إنتاج مصل مضاد متعدد الكلون لفيروس التبرقش الريشي على البطاطا الحلوة (SPFMV) في سورية

إنصاف حسن عاقل[1]، شادي سنكري[2]، يوسف أبو أحمد[3]، صلاح محمود الشعبي[4] وعماد داؤد اسماعيل[5]

(1) الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، مركز بحوث اللاذقية، سورية، البريد الإلكتروني: ensafakel5n4a@gmail.com؛

(2) المؤسسة العامة لإكثار البذار، حلب، سورية، البريد الإلكتروني: ssankari77@hotmail.com؛ (3) الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، دمشق، سورية، البريد الالكتروني: y_abuahmad@yahoo.com؛ (4) الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، دوما، دمشق، سورية؛

(5) قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية، البريد الإلكتروني: ismail.l@scs-net.org

الملخص

عاقل، إنصاف حسن، شادي سنكري، يوسف أبو أحمد، صلاح محمود الشعبي وعماد داؤد اسماعيل. 2014. إنتاج مصل مضاد متعدد الكلون لفيروس التبرقش الريشي على البطاطا الحلوة (SPFMV) في سورية. مجلة وقاية النبات العربية، 32(3): 260–265.

أجريت الدراسة بهدف تنقية عزلة محلية لفيروس التبرقش الريشي على البطاطا الحلوة Sweet *potato feathery mottle virus* (SPFMV) (جنس *Potyvirus*، عائلة *Potyviridae*) تم جمعها من محصول البطاطا الحلوة في منطقة زغرين في الساحل السوري عام 2006، إضافة إلى إنتاج مصل مضاد متعدد الكلون للفيروس ذاته، والذي يعتبر من أهم الأمراض الفيروسية التي تصيب محصول البطاطا الحلوة (*Ipomoea batatas* L.) في سورية. أظهرت النتائج إمكانية تنقية الفيروس بشكل مباشر من أوراق البطاطا الحلوة المصابة بالفيروس، وكذلك من النبات الدال *Ipomoea setosa*. وقد وجد اختلاف في كمية الفيروس النقي الناتجة باختلاف نوع العائل النباتي المصاب بالفيروس، وموعد حصاد الأوراق المصابة، وفترة التخزين في المجمدة عند –80°س، وقد تفوق بذلك النبات الدال *I. setosa* (1.1–6.4 مغ/كغ) على نبات البطاطا الحلوة (0.6–3.0 مغ/كغ)، كما فاقت كمية الفيروس الناتجة من الأوراق الطازجة أو الأقل تخزيناً مقارنة مع العينات المحفوظة لفترة أطول. تم إنتاج المصل المضاد للفيروس ضد العزلة المحلية، كما تم التأكد من قابلية استخدام المصل المخفف في الكشف عن الفيروس في عينات محلية مصابة. تمت مقارنة نتائج اختبار البصمة النقطية المناعية DBIA باستخدام الأجسام المضادة المنتجة محلياً مع تلك المنتجة في المركز الدولي للبطاطا، وكانت النتائج متقاربة في الكشف عن الإصابة المحلية.

كلمات مفتاحية: فيروس التبرقش الريشي، تنقية الفيروس، أجسام مضادة، DBIA، الساحل السوري.

المقدمة

تعدُّ الطرائق المصلية/السيرولوجية التي تستخدم الأمصال المضادة في الكشف عن الفيروسات، ومنها اختبار بصمة النسيج النباتي المناعية Tissue blot immunoassay (TBIA) (1، 2، 17)، واختبار البصمة النقطية المناعية Dot blot immunoassay (DBIA) (20)، من التقانات السريعة ذات الدقة العالية، وقد تم تطوير هذه التقانات بصورة كبيرة في العقدين الأخيرين. تتسم الأمصال المضادة وحيدة الكلون بتخصصية عالية ليس على مستوى النوع الفيروسي فحسب بل على مستوى السلالة ضمن النوع الفيروسي الواحد، وقد نجحت اختبارات TBIA (1، 2، 17)، DBIA (20)، واختبار الإدمصاص المناعي المرتبط بالأنزيم ELISA (5، 10، 13، 14، 15، 19)، في الكشف عن فيروس التبرقش الريشي على البطاطا الحلوة Sweet *potato feathery mottle virus* (SPFMV) (جنس *Potyvirus*، عائلة *Potyviridae*).

أشارت الدراسات المرجعية إلى إمكانية تنقية فيروس التبرقش الريشي في البطاطا الحلوة من نباتي *Ipomoea nil* (7، 8، 13، 18)، و *Nicotiana benthamiana* (9)، كما تم تنقيته مباشرة من أوراق البطاطا الحلوة المصابة به (11). تم إنتاج مصل مضاد متعدد الكلونات لعزلات مختلفة من الفيروس في بعض دول العالم، ومنها المركز الدولي للبطاطا في البيرو (10).

تأتي أهمية البحث من أهمية فيروس التبرقش الريشي على البطاطا الحلوة وانتشاره الواسع على محصول البطاطا الحلوة والأعشاب المرافقة له في الساحل السوري من جهة (2، 4)، ومن الصعوبات التي نواجهها في تأمين أمصال مضادة ذات نوعية جيدة، والتي تختلف باختلاف الجهة المنتجة من جهة ثانية، إضافةً إلى الأسعار المرتفعة لهذه الأمصال من جهة ثالثة.

مواد البحث وطرائقه

مصدر العزلة الفيروسية

استخدمت عزلة محلية من فيروس التبرقش الريشي على البطاطا الحلوة تم جمعها من منطقة زغرين في الساحل السوري من محصول البطاطا الحلوة عام 2006، كما تم التأكد من خلوها من الفيروسات الأخرى من خلال الاختبارات المصلية إزاء الفيروسات المتوافرة أمصالها وتمريرها حيوياً على عدد من النباتات الدالة (3). حفظت العزلة بطريقتي التعقيل والمضاعفة على النبات *I. setosa*، داخل البيت الزجاجي عند 23°س، ورطوبة 70%.

مضاعفة الفيروس في النبات *I. setosa*

تم الحصول على بذور النبات الدال *I. setosa* من المركز الدولي للبطاطا (CIP) في البيرو. زرعت البذور في حوض بلاستيكي (مشتل) يحتوي على التورب المعقم تحت تغطية شبكية مانعة لوصول الحشرات. نُقلت الشتول بطول 4–6 سم إلى أصص بلاستيكية قطرها 8 سم وارتفاعها 15 سم تحتوي على التورب المعقم، ووضعت ضمن البيت الزجاجي عند 23° س، ورطوبة 70%. قُدّمت للشتول كافة عمليات الخدمة اللازمة لإعدادها للعدوى الميكانيكية بالتطعيم.

أجريت عدوى بالتطعيم من العقل الورقية الغضة الحاملة لفيروس التبرقش الريشي والخالية من فيروسات البطاطا الحلوة الأخرى (3) إلى شتلات النبات *I. setosa* عند ظهور الأوراق الحقيقية الثلاث الأولى (2). وضعت جميع نباتات التجربة ضمن البيت الزجاجي عند 23°س، ورطوبة 70%. تم حصاد أوراق النباتات المطعمة بفترات زمنية مختلفة بعد ظهور الأعراض عليها 10–15 يوماً من العدوى ثم مرة كل 7–10 أيام حسب الأعراض الظاهرية، كما تم حصاد أوراق البطاطا المزروعة داخل البيت الزجاجي والتي أظهرت أعراض الإصابة بصورة واضحة، وضعت العينات كل منها على حدة ضمن أكياس نايلون كتب عليها تاريخ الحصاد وموعد التطعيم بالنسبة للنبات *I. setosa*، ثم حفظت داخل مجمدة عند –80°س.

الاختبارات المصلية

استخدم اختبار بصمة النسيج النباتي المناعية (TBIA) في فحص جميع العينات والنباتات الدالة كما هو موصوف سابقاً من قبل مكوك وقمري (4) مع بعض تعديلات إسماعيل وآخرون (1)، حيث تم استخدام المصل المضاد المتعدد الكلون لفيروس التبرقش الريشي على البطاطا الحلوة والمنتج في المركز الدولي للبطاطا (CIP)، كما استخدم اختبار البصمة النقطية المناعية (DBIA) في تقويم المصل المنتج محلياً.

تنقية الفيروس وإنتاج الأجسام المضادة

تمت تنقية الفيروس في مخبر إنتاج الأمصال في المؤسسة العامة لإكثار البذار، حلب، سورية تبعاً لطريقة Cohen وآخرون (11)، والمعدلة من قبل Di Feo وآخرون (12)، مع إجراء بعض التعديلات، وبما تلاءم مع الإمكانات المتاحة في المؤسسة، حيث تم طحن المادة النباتية مع محلول الاستخلاص (0.5 مولار Borate، 0.01 مولار NA-EDTA، و0.2% 2-mercaptoethanol) بمعدل 1 غ من النسيج النباتي لكل 4 مل من محلول الاستخلاص، واستخدام عمود السكروز بدلاً من عمود كلوريد السيزيوم، باستخدام طرد مركزي بقوة 99314g لمدة ساعتين عند 4°س باستخدام جهاز الطرد المركزي من النوع Sorval ultra 80 (Fixed angle rotor) واستخدام الرأس الدوار T-1270، عوضاً عن 100000g لمدة 5 ساعات عند 8°س. تم فصل الطبقة الحاوية على البروتين الفيروسي بجهاز تجزئة الوسط المتدرج الكثافة ISCO density gradient fractionator عند الموجة 254 نانومتراً. تم تحديد تركيز الفيروس النقي المتحصل عليه عن طريق قراءة المستخلص النهائي عند موجة طولها 260 نانومتر. تم حساب كمية الفيروس النقي المتحصل عليه بتطبيق المعادلة التالية:

$$\text{كمية الفيروس النقي (بالميللي غرام)} = \frac{O.D_{260} \times 2 \times Vol}{\text{Extinction Coefficient}}$$

حيث أن: $O.D_{260}$ = الكثافة الضوئية للمستخلص الفيروسي النقي عند الموجة 260 نانومتراً؛ Vol = حجم المحلول الذي يحوي الفيروس النقي بالميلليمتر التي تم الحصول عليها من 200 غ نباتات مصابة؛ Extinction Coefficient = رقم ثابت خاص بكل فيروس وهو 2.5 لفيروس التبرقش الريشي على البطاطا الحلوة.

تم إنتاج المصل المضاد إزاء عزلة محلية لفيروس التبرقش الريشي على البطاطا الحلوة، وذلك بحقن مستخلص الفيروس النقي في جسم أرنب أبيض من النوع النيوزيلندي عمره لا يزيد عن السنة، وبفاصل زمني أسبوع بين الحقنة والأخرى، تم خلالها الجمع بين نوعي الحقن الوريدي والحقن العضلي في برنامج زمني استمر لثمانية أسابيع (جدول 1). احتوت كل حقنة على 0.5 مل من المستخلص النقي تحوي على 0.04–0.2 مغ فيروس، وتم تحضير الحقن العضلية بخلط كمية متساوية من محضر الفيروس النقي مع زيت فروند الكامل (Freund 's complete adjuvant) في الحقنة الأولى، ومع زيت فروند غير الكامل (Freund 's incomplete adjuvant) في باقي الحقنات. جمع المصل الخام من الأرنب بعد أسبوع من الحقنة الثامنة.

جدول 1. الجدول الزمني لحقن الأرنب بالفيروس النقي (SPFMV).

Table1. Time schedule for rabbit injection with purified SPFMV preparation.

طريقة الحقن Injection method	تاريخ الحقن	Injection date	الكمية المحقونة من الفيروس النقي (حجم : وزن) Volume and content of purified virus injection (V:W)
حقن وريدي IV	2009/6/16	16 June 2009	0.5 مل : 0.036 مغ
حقن وريدي IV	بعد أسبوع من الحقنة السابقة	1 week later	0.5 مل : 0.036 مغ
حقن عضلي IM	بعد أسبوع من الحقنة السابقة	1 week later	0.5 مل : 0.2 مغ
حقن عضلي IM	بعد أسبوع من الحقنة السابقة	1 week later	0.5 مل : 0.2 مغ
حقن عضلي IM	بعد أسبوع من الحقنة السابقة	1 week later	0.5 مل : 0.2 مغ
حقن عضلي IM	بعد أسبوع من الحقنة السابقة	1 week later	0.5 مل : 0.05 مغ
حقن وريدي IV	بعد أسبوع من الحقنة السابقة	1 week later	0.5 مل : 0.06 مغ
حقن وريدي IV	بعد أسبوع من الحقنة السابقة	1 week later	0.5 مل : 0.06 مغ

تم تنقية الغلوبيولينات غاما المناعية (IgG) من المصل المضاد عن طريق الترسيب بكبريتات الأمونيوم والديلزة بمحلول الفوسفات الملحي PBS تبعاً لطريقة Hampton وآخرون (16)، مع بعض التعديلات، حيث تم فلترة المحلول بعد عملية الديلزة مرتان بفلتر قطر ثقوبه 0.22 ميكروميتر ماركة Millipore، وحُفظ الـ IgG عند −80 °س، وتم تحضير وربط الـ IgG بانزيم ألكالين فوسفاتاز وفق الطريقة المتبعة والموصوفة من قبل Avrameas (6).

قومت كفاءة الأجسام المضادة المتحصل عليها للكشف عن فيروس التبرقش الريشي في أنسجة نباتات بطاطا حلوة مصابة وأخرى سليمة كشاهد سلبي، وباستخدام اختباري TBIA و DBIA على أغشية نترات السللوز وفق البرتوكول المزود من المركز الدولي للبطاطا (CIP) والذي أرسل مع المصل. تمت التجربة في مختبر الفيروسات في المؤسسة العامة لإكثار البذار وكذلك مختبر الفيروسات في مركز البحوث العلمية الزراعية في بوقا حيث تم تحضير تخفيفات مختلفة من المصل المضاد المنتج (1/250، 1/500، 1/750، 1/1000، 1/2000)، وتم مقارنتها مع المصل المضاد المنتج في المركز الدولي للبطاطا بالتخفيف 1000/1 المنصوح فيه.

النتائج والمناقشة

تمثلت أعراض الإصابة على النبات *I. setosa* المعدي بالتطعيم من العقل الورقية الغضة الحاملة لفيروس التبرقش الريشي على البطاطا الحلوة والخالية من فيروسات البطاطا الحلوة الأخرى، بالموزاييك وشفافية العروق وتشوه الأوراق واختزال حجم النبات وأوراقه، حيث بدأت الأعراض بالظهور بعد 10−15 يوماً من الإعداء. أخذت الأوراق التي أظهرت أعراض إصابة واضحة وتم استخلاص الفيروس المذكور أعلاه تبعاً لطريقة Cohen وآخرون (11)، وأمكن تنقية الفيروس بصورة مباشرة من أوراق البطاطا الحلوة، كما ذكر سابقاً (11)، ولكن باستخدام عمود السكروز المتدرج الكثافة بدلاً من عمود كلوريد السيزيوم. كما أمكن تنقية الفيروس من أوراق النبات *I. setosa* المعداة من العقل المصابة بالفيروس (جدول 2). لوحظ تجمع الفيروس في الثلث العلوي لأنبوب السكروز عند تعريض الفيروس المنقى جزئياً للطرد المركزي العالي السرعة بعد وضعه كطبقة علوية فوق انبوب السكروز المتدرج الكثافة (10−40%)، في حين أشارت التجارب السابقة باستخدام محلول الفوسفات أو السترات المنظم في الاستخلاص إلى فقد الفيروس في الراسب حتى بالطرد المركزي المنخفض السرعة (7، 8، 18)، كما أشير إلى أن الترسيب بإضافة Polyethylene glycol (PEG)، واستخدام عمود السكروز المتدرج الكثافة خلال مراحل التنقية لم تكن تعطي النتائج المرضية مثل بقية الفيروسات حيث تجمعت جسيمات الفيروس وترسبت إلى أسفل الأنبوب، وباتباع الطريقة الموصوفة من قبل Cohen وآخرون (11)، باستخدام كلوريد السيزيوم المتدرج الكثافة فإن كمية الفيروس النقي الناتج من أوراق البطاطا الحلوة المصابة تراوحت مابين 50−100 مغ/كغ من الأنسجة المصابة بينما وصلت بدراستنا إلى 0.6−3.0 مغ/ كغ. لوحظ وجود اختلاف بين كمية الفيروس النقي الناتجة باختلاف النباتات المستخدمة في الاستخلاص (بطاطا حلوة، *I. setosa*) والمزروعة ضمن البيت الزجاجي، وقد كانت كمية الفيروس النقي الناتجة أعلى في نباتات البطاطا الحلوة المأخوذة من البيت الزجاجي مقارنة مع الكمية نفسها من العينات المأخوذة من المختبر، كما كان الاختلاف واضحاً في كمية الفيروس المتحصل عليها باختلاف طول فترة التخزين ضمن المجمدة عند

−80 °س (جدول 2). فاقت كمية الفيروس الناتجة من الأوراق الطازجة أو الأقل تخزيناً مثيلتها من العينات المحفوظة لفترة أطول (جدول 2)، وهذا يتفق مع نتائج Cohen وآخرون (11)، الذين أشاروا إلى تجنب حفظ العينات المصابة في البراد أو في المجمدة قبل التنقية لفترة طويلة حفاظاً على سلامة جسيمات الفيروس. تراوحت كمية الفيروس النقي الناتجة ما بين 0.6–6.4 مغ/ كغ (جدول 2)، وهي كمية قليلة مقارنة بالكمية المتحصل عليها في دراسة أخرى من النبات *N. benthamiana* (9) حيث تراوحت بين 2– 17 مغ/كغ، بينما كانت في دراسة أخرى 8 إلى 10 مغ/كغ (18). وتراوحت كمية الفيروس المتحصل عليها من أوراق نبات *I. nil* مابين 5–20 مغ/كغ من الأنسجة المصابة (7، 8)، و 50– 100 مغ/كغ من الأنسجة المصابة في دراسة سابقة (11)، وقد يعزى السبب في هذا الاختلاف إلى اختلاف طريقة التنقية والاستخلاص، وبخاصة استخدام عمود السكروز المتدرج الكثافة بدلاً من كلوريد السيزيوم الأكثر كفاءة، حيث أشير إلى أن حوالي نصف جسيمات الفيروس تفقد في الراسب عند استخدام عمود السكروز بدلاً من السيزيوم (11).

جدول 2. نتائج محاولات الاستخلاص والتنقية لفيروس التبرقش الريشي على البطاطا الحلوة.

Table 2. Results of extraction and purification of *Sweet potato feathery mottle virus* (SPFMV).

محاولة الاستخلاص Extraction	الكمية النباتية المستخدمة (غ) Total plant material used (gr)	نوع النبات المصاب Infected plant	ظروف نمو النبات المصاب وفترة التخزين عند -80س Growing conditions and storage period at -80° C	الامتصاصية عند طول موجة 260 نانومتراً Absorption at 260nm	الامتصاصية عند طول موجة 280 نانومتراً Absorption at 280nm	النسبة 260/280 260/280 ratio	تركيز الفيروس مغ/مل virus concentration (mg/ml)	كمية الفيروس الكلية في 1.5 مل محلول (مغ) Total virus quantity in 1.5 ml (mg)
1	50	بطاطا حلوة Sweet potato	طازجة/ بيت زجاجي Fresh/Glasshouse	0.132	0.094	1.4	0.1	0.15
2	50	بطاطا حلوة Sweet potato	طازجة/ مخبر Fresh/Lab	0.063	0.040	1.5	0.05	0.075
3	200	بطاطا حلوة Sweet potato	طازجة/ مخبر Fresh/Lab	0.101	0.073	1.3	0.08	0.12
4	200	بطاطا حلوة Sweet potato	طازجة/ زجاجي Fresh/Glasshouse	0.560	0.37	1.51	0.43	0.6
5	200	بطاطا حلوة Sweet potato	5 أيام/ زجاجي 5 days/Glass house	0.479	0.365	1.3	0.37	0.56
6	200	بطاطا حلوة Sweet potato	12 يوماً/ زجاجي 12 days/Glass house	0.240	0.152	1.57	0.192	0.28
7	200	بطاطا حلوة Sweet potato	22 يوماً/ زجاجي 22 days/Glass house	0.147	0.103	1.42	0.11	0.16
8	200	*I. setosa*	طازجة/ زجاجي Fresh/glass house	1.072	0.649	1.65	0.85	1.28
9	200	*I. setosa*	13 يوماً/ زجاجي 23 days/Glass house	0.503	0.344	1.46	0.4	0.6
10	200	*I. setosa*	23 يوماً/ زجاجي 23 days/Glass house	0.19	0.167	1.18	0.15	0.22

زجاجي: التنقية تمت من النباتات التي تم مضاعفة الفيروس عليها والموجودة في البيت الزجاجي في المؤسسة العامة لإكثار البذار- حلب.
مخبر: التنقية تمت من النباتات التي تم مضاعفة الفيروس عليها والموجودة في مخبر الفيروسات في مركز البحوث في بوقا.
طازجة: تنقية مباشرة دون أي فترة للتجميد.

Glass house: Purification was carried out on infected plants grown in a glass house at the Seed Multiplication General Institute, Aleppo.
Lab: Purification was carried out on infected plants grown in the virology lab at Bouka Research Center.
Fresh: Purification was carried out on freshly harvested infected leaves without storage at -80 °C.

تم التأكد من وجود الفيروس في المستخلص بوساطة اختباري TBIA و DBIA، وذلك باستعمال المصل المضاد لفيروس التبرقش الريشي المنتج في المركز الدولي للبطاطا (CIP)، كما استعمل جزء من المستخلص الفيروسي لإجراء عدوى على نباتات *I. setosa*، حيث أظهرت النباتات المعداة أعراضاً إيجابية ومماثلة للأعراض الناتجة عن فيروس التبرقش الريشي بعد 10– 15 يوماً من الإعداء. تم حساب نسبة مقدار امتصاص الفيروس للأشعة فوق البنفسجية عند الموجة 260 نانومتر وعند الموجة 280 نانومتر وأمكن الحصول على الفيروس النقي من 200 غ مادة نباتية مصابة.

تقويم المصل المنتج محلياً

أظهر المصل المنتج محلياً تفاعلاً قوياً ومتخصصاً مع نباتات البطاطا الحلوة المصابة بفيروس التبرقش الريشي على البطاطا الحلوة عند استعمال اختبار DBIA، وكانت الفروق بين العينات المصابة والسليمة واضحة. وقد أكدت الدراسة أن الأجسام المضادة المتعددة الكلون المنتجة ضد العزلة المحلية لفيروس التبرقش الريشي على البطاطا الحلوة من الساحل السوري، استطاعت أن تكشف عن وجود فيروس التبرقش الريشي بقوة وحساسية عالية عند استخدام اختبار DBIA عند التخفيف 1/500 وبكفاءة أقل عند التخفيف 1000/1. ولدى مقارنة نتائج المصل المنتج محلياً مع المصل المنتج في المركز الدولي للبطاطا لوحظ وجود تقارب من ناحية شدة وضوح العينات المصابة على نترات السيليلوز مما يدل على أن المصل المنتج ذو نوعية مقبولة.

إن لهذه الدراسة أهمية كبيرة من الناحيتين العلمية والتطبيقية حيث أكدت على وجود فيروس التبرقش الريشي في بعض مناطق زراعة البطاطا الحلوة في سورية وأمكن إنتاج مصل مضاد كاشف للفيروس محليا. كما أن برنامج الإكثار للحصول على بذار بطاطا حلوة معتمدة والحاوي على أقل نسبة من الإصابة يعتبر المفتاح الرئيس في الحد من الأضرار الناتجة عن هذا الفيروس والذي يستلزم طرق فعالة للكشف عنه. إن اختباري الـ TBIA و DBIA هما الأكثر شيوعاً في الكشف عن فيروسات البطاطا الحلوة عن طريق استخدام الأمصال المضادة المتعددة الكلون والمتخصصة.

Abstract

Akel, E.H., Sh. Sankary, Y. Abu-Ahmad , S. Al-Chaabi, and I.D. Ismail. 2014. Production of polyclonal antiserum for a Syrian isolate of *Sweet potato feathery mottle virus* (SPFMV). Arab Journal of Plant Protection, 32(3): 260-265.

This study aimed to purify a local isolate of *Sweet potato feathery mottle virus* (SPFMV, *Potyvirus; Potyviridae*), and produce a polyclonal antiserum against it. SPFMV was reported to be the main virus affecting sweet potato fields in Syria. Results showed that, SPFMV can be purified directly from *sweet potato* and from *I. setosa* infected leaves. The amount of purified virus varied based on infected host species, harvest time, and storage duration under -80°C. Moreover, *I. setosa* leaves yielded 1.1-6.4 mg/kg compared with 0.06-3.0 mg/kg from *sweet potato* infected leaves. SPFMV antiserum was produced against a Syrian isolate of SPFMV and used to reliably identify the virus in SPFMV-infected samples collected from Syria. The results of using this antibody were consistent with those obtained from using SPFMV antibody obtained from the International Potato Center (CIP). In addition, the locally produced antibody was specific to SPFMV, sensitive, and detected SPFMV infection in plant extract diluted 1:500.The low cost of producing SPFMV antiserum locally will permit conducting large scale surveys for the virus and facilitate the production of virus free sweet potato propagation material in Syria.

Keywords: SPFMV, purify virus, Antibody, DBIA, Syrian coastal.

Corresponding author: ***E.H. Akel, General Commission for Scientific Agricultural Research (GCSAR), Lattakia Center, Syria, Email: ensafakel5n4a@gmail.com***

المراجع

1. **إسماعيل، عماد دأود وسليم راعي.** 2004. مسح فيروس Y البطاطا وسلالاته في حقول إنتاج البطاطا في محافظة اللاذقية. مجلة أبحاث جامعة تشرين- سلسلة العلوم الزراعية، 26: 160-181.
2. **عاقل، إنصاف حسن.** 2005. التحري عن بعض الفيروسات التي تصيب محصول البطاطا الحلوة في الساحل السوري. رسالة ماجستير، قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية. 119 صفحة.
3. **عاقل، إنصاف، عماد إسماعيل وسليم راعي.** 2006. تشخيص بعض فيروسات البطاطا الحلوة باستخدام تقنيتي النباتات الدالة والاختبارات المصلية. مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية، سلسلة العلوم الزراعية، 28: 161-173.
4. **مكوك، خالد محي الدين وصفاء قمري.** 1996. الكشف عن عشرة فيروسات بواسطة اختبار البصمة النسيجية المناعية، مجلة وقاية النبات العربية، 10: 3-9.

References

5. **Abad, J.A. and J.W. Moyer.** 1992. Detection of sweet potato feathery mottle virus in sweet potato by *in vitro*-transcribed RNA probes and serological assays. Phytopathology, 82: 300-305.
6. **Avrameas, S.** 1969. Coupling of enzymes to proteins with glutaraldehyde. Use of the conjugates for the detection of antigens and antibodies. Immuno-chemistry, 6: 43-52.
7. **Cadena, H. and R.N. Campbell.** 1981. Characterization of isolates of four aphid-transmitted sweet potato. Phytopathology, 71: 1086-1089.

8. **Cali, B.B. and J.W. Moyer.** 1981. Purification, serology, and particle morphology of two russet crack strain of sweet potato feathery mottle virus. Phytopathology, 71: 302-305.
9. **Chavi, F., A.I. Roberston and B.J.M. Verduin.** 1997. Survey and characterization of viruses in sweet potato from Zimbabwe. Plant Diseases, 81: 1115-1122.
10. **CIP (International Potato Center).** 2001. Techniques in plant Virology in CIP Training Manual Version 10 January 2001. L.F. Salazar and U. Jayasinghe (eds.). CIP, Lima, Peru.
11. **Cohen, J., R. Salomon and G. Loebenstein.** 1988. An improved method for purification of sweet potato feathery mottle virus directly from sweet potato. Phytopathology, 78: 809-811.
12. **Di Feo, L., S.F. Nome and E. Biderbost.** 2000. Etiology of sweet potato chlorotic dwarf disease in Argentina. Plant Disease, 84: 35-39.
13. **Edison, S., S. Balakrishnan, M.L. Jeeva, T. Makeshkumar and K. Umamaheswaran.** 2004. Characterization, purification and serology of sweet potato feathery mottle virus in India. Journal of Root Crops, 30: 24-30.
14. **Esbenshade, P.R. and J.W. Moyer.** 1982. Indexing system for sweet potato feathery mottle virus in sweet potato using enzyme-linked immunosorbent assay. Plant Disease, 66: 911-913.
15. **Gibb, K.S. and A.C. Padoran.** 1993. Detection of sweet potato Feathery mottle virus in sweet potato grown in Northern Australia using an efficient and simple assay. International Journal of Pest Management, 39: 223-228.
16. **Hampton, R., E. Ball and S. De Boer (eds.).** 1990. Serological methods for detection and identification of viral and bacterial plant pathogen. APS Press. 389 pp.
17. **Lin, N.S., Y.H. Hsu and H.T. Hsu.** 1990. Immunological detection of plant viruses and a mycoplsma like organism by direct tissue blot on nitrocellulose membranes. Phytopathology, 80: 824.
18. **Moyer, J.W. and G.G. Kennedy.** 1978. Purification and properties of sweet potato feathery mottle virus. Phytopathology, 68: 998 1004.
19. **Nyaboga, E.N., E.M Ateka and W.D. Bulimo.** 2008. Serological detection of virus diseases of sweet potato in Kenya. Journal of Applied Biosciences, 7: 222-229.
20. **Yao, D.J.E. and A.D. Hortense.** 2005. Detection and distribution of sweet potato feathery mottle virus in sweet potato using membrane immunobinding assay. African Journal of Biotechnology, 4: 717-723.

Received: December 11, 2013; Accepted: February 3, 2014

تاريخ الاستلام: 2013/12/11؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2014/2/3