

## تطوير تقانة العدوى الاصطناعية لغربلة طرز وراثية من الحمص لمقاومة عزلة سورية

لفيروس شحوب وتقرم الحمص (*Chickpea chlorotic stunt virus*)

نادر يوسف أسعد<sup>1,3</sup>، صفاء غسان قمري<sup>2</sup>، أمين حاج قاسم<sup>3</sup>، صلاح الشعبي<sup>4</sup> وعطية عرب<sup>4</sup>

(1) الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، مركز بحوث الغاب، حماة، سورية، البريد الإلكتروني: asaad\_nader@yahoo.com

(2) المركز الدولي للبحوث الزراعية في المناطق الجافة (إيكاردا)، محطة تربل، البقاع، لبنان؛

(3) قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة حلب، حلب، سورية؛ (4) الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، دمشق سورية.

## الملخص

أسعد، نادر يوسف، صفاء غسان قمري، أمين حاج قاسم، صلاح الشعبي وعطية عرب. 2020. تطوير تقانة العدوى الاصطناعية لغربلة طرز وراثية من الحمص لمقاومة عزلة سورية لفيروس شحوب وتقرم الحمص (*Chickpea chlorotic stunt virus*). مجلة وقاية النبات العربية، (2)38: 103-114.

يعدّ فيروس شحوب وتقرم الحمص (*Chickpea chlorotic stunt virus*) (CpCSV) من أهم الفيروسات التي تصيب الحمص في عدد من دول غرب آسيا وشمال إفريقيا ومنها سورية. هدف هذا البحث إلى إيجاد طريقة سهلة وبسيطة لغربلة طرز وراثية من الحمص ازاء عزلة سورية محلية لفيروس CpCSV واستقصاء صفة المقاومة. تم استخدام 75 طرازاً وراثياً من الحمص مجموعة من 16 دولة متحصل عليها من بنك الأصول الوراثية التابع للمركز الدولي للبحوث الزراعية في المناطق الجافة (إيكاردا) بالإضافة إلى 3 أصناف سورية محلية وصنفين حساسين للإصابة استخدمنا كشاهد. تمت زراعة بذور الطرز الوراثية المختبرة ضمن صواني انتاج شتول الخضار باستخدام خلطة من التورب والرمل والتراب (وفق النسب 1: 0.5: 0.5، على التوالي). أعدت بادرات الحمص بعد أسبوعين من الزراعة بالفيروس بوساطة من اللوبياء (*Aphis craccivora* Koch.) تحت ظروف البيت الزجاجي ومن ثم نقلت كشتول وزرعت في الأرض الدائمة بعد حوالي 25 يوماً من الزراعة. أظهرت هذه الطريقة كفاءة عالية كتقانة عملية لغربلة الطرز الوراثية للحمص ازاء فيروس CpCSV، حيث وصلت نسبة الإصابة إلى 100% في كثير من الطرز الوراثية الحساسة، كما أتاحت إمكانية مراقبة سلوك حشرات المن عن كذب خلال فترة العدوى، وملاحظة تباين تفاعلها مع الطرز الوراثية المختلفة. تم تحديد ستة طرز وراثية (IG9000، IG69434، IG69656، IG69693، IG71832 و IG128651) مقاومة، وستة عشرة طرازاً أخرى متحملة ومن مصادر متعددة تشمل اثني عشر بلداً حول العالم (الباكستان، البرتغال، اسبانيا، المغرب، الهند، إيطاليا، بلغاريا، تركيا، تونس، جورجيا، لبنان، وسورية). كما بينت نتائج التحليل الإحصائي وجود علاقة ارتباط قوية وعالية المعنوية ( $r = 0.976$ ) بين كل من نسبة الإصابة وشدتها مع نسبة الخسارة في الغلة الحبية نتيجة الإصابة. وبذلك يقترح استخدام بعض من هذه الطراز الوراثية كمصادر وراثية مقاومة/متحملة لفيروس CpCSV ودمجها ضمن برامج التربية المستقبلية متعددة الأهداف لمحمول الحمص.

**كلمات مفتاحية:** المقاومة الوراثية، فيروس شحوب وتقرم الحمص، آليات المقاومة، سورية، طرز وراثية.

## المقدمة

تقدر بحوالي 70 ألف هكتار ينتج عنها ما يقارب 232 ألف طن سنوياً (Merga & Haji, 2019).

يمكن للفيروسات أن تشكل تهديداً حقيقياً لغلة محصول الحمص، وقد سجّلت إصابته بما يزيد عن 39 نوعاً منها حول العالم (Bos, 2008)؛ مع تفاوت نسب انتشارها والأضرار التي تحدثها تبعاً لظروف البيئة المحلية السائدة، والصنف المزروع، والممارسات الزراعية وغير ذلك من العوامل ذات الصلة (Jones & Barbetti, 2012). يعدّ فيروس شحوب وتقرم الحمص (*Chickpea chlorotic stunt virus*) (CpCSV)، جنس

تتركز زراعة محصول الحمص (*Cicer arietinum* L.) في قارة آسيا (83%)، إلا أنّ تنامي حجم الطلب العالمي على هذا المحصول حداً بالكثير من الدول، كاستراليا وكندا، إلى زيادة الاهتمام بزراعته وإدراجه ضمن خطط سنوية بعيدة المدى لتبرز من بين أكبر الدول المصدرة رغم حجم استهلاكها الضئيل لهذه المادة. وتعدّ سورية الأولى/الثانية عربياً كما أنّها تشغل موقعاً عالمياً بين الدول المنتجة لهذا المحصول بمساحة

الفيروس عن باقي العزلات المعروفة عالمياً ببعض الخصائص الحيويّة (Asaad et al., 2009؛ Abraham et al., 2009)، تحتمّ ضرورة تنوع وتجديد مصادر المقاومة.

وبناءً على ما تقدّم فقد هدف هذا البحث إلى إيجاد طريقة سهلة وبسيطة لغربلة مجموعة من الأصول الوراثية والأصناف المحلية للحمص إزاء عزلة محلية لفيروس شحوب وتقرّم الحمص لاستقصاء صفات المقاومة فيها بما يدعم برامج تربية وإدارة أمراض هذا المحصول على المستويين المحلي والدولي.

## مواد البحث وطرائقه

### العزلة الفيروسية المستخدمة

استخدمت عزلة محلية (SC 26-17) لفيروس شحوب وتقرّم الحمص (CpCSV) مجموعة من نبات حمص من مركز بحوث الغاب (سهل الغاب، حماه، سورية) خلال عام 2017، وتم تحديدها في هذا البحث عن طريق اختبارها بوساطة بصمة النسيج النباتي المناعي (TBIA) (مكوك وقمري، 1996) باستخدام خليط من ثلاثة أمصال مضادة وحيدة الكلون (B82-5، B83-5 و B85-5) منتجة ضد العزلة السورية لفيروس شحوب وتقرّم الحمص (CpCSV-SY) (Abraham et al., 2006، 2009)، وتم تأكيد النتيجة بوساطة اختبار التفاعل المتسلسل لإنزيم البوليميراز مع النسخ العكسي (RT-PCR) باستخدام بادئات متخصصة بالكشف عن هذا الفيروس (Kumari et al., 2008b).

### أنواع حشرات المن المستخدمة وتأسيس مستعمراتها وتربيتها

على اعتبار أنّ من اللوبياء هو النوع الوحيد الذي يمكن له الاستقرار وتشكيل مستعمرات على نبات الحمص (Hull, 2014) من جهة، ولكونه الأكثر كفاءة في نقل فيروس شحوب وتقرّم الحمص (Abraham et al., 2006؛ Asaad et al., 2009) من جهة أخرى، فقد وقع عليه الاختيار لإنفاذ العدوى الإصطناعية ضمن هذا البحث. تمّ جمع حشرات من اللوبياء من نباتات الفول والحمص المزروعة ضمن مركز بحوث اللاذقية، وجرى التحقق من تصنيفها من قبل المختصين في مختبر تصنيف الحشرات في المركز نفسه باستخدام مفاتيح تصنيفية متخصصة (Blackman & Eastop, 2000).

تم تأسيس مستعمرات نقيّة بدءاً من نسل حشرة بالغة واحدة وفقاً لطريقة Johnstone et al. (1984). نُقلت الحوريات حديثة الولادة برفق إلى بادرات فول سليمة (صنف حماه 2)، ثم عُزلت كلّ منها بوساطة أقفاص بلاستيكية اسطوانية الشكل مصنوعة من مادة البولي فينيل كلورايد

(*Polterovirus*، عائلة *Luteoviridae*) من أهم الفيروسات التي تصيب محصول الحمص في عدد من دول غرب آسيا وشمال إفريقيا بما فيها سورية (Abraham, 2019؛ Kumari et al., 2007)، فضلاً عن مده العوائل الواسع على المحاصيل البقولية وغير البقولية إضافةً للأعشاب البرية التي تتبع فصائل نباتية متعددة (Asaad et al., 2009). وكغيره من الفيروسات التابعة لجنس *Polterovirus* يسبب لنباتات الحمص أعراض الاضرار/الإحمرار والتقرّم بدرجات مختلفة بالتوازي مع نقصٍ متفاوت في غلة المحصول تبعاً لنسبة الإصابة وشِدتها. ينتقل هذا الفيروس بوساطة نوعين من حشرات المن (من اللوبياء *Aphis craccivora* Koch ومن البازلاء الأخضر *Acyrtosiphon pisum* Harris) بالطريقة المثابرة/الدوّارة (Abraham et al., 2006؛ Asaad et al., 2009).

نتج عن تدني مستوى معرفة المزارعين في المجتمعات النامية بطبيعة الأمراض الفيروسية وأساليب مكافحتها زيادة اعتمادهم على المبيدات الكيميائية لمكافحة نواقلها الحيوية، ممّا شكّل هدراً للمال، وفاقم المخاطر الصحيّة والبيئيّة (Schreinemachers et al., 2015)، لما لها من أضرار مباشرة على أصحاب المزارع والعمال أنفسهم، وتتعدّى ذلك لتطال السكان المحليين حول تلك الحقول، إضافةً للأثر المتبقي لتلك المبيدات في الغذاء ومياه الشرب (Fuhriemann؛ Deziel et al., 2015؛ Verrell & Moore, 2015). لذلك فقد شخّصت أُنظار العالم خلال السنوات الأخيرة نحو توظيف الاستراتيجيات المتكاملة، الذكية والصدقية للبيئة لتحقيق إدارة ناجحة للأمراض الفيروسية في مختلف الأنظمة الزراعية (Jones & Naidu, 2019). وفي هذا السياق يعدّ استخدام المقاومة الوراثية للنبات -المتتمثلة بتحديد مصادر المقاومة ودمجها ضمن برامج تربية النبات لاستنباط أصناف مقاومة/متحملة ذات مزايا إنتاجية مرغوبة- واحدة من أهم الاستراتيجيات الفعالة والأكثر استدامةً وسهولةً لتطبيقها في الحدّ من انتشار الأمراض الفيروسية على مستوى حقول المزارعين (Hull, 2014؛ Li et al., 2015؛ Makkouk et al., 2014؛ Nicaise, 2014؛ Schreinemachers et al., 2015)؛ ويمكن القول بأنها من أهم عناصر مكافحة الواعدة لفيروسات الحمص (قمري وآخرون، 2018).

وعليه، فقد أُجريت بحوثٌ مستقيضة حول هذه المقاومة، وتضمّنت غربلة أصناف الحمص المزروعة والطرز المحلية والأقارب البرية تجاه عدد من الفيروسات الأكثر تهديداً لهذا المحصول في مناطق عديدة من العالم، إلّا أنّه لم يتم تحديد مصادر مقاومة لفيروس شحوب وتقرّم الحمص لكونه من الفيروسات المسجلة حديثاً؛ مع استثناء واحد لبحث جرى تنفيذه مؤخراً في تونس (مغذنف وآخرون، 2017). ولنمايز العزلة السورية لهذا

## إعداد الطرز الوراثية للحمص بالعزلة الفيروسية

تم تعديل طريقة العدوى التقليدية (حسن، 1999؛ قواس، 1992) التي يتم فيها إنفاذ عمليات العدوى بحشرات المنّ الحاملة للفيروس تحت ظروف الحقل، والتي تم تطويرها لاحقاً (حلواني وآخرون، 2013؛ Kumari et al., 2008a) حيث تختلف عن سابقتها بتغطية النباتات المعدة إفرادياً بوساطة أقفاص بلاستيكية صغيرة خاصة لمدة 48 ساعة لحين تمام العدوى تحت ظروف الحقل. أما في الطريقة المتبعة في هذا البحث فقد تم اللجوء إلى عدوى بادرات الحمص بالفيروس المدروس تحت ظروف البيت الزجاجي (مركز البحوث العلمية الزراعية في اللاذقية، سورية) ومن ثم نقلها كشتول وزراعتها في الأرض الدائمة (مركز البحوث العلمية الزراعية في الغاب، حماه، سورية) خلال الموسمين الزراعيين 2018/2017 و 2019/2018، وفق الآتي: تمت زراعة بذور الطرز الوراثية المختبرة ضمن صواني من الفلين (شكل A-1) والمخصصة لإنتاج شتول الخضار بمعدل 30 بذرة لكل طراز موزعة على ثلاثة مكررات وذلك ضمن ظروف البيت الزجاجي. استخدمت خطة معقمة مكونة من التورب والرمل والتربة (1: 0.5: 0.5) للحفاظ على قوام متماسك للخلطة، ومجموع جذري متوائم مع النمو الخضري لبادرات الحمص، وبما يقلل من استطالتها السريعة بهدف تجنب إلتواء أو إنكسار سوقها، وتسهيل إنفاذ المعاملات اللاحقة ونجاح عملية العدوى. جرى إنفاذ عدوى بادرات الحمص بالفيروس بعد حوالي أسبوعين من الزراعة (في مرحلة العقدة الثالثة وظهور الورقة الحقيقية الأولى) بحشرات المنّ التي تمت تغذيتها لمدة 48 ساعة على نباتات فول مصابة بالفيروس بمعدل 10-15 حشرة/بادرة (شكل D-1)، وكثرت العدوى بهدف تعزيزها بعد مضي خمسة أيام (الورقة الحقيقية الثانية) بالطريقة ذاتها. شملت العدوى مكررين اثنين بينما ترك المكرر الثالث كشاهد غير معدى (شكل C-1). رُشّت النباتات المعدة بالمبيد الحشري لانيت (ميثوميل) بعد 48 ساعة من العدوى الثانية لقتل جميع حشرات المنّ.

نقلت الصواني إلى مركز بحوث الغاب، وجرى تشتيل نباتات الحمص (بعمر حوالي 25 يوماً) في الأرض الدائمة المجهزة مسبقاً لهذه الغاية (شكل E-1) وذلك في خطوط بطول 1 م بفاصل 10 سم ما بين النباتات ضمن الخط و50 سم ما بين الخطوط وبواقع 3 مكررات بالتوافق مع ترتيبها ضمن صواني الزراعة. ضمّ كل مكرر 80 طرازاً وراثياً (مرقمة 1-80) موزعة بطريقة عشوائية ضمن قطعتين تجريبيتين، بحيث كانت المحصلة النهائية لتصميم التجربة مكررين من النباتات المعدة بالفيروس (10 نباتات/طرز وراثي/المكرر) ومكرر واحد (10 نباتات/طرز وراثي) كشاهد غير معدى والذي جرى اعتماده للمقارنة عند حساب نسبة الفقد في الغلة جراء الإصابة.

(PVC) ومزوّدة بفتحات جانبية وعلوية مُحكمة بنسيج شبكي دقيق يسمح بالتهوية.

استخدمت المستعمرات النقية أنفة الذكر كنواة لتربية حشرات المنّ وإكثارها على نطاقٍ واسع تحت ظروف البيت الزجاجي (حرارة 18-20 °س، ورطوبة نسبية بحدود 70-80%) على نباتات الفول التي زرعت في صوان معدنية (30×60 سم) ضمن أقفاص معدنية (80×80×80 سم<sup>3</sup>) مُحكمة الإغلاق ومزوّدة بسقف من الزجاج يسمح بنفاذ الضوء اللازم، وثلاثة جدران من نسيج شبكي دقيق لتأمين التهوية الكافية.

## تربية نباتات فول حاملة للفيروس

تمت تغذية حشرات منّ اللوبياء على بعض الأجزاء النباتية المصابة لنبات الحمص المذكور أعلاه لاكتساب الفيروس خلال 48-72 ساعة، ضمن أقفاص بلاستيكية خاصة مُحكمة الإغلاق ومزوّدة بفتحة علوية مغطاة بنسيج شبكي دقيق للتهوية، مع تأمين رطوبة نسبية جيدة بوضع عدّة أوراق ترشّيح مشبعة بالماء أسفل القفص من الداخل. نُقلت حشرات المنّ الحاملة للفيروس لتتغذى على بادرات الفول (صنف حماه 2) لمدة 48 ساعة، مع عزل النباتات المعدة ضمن أقفاص بلاستيكية مانعة لدخول الحشرات تحت ظروف البيت الزجاجي. رُشّت بعد ذلك النباتات المعدة بالمبيد الحشري لانيت (ميثوميل). واختبر وجود الفيروس فيها بعد 3-4 أسابيع من الإعداد بوساطة إختبار TBIA.

تمت المحافظة على العزلة الفيروسية وإكثارها على مدار العام بوساطة النقل الحشري المستمر للفيروس إلى نباتات فول جديدة تحت ظروف البيت الزجاجي وفقاً لما ذكر أعلاه.

## الطرز الوراثية للحمص المستخدمة

تم اختيار 75 طرازاً وراثياً من الحمص من بنك الأصول الوراثية التابع للمركز الدولي للبحوث الزراعية في المناطق الجافة (إيكاردا)، تربل، لبنان، والتي تم جمعها من مناطق متنوعة في معطياتها البيئية والجغرافية وتنتمي إلى 16 دولة حول العالم بما فيها سورية (جدول 1)، كما أُدرجت بينها ثلاثة أصناف (غاب3، غاب4 وغاب5) محلية معتمدة في سورية، والتي تم الحصول عليها من قسم البقوليات التابع للهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، دمشق، سورية. إضافةً إلى الصنفين غاب1 (ILC482) و JG62 والتي أُعتبرت كشواهد حساسة للإصابة بفيروسات الاصفرار وفقاً لمشاهدات سنوات سابقة بكونها تزرع منذ أمِدٍ طويل ضمن تجارب غربلة طرز وراثية لمقاومة ذبول فيوزاريوم، وتم الحصول عليها من قسم تربية الحمص في إيكاردا، تربل، لبنان.

**جدول 1.** منشأ الطرز الوراثية المتحصل عليها من بنك الأصول الوراثية التابع للمركز الدولي للبحوث الزراعية في المناطق الجافة (إيكاردا) والتي تم تقويمها إزاء عزلة سورية لفيروس شحوب وتقرم الحمص (CpCSV) خلال الموسمين الزراعيين 2018/2017 و 2019/2018 في منطقة الغاب، سورية.

**Table 1.** Origin of chickpea accessions obtained from the Gene Bank of the International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA) evaluated for their reaction to a Syrian isolate of *Chickpea chlorotic stunt virus* (CpCSV) during 2017/2018 and 2018/2019 growing seasons at Al-Ghab Center, Syria.

Name of Accessions/genotypes	الطرز الوراثية	عدد الطرز الوراثية No. of accessions	Origin	المنشأ
IG75012, IG75408		2	Ethiopia	إثيوبيا
IG125018, IG140574		2	Azerbaijan	أذربيجان
IG10149, IG10266, IG10295		3	Spain	إسبانيا
IG128465, IG141781, IG141719		3	Italy	إيطاليا
IG6057, IG6058, IG8914, IG70421, IG70428, IG70434, IG70780, IG10782, IG70783, IG70785, IG70787		11	Pakistan	الباكستان
IG69656, IG69657, IG69661, IG69663, IG69664, IG69672, IG69678, IG69680, IG69686, IG69693, IG69694, IG69697, IG69704, IG69705, IG69706, IG69707, IG69708, IG69711, IG69714		19	Portugal	البرتغال
IG128651		1	Bulgaria	بلغاريا
IG6320, IG9000, IG9719, IG9720, IG71832, IG71998, IG73389, IG73391, IG131894		9	Turkey	تركيا
6464, IG6468		2	Tunisia	تونس
IG74007		1	Algeria	الجزائر
IG128444		1	Georgia	جورجيا
IG7740, IG73231, IG73233, IG132032		4	Syria	سورية
IG69434		1	Cyprus	قبرص
IG6411		1	Lebanon	لبنان
IG71778, IG71782, IG71783, IG71787, IG71805, IG71807, IG71813, IG71816, IG71817		9	Morocco	المغرب
IG6049, IG7722, IG9628, IG9630, IG9631, IG9632		6	India	الهند
		<b>75</b>	<b>Total</b>	<b>المجموع</b>

الأصناف المستخدمة كشواهد: غاب3، غاب4، غاب5، ILC482 و JG62.

Varieties used as control: Ghab3, Ghab4, Ghab5, ILC482, JG62.

#### القراءات المسجلة

جمعت عينات نباتية ممثلة لكافة النباتات المزروعة لكل طراز وراثي خلال مرحلة امتلاء القرون (النصف الثاني من شهر نيسان/أبريل)، وطبعت على أغشية النيتروسيليلوز للكشف عن وجود الفيروس المدروس فيها بواسطة اختبار بصمة النسيج النباتي المناعي (مكوك وقمري، 1996) باستخدام خليط من ثلاثة أمصال (B82-5، B83-5 و B85-5) وحيدة الكلون مضادة للعزلة السورية لفيروس شحوب وتقرم الحمص (CpCSV-SY) (Abraham et al., 2006, 2009)، وذلك في مختبر الفيروسات التابع لإيكاردا (محطة تريب، لبنان). وحددت نسب الإصابة لكل طراز وراثي ضمن كل مكرر على حدة وفقاً للمعادلة:

تم رش نباتات التجربة كاملةً بالمبيد الحشري بروتينوس 110 أو دي (100 غ/ل ثياكلوبرايد + 10 غ/ل دلتا مثرين؛ باير كروب ساينس، ألمانيا) بمعدل 1 مل مبيد/لتر، وكرر الرش 3 مرات وبفاصل 15 يوماً بين كل رشتين تجنباً لحدوث أي إصابة محتملة بحشرات المنّ أو الحشرات الأخرى وتقادياً لنقل أو انتقال أية إصابات فيروسية للنباتات المختبرة. كما استخدم المبيد الفطري كلورتوسيب (كلوروثالونيل 40%) بمعدل 2 لتر مادة تجارية/هكتار للوقاية من الإصابة بلفحة الأسكوكيتا بسبب انتشارها الواسع في منطقة الدراسة خلال فترة تنفيذ البحث.

الغلة الحبية فيها. ولمعرفة مقدار تأثير الإصابة بالفيروس في الغلة الحبية، فقد تم احتسابه كنسبة مئوية ولكل طراز ضمن كل مكرر على حدة وفق المعادلة التالية:

$$\text{نسبة الإصابة \%} = \frac{\text{عدد النباتات المصابة/الخط (الطراز)}}{\text{عدد النباتات الكلية/الخط (الطراز)}} \times 100$$

$$\text{نسبة خفض الغلة \%} = \frac{\text{غلة نباتات الشاهد غير المعدي} - \text{غلة النباتات المعداة}}{\text{غلة نباتات الشاهد غير المعدي}} \times 100$$

حللت النتائج إحصائياً باستخدام برنامج التحليل الإحصائي SAS 9.10 وتم تأكيدها باستخدام البرنامج Past V3.21 (Hammer *et al.*, 2001)، والذي مكنا من ربط نسبة الإصابة (مكون أول Component 1) مع مقدار الخسارة في الغلة (مكون ثاني Component 2) وحساب معامل الارتباط، ورسم التمثيل البياني لتوزيع الطرز الوراثية المختبرة وفقاً لقيم المكونين المذكورين.

كما تم تسجيل شدة الإصابة وفق سلم مرضي (Kumari *et al.*, 2008a) مكون من أربع درجات (0-3) (حيث أن: 0=لا توجد أعراض؛ 1=شحوب أو اصفرار خفيف جداً يرافقه ضعف بسيط -وغير ملحوظ أحياناً- في نمو النبات وعدد الأفرع مع وجود نسبة مقبولة من الأزهار والقرون؛ 2=اصفرار واضح وتقرم متوسط الشدة مع انخفاض كبير في نسبة الحمل وتكاد تكون معدومة؛ 3=أعراض اصفرار وتقرم شديد مع غياب عناصر الغلة الحبية)، وذلك خلال مرحلة تشكل وامتلاء القرون (أواخر شهر نيسان/أبريل).

وفي نهاية موسم النمو، تم حصاد نباتات كل خط/طرز يدوياً ضمن كيس قماشي مستقل، وجمعت البذور بعد فرطها يدوياً لحساب



**شكل 1.** طريقة العدوى الاصطناعية المستخدمة في غربلة طرز وراثية من الحمص لمقاومة فيروس CpCSV: (A) البادرات بعمر أسبوعين؛ (B) بادرات الطرز الحساسة بعد 10 أيام من العدوى بالفيروس ويبدو عليها التقزم والاصفرار؛ (C) البادرات غير المعداة (الشاهد) بعمر 25 يوماً؛ (D) استقرار وتغذية حشرات المنّ على بعض الطرز الوراثية المعداة؛ (E) عملية التشتيل في الحقل الدائم؛ (F) تباين تفاعل الطراز الحساس JG62 (اليسار) والمقاوم IG69656 (اليمن) بعد 20 يوماً من التشتيل.

**Figure 1.** Method of virus inoculation used for screening chickpea genotypes against CpCSV: (A) 2 weeks old seedlings; (B) seedlings of susceptible genotypes with yellowing and stunting symptoms 10 days after inoculation; (C) control (healthy) 25 days old seedlings; (D) settled and feeding aphids on some inoculated chickpea genotypes; (E) transplanting seedlings in the open field; (F) reaction of the susceptible genotype JG62 (left) compared to the resistant genotype IG69656 (right) 20 days after planting in the open field.

## المشاهدات الحقلية

أظهرت المشاهدات الحقلية للمراقبة الدورية لأداء الطرز الوراثية والأصناف المختبرة وجود تباين واضح في المظاهر المرضية التي أبدتها نتيجة تفاعلها مع الإصابة بالعزلة الفيروسية المستخدمة في العدوى. وفقاً لسلم درجات الشدة المرضية (0-3) المستخدم، فقد تراوحت الأعراض ما بين التقزم الشديد إلى الخفيف (شكل F-1)، ومن الشحوب إلى درجات متفاوتة من الإصفرار أو الاحمرار. وترافق ذلك مع تفاوت نسبة الحمل (القرون) من المعدومة في الطرز المصابة بشدة إلى الضعيفة أو المتوسطة في باقي الطرز مقارنة بالشاهد غير المصاب (جدول 2)، وهي الأعراض المميزة للإصابة بفيروس شحوب وتقزم الحمص (مغذنف آخرون، 2017؛ Abraham et al., 2006؛ Asaad et al., 2009) وغيره من الفيروسات التابعة لعائلة الاصفرار (Bos, 2008)، وعلى غرار التفاعل الذي أظهرته أصول برية وطرز وراثية للحمص إزاء عزلات من فيروسي الاصفرار الغربي للشوندر السكري/البنجر BWYV (قواص، 1992؛ Kumari et al., 2008a) وإلثاف أوراق الفول BLRV (حسن، 1999) في سورية. وقد بينت الدراسات المعمقة بأن تلك الأعراض تنتج عن سيطرة الفيروس على جيناتٍ وظيفية في خلايا النبات لدى الأصناف القابلة للإصابة بما يقود لتكشف تلك المظاهر المرضية، وأمكن نسب الاصفرار إلى توقف أو ضعف تصنيع الكلوروفيل وتحطم الصانعات (البلاستيدات) الخضراء وحدث خلل في مكوناتها كالتطور غير الكامل للأقراص الغشائية (الثايلاكويدات) وندرة حبيبات النشاء وكريات البلاستيدات، ويترافق ذلك مع تراكم أنواع الأوكسجين التفاعلية (Reactive oxygen species) كالبيروكسيدات وغيرها، وبالتالي توقف عملية البناء الضوئي. وأما التقزم فيعزى إلى حدوث خلل في إنتاج وعمل بعض الهرمونات النباتية كحمض الأبسيسيك والإثيلين والتي لا تقتصر وظيفتها على كونها هرمونات الشيخوخة والنضج في النبات وإنما تؤدي دوراً هاماً كنواقل نشطة لبعض الإشارات الكيميائية المرتبطة بمراحل دقيقة لعملية البناء الضوئي في النبات، فتكون المحصلة توقف نمو النبات (Rong et al., 2018).

## نتائج الإختبارات المصلية/السيرولوجية لعينات الحمص

أكدت نتائج اختبار TBIA لعينات الحمص الممثلة لكافة الطرز الوراثية المختبرة (المعدة بالفيروس)، أن أعراض الاصفرار والتقزم على هذه النباتات كانت نتيجة لإصابتها بفيروس شحوب وتقزم الحمص، وتطابقت نتائج هذه الإختبارات مع القراءات الحقلية لنسب الإصابة الظاهرية، ولم يتم تسجيل حالات إصابة كامنة (بدون أعراض ظاهرية)، وقد سجلت ملاحظات مماثلة عند العدوى بفيروس إلثاف أوراق الفول (حسن، 1999)، بينما لم تسجل أية إصابة في عينات الشاهد غير المعدى الخاصة بكل طراز وراثي.

وقد اعتبر الطراز منيعاً (I): عند خلوه من الإصابة بشكل تام؛ ومقوماً (R): عندما لايتجاوز متوسط شدة الإصابة الدرجة 1 وتكون نسبة الفقد في الغلة >10%؛ متحملة (T): عندما لايتجاوز متوسط شدة الإصابة الدرجة 1 ولاتعدى نسبة الفقد في الغلة 15%؛ حساسة (S): شدة الإصابة 3 وتتجاوز نسبة الفقد 30%.

## النتائج والمناقشة

### كفاءة طريقة العدوى الإصطناعية المستخدمة

أظهرت الطريقة المستخدمة في هذا البحث كفاءة عالية كتقنية عملية لإعداد بادرات الطرز الوراثية للحمص بفيروس شحوب وتقزم الحمص، الأمر الذي بينته نتائج اختبار TBIA، حيث قاربت نسبة الإصابة 100% في كثير من الطرز الوراثية الحساسة (جدول 2)، بما يرفع من كفاءة النتائج المتحصل عليها قياساً بالطرائق المستخدمة سابقاً لجهة استبعاد تأثير عوامل الطقس والأعداء الحيوية في الناقل الحيوي (حشرات المن) واحتمال إخفاق إجباره على التغذية على نبات الحمص عند إنفاذ العدوى تحت ظروف الحقل المفتوح (حسن، 1999؛ قواص، 1992)، ويقاربها من تلك المتحصل عليها بالطريقة المطورة للعدوى (حلواني وآخرون، 2013؛ Kumari et al., 2008a) والتي تؤمن بيئةً موضعيةً مصغرةً وأكثر حمايةً لحشرات المن من جهة، كما تُلزمها بالتغذي على بادرات الحمص باقئها لخير التفضيل الغذائي من جهةٍ أخرى. إلا أن الطريقة الجديدة التي استخدمت في هذه الدراسة قد أضافت على ما سبق عنصراً جديداً على درجةٍ من الأهمية، من خلال إتاحتها إمكانية مراقبة سلوك حشرات المن عن كثب خلال فترة العدوى، وملاحظة تباين تفاعلها مع الطرز الوراثية المختلفة. فقد بدا جلياً استقرار حشرات المن وتغذيتها على بادرات بعض طرز وراثية دون أخرى بعد فترة قصيرة (>30 دقيقة) من تمام العدوى (شكل D-1)، في حين لوحظ بطء تعلقها (<100 دقيقة) بطرز وراثية أخرى، مع رصد اضطراب واضح في سلوكها. وقد تبين لاحقاً ارتفاع نسبة الإصابة في بعض الطرز الوراثية بما فيها الصنفين المستخدمين كشواهد حساسة (مثل: IG6049، IG6464، IG9719، IG10295، IG69686، IG69694، ILC482 و JG62) التي كانت أكثر تفضيلاً لحشرات المن التي تعلقت بها واستقرت عليها خلال وقتٍ قصير مقارنة بالطرز الأخرى.

علاوةً على ذلك، امتازت هذه الطريقة ببساطتها وسهولة تطبيقها، كما وفرت إمكانية إعداد مجاميع كثيرة من الطرز الوراثية بالفيروسات المختلفة ضمن شروطٍ موحدة، ومن ثم أتاحت نقلها لمسافات طويلة لاختبارها ومتابعة أدائها في مواقع جغرافية متباينة في معطياتها البيئية.

**جدول 2.** توزع فئات الطرز الوراثية المختبرة تبعاً لمتوسط نسبة إصابتها بعزلة سورية محلية بفيروس شحوب وتقزم الحمص (CpCSV) حسب نتائج اختبار بصمة النسيج النباتي (TBIA)، ومتوسط شدة الإصابة ومطابقتها مع مقدار الفقد في الغلة البذرية مقارنة بالشاهد غير المعدى، خلال الموسمين الزراعيين 2018/2017 و2019/2018 (القراءات تمثل متوسط الموسمين).

**Table 2.** Tissue blot immune assay (TBIA) results and grouping chickpea genotypes according to its reaction (% virus incidence and % yield losses) against a Syrian isolate of *Chickpea chlorotic stunt virus* (CpCSV) during 2017/2018 and 2018/2019 growing seasons (values represented average of the two growing seasons).

المجموع Total	الطرز الوراثية Genotypes	مستوى المقاومة* Resistance level*	الفقد في الغلة البذرية % Grain yield loss (%)	متوسط شدة الإصابة (3-0) Disease Severity (0-3)	الإصابة بالفيروس % % of virus infection
6	IG9000, IG69434, IG69656, IG69693, IG71832, IG128651	R	9.0-6.0	0.75	10.0-00.0
16	IG9630, IG69678, IG69680, IG69705, IG69706, IG69708, IG69711, IG69714, IG70421, IG70785, IG70787, IG71813, IG73231, IG73391, IG128465, IG141781	T	10.0-7.8	1	20.0-10.1
8	IG6411, IG6468, IG8914, IG10149, IG10266, IG69663, IG69672, IG128444	MT	16.5-10.0	1.50	
11	IG6320, IG7722, IG9628, IG69661, IG69707, IG70434, IG71778, IG71782, IG71783, IG75408, IG125018	MS	34.3-17.5	2	30.0-20.1
7	IG6058, IG9720, IG69664, IG10782, IG71805, IG75012, IG131894	MS	35.5-22.5	2	40.0-30.1
11	IG6057, IG9631, IG69657, IG70428, IG71807, IG71817, IG71998, IG73389, IG132032, <b>Ghab4, Ghab5</b>	S	44.3-32.0	2.5	50.0-40.1
13	IG7740, IG9632, IG69697, IG69704, IG70780, IG70783, IG71787, IG71816, IG73233, IG74007, IG140574, IG141719, <b>Ghab3</b>	S	55.0-31.8	3	70.0-50.1
8	IG6049, IG6464, IG9719, IG10295, IG69686, IG69694, <b>ILC482, JG62</b>	HS	95.5-55.8	3	100-70.1
<b>80</b>					<b>المجموع الكلي Total</b>

\* مستوى المقاومة وفقاً للقراءات الثلاث: نسبة الإصابة وشدها ونسبة الفقد، حيث: R= مقاوم؛ T= متحمل؛ MT= متوسط التحمل؛ MS= متوسط الحساسية؛ S= حساس؛ HS= عالي الحساسية.

\* Resistance level based on % of virus infection, disease severity and yield loss, where: R= Resistant, T= tolerant, MT= Moderately tolerant, MS= Moderately susceptible, S= Susceptible, HS= Highly susceptible.

IG69434, IG69656, IG69693, IG71832 و IG128651) ذات نسب إصابة متدنية جداً (> 10%) وشدة إصابة ضعيفة جداً (جدول 2)، والتي يمكن اعتبارها ذات أهمية كبيرة كمصادر مقاومة لهذا الفيروس وكان مصدرها البرتغال، تركيا، قبرص وبلغاريا. من جهة أخرى فقد قاربت هذه النسبة حدود 100% في طرز وراثية أخرى (IG6049, IG6464, IG9719, IG10295, IG69686, IG69694, ILC482 و JG62) مترافقةً مع درجات مختلفة لشدة الإصابة عكستها الأعراض الظاهرية

**تحديد نسب الإصابة بالفيروس وشدها والفقد في الغلة البذرية**  
تم حساب النسبة المئوية للإصابة لكل طراز وراثي ضمن كل مكرر على حدة ومن ثم تم حساب متوسط قراءة كل صنف خلال الموسمين معاً (2016/2017 و 2017/2018) نظراً لعدم وجود فروق معنوية ما بين الموسمين. وقد أبدت الطرز الوراثية تبايناً كبيراً في حساسيتها إزاء العزلة الفيروسية المستخدمة، حيث تراوح متوسط نسب الإصابة ما بين 5.3 و97%، وبالتالي فقد كانت هناك ستة طرز وراثية (IG9000)



وبالتالي برزت شدة الإصابة كعامل محدد لدرجة المقاومة أكثر مما تلعبه نسبة الإصابة. وقد نوهت الأبحاث السابقة لطبيعة الضرر الذي تلحقه فيروسات الاصفرار بعوائلها النباتية وما تحدثه من أعراض واضحة وأضرار كبيرة ولاسيما في محصول الحمص عند الإصابة المبكرة والتي تكون شدة الإصابة أعلى ما يمكن فيها مقارنةً بالإصابة المتأخرة، بمعنى أن نسبة الضرر النهائية ترتبط بشدة الإصابة على نحو أكبر من نسبة الإصابة (Kumari et al., 2008a, 2008b; Bos et al., 1988).

### تحليل المكونات الأساسية (PCA) Principal components analysis (PCA)

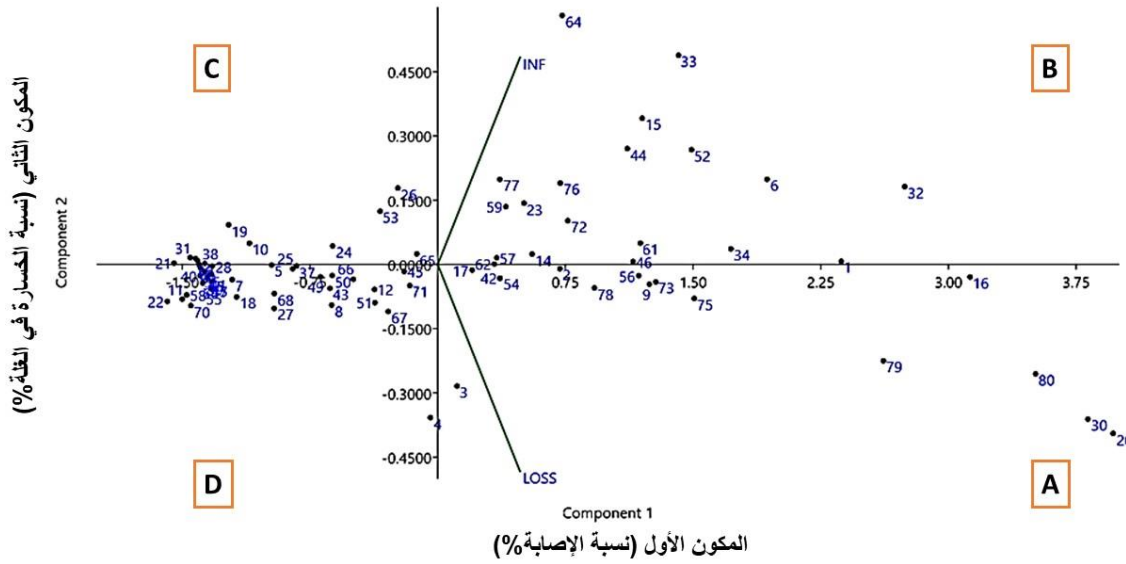
أكدت نتائج تحليل المكونات الأساسية PCA ماتم شرحه وفقاً للتحليل الاحصائي التقليدي، وتراوحت قيم المكون الأول PC1 (نسبة الإصابة) بين أعلى قيمة للطرز الوراثي IG10295 (3.9674) يليه الطراز الوراثي IG69686 (3.819) وأقل قيمة في الطراز IG69656 (-1.5887) يليه الطراز الوراثي IG69434 (-1.5489)، وتراوحت قيم المكون الثاني PC2 (نسبة الخسارة في الإنتاجية) بين أقل قيمة للطرز الوراثي IG10295 (-0.39466) وأعلى قيمة للطرز الوراثي IG74007 (0.58142). واستناداً إلى تلك القيم توزعت الطرز الوراثية في أربعة مجموعات (شكل 2): المجموعة الأولى (A): ضمت الطرز الوراثية التي تميزت بنسبة الإصابة والخسارة في الإنتاجية عالية (مثل: IG10295، IG69686، JG62، ILC482 و IG9719) ذات القيم الموجبة والعالية لنسبة الإصابة وقيم سالبة للخسارة في الإنتاجية؛ في حين ضمت المجموعة الثانية (B): طرز وراثية (مثل: IG6464، IG69694، IG69697، IG9632، IG71787، IG73233 و IG74007) التي تميزت بنسبة إصابة عالية لكن ذات نسبة خسارة في الإنتاجية أقل وذلك مقارنة مع طرز المجموعة الأولى وهي الطرز الوراثية ذات القيم الموجبة للمكونين الأساسيين، في حين ضمت المجموعة الثالثة (C): طرزاً وراثية (مثل: IG8914، IG10266، IG69693 و IG69708) ذات قيم السالبة لنسبة الإصابة وموجبة للخسارة في الإنتاجية وهي الطرز الوراثية ذات النسب المنخفضة للمكونين لكنها كانت أعلى من قيم تلك النسب لطرز المجموعة الرابعة (D): والتي ضمت أفضل الطرز الوراثية (مثل: IG9000، IG69656 و IG71832) من ناحية نسبة الإصابة والخسارة في الإنتاجية والتي كانت ذات قيمة سالبة للمكونين. أما الطراز الوراثي IG69434 فكان من بين أفضل الطرز الوراثية على الرغم من وجوده في المجموعة C وتسجيله لثاني أخفض قيمة للمكون الأول إلا أنه كان ذو قيمة قريبة من الصفر للمكون الثاني (0.003098) مقارنةً مع بقية الطرز الوراثية (شكل 2).

وبعلاقة أقرب ما تكون إلى التناوب الطردي، حيث بلغت في بعضها أعلى درجة في سلم شدة الإصابة مما يشير إلى حساسيتها العالية تجاه العزلة الفيروسية المستخدمة (جدول 2). وعلى غرار ذلك فقد تباين مقدار الفقد في الغلة البذرية على نحو كبير وبالتوازي مع نسبة الإصابة وشدتها، وتراوحت المتوسطات ما بين 6 و95% مقارنةً بالشاهد غير المعدى (جدول 2). ويجدر التنويه إلى أنه بالتدقيق ضمن الفئة الثانية المحددة وفقاً لنسبة الإصابة (10.1-20%) تبيّن وجود 16 طرازاً وراثياً (IG9630، IG69678، IG69680، IG69705، IG69706، IG69708، IG69711، IG69714، IG70421، IG70785، IG70787، IG71813، IG73231، IG73391، IG128465 و IG14781) من أصل 24 طرازاً ذات نسب إصابة في حدود 10.25-11.25%، إلا أن متوسط شدة الإصابة لم يتجاوز المستوى الثاني (القيمة 1 في سلم الشدة المرضية) كما لم تتعدى نسبة الفقد في الغلة البذرية حدود 10% على الإطلاق، وبالتالي يمكن اعتبارها رديفاً مباشراً للطرز الوراثية المدرجة ضمن الفئة الأولى وتصنيفها كطرز وراثية متحملة للفيروس المدروس، مع الإشارة إلى مصدرها (الباكستان، البرتغال، إسبانيا، المغرب، الهند، إيطاليا، بلغاريا، تركيا، تونس، جورجيا، لبنان، وسورية). في حين أن باقي الطرز الثمانية (IG6411، IG6468، IG8914، IG10149، IG10266، IG69663، IG69672 و IG128444) ضمن هذه الفئة قد تجاوزت فيها نسبة الفقد 15% تزامناً مع زيادة متوسط الشدة المرضية إلى 1.5 (جدول 2) واعتبرت متوسطة التحمل. وعلاوة على ذلك، فقد أبدت باقي الطرز الوراثية تبايناً كبيراً في تفاعلها ودرجة تحملها للإصابة بالفيروس، فكان مقدار الفقد في غلتها مساوياً تقريباً لنسبة الإصابة في الطرز الأكثر حساسية، في حين كان أقل من ذلك بكثير في طرزٍ أخرى كانت أكثر تحملاً. وتتسجم هذه النتائج مع ما توصلت إليه أبحاث مشابهة بخصوص غريلة طرز وراثية من الحمص مقاومة لفيروس شحوب وتقرم الحمص (مغذف وآخرون، 2017)، أو فيروسات أخرى مشابهة تتبع للعائلة نفسها (حسن، 1999؛ قواص، 1992؛ Kumari et al., 2008a).

### علاقة الارتباط بين نسبة الإصابة وشدتها مع نسبة الخسارة في المحصول (الفقد)

بيّنت نتائج التحليل الإحصائي وجود علاقة ارتباط قوية وعالية المعنوية بين كل من نسبة الإصابة وشدتها مع نسبة الخسارة في الغلة البذرية نتيجة الإصابة، فكانت قيمة معامل الارتباط  $r = 0.976$  و  $0.987$ ، على التوالي، وهذا ما بدا جلياً في ارتفاع نسبة الخسارة في الطرز الوراثية ذات شدة الإصابة العالية أي الطرز الوراثية الحساسة مقارنةً مع تلك المقاومة.





شكل 2. تحليل المكونات الأساسية (القراءات تمثل متوسط الموسمين): المجموعة الأولى (A)=الطرز ذات القيم الموجبة والعالية للمكون لنسبة الإصابة وقيم سالبة لنسبة الخسارة في الغلة، وتضم الطرز الوراثية التي تميزت بنسبة إصابة وخسارة بالإنتاجية عالية؛ المجموعة الثانية (B)=الطرز ذات القيم الموجبة للمكونين الأساسيين الطرز الوراثية، والتي تميزت بنسبة إصابة عالية لكن ذات نسبة خسارة نتيجة الإصابة أقل وذلك مقارنة مع طرز المجموعة الأولى؛ المجموعة الثالثة (C)=الطرز ذات القيم السالبة لنسبة الإصابة والموجبة لنسبة الخسارة في الغلة وهي الطرز الوراثية ذات النسب المنخفضة لكل من نسبة الإصابة والخسارة ولكنها كانت أعلى من قيم تلك النسب لطرز المجموعة الرابعة (D)=والتي ضمت أفضل الطرز الوراثية من ناحية نسبة الإصابة والخسارة نتيجة الإصابة والتي كانت ذات قيمة سالبة للمكونين (أرقام الطرز الوراثية مبينة أدناه).

**Figure 2.** Principal components analysis (PCA) (values represented the average of the two growing seasons): Group (A)= accessions with high and positive % of infection value, but negative for % of grain yield loss, and it includes genotypes with high virus infection and yield loss% values; Group (B)= accessions with positive values for both components, it includes genotypes with high virus infection but with yield loss % less than that of the genotypes in group A; Group (C)= accessions with negative value for % of infection but positive for yield loss %, it includes genotypes with low values for both components but still higher than those of group D; Group (D)= accessions with negative values for both components, it includes the best performing genotypes.

Genotypes are: 1= IG6049, 2= IG6057, 3= IG6058, 4= IG6320, 5= IG6411, 6= IG6464, 7= IG6468, 8= IG7722, 9= IG7740, 10= IG8914, 11= IG9000, 12= IG9628, 13= IG9630, 14= IG9631, 15= IG9632, 16= IG9719, 17= IG9720, 18= IG10149, 19= IG10266, 20= IG10295, 21= IG69434, 22= IG69656, 23= IG69657, 24= IG69661, 25= IG69663, 26= IG69664, 27= IG69672, 28= IG69678, 29= IG69680, 30= IG69686, 31= IG69693, 32= IG69694, 33= IG69697, 34= IG69704, 35= IG69705, 36= IG69706, 37= IG69707, 38= IG69708, 39= IG69711, 40= IG69714, 41= IG69680, 42= IG69686, 43= IG69693, 44= IG69694, 45= IG69697, 46= IG69704, 47= IG69705, 48= IG69706, 49= IG69707, 50= IG69708, 51= IG69711, 52= IG69714, 53= IG70421, 54= IG70428, 55= IG70434, 56= IG70780, 57= IG71817, 58= IG71832, 59= IG71998, 60= IG73231, 61= IG73233, 62= IG73389, 63= IG73391, 64= IG74007, 65= IG75012, 66= IG75408, 67= IG125018, 68= IG128444, 69= IG128465, 70= IG128651, 71= IG131894, 72= IG132032, 73= IG140574, 74= IG141781, 75= IG141719, 76= Ghab3, 77= Ghab4, 78= Ghab5, 79= ILC482 (Ghab1), 80= JG62

(Nicaise, 2014). وبالتالي ليس بالامكان تفسير هذا التباين الكبير والمتنوع في أداء الطرز الوراثية إزاء العزلة الفيروسية المستخدمة إلا بالوقوف عند آلية مقاومة النبات (الفيزيائية، الكيميائية، والجزئية..). للإصابات الفيروسية والتي تتجلى في تنوع وسائل الدفاع المحتملة، بما يتيح له توظيف عدة استراتيجيات للمقاومة سواء تجاه الفيروس نفسه، أو ضد نواقله الحيوية، أو كليهما معاً (de Ronde *et al.*, 2014؛ Palukaiti & Garr, 2008؛ Hull, 2014؛ Makkouk *et al.*, 2014). ويأتي ضمن هذا السياق بعض الصفات المورفولوجية والكيميائية كوجود الأوبار سواء اللاغدية أو الغدية ومفرزاتها (حمض المالك والأوكزاليك..)

## آليات مقاومة الفيروس

إنّ نجاح العدوى وتطور الإصابة بالفيروسات المثابرة يأتي كحصيلة للتفاعل المشترك بين العوامل الثلاثة (النبات، الناقل الحيوي، الفيروس) ضمن ظروف بيئية مواتية (Hull, 2014)، وقدرة الفيروس على تجاوز جميع دفاعات النبات والتي تكون على مراحل ومستويات متعددة، ليتمكن في نهاية المطاف من التضاعف والسيطرة على جملة الوظائف الحيوية للعائل النباتي المضيف (Nicaise, 2014)، وهنا يبرز دور التركيب الوراثي للنبات وما يرتبط به من عوامل المناعة الذاتية كركيزة أساسية في إبطال مفعول هذا الهجوم أو إضعافه (de Ronde *et al.*, 2014)؛

22.2-88.8% (حسن، 1999)، ولا يلغي ذلك احتمال مقاومتها للناقل والفيروس معاً.

لم تتمكن في هذه الدراسة من تحديد طرز وراثية منيعة إزاء فيروس شحوب وتقرم الحمص، إلا أنه أمكن تحديد ستة طرز وراثية مقاومة وستة عشرة طرازاً أخرى عالية التحمل ومن مصادر متعددة تشمل اثني عشر بلداً حول العالم (الباكستان، البرتغال، اسبانيا، المغرب، الهند، إيطاليا، بلغاريا، تركيا، تونس، جورجيا، لبنان، سورية)، وبالتالي التوصية باستخدام هذه المصادر الوراثية المقاومة لفيروس شحوب وتقرم الحمص ضمن برامج التربية المستقبلية متعددة الأهداف لمحصول الحمص من جهة، ولإنفاذ أبحاث مستقبلية تُعنى بالتوصيف الدقيق لمصدر وآليات المقاومة الذاتية التي تكتنفها هذه الطرز الوراثية أو غيرها على المستوى الجزيئي وتحديد مورثات المقاومة بما يدعم برامج الإدارة المتكاملة لمثل تلك الأمراض الفيروسية واسعة الانتشار.

وعلى اعتبار أن فيروس شحوب وتقرم الحمص يمكن أن يكون قد انبثق كمسبب رئيسي لتقرم الحمص قبل إكتشافه بفترة طويلة، تجدر الاستفادة من المصادر الوراثية التي تمّ تحديدها سابقاً لمقاومة التقرم في الكثير من الدراسات (Abraham, 2019)، كما قد يكون من المفيد مستقبلاً مقارنة نتائج هذه الدراسة مع ما توصلت إليه دراسات مشابهة كتلك التي أجريت في تونس (مغذف وأخرون، 2017) واختبار الطرز الوراثية التي ثبت تحملها/مقاومتها العالية إزاء عزلات أخرى محلية أو خارجية للفيروس. ومن جهةٍ أخرى، يمكن أيضاً إعادة تقويم أداء الطرز الوراثية المدرجة ضمن هذه الدراسة لتقصي مقاومتها للمسببات المرضية الأخرى السائدة في سورية أو مناطق أخرى من العالم كلفحة الأسكوكيتا وذبول الفيوزاريوم لعل بعضها يكتنف على صفات المقاومة المتعددة لأكثر من مسبب مرضي على غرار ما توصلت إليه أبحاث سابقة (Ilyas et al., 2008).

(Wagner et al., 2004) وتتباين كثافتها تبعاً للطرز الوراثي، الأمر الذي يخلق تمايزاً واضحاً في مستوى مقاومة نبات الحمص للأمراض والآفات (Brar & Singh, 2017؛ Jakhar, 2016). كما يمكن أن يسهم التباين الوراثي للعائل النباتي من جديد بدوراحاسم في إحباط عملية العدوى وفق عدّة آليات على مستوى لحاء النبات المضيف، كإعاقة أو منع تغذية الناقل الحيوي (المن) على الطرز الوراثية المقاومة، وذلك من خلال آليات التضاد الحيوي Antibiosis، أو تعديل سلوك الحشرة Antixenosis فضلاً عن دور الأنزيمات النباتية (Kamphuis et al., 2012؛ Lantos et al., 2019؛ Silva-Sanzana et al., 2019).

ومن جهةٍ أخرى، فإنّ نجاح الناقل الحيوي في نقل الفيروس إلى الأوعية اللحائية للنبات يحتمّ على الأخير توظيف آلياتٍ جديدة لمقاومة الفيروس نفسه، بحيث تكبح تكاثره وتشل أو تضعف حركته وانتقاله ضمن أجزاء النبات (Makkouk & Kumari, 1995). وعموماً، أيّاً تكن الآلية المتبعة في مقاومة العائل النباتي للفيروسات بشكلٍ طبيعي، فهي تعتمد جوهرياً على جيناتٍ وظيفية قد تكون سائدةً أو متنحية (de Ronde et al., 2014؛ Hashimoto et al., 2016).

وبناءً على ما تقدّم، يمكن لنا استقراء آليات المقاومة المحتملة في الطرز الوراثية المختبرة ضمن هذه الدراسة، بما يفيد في تبرير مشاهداتنا حول اضطراب سلوك حشرات المنّ وعدم استقرارها على طرز وراثية دون أخرى، والتي تبين لاحقاً تحملها/مقاومتها للفيروس المدروس أيضاً (نسبة الإصابة >10%) بما يوحي بمقاومتها للناقل الحيوي (المن). وقد أشارت أبحاث سابقة إلى مقاومة بعض أصناف الحمص لحشرات المنّ (Chandio et al., 2017)، كما بيّنت دراسة سابقة وجود تأثير كبير لتغير الطراز الوراثي للحمص في كفاءة حشرات منّ البازلاء الأخضر في نقل فيروس النفاق أوراق الفول، وتراوحت نسب الإصابة في حدود

## Abstract

Asaad, N., S.G. Kumari, A.A. Haj-Kassem, S. Al-Chaabi and A. Arab. 2020. Developing an artificial inoculation technique for screening chickpea genotypes against a Syrian isolate of *Chickpea chlorotic stunt virus*. Arab Journal of Plant Protection, 38(2): 103-114.

*Chickpea chlorotic stunt virus* (CpCSV) is the most important virus affecting chickpea crop in several countries of West Asia and North Africa (WANA), including Syria. The main objective of this study was to develop a simple and economical technique to screen chickpea genotypes for virus resistance under open filed conditions. A total of 75 chickpea genotypes originated from 16 countries (obtained from the Gene Bank of ICARDA), including 3 local and 2 susceptible varieties, were used in this study. Thirty seeds of each genotype were sown in seedling tray plates containing a mixture of peat moss, sand and soil (1:0.5: 0.5). Two weeks later, seedlings were inoculated with a Syrian isolate of CpCSV using the aphid virus vector *Aphis craccivora* Koch under green house conditions. Twenty-five days after sowing, seedlings were transplanted into the field. Results showed that the method used showed high infection efficiency and can be used as a practical technique to screen chickpea genotypes for CpCSV resistance, as the virus infection rate reached 100% in many susceptible chickpea genotypes, which permitted to closely monitor the behavior of aphids during the inoculation process, and observe the variation of the interaction of the aphid vector with different chickpea genotypes. Six resistant (IG9000, IG69434, IG69656, IG69693, IG71832, IG128651) and 16 tolerant genotypes from different origins (Pakistan, Portugal, Spain, Morocco, India, Italy, Bulgaria, Turkey, Tunisia, Georgia, Lebanon and Syria) were identified. Highly and significant correlation ( $r = 0.976$ ) was recorded between both virus infection rate (%) and disease severity with grain yield loss (%). Resistant genotypes identified can be used as a source of CpCSV resistance in chickpea breeding programs.

**Keywords:** Genetic resistance, CpCSV, resistance mechanism, Syria, genotypes.

**Corresponding author:** Nader Asaad, General Commission for Scientific Agricultural Research (GCSAR), AlGhab, Hama, Syria,

Email: asaad\_nader@yahoo.com

## References

- food legumes. R. J. Summerfield (ed). Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.  
[https://doi.org/10.1007/978-94-009-2764-3\\_49](https://doi.org/10.1007/978-94-009-2764-3_49)
- Blackman, R.L. and V.F. Eastop.** 2000. Aphids on the World's Crops: An Identification and Information Guide; 2nd Edition, John Wiley & Sons Ltd.: New York, NY, USA, 476pp.
- Brar, H.S. and R. Singh.** 2017. Role of trichomes on leaves and pods for imparting resistance in chickpea [*Cicer arietinum* (L.)] genotypes against *Helicoverpa armigera* (Hübner). Journal of Applied and Natural Science, 9 (4): 2193–2198.  
<https://doi.org/10.31018/jans.v9i4.1509>
- Chandio, M.A., M.I. Kubar, S. Solangi, F.H. Magsi, S. Mangi, M.A. Roonjha, N.A. Channa and K. H. Lashari.** 2017. Screening of chickpea varieties against gram aphid *Aphis craccivora* (Koch.) in field. Journal of Entomology and Zoology Studies; 5: 1651-1654.
- de Ronde, D., P. Butterbach and R. Kormelink.** 2014. Dominant resistance against plant viruses. Frontiers in Plant Science, 5: 307.  
<https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00307>
- Deziel, N.C., M.C. Friesen, J.A. Hoppin, C.J. Hines, K. Thomas and L.E.B. Freeman.** 2015. A review of nonoccupational pathways for pesticide exposure in women living in agricultural areas. Environmental Health Perspectives, 123: 515-524.  
<http://dx.doi.org/10.1289/ehp.1408273>
- Fuhrmann, S., M.S. Winkler, P. Staudacher, F.T. Weiss, C. Stamm, R.I.L. Eggen, C.H. Lindh, J.A. Menezes-Filho, J.M. Baker, F. Ramirez-Muñoz, R. Gutiérrez-Vargas and A.M. Mora.** 2019. Exposure to pesticides and health effects on farm owners and workers from conventional and organic agricultural farms in Costa Rica: Protocol for a cross-sectional study. JMIR Research Protocoles; 8: 2-13.  
<https://doi.org/10.2196/10914>
- Hammer, Q., D.A.T. Harper and P.D. Ryan.** 2001. PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. Palaeontologia Electronica, 4: 1-9.
- Hashimoto, M., Y. Neriya, Y. Yamaji and S. Namba.** 2016. Recessive Resistance to Plant Viruses: Potential Resistance Genes Beyond Translation Initiation Factors. Frontiers in Microbiology, 7: 1695.  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01695>
- Hull, R.** 2014. Plant Virology. 5th edition, Academic Press. John Innes Centre, Norwich, UK. 1118 pp.
- Jakhar, P.** 2016. Population dynamics and management of major insect pests of chickpea. Ph.D. thesis. College of Agriculture, Chaudhary Charan Singh Haryana Agricultural University, Hisar, Haryana, India. 165pp.
- 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 disease in legumes. Netherlands Journal of Plant pathology, 90: 225-245. <https://doi.org/10.1007/BF01976381>
- حسن، هناء توفيق. 1999. الفيروسات المنتشرة على البقوليات الغذائية المزروعة في سهل الغاب- سورية. أطروحة ماجستير، قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة حلب، سورية. 135 صفحة.
- حلواني، مصعب، صفاء غسان قمري وعماد إسماعيل. 2013. تحسين كفاءة حشرات المنّ لغربلة أصناف من الحمص مقاومة لفيروس إلتفاف أوراق الفول (BLRV) والاصفرار الغربي للشوندر السكري/البنجر (BWYV). مجلة وقاية النبات العربية، 31: 208-215.
- قمري، صفاء غسان، عبد الرحمن مكل، نادر أسعد وسامية مغدنف. 2018. الأمراض الفيروسية الجديدة التي تصيب الحمص وتنقل بواسطة الحشرات في المنطقة العربية والاتجاهات المحتملة لإدارتها. ورشة عمل: الآفات الغازية "كشف، وبائية ومكافحة الآفات التي تهدد المحاصيل الاستراتيجية في المنطقة العربية"، الجمعية العربية لوقاية النبات، الإسكندرية - مصر، 4-5 تشرين الثاني/2018. مجلة وقاية النبات العربية، 36: 262.  
<http://dx.doi.org/10.22268/AJPP-036.3.259270>
- مغدنف، سامية، صفاء غسان قمري، يوب فان لور وأسماء نجار. 2017. انتشار وإدارة فيروس الإصفرار الغربي للشوندر السكري وتقرم واصفرار الحمص في تونس. المؤتمر العربي الثاني عشر لعلوم وقاية النبات، الغردقة - مصر، 4-10 تشرين الثاني/نوفمبر، 2017. مجلة وقاية النبات العربية، 35 (عدد خاص): 48، 58. قواص، هدى زاهي. 1992. الأمراض الفيروسية على محصول الحمص في سورية: تشخيصها وتوصيفها وانتقالها بالحشرات وتفاعلها مع الأصناف والطرز الوراثية. رسالة دكتوراه، قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة دمشق، دمشق، سورية. 131 صفحة.
- 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.
- Abraham, A.D.** 2019. Emerged plant virus diseases in Ethiopian agriculture: Causes and control options. Ethiopian Journal of Agriculture Science, 29(1): 39-55.
- Abraham, A.D., W. Mensel, D.E. Lesemann, M. Varrelmann and H.J. Vetten.** 2006. Chickpea chlorotic stunt virus: a new Ploverovirus infecting cool season food legumes in Ethiopia. Phytopathology, 96: 437-446. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-0437>
- Abraham, A.D., W. Menzel, M. Varrelmann and H.J. Vetten.** 2009. Molecular, serological and biological variation among chickpea chlorotic stunt virus isolates from five countries of north Africa and west Asia. Archives of virology 154: 791–799.  
<https://doi.org/10.1007/s00705-009-0374-0>
- Asaad, N.Y., S.G. Kumari, A. Haj Kasem, A. Shalaby, S. Al-Chaabi and R.S. Malhotra.** 2009. Detection and Characterization of Chickpea chlorotic stunt virus in Syria. Journal of Phytopathology, 157: 756-761.  
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2009.01574.x>
- Bos, L.** 2008. Legume viruses. Pages 419-426. In: Desk encyclopedia of plant and fungal virology. W.J.M. Brian and M.H.V. Van Regenmortel (eds.). United Kingdom: Elsevier/Academic Press.
- Bos, L., R.O. Hampton and K.M. Makkouk.** 1988. Viruses and virus diseases of pea, lentil, faba bean, and chickpea. Pages 591-615. In: World crops: cool season

- Kumari, S.G., K. Makkouk, M. Hlaing Loh, K. Negassi, S. Tsegay, R. Kidane, A. Kibret, and Y. Tesfatsion.** 2008b. Viral disease affecting chickpea crops in Eritrea. *Phytopathologia Mediterranea*, 47: 42-49. [https://doi.org/10.14601/Phytopathol\\_Mediterr-2543](https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-2543)
- Makkouk, K.M. and S. G. Kumari.** 1995. Screening and selection of faba bean (*Vicia faba* L.) germplasm for resistance to bean yellow mosaic potyvirus. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 102: 461-466.
- Makkouk, K.M., S.G. Kumari, J.A. van Leur and R.A. Jones.** 2014. Control of plant virus diseases in cool-season grain legume crops. *Advances in Virus Research*, 90: 207-253. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801246-8.00004-4>
- Merga, B. and J. Haji.** 2019. Economic importance of chickpea: Production, value, and world trade. *Cogent Food & Agriculture*, 5: 1615718. <https://doi.org/10.1080/23311932.2019.1615718>
- Nicaise, V.** 2014. Crop immunity against viruses: outcomes and future challenges. *Front Plant Science*, 5: 660. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00660>
- Nene Y.L., V.K. Shelia and S.B. Sharma.** 1996. A world list of chickpea and pigeonpea pathogens 5thEdn. Patancheru, Andhra Pradesh, India. ICRISAT, p. 27.
- Palukaiti, P. and J.B. Carr.** 2008. Plant resistance responses to viruses. *Journal of Plant Pathology*, 90: 153-171.
- Rong, W., X. Wang, X. Wang, S. Massart and Z. Zhang.** 2018. Molecular and ultrastructural mechanisms underlying yellow dwarf symptom formation in wheat after infection of barley yellow dwarf virus. *International Journal of Molecular Science*, 19: 1187. <https://doi.org/10.3390/ijms19041187>
- Schreinemachers, P., S. Balasubramaniam, N.M. Boopathi, C. Viet Ha, L. Kenyon, S. Praneetvatakul, A. Sirijinda, N. Tuan Le, R. Srinivasan and Mei-Huey Wu.** 2015. Farmers' perceptions and management of plant viruses in vegetables and legumes in tropical and subtropical Asia. *Crop Protection*, 75: 115-123. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.05.012>
- Silva-Sanzana C., J. Celiz-Balboa, E. Garzo, S.E. Marcus, J.P. Parra-Rojas, B. Rojas, P. Olmedo, M.A. Rubilar, I. Rios, R.A. Chorbadian, A. Fereres, P. Knox, S. Saez-Aguayo and F. Blanco-Herrera.** 2019. Pectin methylesterases modulate plant homogalacturonan status in defenses against the Aphid *Myzus persicae*. *The Plant Cell*, 31: 1913-1929. <https://doi.org/10.1105/tpc.19.00136>
- Verrell, A. and K. Moore.** 2015. Managing viral diseases in chickpeas through agronomic practices. "Building Productive, Diverse and Sustainable Landscapes" Proceedings of the 17th ASA Conference, 20-24 September 2015, Hobart, Australia.
- Wagner, G.J., E. Wang and R.W. Shepherd.** 2004. New approaches for studying and exploiting an old protuberance, the plant trichome. *Annals of Botany*, 93: 3-11. <https://doi.org/10.1093/aob/mch011>
- Jones, R.A.C. and M.J. Barbetti.** 2012. Influence of climate change on plant disease infections and epidemics caused by viruses and bacteria. *CAB Reviews*, 7, No. 022. <https://doi.org/10.1079/PAVSNNR20127022>
- Jones, R.A.C. and R.A. Naidu.** 2019. Global Dimensions of Plant Virus Diseases: Current Status and Future Perspectives. *Annual Review of Virology*, 6: 387-409. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-092818-015606>
- Ilyas, M.B., M.A. Shakoore, N. Javed and M.U. Ghazanfar.** 2008. Sources of multiple resistance in chickpea germplasm against *Ascochyta* blight, Fusarium wilt and stunt virus diseases. *International Journal of Biology and Biotechnology (Pakistan)*, 4: 231-235.
- Lantos, E., E. Schliephake, R. Krämer, T. Will and T. Nothnagel.** 2019. Feeding behavior of *Myzus persicae* on asparagus species susceptible and resistant to Asparagus virus 1. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 167: 360-369. <https://doi.org/10.1111/eea.12784>
- Li, H., M. Rodda, A. Gnanasambandam, M. Aftab, R. Redden, K. Hobson, G. Rosewarne, M. Materne, S. Kaur and A.T. Slater.** 2015. Breeding for biotic stress resistance in chickpea: progress and prospects. *Euphytica*, 204: 257-288. <https://doi.org/10.1007/s10681-015-1462-8>
- Kamphuis, L.G., L. Gao and K.B. Singh.** 2012. Identification and characterization of resistance to cowpea aphid (*Aphis craccivora* Koch) in *Medicago truncatula*. *BMC Plant Biology*, 12: 101. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-12-101>
- Kumar, P.L., S.G. Kumari and F. Waliyar.** 2008. Virus diseases of chickpea. Pages 213-234. In: *Characterization, Diagnosis and Management of Plant Viruses: Vol 3. Vegetable and Pulse Crops*. G.P. Rao, P.L. Kumar and R.J.H. Penna (eds.). Studium Press LLC, Texas, USA.
- Kumari, S.G., K. Makkouk, N. Asaad, N. Attar and M. Hlaing Loh.** 2007. Chickpea chlorotic stunt virus affecting cool-season food legumes in West Asia and North Africa. Page 157. In: *Abstract book of 10<sup>th</sup> International Plant Virus Epidemiology Symposium, on the theme "Controlling Epidemics of Emerging and Established Plant Virus Diseases - The Way Forward"*, from 15 - 19 October 2007, Hyderabad, India. 209 pp.
- Kumari, S.G., J. van Leur, T. Knights and K.M. Makkouk.** 2008a. Screening chickpea (*Cicer arietinum* L.) germplasm for resistance to persistently aphid-transmitted viruses. Page 60. In: *Abstract book of the 3<sup>rd</sup> Conference of the International Working Group on Legume and Vegetable Viruses (IWGLVV)*. J. Th. J. Verhoeven, J.H. Vetten, M. Krajačić, I.M. Pleško, M. Ravnikar and M.P. Novak (eds.). 20-23 August 2008, Ljubljana, Slovenia.

Received: March 13, 2020; Accepted: June 3, 2020

تاريخ الاستلام: 2020/3/13؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2020/6/3