توصيف بعض العزلات السورية من فيروس التبقع الشاحب لأوراق التفاح سيرولوجياً/مصلياً

خلدون الجبر[1]، عماد إسماعيل[2] وصلاح الشعبي[3]

(1) مركز البحوث العلمية الزراعية في السويداء، سورية، البريد الالكتروني: kaljebr@hotmail.com؛ (2) كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية؛ (3) الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، دوما، دمشق، سورية

الملخص

الجبر، خلدون، عماد إسماعيل وصلاح الشعبي. 2010. توصيف بعض العزلات السورية من فيروس التبقع الشاحب لأوراق التفاح سيرولوجياً/مصلياً. مجلة وقاية النبات العربية، 28: 20-25.

تم الكشف عن فيروس التبقع الشاحب لأوراق التفاح في 120 عينة مفردة من أوراق وأزهار وثمار التفاح والإجاص/الكمثرى واللوز والكرز والدراق/الخوخ، كل على حدة، منتقاة من أشجار أبدت أعراض الإصابة الفيروسية في المجمعات الوراثية في مركز البحوث العلمية الزراعية في محافظة السويداء خلال موسم 2008 باستخدام اختبار إليزا المعدل بالاحتواء المزدوج للفيروس بالأجسام المضادة متعددة الكلون (Modified DAS-ELISA) واختبار إليزا بالاحتواء الثلاثي للفيروس بالأجسام المضادة وحيدة الكلون (TAS-ELISA). وأمكن التفريق ما بين 57 عزلة للفيروس توزعت في 23 مجموعة مختلفة مصلياً. وكان الجسم المضاد أحادي الكلون C1 الأكثر تفاعلاً مع العزلات المختبرة (37 عزلة)، بينما كان الجسم المضاد أحادي الكلون A2 الأقل تفاعلاً (22 عزلة). وكانت درجة تفاعل بعض الأجسام المضادة أحادية الكلون (C1، C2، C3، A2 وB2) مع عزلات الفيروس المتحصل عليها من التفاح شديدة في معظم الأحيان باستثناء تفاعلها مع الجسم المضاد C2، بينما تفاعلت جميع الأجسام المضادة أحادية الكلون المستخدمة في الاختبار بدرجة ضعيفة مع عزلات الفيروس المتحصل عليها من العوائل النباتية الأخرى. وكانت التفاعلات إيجابية ما بين عزلات الفيروس المتحصل عليها من التفاح والأجسام المضادة أحادية الكلون الخمسة آنفة الذكر كما في حالة الأجسام المضادة متعددة الكلون، وتفوقت الأولى على الأخيرة في قيم قراءة الكثافة الضوئية لنتائج الاختبار. ولم يقترن تفاعل الأجسام المضادة متعددة الكلون مع تفاعل الأجسام المضادة أحادية الكلون إزاء العزلات الأخرى للفيروس إلا في عزلة واحدة كان مصدرها أزهار الدراق/الخوخ، وكانت درجة تفاعل هذه العزلة مع الأجسام المضادة أحادية الكلون C1، C2 وC3 ضعيفةً، بينما كان تفاعلها مع الأجسام المضادة متعددة الكلون شديداً.

كلمات مفتاحية: أمصال كاشفة، إليزا، فيروس التبقع الشاحب لأوراق التفاح، تفاحيات، لوزيات/حلويات

المقدمة

يعدُّ فيروس التبقع الشاحب لأوراق التفاح *Apple chlorotic leaf spot virus* (ACLSV، جنس *Trichovirus*، وعائلة *Flexiviridae*) من الفيروسات المهمة الواسعة الانتشار في العالم، وهو يصيب أشجار التفاحيات واللوزيات/الحلويات وأنواع أخرى من نباتات العائلة الوردية (16، 18، 24). سجل هذا الفيروس لأول مرة في سورية على أشجار اللوزيات/الحلويات عام 1997 (4)، وتراوحت نسبة حدوثه ما بين 2.4 و7.0% (2، 4، 15). وتبوأ انتشار الفيروس المرتبة الأولى على أشجار النكتارين (12.4%)، وتلاها الكرز الحلو والمشمش واللوز والدراق/الخوخ، وبلغت متوسطات انتشاره 7.3، 6.1، 1.4 و1.1%، على التوالي (3). ولم يسجل الفيروس نفسه على غراس وأشجار الخوخ/البرقوق والمحلب المختبرة (2، 3). سجل هذا الفيروس لأول مرة في سورية على التفاحيات عام 2005 (5)، وتقصت دراسات لاحقة انتشاره على أشجار التفاحيات (1، 14)، وتراوح معدل حدوثه عليها ما بين 21.95 و31.4% (2، 14)، وعلى التفاح 42.5% (2). ولوحظ وجود ارتباط ما بين شدة الأعراض الناتجة عن الإصابة بهذا الفيروس والنوع النباتي العائل وسلالة الفيروس (20)، وأمكن تمييز سلالتين للفيروس هما: سلالة الدُراق/الخوخ وسلالة التفاح (9). وقد اتسم الفيروس بقوة مناعية متوسطة، وتمَّ إنتاج أمصال متعددة الكلون للكشف عنه باستخدام اختبار إليزا بالاحتواء المزدوج للفيروس بالأجسام المضادة متعددة الكلون (DAS-ELISA) (11، 12، 13). وقد واجهت عملية الكشف عن هذا الفيروس باستخدام اختبار إليزا صعوبات عديدة، منها: انخفاض تركيز جزيئاته وعدم ثباتيته في عصارة النباتات الخشبية (8). وقد تضاربت نتائج الدراسات المرجعية حول الصفات المناعية للفيروس، الأمر الذي أثر في نتائج الاختبارات المصلية للكشف عنه. وبينت نتائج بعض هذه الدراسات وجود اختلافات كبيرة ما بين عزلات الفيروس من الناحية المناعية (21)، بينما دلت دراسات أخرى على محدودية هذه الاختلافات (11، 22). وقد أمكن التمييز لاحقاً ما بين سلالات/عزلات الفيروس من الناحية المناعية باستخدام الأجسام المضادة أحادية الكلون في اختبار

إليزا (3، 23). هدف هذا البحث إلى الكشف عن الاختلافات السيرلوجية/المصلية المحتملة ما بين بعض العزلات السورية من فيروس التبقع الشاحب لأوراق التفاح باستخدام أمصال كاشفة أحادية الكلون.

مواد البحث وطرائقه

جمعت 120 عينة فردية انتقائية من أشجار أبدت أعراض إصابات فيروسية، مثلت الأزهار قسماً من هذه العينات (40 عينة من الدراق/الخوخ، 21 عينة من الإجاص/الكمثرى و19 عينة من التفاح)، ومثلت الثمار قسماً آخر (26 عينة من الإجاص/الكمثرى)، ومثلت الأوراق القسم الأخير (10 عينات من اللوز و4 عينات من الكرز)، من مجمعات وراثية في مركز البحوث العلمية الزراعية في السويداء خلال موسم 2008. وتم اختبارها لوجود فيروس التبقع الشاحب لأوراق التفاح باستخدام اختبار إليزا المعدل بالاحتواء المزدوج للفيروس بالأجسام المضادة متعددة الكلون (Modified DAS-ELISA) (13). واعتمدت لهذه الغاية الأمصال المنتجة من قبل شركة بيوريبا، سويسرا. كما تم اختبار العينات نفسها بواسطة إليزا بالاحتواء الثلاثي للفيروس بالأجسام المضادة وحيدة الكلون (TAS-ELISA) (19، 23). تمت قراءة الأطباق بعد التحضين عند درجة حرارة الغرفة لمدة ساعتين بوساطة جهاز Multiskan EX المصنع في شركة Thermo Labsystems الفنلندية. كُرر كل اختبار مرتين، وعدّت العينة مصابة بالفيروس إذا تساوى أو زاد متوسط قيم قراءتها عن ثلاثة أمثال متوسط قيم قراءات الشاهد السليم (17). استخدمت سبعة أجسام مضادة وحيدة الكلون للتمييز ما بين عزلات الفيروس المختبرة، وتم الحصول على ستة منها (A2، B2، C1، C2، C3 وAPR3) من جامعة باري – إيطاليا (6)، بينما كان مصدر الجسم المضاد السابع وحيد الكلون (ACLSV-PI) مؤسسة DSMZ الألمانية.

عدّت عزلات الفيروس ذات تفاعل مصلي/سيرولوجي شديد عندما زادت قيم قراءات تفاعلها مع المصل المضاد (الشدة الضوئية Optical Density (OD) المقروءة بواسطة جهاز قارىء أطباق إليزا) عن 1.0، ومتوسطة التفاعل المصلي عندما تراوحت قيم قراءات تفاعلها مع المصل المضاد ما بين 0.5 و1.0، وضعيفة التفاعل المصلي عندما تراوحت قيم قراءات تفاعلها مع المصل المضاد ما بين العتبة الحدية للتفاعل الموجب وأقل من 0.5.

النتائج والمناقشة

أظهرت نتائج توصيف 57 عزلة لفيروس التبقع الشاحب لأوراق التفاح متحصل عليها من 120 عينة مختبرة بوساطة اختباري إليزا DAS-ELISA وTAS-ELISA وجود تنوع كبير ما بين عزلات الفيروس في العينات المختبرة، وأمكن توزيعها في 23 مجموعة. وكان الجسم المضاد أحادي الكلون C1 أكثرها تفاعلاً مع العزلات المختبرة (37 عزلة)، الأمر الذي يشير إلى وجود مولد تضاد (Epitope) عام مشترك ما بين هذه العزلات، بينما كان الجسم المضاد أحادي الكلون A2 أقلها تفاعلاً (22 عزلة) (جدول 1).

كانت درجة تفاعل الأجسام المضادة أحادية الكلون (C1، C2، C3، A2 وB2) مع عزلات التفاح (14 عزلة) شديدة في معظم الأحيان باستثناء تفاعلها مع الجسم المضاد C2، فتراوحت قيم قراءات الشدة الضوئية (OD) ما بين الضعيفة والشديدة، بينما كانت درجة تفاعل تلك العزلات مع الأجسام المضادة المتعددة الكلون متوسطة في كل الحالات. وكانت تفاعلات الأجسام المضادة أحادية الكلون الخمسة آنفة الذكر وكذلك الأجسام المضادة متعددة الكلون ايجابية إزاء جميع عزلات الفيروس التي كان مصدرها التفاح، وتفوقت الأجسام المضادة أحادية الكلون على المتعددة في قيم قراءات الشدة الضوئية باستثناء قيم تفاعل الجسم المضاد C2. تفاعلت الأجسام المضادة أحادية الكلون مع عزلات الفيروس الأخرى بصورة انتقائية، وكانت درجة تفاعلها ضعيفةً بصورة عامة باستثناء العزلات التي مصدرها التفاح، ولم يقترن تفاعل الأجسام المضادة متعددة الكلون مع تفاعل الأجسام المضادة أحادية الكلون إلا في عزلة واحدة للفيروس كان مصدرها أزهار الدراق/الخوخ، فتفاعلت هذه العزلة مع ثلاثة أجسام مضادة أحادية الكلون (C1، C2 وC3) بصورة ضعيفة، ومع الأجسام المضادة المتعددة الكلون بصورة شديدة (جدول 1).

تمايزت عزلات فيروس التبقع الشاحب لأوراق التفاح الأربعة عشرة المتحصل عليها من 19 عينة تفاح مختبرة إلى أربع مجموعات بناء على نتائج تفاعلها مع الجسمين المضادين أحاديي الكلون (DSMZ وAPR3)، ويعدُ الجسمان المضادان الأخيران مفتاح عملية تفريقها، في حين يمكن استخدام الأجسام المضادة أحادية الكلون الأخرى في عمليات التحري الاعتيادية عن الفيروس. وتمايزت 23 عزلة من فيروس التبقع الشاحب لأوراق التفاح المتحصل عليها من 47 عينة إجاص/كمثرى مختبرة إلى 11 مجموعة، بينما تمايزت عزلات الفيروس الثلاث عشرة المتحصل عليها من اختبار 40 عينة دراق/خوخ إلى 4 مجموعات، تكونت إحدى هذه المجموعات من 9 عزلات تفاعلت ايجاباً فقط مع الجسم

المضاد أحادي الكلون C1، وضمت المجموعة الثانية عزلتان تفاعلتا بدرجة شديدة مع الأجسام المضادة متعددة الكلون، ولم تتفاعلا مع أيٍّ من الأجسام المضادة أحادية الكلون، بينما تضمنت المجموعة الثالثة عزلة واحدة من الفيروس تفاعلت بدرجة ضعيفة مع ثلاثة أجسام مضادة أحادية الكلون (C1، C2 وC3) وبدرجة شديدة مع الأجسام المضادة المتعددة الكلون، وانفردت المجموعة الرابعة بعزلة واحدة تفاعلت بدرجة ضعيفة مع الجسم المضاد أحادي الكلون A2 فقط. توزعت 7 عزلات من فيروس التبقع الشاحب لأوراق التفاح المتحصل عليها من اختبار 10 عينات ورقية من اللوز في ست مجموعات، ضمت إحدى هذه المجموعات إلى جانب عزلتي الفيروس المتحصل عليها من اللوز ثلاث عزلات من الإجاص، كانت قد تفاعلت مع الجسم المضاد أحادي الكلون DSMZ فقط، ولم تتفاعل مع الأجسام المضادة المتعددة الكلون. ويعزى عدم تفاعل بعض عزلات الفيروس مع الأجسام المضادة المتعددة الكلون وتفاعلها مع بعض الأجسام المضادة الأحادية الكلون إلى نقص مولدات التضاد الخاصة بتحفيز تكوين الأجسام المضادة المتخصصة في العزلات المستخدمة في تمنيع الحيوان لإنتاج الأجسام المضادة المتعددة الكلون.

جدول 1. تفاعل عزلات الفيروس ACLSV مع الأجسام المضادة أحادية ومتعددة الكلون.

Table 1. Reaction of ACLSV isolates with mono- and polyclonal antibodies.

أجسام مضادة متعددة الكلون	أجسام مضادة أحادية الكلون *** Monoclonal Antibodies							عضو النبات المختبر**	المحصول*	عدد العزلات	المجموعة
Polyclonal antibodies	APR 3	B2	A2	C3	C2	C1	ACLSV-PI (DSMZ)	Plant organ tested**	Crop*	No. of isolates	Group
++	+	+++	+++	+++	++	+++	+	Fl	Ap	4	1
−	+	+	+	+	+	+	+	Fr	Pe	6	
++	+	+++	+++	+++	++	+++	−	Fl	Ap	3	
++	++	+++	+++	+++	++	+++	−	Fl	Ap	1	2
++	+	+++	+++	+++	+++	+++	−	Fl	Ap	1	
++	+	+++	+++	+++	+	+++	−	Fl	Ap	1	
−	+	+	−	+	+	+	+	Fr	Pe	2	3
++	−	+++	+++	+++	+	+++	+	Fl	Ap	1	4
++	−	+++	+++	+++	+	+++	−	Fl	Ap	1	
++	−	+++	+++	+++	++	+++	−	Fl	Ap	1	5
++	−	+++	+++	++	+	+++	−	Fl	Ap	1	
−	+	−	+	−	+	+	+	L	Al	1	6
−	+	−	−	+	+	+	+	L	Al	1	7
−	+	+	−	+	−	−	+	Fr	Pe	2	8
−	+	+	−	−	−	+	+	Fr	Pe	1	9
−	+	+	−	−	−	−	+	Fr	Pe	1	10
−	+	+	−	+	−	−	−	Fr	Pe	1	11
−	+	−	−	−	−	+	+	Fr	Pe	1	12
−	−	+	−	+	−	−	+	Fr	Pe	1	13
+++	−	−	−	+	+	+	−	Fl	Ph	1	14
−	−	−	−	−	+	+	+	L	Al	1	15
−	−	+	−	−	−	−	+	Fr	Pe	1	16
−	−	−	−	−	+	−	+	L	Al	1	17
−	+	−	−	−	−	−	+	L	Al	1	18
−	−	+	−	−	−	−	−	Fr	Pe	4	19
−	−	−	−	−	−	+	−	Fl	Ph	9	20
−	−	−	+	−	−	−	−	Fl	Ph	1	21
−	−	−	−	−	−	−	+	Fl	Pe	3	22
−	−	−	−	−	−	−	+	L	Al	2	
+++	−	−	−	−	−	−	−	Fl	Ph	2	23

* Ap = apple, Pe= pear, Al= almond, Ph= peach

** Fl= flowers, L= leaves, Fr= fruits

*** − : Negative; +: Optical Density (OD) less than 0.5; ++: OD between 0.5-1.0; +++: OD more than 1.0.

* Ap = تفاح، Pe = إجاص/كمثرى، Al = لوز، Ph دراق/خوخ

** Fl= أزهار، L= أوراق، Fr= ثمار.

*** − : تفاعل سلبي، + : الكثافة البصرية Optical Density (OD) المقروءة بوساطة جهاز قارىء أطباق إليزا أقل من 0.5، ++ : الكثافة البصرية ما بين 0.5 و1.0، +++ : الكثافة البصرية أكبر 1.0.

أظهرت نتائج اختبار أربع عينات ورقية من غراس الكرز أبدت تفاعلاً موجباً إزاء الفيروس في اختبارات سابقة نتائج سلبية إزاء الأجسام المضادة الأحادية والمتعددة الكلونات المستخدمة، وربما يعزى ذلك لقلة تركيز جسيمات الفيروس في الأجزاء المختبرة بعد عام على إجراء الاختبار الأول.

بينت نتائج هذه الدراسة وجود تنوع كبير ما بين عزلات الفيروس المحلية من الناحية السيرولوجية/المصلية، ويعزى هذا التنوع إلى اختلاف مصادر استيراد غراس الأشجار المثمرة مع بداية انتشار زراعتها في سورية. وكانت نتائج دراسة مرجعية سابقة قد بينت حدوث تفاعل شديد ما بين عزلتين من فيروس التبقع الشاحب لأوراق التفاح مأخوذتين من أشجار الخوخ/البرقوق مع المصل المضاد للعزلة CLSV-C8 (عزلة خوخ/برقوق)، بينما تفاعلت كلتا العزلتين بصورة ضعيفة مع المصل المضاد للعزلة CLSV-M (عزلة تفاح) (7). كما تمَّ تمييز 17 سلالة/عزلة، مثلت معظم سلالات فيروس التبقع الشاحب لأوراق التفاح المعروفة في حينه في فرنسا من خلال الجسمين المضادين وحيدي الكلون 5E7 و4F5 (22). وأظهرت نتائج تحري بنية فيروس التبقع الشاحب لأوراق التفاح المولدة للتضادantigenic structure باستخدام 13 جسماً مضاداً وحيد الكلون متخصصة ومنتجة بتقنية التهجين الخلوي الجسمي وجود سبعة مواقع مولدة للتضاد منفصلة، تمثل على الأقل ثمانية مولدات ضد متمايزة Epitopes (23). وقد تمَّ التعرف من خلال استخدام الأجسام المضادة الثلاثة عشر السابقة على كل عزلات الفيروس المختبرة (29 عزلة فيروسية جمعت من مواقع جغرافية وعوائل نباتية مختلفة) بوساطة اختبار اليزا باستثناء جسم مضاد واحد لم يتفاعل مع عزلة الفيروس المأخوذة من الخوخ/البرقوق، وإثنان من هذه الأجسام لم يتفاعلا مع ثلاث عزلات للفيروس مأخوذة من الكرز (23). ولم تتفاعل سلالة SX/2 من فيروس التبقع الشاحب لأوراق التفاح المكتشفة في بولندا والمأخوذة من الخوخ/البرقوق مع اثنين من الأمصال المتعددة الكلون المنتجة ضد عزلة متحصل عليها من التفاح وأخرى من الكرز، كما لم تتفاعل هذه العزلة مع ثلاثة من الأجسام المضادة أحادية الكلون (ذات الأرقام 1، 2 و9) من أصل 14 جسماً مضاداً متخصصة بالكشف عن فيروس التبقع الشاحب لأوراق التفاح، بينما كان تفاعل الجسم المضاد وحيد الكلون رقم 3 مع هذه السلالة مثالياً مقارنة مع باقي العزلات الأخرى المختبرة (19). وتم الكشف عن فيروس التبقع الشاحب لأوراق التفاح في العوائل الطبيعية (تفاح وخوخ/برقوق) باستخدام الأجسام المضادة أحادية الكلون التالية (ذات الأرقام 3، 9 و5)، وكان الجسم المضاد رقم 5 أفضلها واستخدم على نطاق واسع في تقصي انتشار فيروس التبقع الشاحب لأوراق التفاح بواسطة اختبار إليزا، بينما استخدمت الأجسام المضادة أحادية الكلون ذات الأرقام 1، 2 و9 في تعريف السلالة SX/2 من فيروس التبقع الشاحب لأوراق التفاح (19). وأظهرت العزلة SX/2 المأخوذة من الخوخ/البرقوق في بولندا تفاعلاً أضعف مع المصلين المنتجين ضد عزلتي التفاح والكرز مقارنة مع العزلات الأخرى عند اختبارها بواسطة اليزا، بينما كان تفاعل العزلة JPom المأخوذة من التفاح أفضل مع الجسم المضاد وحيد الكلون EMA32 مقارنة مع العزلات الأخرى (10). وقد تمَّ تعريف 11 مجموعة مصلية/سيرولوجية عند دراسة 36 عزلة من فيروس التبقع الشاحب لأوراق التفاح مأخوذة من عوائل ومناطق جغرافية مختلفة في إيطاليا باستخدام ستة أجسام مضادة أحادية الكلون (MAbs)، وتفاعل الجسم المضاد أحادي الكلون C2 مع كل العزلات، الأمر الذي دلَ على وجود مولد تضاد عام ومشترك عند العزلات المدروسة، وهذا يتوافق والنتائج المتحصل عليها في هذا البحث، بينما كان الجسم المضاد أحادي الكلون APR3 الأقل تفاعلاً مع العزلات ذاتها (16 عزلة) التي توزعت في ثلاث مجموعات مصلية (الرواحني وآخرون، اتصال شخصي). وتمَّ الكشف حديثاً عن وجود علاقة مناعية ما بين فيروس التبقع الشاحب لأوراق التفاح والعزلة Sus2 التابعة لفيروس التبقع الشاحب الكاذب لأوراق المشمش *Apricot pseudo-chlorotic leaf spot virus* (APCLSV، جنس *Trichovirus*) الذي يصيب المشمش والخوخ/البرقوق الياباني (17). فقد تفاعلت العزلة الأخيرة مع المصل المضاد P2 متعدد الكلون المحضر لعزلة P863 من فيروس التبقع الشاحب لأوراق التفاح من قبل المعهد الوطني للبحوث الزراعية INRA (Bordeaux, France) باستخدام اختبار DAS-ELISA، ومع المصل المضاد متعدد الكلون المحضر تجارياً من قبل شركة بيوريبا، في حين لم تتفاعل العزلة المذكورة مع المصلين وحيدي الكلون (29.13 و8.2) المحضرين في المعهد الوطني للبحوث الزراعية والمتميِّزين بالكشف عن مجال واسع من عزلات فيروس التبقع الشاحب لأوراق التفاح باستخدام اختبار TAS-ELISA (17). يشير وجود هذا الكم من عزلات فيروس التبقع الشاحب لأوراق التفاح المتباينة في تفاعلاتها السيرولوجية/المصلية في مناطق عديدة من العالم ومنها سورية أيضاً إلى أهمية البحث عن تقانات أكثر دقة مثل التفاعل المتسلسل للبوليميراز والنسخ العكسي باستخدام بادئات متخصصة في توصيف هذه العزلات وتحديد الاختلافات الوراثية فيما بينها، كما تعدُ دراسة شجرة القرابة ما بين العزلات المحلية وغيرها من عزلات الفيروس العالمية (المتحفية) هدفاً مستقبلياً لتحديد مصادر العزلات المحلية ومدى تشابهها مع العزلات العالمية، كما يفيد في هذا المجال دراسة شجرة التطور

الوراثي Phylogenetic tree ما بين الفيروسات المختلفة التابعة لجنس *Trichovirus* ولا سيما ما بين فيروس التبقع الشاحب لأوراق التفاح وفيروس التبقع الشاحب الكاذب لأوراق المشمش اللذين يتبعان الجنس نفسه في إيضاح مدى التقارب ما بينهما.

Abstract

Al-Jabor, K., I. Ismail and S. Al-Chaabi. 2010. Serological Characterization of Some *Syrian Apple chlorotic leaf spot virus* Isolates. Arab Journal of Plant Protection, 28: 20-25.

A total of 120 individual samples of leaves, flowers and fruits were collected from germplasm blocks of apple, pear, almond, cherry and peach trees exhibiting viral symptoms at Scientific Agricultural Research Center in Sweida governorate were tested for the presence of *Apple chlorotic leaf spot virus* during 2008 season, using modified double antibody sandwich DAS-ELISA and the monoclonal antibodies in a triple antibody sandwich TAS-ELISA. 57 virus isolates were divided into 23 different serological groups. The most reactive monoclonal antibody with tested isolates was C1, which reacted with 38 isolates, whereas the least reactive monoclonal antibody was A2, as it reacted with 22 isolates only. In general, the level of reaction of some monoclonal antibodies (C1, C2, C3, A2 and B2) with apple isolates was strong in many cases, with the exception of C2; whereas their reaction with isolates from other plant hosts was weak. The virus isolates collected from apple reacted positively with the above mentioned five MAbs and with polyclonal antibodies (PAbs), but the optical densities (ODs) obtained with MAbs were higher than those with PAbs. With the exception of one isolate of ACLSV obtained from peach flowers, the reaction of polyclonal antibodies with other isolates was not similar to the reaction obtained with monoclonal antibodies; the reaction level of this isolate with three MAbs (C1, C2 and C3) was weak, whereas its reaction with polyclonal antibodies was strong. Based on their reactions with monoclonal and polyclonal antibodies, variability among Syrian ACLSV was clearly observed.

Keywords: ACLSV, antisera, ELISA, pome fruit, Syria, stone fruit.

***Corresponding author:** K. Al-Jabor, Al-Sweida Agricultural Research Center, Al-Sweida, P.O. Box 461, Syria, Email: kaljebr@hotmail.com*

المراجع

1. **إسماعيل، فايز، خلدون الجبر، أربين ميرتا، محمد جمال مندو، ابتسام السعدون، محمد حسن وصلاح الشعبي.** 2006. فيروسات أشجار التفاحيات في سورية. كتاب ملخصات البحوث المقدمة في المؤتمر العربي التاسع لعلوم وقاية النبات، تحرير: قمري، صفاء، خالد مكوك، صلاح الشعبي وأحمد الأحمد. دمشق، سورية، 19–23 تشرين الثاني/نوفمبر: 84 A (V1).
2. **الجبر، خلدون، عماد إسماعيل وصلاح الشعبي.** 2008. تقصي انتشار فيروس البقعة الصفراء/الشاحبة لأوراق التفاح على أشجار التفاحيات واللوزيات/الحلويات في سورية. مجلة وقاية النبات العربية، 26: 27–31.
3. **الشعبي، صلاح، عبد الرحمن درويش، فايز إسماعيل، جمال مندو، سناء نعمان، لينا مطرود، أيمن الصالح وفراس الأسود.** 2000. تقويم الحالة الصحية لأشجار اللوزيات والكرمة في سورية. مجلة وقاية النبات العربية. 18: 17–23.

References

4. **Al-Chaabi, S., A.R. Darwesh, A. Al-Saleh, J. Mando, L. Matrod and S. Numan.** 1997. Evaluation of phytosanitary status of stone fruit trees in Syria. Page 68. In: Abstract of XVII International Symposium on Virus Diseases of Fruit Trees, June 23-27, 1997, Bethesda, MD, USA.
5. **Al-Jebr, K., F. Ismaeil, M.J. Mando, E. Al-Saadoun and S. Al-Chaabi.** 2005. First record of pome fruit viruses in Syria. Journal of Plant Pathology, 87: 243.
6. **Al-Rwahnih, M.** 2000. Phytoanitary status of stone fruits in Jordan and production of monoclonal antibodies to *Apple Chlorotic leaf spot virus* (ACLSV). MSc thesis. CIHEAM, Bari. Italy. 30 pp.
7. **Barba, M. and M.F. Clark.** 1986. Detection of strains of *Apple chlorotic leaf spot virus* by F(ab)2- based indirect ELISA. Acta Horticulturae, 193: 297-304.
8. **Boscia, D. and A. Myrta**. 1998. Serological detection of viruses included in certification protocols for stone fruits. Pages 172-190. In: Option Mediterraneennes serie B/19. Stone fruit viruses and certification in the mediterranean countries: problems and prospects. B. Di Terlizzi, A. Myrta, V. Savino (eds.). Bari: CIHEAM/EC-DG.I, 1998; 232 pp.
9. **Cieslinska, M., T. Malinowski and B. J. Zawadzka.** 1995. Studies on several strains of *Apple chlorotic leaf spot virus* (ACLSV) isolated from different fruit tree species. Acta Horticulturae, 386: 63-71.
10. **Chairez, R. and R.M. Lister.** 1973. *Apple chlorotic leaf spot virus.* In: Viruses of Plant, Description & Lists from the VIDE Database. CAB International. 100 pp.
11. **Detienne G., R. Delbos and J. Dunez.** 1980**.** Use and versatility of the immunoenzymatic ELISA procedure in the detection of different strains of an *Apple chlorotic leaf spot virus*. Acta Phytopathologica Academiae Scientiarum Hungaricae, 15: 39-45.
12. **Flegg, C.L. and M.F. Clark.** 1979**.** The detection of *Apple chlorotic leaf spot virus* by a modified procedure of enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). Annuals of Applied Biology, 91: 61-65.
13. **Fuchs, E.** 1982**.** Studies of the development of concentration of *Apple chlorotic leaf spot virus* (CLSV) and *Apple stem grooving virus* (SGV) in apple trees. Acta Phytopathologica Academiae Scientiarum Hungaricae, 17: 23-27.
14. **Ismaeil, F., K. Al-Jabor, A. Myrta, M. J. Mando, E. Al-Saadoun, M. Hassan and S. Al-Chaabi.** 2005. Viruses of pome fruit trees in Syria. EPPO Bulletin, 36: 65-68.
15. **Ismaeil, F., A. Myrta, N. Abou Ghanem-Sabanadzovic, S. Al-Chaabi and V. Savino.** 2002**.** Viruses and viroids of stone fruits in Syria. EPPO Bulletin, 32: 485-488.
16. **Jan, F. J., Z. B. Wu, A. J. Kuo, Y. X. Zheng, H. H. Chang, C. C. Su and Y.S. Yang.** 2003. Detection of *Apple chlorotic leaf spot* and *Apple stem grooving*

USA/Dordrecht, Netherlands: M. Nijhoff Publishers, 841 pp.

21. **Pasquini, G., F. Faggioli, M. Pilotti, V. Lumia and M. Barba**. 1998. Characterization of *Apple chlorotic leaf spot virus* isolates from Italy. Acta Horticulturae, 472: 195 - 202.
22. **Poul, F. and J. Dunez.** 1989. Production and use of monoclonal antibodies for the detection of *Apple chlorotic leaf spot virus*. Journal of General Virology, 25: 153-166.
23. **Poul, F. and J. Dunez.** 1990. Use of monoclonal antibodies for the identification of different antigenic domains in *Apple chlorotic leaf spot virus*. Archives of Virology, 114: 191 - 202.
24. **Yoshikawa, N.** 2001**.** *Apple chlorotic leaf spot virus*. Description of Plant Viruses. Association of Applied Biologists BAA 386: 9 pp.

viruses by the method of reverse transcription-polymerase chain reaction. Plant Pathology Bulletin, 12: 10-18.

17. **Liberti, D., A. Marais, L. Svanella-Dumas, M.J. Dulucq, D. Alioto, A. Ragozzino, B. Rodoni and T. Candresse.** 2005. Characterization of *Apricot pseudo-chlorotic leaf spot virus*, A novel *Trichovirus* isolated from stone fruit trees. Phytopathology, 95: 420-426.
18. **Lister, R.M.** 1970. *Apple chlorotic leafspot virus*. CMI/AAB Description of Plant Viruses. No. 30.
19. **Malinowski, T., M. Cieslinska, B. Zawadzka, B. Interewicz and A. Porebska.** 1997. Characterization of monoclonal antibodies against *Apple chlorotic leaf spot virus* (ACLSV) and their application for detection of ACLSV and identification of its strains. Phytopathologica Polonica, 14: 35-40.
20. **Németh, M.** 1986. Virus, mycoplasma and rickettsia diseases of fruit trees. lancaster, Boston,

Received: February 5, 2009; Accepted: February 2, 2010

تاريخ الاستلام: 2009/2/5؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2010/2/2