النقل بالتطعيم لبعض الفيروسات المسببة لاصفرار الحمص والتابعة لعائلة *Luteoviridae*

ياسين النعسان[3،1]، صفاء غسان قمري[2]، أمين عامر حاج قاسم[1] وفواز العظمة[3]
(1) قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة حلب، حلب، سورية، البريد الالكتروني: Y_nassan@hotmail.com؛
(2) المركز الدولي للبحوث الزراعية في المناطق الجافة (ايكاردا)، ص.ب. 5466، حلب، سورية؛
(1) (3) الهيئة العامة للتقانة الحيوية، ص.ب. 31902، دمشق، سورية.

الملخص

النعسان، ياسين، صفاء غسان قمري، أمين عامر حاج قاسم وفواز العظمة. 2011. النقل بالتطعيم لبعض الفيروسات المسببة لاصفرار الحمص والتابعة لعائلة *Luteoviridae*. مجلة وقاية النبات العربية 29: 219–224.

تم دراسة الانتقال بالتطعيم ضمن ظروف البيت الزجاجي لثلاثة فيروسات تابعة لعائلة الفيروسات المسببة لاصفرار البقوليات (*Luteoviridae*)، وهي فيروس تقزم واصفرار الحمص *Chickpea chlorotic stunt virus* (CpCSV، جنس *Polerovirus*) وفيروس التفاف أوراق الفول *Bean leafroll virus* (BLRV، جنس *Luteovirus*) وفيروس الاصفرار الغربي للشوندر السكري/البنجر *Beet western yellows virus* (BWYV، جنس *Polerovirus*). فحصت جميع نباتات الحمص المصابة المستخدمة كطعوم مصلياً/سيرولوجياً بوساطة اختبار بصمة النسيج النباتي المناعي (TBIA) باستخدام مجموعة من الأمصال المضادة وحيدة الكلون المتخصصة بالكشف عن فيروسي BWYV وBLRV. أما بالنسبة للطعوم المصابة بفيروس CpCSV فقد فحصت باستخدام مجموعة الأمصال المضادة وحيدة الكلون المتخصصة بالكشف عن فيروسات عائلة *Luteoviridae*، وتم تأكيد الإصابة باختبار التفاعل المتسلسل للبوليميراز مع النسخ العكسي (RT-PCR). أعيد اختبار النباتات المطعمة (نباتات الأصل) بعد 25 يوماً من التطعيم و بالاختبارات السابقة نفسها. أظهرت النتائج انتقال جميع الفيروسات المدروسة بالتطعيم بنسب متفاوتة بلغت 64.86%، 65.31% و68.42% للفيروسات CpCSV، BLRV وBWYV، على التوالي. كما أثبتت هذه الدراسة إمكانية توظيف تقنية التطعيم لنقل الفيروسات غير المعرّفة والتي لايعرف ناقلها الحيوي، من أماكن وجودها في الطبيعة إلى المختبر ليتم دراستها وتوصيفها.

كلمات مفتاحية: *Luteoviridae*، CpCSV، BWYV، BLRV، TBIA، RT-PCR، نقل بالتطعيم.

المقدمة

تعد الأمراض الفيروسية من أهم المعوقات الحيوية لإنتاج المحاصيل البقولية الغذائية ومنها الحمص (*Cicer arietinum* L.)، حيث تؤدي إلى انخفاض كبير في الانتاج كماً ونوعاً. تشير معظم الدراسات المرجعية إلى انتشار الإصابات الفيروسية على نبات الحمص منذ بداية الخمسينات من القرن العشرين، وقد سُجّل ما يزيد عن 29 فيروساً على الحمص في مختلف أنحاء العالم (22)، بينما ذكرت مراجع أخرى إصابة الحمص بـ 22 فيروساً (21)، وما زالت الجهود مستمرة في حصر الأمراض الفيروسية الجديدة التي تتكشف باستمرار في حقول الحمص. تنتشر في دول غرب أسيا وشمال أفريقيا العديد من الفيروسات التي تنتمي لمجموعات تصنيفية مختلفة ترتبط بأمراض تظهر أعراض التقزم والإصفرار (7، 11، 15، 19، 20). كما أشارت بعض الأبحاث إلى إصابة محصول الحمص في سورية بتسعة فيروسات (4،15)، أهمها تلك الفيروسات التابعة لعائلة *Luteoviridae* والتي تعد من الفيروسات النباتية المهمة إقتصادياً والقادرة على التكيّف بيئياً (9). من أهم الفيروسات المسببة لاصفرار الحمص: فيروس التفاف أوراق الفول *Bean leafroll virus* (BLRV، جنس *Luteovirus*، عائلة *Luteoviridae*) وفيروس الاصفرار الغربي للشوندر السكري/البنجر *Beet western yellows virus* (BWYV، جنس *Polerovirus*، عائلة *Luteoviridae*) وفيروس تقزم فول الصويا *Soybean dwarf virus* (SbDV، جنس *Luteovirus*، عائلة *Luteoviridae*) وفيروس اصفرار وتماوت الفول *Faba bean necrotic yellows virus* (FBNYV، جنس *Nanovirus*، عائلة *Nanoviridae*) وفيروس التقزم الشاحب للحمص *Chickpea chlorotic dwarf virus* (CpCDV، جنس *Mastrevirus*، عائلة *Geminiviridae*)، يعد تشخيص الفيروسات المسببة للاصفرار صعباً حيث أن انتشار العدوى محصور في الأوعية اللحائية للنباتات المصابة (Phloem-restricted infection) كما أنها تنتقل بالحشرات (وبخاصة المنّ) بالطريقة المثابرة غير التضاعفية، مع تخصصية عالية بالنسبة للناقل الحيوي (6). بالإضافة إلى أنها لا تنقل ميكانيكياً ومحدودة المدى العوائلي، فقد ينحصر وجود بعض أفرادها في عائلة نباتية واحدة.

منذ بدايات نشوء علم الفيروسات النباتية فسّر انتقال مرض ما بالتطعيم، والمترافق مع غياب ظهور العامل الممرض المشخّص بالمجهر الضوئي، كمؤشر بأن سبب المرض هو فيروس. ويعد التطعيم أول الطرق المستخدمة لنقل الفيروسات تجريبياً من نبات لآخر، حيث

وصف Lawrence (16) بالتفصيل عملية نقل مرض فيروسي على نبات الياسمين بالتطعيم وكان هذا الوصف عَرَضي بالنسبة للهدف الأساس من عملية التطعيم والذي كان إثبات لزوم جريان النسغ في النباتات. وبناءً على ماسبق، جاء هذا البحث لدراسة قدرة تقنية التطعيم على نقل ثلاثة فيروسات تابعة لعائلة *Luteoviridae*.

مواد البحث وطرائقه

العزلات الفيروسية المستخدمة

- العزلة SC402-08 من فيروس التقزم الشاحب للحمص *Chickpea chlorotic stunt virus* (CpCSV)، جنس *Polerovirus*، عائلة *Luteoviridae*) والتي تم تحديدها بالاختبارات المصلية/ السيرولوجية والجزيئية في نبات حمص تم جمعه من محطة البحوث الزراعية في منطقة الصنوبر/محافظة اللاذقية خلال المسح الحقلي المنفذ خلال الموسم الزراعي 2008/2007.
- العزلة SV64-95 من فيروس التفاف أوراق الفول (BLRV).
- العزلة SC23-07 من فيروس الاصفرار الغربي للشوندر السكري/البنجر (BWYV).

تم الحصول على النباتات المصابة بالعزلتين SV64-95 وSC23-07 من مختبر الفيروسات في المركز الدولي للبحوث الزراعية في المناطق الجافة (ايكاردا).

اختبار بصمة النسيج النباتي المناعي (TBIA) واختبار التفاعل المتسلسل للبوليميراز مع النسخ العكسي (RT-PCR)

أجري الاختبار المصلي TBIA حسب الطريقة الموصوفة من قبل مكوك وقمري (1) باستخدام مجموعة من الأمصال المضادة وحيدة الكلون (جدول 1).

فحصت الطعوم المأخوذة من نباتات حمص مصابة بفيروسي BWYV وBLRV مع المصل المضاد وحيد الكلون 5G4 الذي يتفاعل مع كل الفيروسات التابعة لعائلة *Luteoviridae* ومع الأمصال المضادة وحيدة الكلون المتخصصة بالكشف عن فيروسي BWYV وBLRV كل على حدى. أما بالنسبة للطعوم المصابة بفيروس CpCSV، فقد اختبرت مع جميع الأمصال المضادة المذكورة في الجدول 1، ثم تم تأكيد الإصابة بالفيروس بوساطة اختبار التفاعل المتسلسل للبوليميراز مع النسخ العكسي (RT-PCR)، حيث تم استخلاص الحمض النووي الكلي لـ 30 عينة مصابة بالاعتماد على الطريقة الموصوفة من قبل Mackenzie وآخرون (18). تمت عملية التضخيم حسب الطريقة الموصوفة من قبل Mackenzie (17)، باستخدام مجموعة اختبار One-Step RT-PCR kit منتجة من قبل شركة Invitrogen (الولايات المتحدة الأمريكية) تسهّل عملية النسخ العكسي والتضخيم وذلك باستخدام مزيج من انزيمين هما *SuperScript*™ III Reverse transcriptase و*Platinum*® *Taq* polymerase، وبالاعتماد على زوجين من البادئات، الأول غير متخصص يكشف عن فيروسات الاصفرار (الأنواع التابعة لعائلة *Luteoviridae*)، والزوج الثاني من البادئات متخصص بالكشف عن فيروس CpCSV (جدول 2). استخدم لهذا الغرض جهاز المدوّر الحراري Applied Biosystems ABI 2720 Thermal cycler من إنتاج شركة Applied Biosystems, Foster City (الولايات المتحدة الأمريكية).

أعيد اختبار نباتات الحمص التي استخدمت كأصول في عملية التطعيم، وذلك بعد 25 يوماً من عملية التطعيم وبالتسلسل السابق نفسه(مصلياً/سيرولوجياً بالنسبة لفيروسي BWYV وBLRV، ومصلياً/سيرولوجياً وجزيئياً بالنسبة لفيروس CpCSV).

التطعيم

تم تطعيم 107 نباتات حمص سليمة بنباتات حمص مصابة بفيروس CpCSV وتطعيم 105 نباتات حمص سليمة بنباتات مصابة بفيروس BLRV و102 نبات حمص سليمة بنباتات مصابة بفيروس BWYV أيضاً. حيث تم إجراء عملية التطعيم بطريقة Wedge shape grafting، وهي قريبة من الطريقة الموصوفة سابقاً (3، 5)، مع إجراء بعض التعديلات. حيث استخدمت أفرع من نباتات الحمص المصابة كطعوم ونباتات حمص سليمة (صنف محلي) بعمر حوالي 25 يوماً كأصول للتطعيم عليها.

تم في البداية اختيار طعوم وأصول متناسبة من حيث القطر ثم أجري قطع تحت القمة النامية في الأصل وعمل شق متعامد مع سطح القطع، كما تم قطع الطعم على شكل حرف V ومن ثم أدخل الطعم في الشق المحدث في الأصل، ثم تم لفّ منطقة التطعيم بإحكام باستخدام البارافيلم (شكل 1). وبما أن الحفاظ على الرطوبة النسبية العالية في الجو المحيط بالنباتات المطعّمة من أساسيات نجاح عملية التطعيم وجب الإسراع في عملية القطع، كما تم تغطية النباتات المطعّمة بأكياس بلاستيكية محكمة الإغلاق ووضعها في الظلام ضمن ظروف البيت الزجاجي عند 20–25 °س ورطوبة نسبية 70–85% لمدة 3 أيام. فيما بعد أزيلت الأكياس المحيطة بالنباتات المطعمة تدريجياً ووضعت النباتات في الظل، وبعد 5 أيام من التطعيم أزيلت الأكياس نهائياً وعرّضت النباتات المطعمة تدريجياً للإضاءة. تم تهوية النباتات المطعمة بين الفينة والأخرى لضمان نجاح عملية التطعيم وتفادي حدوث التعفنات والإصابات الفطرية.

جدول 1. الأجسام المضادة المستخدمة في اختبار بصمة النسيج النباتي المناعي (TBIA)
Table1. Antibodies used in Tissue-blot Immunoassay (TBIA).

المصل المضاد لـ **Antisera to**	إسم الفيروس المختصر **Virus acronym**	رمز المصل **Antiserum code**	المصدر **Source**	المرجع **Reference**
فيروس التقزم الشاحب للحمص *Chickpea chlorotic dwarf virus*	CpCDV	SC3-03	ايكاردا	13
الفيروسات المسببة لاصفرار المحاصيل البقولية *Luteoviridae*	*Luteoviridae*	5G4	ألمانيا	10
فيروس التفاف أوراق الفول *Bean leafroll Virus*	BLRV	4B10	ألمانيا	10
فيروس الاصفرار الغربي للشوندر السكري/البنجر *Beet western yellows virus*	BWYV	PVAS-647 A5977	ATCC Agdia	
فيروس تقزم فول الصويا *Soybean dwarf virus*	SbDV	PVAS-650	ATCC	
فيروس اصفرار وتماوت الفول *Faba bean necrotic yellows virus*	FBNYV	E92-H2-H9	ألمانيا	8

جدول 2. البادئات المستخدمة في التفاعل المتسلسل للبوليميراز مع النسخ العكسي لتشخيص الإصابة بفيروس اصفرار وتقزم الحمص (CpCSV).
Table 2. Primers used to detect *Chickpea chlorotic stunt virus* (CpCSV) by Reverse-Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR).

البادئات **Primers**	تسلسل القواعد النيتروجينية للبادئ **Primer nucleotide sequence**	حجم البادئ **Primer size**	حجم ناتج التضخيم **Product Size (bp)**	المرجع **Reference**
Lu_1+Eco	5′-GAATTCCCAGTGGTTRTGGTC-3′	21	530	12
Lu_4+Eco	5′-GAATTCGTCTACCTATTTGG-3′	20		
CpCSV-F	5′-TAGGCGTACTGTTCAGCGGG-3′	20	413	14
CpCSV-R	5′TCCTTTGTCCATTCGAGGTGA-3′	21		

النتائج

أظهرت نتائج الاختبارات المصلية/السيرولوجية المنفذة وجود إصابة بفيروسي BWYV وBLRV، أما بالنسبة لفيروس CpCSV فقد تفاعلت العينات المختبرة مع المصل المضاد وحيد الكلون 5G4 فقط ولم تتفاعل مع أي مصل آخر.

تفاعلت عينات CpCSV التي لم تتفاعل مصلياً إلا مع المصل المضاد 5G4، إيجابياً مع زوج البادئات العامة غير المتخصصة والتي تكشف عن فيروسات عائلة *Luteoviridae* (Lu_1+Eco و Lu_4+Eco)، حيث أعطت حزمة حجمها 530 زوج قاعدي، كما تفاعلت تلك العينات إيجابياً مع زوج البادئات المتخصصة بالكشف عن فيروس CpCSV (CpCSV-F و CpCSV-R) وأعطت حزمة حجمها 413 زوج قاعدي (شكل 2).

نجحت عملية التطعيم في نباتات الحمص المختبرة، حيث بلغت النسبة المئوية لنجاح عملية تطعيم نباتات الحمص المصابة بفيروس CpCSV على نباتات سليمة حوالي 35% بينما كانت النسبة المئوية لنجاح عملية تطعيم نباتات الحمص المصابة 47% و 56% بفيروسي BLRV وBWYV، على التوالي.

كما نجحت تقنية التطعيم في نقل الفيروسات المدروسة من نباتات حمص مصابة بهذه الفيروسات إلى نباتات حمص سليمة، حيث كانت نسب الانتقال متقاربة إلى حد ما فكانت النسبة حوالي 64.86% لفيروس CpCSV و 65.31% لفيروس BLRV، أما بالنسبة لفيروس BWYV فكانت نسبة الانتقال حوالي 68.42% (جدول 3).

المناقشة

أكدت نتائج الاختبارات المصلية/السيرولوجية والجزيئية بأن العزلة SC402-08 تابعة لفيروس تقزم واصفرار الحمص (CpCSV). وهو من الفيروسات التي تم تعريفها حديثاً، حيث سجل عالمياً لأول مرة في إثيوبيا عام 2006 (2)، كما سجّل في سورية في العام نفسه (2، 12).

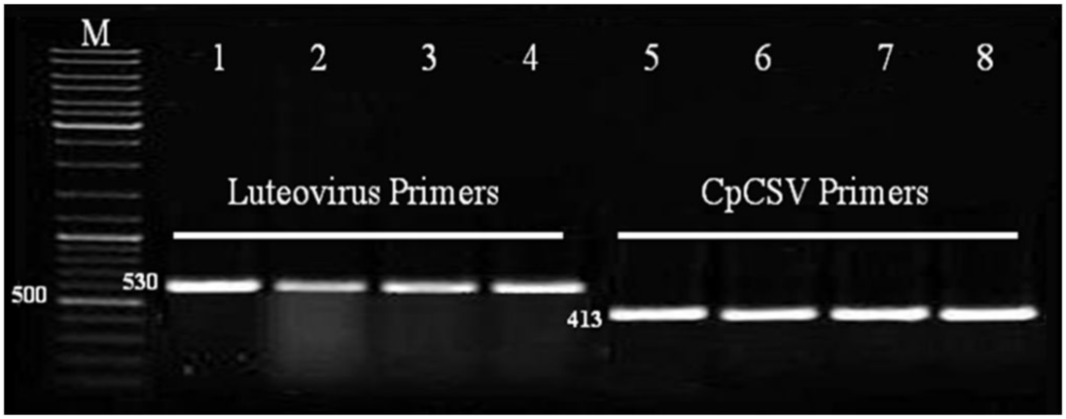
شكل 1. مراحل مختلفة من عملية التطعيم بهدف نقل فيروس تقزم واصفرار الحمص CpCSV؛ (A) تطعيم أفرع حمص مصابة على نباتات سليمة ولفها بالبارافيلم، (B) تغطية النباتات المطعمة بأكياس محكمة الإغلاق للحفاظ على الرطوبة، (C) إزالة الأكياس والبارافيلم عن النباتات المطعمة.
Figure 1. Different steps of grafting for the purpose of CpCSV-transmission; (A) Graft CpCSV-infected chickpea scion onto healthy root-stock and wrapping with parafilm strips. (B) Covering grafts with polyethylene bags. (C) Removal of the bags and the parafilm wrap.

جدول 3. النسب المئوية لنجاح عملية التطعيم في نقل ثلاثة فيروسات تابعة لعائلة *Luteoviridae* من نباتات حمص مصابة إلى نباتات حمص سليمة.
Table3. Percentages of successful grafts in transmission of three viruses of *Luteoviridae* from infected chickpea scions to healthy plants.

	التطعيم باستخدام أفرع مصابة بفيروس Grafting process using scions infected with		
	تقزم واصفرار الحمص ***Chickpea chlorotic stunt virus* (CpCSV)**	**الاصفرار الغربي للشوندر السكري/البنجر** ***Beet western yellows virus* (BWYV)**	**التفاف أوراق الفول** ***Bean leafroll virus* (BLRV)**
عدد النباتات المطعّمة Number of grafted plants	107	102	105
عدد الطعوم الناجحة Number of successful grafts	37	57	49
عدد النباتات التي انتقل فيها الفيروس Number of virus-transmitted plants	24	39	32
النسبة المئوية لنجاح التطعيم % % of successful grafts	%34.58	%55.88	% 46.67
النسبة المئوية للانتقال بالتطعيم % % graft transmission	%64.86	% 68. 42	% 65.31

عند إجراء عملية التطعيم لوحظ انخفاض النسبة المئوية لنجاح التطعيم بالنباتات المصابة بفيروس CpCSV مقارنة مع فيروسات BLRV وBWYV، وقد يعزى سبب انخفاض هذه النسبة إلى الشراسة العالية لفيروس CpCSV وسرعته في القضاء على النبات المصاب الأمر الذي أكدته إحدى الدراسات التي أجريت على عزلة سورية من هذا الفيروس (2). قد تُسهم الشراسة العالية لفيروس CpCSV بالإضافة لضعف التركيز الفيروسي في النبات المصاب بدور أساسي في انخفاض نسبة نجاح النقل بالتطعيم في النباتات المصابة بفيروس CpCSV وذلك مقارنة مع نجاح هذه التقنية في نقل فيروسي BLRV وBWYV.

يعد هذا البحث من أول الأبحاث التي درست عملية النقل بالتطعيم لفيروسات BLRV، BWYV وCpCSV التابعة لعائلة *Luteoviridae*، ونظراً لوجود عدة فيروسات تابعة لهذه العائلة لم يتم تعريفها والتي قد يصل عددها إلى 11 فيروساً (6)، يعد التطعيم تقنية ناجحة وبخاصة في نقل الفيروسات المحصورة بالأوعية اللحائية والتي لايمكن نقلها ميكانيكياً ولا يعرف ناقلها الحيوي من نباتات مصابة طبيعياً بها في الحقول إلى نباتات سليمة ضمن ظروف البيت الزجاجي والمختبر حتى يمكن تشخيصها ودراسة نواقلها الحيوية، إن وجدت.



شكل 2. اختبار التفاعل المتسلسل للبوليميراز مع النسخ العكسي (RT-PCR) لأربع عينات نباتية (أصول) مطعمة بأفرع مصابة بفيروس CpCSV، تم الاختبار الجزيئي باستخدام زوج بادئات عام (Lu_1+Eco & Lu_4+Eco) يكشف عن الفيروسات التابعة لعائلة *Luteoviridae*، وزوج بادئات ثاني متخصص يكشف عن فيروس تقزم واصفرار الحمص (CpCSV-F & CpCSV-R). (1-4) عينات تفاعلت إيجابياً مع زوج البادئات العام، (5-8) التفاعل الإيجابي للعينات السابقة مع زوج البادئات المتخصص، M= مؤشر لقياس الحجم (GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder, Fermentas International, CA).

Figure 2. Reverse-transcription polymerase chain reaction analysis for 4 root-stocks grafted with CpCSV-infected scions. The analysis was carried out using universal luteovirus (Lu1 + Eco and Lu4 + Eco) primers, and. CpCSV-specific (CpCSV-F and CpCSV-R) primers. Lanes 1-4 show amplification product when using the universal luteovirus primers;Lanes 5-8 show the amplification product for the same previous samples when using the CpCSV-specific primers; M, Molecular weight markers ladder (GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder, Fermentas International, CA).

Abstract

Al-Naasan, Y., S.G. Kumari, A.A. Haj Kasem and F. Azmeh. 2011. Graft-Transmission for Three Viruses Belong to Family *Luteoviridae*. Arab Journal of Plant Protection, 29: 219-224.

Graft-transmission was studied under green house conditions for three viruses belonging to the family *Luteoviridae* [*Chickpea chlorotic stunt virus* (CpCSV, genus *Polerovirus*), *Bean leafroll virus* (BLRV, genus *Luteovirus*), and *Beet western yellows virus (*BWYV, genus *Polerovirus*)]. All infected chickpea plants were serologically tested by tissue-blot immunoassay (TBIA) using two monoclonal antibodies which specifically detect BWYV and BLRV. CpCSV-infected scions were examined using a set of monoclonal antibodies that detect *Luteoviridae* members. CpCSV infection was confirmed using reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). The grafted plants (root-stocks) were re-tested 25 days after grafting using the same previous method. Results indicated that all studied viruses were graft-transmitted at different rates. CpCSV and BLRV were transmitted at a rate of 64.86% and 65.31%, respectively. Whereas, the rate slightly increased up to 68.42% for BWYV.

Keywords: *Luteoviridae*, CpCSV, BWYV, BLRV, TBIA, RT-PCR, Graft-Transmission.

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

المراجع

1. **مكوك، خالد محي الدين وصفاء غسان قمري.** 1996. الكشف عن عشرة فيروسات تصيب المحاصيل البقولية بالاختبار المصلي لبصمة النسيج النباتي. مجلة وقاية النبات العربية، 14: 3-9.
2. **Abraham, A.D., W. Memzel, D.E. Lesemann, M. Varrelmann and H.J. Vetten.** 2006. Chickpea chlorotic stunt virus: A new Polerovirus infecting cool-season food legumes in Ethiopia. Phytopathology, 96: 437–446.
3. **Bezdicek, D.F., B.H. Magee and J.A. Schillinger.** 1972. Improved reciprocal grafting technique for soybeans. Agronomy Journal, 64: 558.
4. **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: Word Crops: Cool Season Food Legumes. R.J. Summerfield (ed.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. 1179 pp.
5. **Cho, M.J. and J.E. Harper.** 1991. Root isoflavonoid response to grafting between wild-type and nodulation-mutant soybean plants. Plant Physioogy, 1991: 1277-1282.
6. **D'Arcy, C.J. and L.L. Domier.** 2005. Family *Luteoviridae*. Pages 891-900 In: Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of Viruses. Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. C.M. Fauquet, M.A. Mayo, J. Maniloff, U. Desselberger and L.A. Ball (eds.), Academic Press, San Diego, CA.
7. **Fortass, M.F., 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.
8. **Franz, A., K.M. Makkouk, L. Katul and H.J. Vetten.** 1996. Monoclonal antibodies for the detection and differentiation of faba bean necrotic yellows virus isolates. Annals of Applied Biology, 128: 255-268.
9. **Harrison, B.D.** 1999. Steps in the development of Luteovirology. Pages 1-14. In: The Luteoviridae. H. Smith and H. Backer (eds.) CABI Publishing, Wallingford.
10. **Katul, L.** 1992. Serological and molecular characterization of bean leaf rolls virus and faba bean necrotic yellows virus (in German). Ph.D. thesis. University of Göttingen, Germany.
11. **Katul, L., H.J. Vetten, E. Maiss, K.M. Makkouk, D.E. Lesemann and R. Casper.** 1993. Characterization and serology of virus-like particles associated with faba bean necrotic yellows. Annals of Applied Biology, 123: 629-647
12. **Kumari, S.G., B. Rodoni, M. Hlaing Loh, K.M. Makkouk, A. Freeman and J. van Leur.** 2006a. Distribution, Identification and Characterization of Luteoviruses affecting Food Legumes in Asia and North Africa. Pages 412-416. In: Proceeding of 1^{2th} Mediterranean Phytopathological Congress, 11-15 June 2006.
13. **Kumari, S.G., K.M. Makkouk and N. Attar. 2006b.** An improved antiserum for sensitive serologic detection of *Chickpea chlorotic dwarf virus*. Journal of Phytopathology, 154:129–133.
14. **Kumari, S.G., K.M. Makkouk, M. Loh, K. Negassi, S. Tsegay, R. Kidane, A. Kibret and Y. Tesfatsion**. 2008. Viral disease affecting chickpea crops in Eritrea. Phytopathologia Mediterranea, 47: 42–49.
15. **Kumari, S.G., K.M. Makkouk, N. Attar, W. Ghulam and D.E. Lesemann**. 2004. First report of *Chickpea chlorotic dwarf virus* infecting spring chickpea in Syria. Plant Disease, 88: 424.
16. **Lawrence, J.** 1714. The Clergyman's Recreation, 2nd edn. B. Lintott, London.
17. **Mackenzie, D.J.** 1997. A standard protocol for the detection of viruses and viroids using a reverse transcription-polymerase chain reaction technique. Ottawa, ON, Canada, The Canadian Food Inspection Agency, Document CPHBT-RT-PCR1.00, 1997
18. **Mackenzie, D.J., M.A. McLean, S. Murkerji and M. Green.** 1997. Improved RNA extraction from woody plants for the detection of viral pathogen by reverse transcription-polymerase chain reaction. Plant Disease, 81: 222–226.
19. **Makkouk, K.M. and S.G. Kumari.** 1997. Etiology and control of soybean dwarf luteovirus affecting lentils (*Lens culinaris*) in Syria. Pages 731-734. In: Proceedings of 10th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union. June 1-5, 1997, Montpellier-Lec Corum, France.
20. **Makkouk, K.M., G. Dafalla, M. Hussein and S.G. Kumari.** 1995. The natural occurrence of chickpea chlorotic dwarf geminivirus in chickpea and faba bean in the Sudan. Journal of Phytopathology, 143: 465-466.
21. **Nene, Y.L., V.K. Sheila and S.B. Sharma.** 1996. A world list of chickpea (*cicer arientinum*) and pigeonpea (*Cajanus cajan*). Pathogen. 5th edition. ICRISAT publication. 25 pp.
22. **Walter, J., W.J. Kaiser and D. Danesh.** 1971. Biology of viruses affecting *Cicer arietinum* in Iran. Phytopathology, 61: 372-375.

Received: July 13, 2010; Accepted: March 1, 2011

تاريخ الاستلام: 2010/7/13؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2011/3/1