن هذه النتيجة لم تتوافق مع ما توصل إليه Skaf و Makkouk (33) حيث أشارا إلى أن 3-5 حشرات من حشرات المنّ حاملة لفيروس التفاف أوراق الفول كافية لتحقيق نسبة إصابة للفول 100%، ويمكن أن يعود ذلك إلى استخدام نباتات الحمص في هذه الدراسة والذي قد يكون عائلاً غير مفضل لحشرات المنّ (15، 27، 30). فيما تمكنت حشرتان من حشرات منّ الدراق الأخضر المستخدمة في العدوى بفيروس الإصفرار الغربي للشوندر السكري/البنجر من تحقيق نسبة نقل وصلت إلى 100%، واتفقت هذه النتيجة التي تؤكد الكفاءة المرتفعة لحشرات منّ الدراق الأخضر في نقل فيروس الإصفرار الغربي للشوندر السكري/البنجر عن طريق التغذية عبر الغشاء مع Duffus و Gold (12).

عند اختبار أثر اختلاف عمر النبات أثناء الإصابة الفيروسية، تبين أن الإصابة المبكرة تؤدي إلى خفض ملموس في الكتلة الحويوية للنبات المصاب بشكل واضح أكثر من تأثيره في نسبة الإصابة، ولعل هذا ما يفسر الإنخفاض في إنتاجية الزراعات المتأخرة عنها في الزراعات المبكرة، ولعل العامل المهم في ارتفاع نسبة الإصابة في

جدول 3. تأثير عمر النبات عند إعدائه بفيرس الإصفرار الغربي للشوندر السكري/البنجر (BWYV) وفيروس التفاف أوراق الفول (BLRV) في نسبة إصابة نباتات الحمص (صنف غاب 4) وطول ووزن النباتات ضمن ظروف البيت البلاستيكي.

Table 3. The effect of plant growth stage when inoculated with *Beet western yellows virus* (BWYV) and *Bean leafroll virus* (BLRV) on infection rate, length and weight of chickpea plants (cv. Ghab-4) under greenhouse conditions.

متوسط وزن النباتات السليمة Average weight of healthy plants (gr)	متوسط وزن النباتات التي ظهرت عليها الإصابة (غ) Average weight of infected plants (gr)	متوسط طول النباتات السليمة Average length of healthy plants (cm)	متوسط طول النباتات التي ظهرت عليها الإصابة (سم) Average length of infected plants (cm)	النسبة المئوية للإصابة % of infection	عدد الأوراق على النبات المعدي No. of leaves of the inoculated plant
BWYV					
3.3	1.6	32.9	12.3	100	1
3.7	1.8	35.1	12.4	100	2
3.6	2.8	35.2	24.6	100	3
3.6	3.2	33.7	30.1	100	4
BLRV					
3.3	1.9	32.9	12.1	100	1
3.7	1.8	35.1	13.4	80	2
3.6	2.2	35.2	19.0	60	3
3.6	3.0	33.7	26.9	70	4

Readings were taken 3 weeks after the last inoculation

أخذت النتائج بعد 3 أسابيع من آخر عدوى

(Agroinfiltration) إضافة لعدم قابليتها للتطبيق على بعض المدخلات الوراثية (21، 29)، كما لوحظ تفاوت النتائج المستحصل عليها بطريقة القصف الحيوي للمورثات (Biolistic inoculation) باختلاف المدخلات الوراثية المختبرة (20، 26). بالمقارنة مع طريقة العدوى باستخدام الأقفاص البلاستيكية والتي أشار Al Abdallat وآخرون (7) إلى كونها طريقة مهمة حسنت من قدرة الحشرات على نقل الفيروسات لدى استخدامها لاحتجاز الحشرات الحاملة للفيروس أثناء فترة اكتساب الفيروس وفترة العدوى، كما حدثت من المعوقات التقليدية للغرلة مثل كون النبات لا يعتبر العائل المفضل للناقل الحشري وتأثير الظروف الجوية خلال عملية العدوى في كفاءة الناقل الحيوي وتضاعف الفيروس وتطور الأعراض، على الرغم من صعوبة التحكم بالإجهاد الناتج عن العدوى باستخدام الأقفاص البلاستيكية أثناء العدوى (24)، إلا أن اعتماد هذه الطريقة في تجارب الغرلة سيجعل من ضغط الإجهاد متساوياً على كافة المدخلات المختبرة ويحولنا الحصول على نتائج أكثر وضوحاً.

ومن نتائج هذه الدراسة نقترح اعتماد طريقة الأقفاص البلاستيكية متضافرة مع العوامل الأخرى المشجعة للعدوى الاصطناعية بواسطة حشرات المنّ في حقول الحمص من أجل الحصول على نسبة إصابة فيروسية مناسبة لغرلة المدخلات الوراثية.

جدول 4. تأثير استخدام الأقفاص البلاستيكية أثناء العدوى في نسبة الإصابة بفيروس الإصفرار الغربي للشوندر السكري/البنجر (BWYV) والتفاف أوراق الفول (BLRV) ضمن الظروف الحقلية وظروف البيت البلاستيكي، خلال الموسم الزراعي 2007/2008.

Table 4. The effect of using plastic cage during inoculation on the infection rate of *Beet western yellows virus* (BWYV) and *Bean leafroll virus* (BLRV) under field and plastic house conditions during 2007/2008 growing season.

ظروف الزراعة Planting conditions	% of infection النسبة المئوية للإصابة	
	BLRV	BWYV
بيت بلاستيكي Plastic house	بدون أقفاص Without cages	باستخدام الأقفاص With plastic cages
	76	88
حقل Field	بدون أقفاص Without cages	باستخدام الأقفاص With plastic cages
	22	89

أعدى 100 نبات في كل معاملة بمعدل 20 حشرة/نبات

100 plants were inoculated per treatment using 20 insects/plants

والمقارنة طريقة الإعداد باستخدام الأقفاص البلاستيكية بالطرائق المطورة الأخرى للعدوى نلاحظ مقدار الصعوبة والجهد المبذولين لدى تطبيق طريقة حقن المورثات المحمولة على بكتريا الأجر وبكتريوم

Abstract

Halawan, M., S.G. Kumari and I. Ismail. 2013. Improve the efficiency of aphids to screen chickpea germplasm *Bean leafroll virus* (BLRV) and *Beet western yellows virus* (BWYV) resistance. Arab Journal of Plant Protection, 31(3): 208-215.

The transmission efficiency of Syrian isolates of *Beet western yellows virus* (BWYV, genus *Polerovirus*, family *Luteoviridae*) and *Bean leafroll virus* (BLRV, genus *Lutiovirus*, family *Luteoviridae*) by four aphid species using different insect numbers per plant (1, 2, 3, 5, 10 and 20 insects/plant) and at different growth stages of inoculated plants (1, 2, 3 and 4 leaves) have been evaluated. The inoculated plants were caged individually with viruliferous aphids by cylindrical plastic cages, 15 cm in diameter, equipped with ventilation slots. Best results were obtained when chickpea plants were inoculated at an early stage and by using viruliferous *Myzus persicae* (Sulzer) carrying BWYV and *Acyrtosiphon pisum* (Harris) carrying BLRV. Two insects of *M. persicae* per chickpea plant (cv. Ghab 4) were enough to achieve 100% infection with BWYV, whereas the same inoculation procedure led to only 83% BLRV infection of chickpea when using 20 insects of *A. pisum*/plant. In addition, results revealed that plastic cages improved the ability of aphids to transmit viruses under field conditions. A rapid and efficient method of inoculation of BLRV and BWYV was achieved by applying combination of factors (aphid species, number of viruliferous aphids/plant, plant stage and covering plants with plastic cages).

Keywords: Chickpea, pea aphid, green peach aphid, bean aphid, cowpea aphid, BLRV, BWYV, cages, TBIA.

Corresponding author: Safaa Kumari, International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA, P.O. Box 5466, Aleppo, Syria, Email: s.kumari@cgiar.org

References

الإصفرار الغربي للشوندر السكري *Beet western yellows virus* في سورية. مجلة وقاية النبات العربية، 27: 188-198. غلام، وداد، صفاء قمري وخالد مكوك. 2007. تأثير عمر النبات عند الإعداء بفيروس اصفرار وتقزم الشعير في إنتاجية الشعير وإمكانية مكافحته بكاسيات البذور. مجلة وقاية النبات العربية، 25: 72.

3.

المراجع

1. أسعد، نادر يوسف. 2009. دراسة الفيروسات التابعة لجنس *Polerovirus* على البقوليات الغذائية الشتوية في منطقة الغاب- سورية. أطروحة ماجستير، قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة حلب، سورية. 126 صفحة.

2. أسعد، نادر يوسف، صفاء غسان قمري، أمين عامر حاج قاسم، صلاح الشعبي ورجيندرا سينغ مالهوترا. 2009. فيروس

18. Kumari, S.G., B. Rodoni, M. Loh, K.M. Makkouk, A. Freeman and J. van Leur, 2006. Distribution, identification and characterization of *Luteoviruses* affecting food legumes in Asia and North Africa. Pages 412-416. In: Proceeding of 12th Mediterranean Phytopathological Congress, 11-15 June 2006, Rhodes Island, Greece.
19. Lapidot, M. 2007. Screening for TYLCV-resistant plants using whitefly mediated inoculation. Pages 329-342. In: *Tomato yellow leaf curl virus disease*. H. Czosnek (ed.). The Netherlands: Springer.
20. Lapidot, M., G. Weil, L. Cohen, L. Segev and V. Gaba. 2007. Biolistic inoculation of plants with *Tomato yellow leaf curl virus* DNA. *Journal of Virology Methods*, 144: 143-148.
21. Liu, Y.L., M. Schiff and S.P. Dinesh-Kumar. 2002. Virus-induced gene silencing in tomato. *Plant Journal*, 31: 777-786.
22. Makkouk, K.M. and S.G. Kumari. 2009. Epidemiology and integrated management of persistently transmitted aphid-borne viruses of legume and cereal crops in West Asia and North Africa. *Virus Research*, 141: 209-218.
23. Makkouk, K.M., S.G. Kumari, J.d'A. Hughes, V. Muniyappa and N.K. Kulkarni. 2003. Other legumes: Faba bean, chickpea, lentil, pigeonpea, mungbean, blackgram, lima bean, horegram, bambara groundnut and winged bean. Pages 447-476. In: *Virus and Virus-like Diseases of Major Crops in Developing Countries*. G. Loebenstein and G. Thottappilly (ed.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
24. Pico, B., M.J. Diez and F. Nuez. 1998. Evaluation of whitefly-mediated inoculation techniques to screen *Lycopersicon esculentum* and wild relatives for resistance to *tomato yellow leaf curl virus*. *Euphytica*, 101: 259-271.
25. Plumb, R.T. 1976. Barley yellow dwarf virus in aphids caught in suction traps, 1969-73. *Annals of Applied Biology*, 83: 53-59.
26. Ramos, P.L., R.G. Guevara-Gonzalez, R. Peral, J.T. Ascencio-Ibanez, J.E. Polston, G.R. Arguello-Astorga, J.C. Vega-Arreguin and R.F. Rivera-Bustamante. 2003. *Tomato mottle Taino virus* pseudorecombines with PYMV but not with ToMoV: implications for the delimitation of cis - and trans - acting replication specificity determinants. *Archives of Virology*, 148:1697-1712.
27. Reed, W., C. Cardona, S. Sithanatham and S.S. Lateef. 1987. The chickpea insect pests and their control. Pages 283-318. In: *The Chickpea*. M.C. Saxena and K.B. Singh (eds.). C.A.B. International ICARDA. London.
28. Romeis, J., H. Sharma, K. Sharma, S. Das and B. Sarmah. 2004. The potential of transgenic chickpeas for pest control and possible effects on non-target arthropods. *Crop Protection*, 23: 923-938.
29. Ryu, C.M., A. Anand, L. Kang and K.S. Mysore. 2004. Agrodrench 40: a novel and effective agroinoculation method for virus-induced gene
4. قمري، صفاء محمد غسان. 2002. دراسة الفيروسات المسببة للاصفرار Luteoviruses التي تصيب البقوليات الغذائية الشتوية أطروحة دكتوراه، قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة حلب، سورية. 230 صفحة.
5. قواص، هدى زاهي. 1992. الأمراض الفيروسية على محصول الحمص في سورية تشخيصها وتوصيفها وانتقالها بالحيوانات وتفاعلها مع الأصناف والطرز الوراثية. أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة دمشق، سورية. 131 صفحة.
6. مكوك، خالد محي الدين وصفاء قمري. 1996. الكشف عن عشرة فيروسات تصيب المحاصيل البقولية بالاختبار المصلي لبصمة النسيج النباتي. مجلة وقاية النبات العربية، 14: 3-9.
7. Al Abdallat, A.M., H.S. Al Debei, H. Asmar, S. Misbeh, A. Quraan and A. Kvarnheden. 2010. An efficient *in vitro*-inoculation method for Tomato yellow leaf curl virus. *Virology Journal*, 7: 84.
8. Ashby, J.W. and G.R. Johnstone. 1985. Report on legume luteovirus taxonomy and current research. *Australasian Plant Pathology*, 14: 2-7.
9. Blackman, R.L and V.F. Eastop. 2000. Aphids on the worlds crops: an identification and information guide, 2nd Edition. John Wileys & Sons. New York, 476 pp.
10. Bosque-Perez, N.A. and I.W. Buddenhagen. 1990. Studies on epidemiology of virus disease of chickpea in California. *Plant Disease*, 74: 372-378.
11. Coutts, B.A., J.R. Hawkes and R.A. Jones. 2006. Occurrence of *Beet western yellows virus* and its aphid vectors in over-summering broad-leaved weeds and volunteer crop plants in the grain-belt region of south-western Australia. *Australian Journal of Agricultural Research*, 57: 975-982.
12. Duffus, J.E. and A.H. Gold. 1965. Transmission of beet western yellows virus by aphids feeding through a membrane. *Virology*, 27: 388-390.
13. FAO. 2009. Statistical (FAOSTAT), Food and Agriculture organization of the United Nations. Website: "http://www.fao.org/".
14. Fortass, M., F. van der Wilk, J.F.J.M. van den Heuvel and R.W. Goldbach. 1997. Molecular evidence for the occurrence of beet western yellows virus on chickpea in Morocco. *European Journal of Plant Pathology*, 103: 481-484.
15. Johnstone, G.R., J.W. Ashby, A.J. Gibbs, J.E. Duffus, G. Thottappilly and J.D. Fletcher. 1984 The host ranges, classification and identification of eight persistent aphid-transmitted viruses causing diseases in legumes. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 90: 225-245.
16. Katul, L. 1992. Characterization by serology and molecular biology of bean leaf roll virus and faba bean necrotic yellows virus. PhD thesis, University of Göttingen, Germany, 115 pp.
17. Kumar, P.L., S.G. Kumari and F. Waliyar, 2008. Virus diseases of chickpea. Pages 213-234. In: *Characterization, diagnosis & management of plant viruses*. Vol. 3: Vegetable and pulse crops, G.P. Rao, P.L. Kumar and R.J. Holguín-Peña (eds.). Studium Press LLC, Houston USA.

- (eds.). The American Phytopathological Society. USA.
32. **Singh, K.B. and M.C. Saxena.** 1999. Chickpeas. Macmillan Education LTD, London and Basingstoke. 134 pp.
33. **Skaf, J.S. and K.M. Makkouk.** 1988. Aphid transmission of bean yellow mosaic and bean leaf roll viruses in Syria. *Phytopathologia Mediterranea*, 27: 133-137.
34. **Sohi, S.S. and K.G. Swenson.** 1964. Pea aphid biotypes differing in bean yellow mosaic virus transmission efficiency of aphid clones. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 7: 9-14.
30. **Schwinghamer, M.W. and R.C. Larsen.** 2011. Luteoviruses. Pages 82-86. In: *Compendium of Chickpea and Lentil Diseases and Pests*. W. Chen, H.C. Sharma and F.J. Muehlbauer (eds.). The American Phytopathological Society. USA.
31. **Sharm, H.C., C.L.L. Gowda, G.V. Ranga Rao, M.K. Dhillon and M. El Bouhssini.** 2011. Pest Management of Chickpea. Pages 150-152. In: *Compendium of Chickpea and Lentil Diseases and Pests*. W. Chen, H.C. Sharma and F.J. Muehlbauer silencing in roots and diverse *Solanaceous* species. *Solanaceous*, 322-331.

Received: August 2, 2011; Accepted: February 15, 2012

تاريخ الاستلام: 2011/8/2؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2012/2/15