إنتاج مصل مضاد متخصص بالبكتيريا *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* المسببة لمرض اللفحة البكتيرية على البازلاء في سورية

علاء الدين حموية[1]، خالد مكوك[2]، بكري دبس[1] وأحمد الأحمد[2،1]

(1) قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة حلب، سورية؛ (2) المركز الدولي للبحوث الزراعية في المناطق الجافة (إيكاردا)، ص.ب. 5466، حلب، سورية.

الملخص

حموية، علاء الدين، خالد مكوك، أحمد الأحمد وبكري دبس. 1999. إنتاج مصل مضاد متخصص بالبكتيريا *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* المسببة لمرض اللفحة البكتيرية على البازلاء في سورية. مجلة وقاية النبات العربية. 17(1): 26-30.

يعتبر مرض اللفحة البكتيرية على البازلاء المتسبب عن بكتيريا *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* من الأمراض البكتيرية المهمة التي تصيب محصول البازلاء في سورية. تم تحضير مصل مضاد ضد العزلة المحلية السورية (PI96/22)، كما حضر مصل مضاد للسلالة (299A) من البكتيريا ذاتها والمعروفة عالمياً كشاهد من أجل المقارنة. أظهر اختبار التراص على الشريحة (Slide agglutinations) واختبارإليزا وجود قرابة بين السلالة العالمية المعروفة (299A) والعزلة السورية (PI96/22).

كلمات مفتاحية: اللفحة البكتيرية على البازلاء، *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*، *Staphylococcus aureus* ، البازلاء، سورية.

المقدمة

ينتشر مرض اللفحة البكتيرية على البازلاء المتسبب عن بكتيريا *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (Sackett, 1916) Young, Dye & Wilkie 1978 في جميع أنحاء العالم ويعتبر من أخطر الأمراض التي تصيب هذا المحصول (4). وتشكل البذور الملوثة بالبكتيريا المصدر الأكبر للقاح المعدي، حيث تبقى حية لمدة تزيد عن عشرة أشهر، وعليه ترتبط الخسائر في غلة البازلاء مع البكتيريا المحمولة بالبذور (11). ولذلك فقد اعتبرت البكتيريا *P. s.* pv. *pisi* كائن حجر في لوائح الحجر الزراعي (10)، ولابد من الحصول على شهادة صحية تثبت خلو إرساليات البازلاء من هذا الممرض (3). وبطبيعة الحال فإن التصديق على هذه الشهادة يتطلب تطبيق عمليات فحص شديدة الدقة تجرى ضمن مختبرات الحجر الزراعي. إلا أن تحديد هذه البكتيريا يحتاج إلى وقت طويل وجهد كبير في حال استخدام الاختبارات العادية مثل الاختبارات البيولوجية. اعتبرت الاختبارات السيرولوجية من الاختبارات الأساسية والسريعة والمهمة في تعريف البكتيريا وتحديدها، وبخاصة اختبار الاليزا (ELISA) (2)، واختبار التراص على الشريحة الزجاجية (Slide agglutination test) (6). ومنذ أكثر من عقدين من الزمن اعتبر اختبار التلبد (التراص) السيرولوجي من الطرق الموثقة في تعريف البكتيريا المسببة لمرض اللفحة البكتيرية على البازلاء (11).

تزداد الحاجة يوماً بعد يوم لاختبارات سريعة وحساسة من أجل فحص أعداد كبيرة من البذور. ولذلك فقد عكفت الكثير من المختبرات على تحضير أمصال مضادة متخصصة، ولم يسبق لأية مؤسسة سورية تحضير مصل مضاد ضد البكتيريا المسببة لمرض اللفحة البكتيرية على البازلاء، لذلك فقد هدفت هذه الدراسة إلى إنتاج مصل ضد البكتيريا المسببة لمرض اللفحة البكتيرية بغية استخدامه في فحص بذور البازلاء للتأكد من خلوها من هذه البكتيريا، وكذلك للتعرف على الممرض المعزول من العينات النباتية المصابة.

مواد البحث وطرائقه

العزلات/ السلالات المستخدمة

- تم في هذه الدراسة تم استخدام العزلة المحلية السورية PI96/22 المسببة لمرض اللفحة البكتيرية على البازلاء وذلك لإنتاج مصل مضاد لها. وقد تم اختيار هذه العزلة نظراً لمقدرتها الإمراضية العالية والأعراض النموذجية التي تحدثها في العدوى الاصطناعية.
- استخدمت السلالة 299A المسببة أيضاً لمرض اللفحة البكتيرية على البازلاء والمعروفة عالمياً وهي تقدمة من الدكتور J.D. Taylor، المعهد الدولي للبستنة– إنكلترة. استخدمت هذه العزلة لإنتاج مصل مضاد لها من أجل مقارنته من الناحية السيرولوجية مع العزلة المحلية السورية.
- تم استخدام البكتيريا *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* سلالة رقم 238C وذلك لاستخدامها كشاهد في الاختبارات السيرولوجية.
- تم استخدام البكتيريا *Bacillus* sp. كشاهد سلبي في الاختبارات السيرولوجية.

تحضير المصل المضاد

نميت البكتريا للعزلة المحلية السورية PI96/22 وللسلالة 299A، كل على حدى، في 100 مل من مستنبت المرق المغذي (NB) لمدة 48 ساعة عند درجة حرارة 25 °س. تم الحصول على الخلايا البكتيرية عن طريق تثفيلها بسرعة 10,000 دورة/ دقيقة لمدة

10 دقائق وعلى درجة حرارة 4 °س باستخدام جهاز طرد مركزي من نوع Sorvall RC-5B . غسل الراسب مرتين بـ 5 مل ماء مقطر معقم، ومن ثم أضيف إلى الراسب النهائي 5 مل ماء مقطر معقم. تمت معاملة المعلق البكتيري بمادة الجلوترألدهيد (glutaraldehyde) بتركيز 0.25% وذلك عن طريق استخدام عملية الانتشار عبر الغشاء (Dialysis) لمدة 12 ساعة (1). بعدها تم ضبط الكثافة الضوئية للمعلق النهائي بحيث كانت القراءة تساوي 0.1 لقسم منه و 2.0 للقسم الآخر وذلك على طول الموجة 600 نانومتراً، ثم حفظ في المجمدة عند درجة حرارة –20 °س لحين حقنه في الأرانب.

سحبت كمية من دم الأرانب قبل حقنهما لاستخدامه كشاهد، ثم حقنت الأرانب "كل سلالة في أرنب" بالمعلق البكتيري تحت الجلد بجرعة 500 ميكروليتر من المعلق الذي كانت كثافته الضوئية 0.1 عند الموجة 600 نانومتراً. ثم حقنت الأرانب ذاتها بعد خمسة أسابيع بمقادير الحقنة الأولى ذاتها ولكن أعطيت في العضل. وبعد 12 أسبوعاً من الحقنة الأولى نفذت الحقنة الثالثة في العضل، باستخدام 1 مل من المعلق البكتيري ذي الكثافة الضوئية 2.0 عند موجة بطول 600 نانومتراً. تمت جميع عمليات الحقن بعد مزج المعلق البكتيري بحجم مماثل من زيت فروايند غير الكامل (Freund's incomplete adjuvant) (7).

بعد أسبوع من الحقنة الثالثة تم سحب الدم من الأرانب أسبوعياً ولمدة سبعة اسابيع، وبمقدار 25–30 مل في كل مرة وذلك عن طريق عمل جرح في الوريد الأساسي لأذن الأرنب. ترك الدم لمدة 2–3 ساعة عند درجة حرارة المختبر ثم وضع في الثلاجة على درجة حرارة 4°س لمدة 10–12 ساعة. تم فصل المصل عن الدم المتجلط باستخدام جهاز طرد مركزي بسرعة 2000 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق. أضيف أزيد الصوديوم (NaN3) بنسبة 0.05% كمادة حافظة ثم حفظ المصل الناتج في المجمدة على درجة حرارة –20°س لحين الاستخدام.

الاختبارات السيرولوجية

1. اختبار التراص على الشريحة الزجاجية (Slide agglutination test).

تعتمد هذه الطريقة على ربط المصل المضاد المنتج للبكتيريا موضع الدراسة بالبكتيريا من النوع *Staphylococcus aureus*، ومن ثم يستخدم هذا المحضر للكشف عن البكتيريا المسببة لمرض اللفحة البكتيرية على البازلاء في العينات المدروسة، وقد اتبعت هذه الطريقة بناء على ماذكره Lyons & Taylor (6). وتتلخص الطريقة بالتالي:

أ. تحضير البكتيريا *Staphylococcus aureus*

استخدمت البكتيريا *S. aureaus* سلالة رقم (Cowan 1 strain, NCTC 8530) والمقدمة من الدكتور J.D. Taylor، المعهد الدولي للبستنة– إنكلترة. نميت هذه البكتيريا لمدة 72 ساعة على درجة 37 °س في أطباق تحتوي على الآجار المغذي وجمعت النموات البكتيرية بواسطة محلول منظم ملحي (PBS) يحتوي على 0.02% من أزيد الصوديوم، ثم رسبت الخلايا البكتيرية باستخدام جهاز طرد مركزي بسرعة 300 دورة/دقيقة لمدة 30 دقيقة. أضيف إلى الراسب الناتج 20 مل من مادة فورمالدهايد بتركيز 1.5%، ثم مزج جيداً لمدة 90 دقيقة. سخن المعلق على درجة 80 ° س لمدة 30 دقيقة ثم ترك ليبرد حتى درجة حرارة المختبر. ثم غسل المحضر مرتان، بالطرد المركزي، بالمحلول المنظم الملحي الذي يحتوي على 0.05% من أزيد الصوديوم، ثم مدد بالمحلول المنظم PBS بنسبة 9:1، وعومل المعلق الناتج بالموجات فوق الصوتية (Sonication) لمدة 30 ثانية لإزالة التكتلات (Clumps) ، ثم حفظ المحضر على درجة 4 °س، لحين الاستخدام.

ب. ربط الأجسام المضادة بالبكتيريا *S. aureus* (محلول الربط)

تمت عملية الربط ما بين الأجسام المضادة المنتجة والبكتيريا *S. aureus* بالشكل التالي: تمت إضافة 170 ميكروليتر من المصل المضاد المنتج ضد العزلة PI96/22 والسلالة 299A (ممزوج مع الغليسيرول بنسبة 1:1) إلى 4 مل من المحلول المنظم الملحي (PBS) و830 ميكروليتر من المعلق البكتيري للبكتيريا *S. aureus* المحضر في الفقرة السابقة (أ)، و100 ميكروليتر صبغة فوكسين أساسي كحولي مشبع معقم بالترشيح. ثم حفظ محلول الربط الناتج على 4 °س لحين الاستعمال.

جـ. طريقة الفحص

تم فحص العينات التي تحتوي على البكتيريا المسببة لمرض اللفحة البكتيرية على البازلاء عن طريق مزج 7 ميكروليترات من محلول الربط المحضر في الفقرة السابقة (ب) مع 5 ميكروليترات من البكتيريا المراد فحصها وذلك على شريحة زجاجية وباستخدام أعواد الأسنان الخشبية. استخدمت قطرة من محلول الربط دون إضافة بكتيريا إليها كشاهد سلبي.

ولتحديد فعالية وقوة المصل المنتج حضرت سلسلة تخفيفات 50/1، 100/1، 500/1، 1000/1 و10000/1 من المصل. واختبر كل منها على انفراد.

2. اختبار إليزا مع تغطية الأطباق مباشرة بالبكتيريا (Direct antigen coating –ELISA)

اتبعت هذه الطريقة بناء على ماذكره Koenig (5). استخدم في جميع تجارب اليزا معلق بكتيري واحد محضر في محلول الكربونات المنظم (Carbonate buffer) درجة حموضته 9.6،

وبحيث كانت الكثافة الضوئية لهذا المعلق 0.2 عند طول موجة 600 نانومتراً. أضيف 100 ميكروليتر من هذا المعلق لكل حفرة من أطباق الإليزا التي حضنت لمدة ثلاث ساعات عند درجة حرارة 25 °س، ثم غسلت الأطباق ثلاث مرات وبفاصل زمني خمس دقائق بمحلول فوسفاتي ملحي يحتوي مادة Tween 20 حموضته 7.4 (PBST). أضيف 300 ميكروليتر/حفرة من محلول التغطية (0.1 مولر من ملح الطعام، 10غرام/ليتر من مادة بوفين سيروم ألبومين (BSA)) لتغطية السطوح الداخلية للحفر، ثم حضنت الأطباق لمدة ساعة واحدة عند درجة حرارة 25 °س. ومن ثم غسلت الأطباق مجدداً ثلاث مرات بمحلول الغسيل (PBST)، ثم أضيف لكل حفرة 100 ميكروليتر من المصل المضاد المنتج والمخفف بمحلول PBST يحتوي على 2% من مادة Polyvinyl-Pyrrolidone (PVP) ودرجة حموضته 6. وحضنت الأطباق لمدة 16 ساعة على درجة حرارة 4 °س، ثم غسلت ثلاث مرات بمحلول الغسيل (PBST)، ثم أضيف 100 ميكروليتر/حفرة من الأجسام المضادة المنتجة في الماعز ضد الجلوبيولينات المناعية للأرانب والمرتبطة مع إنزيم الفوسفاتاز القلوي(alkaline phosphatase) ، المخفف إلى 2000/1 في محلول PBST الذي يحتوي على 2% من مادة PVP و 0.2% من مادة بوفين سيروم ألبومين ودرجة حموضته 7.4. ثم حضنت الأطباق لمدة ثلاث ساعات عند درجة حرارة 25 °س، وبعدها غسلت ثلاث مرات بمحلول الغسيل . أضيف بعدها 100 ميكروليتر من مادة ب– نتروفينيل فوسفات (P-nitrophenyl phosphate) المذابة بتركيز 1مغ/مل في محلول منظم (diethanolamine) ودرجة حموضه 9.8، التي يتغير لونها إلى اللون الأصفر بوجود انزيم الفوسفاتاز القلوي. قدرت شدة التفاعل بقياس درجة امتصاص الضوء بواسطة قارئ الإليزا (Titertek Multiskan PLUS (MKII)) عند طول موجة 405 نانومترات بعد 30 دقيقة.

استخدم اختبار إليزا أيضاً لتحديد أفضل سحبات الدم التي يمكن اعتمادها في عمليات الكشف، وقد استخدم في هذا الاختبار تخفيف 3200/1 لكلا المصلين.

كما استخدم اختبار اليزا لدراسة اختلاف دم الأرانب قبل وبعد التلقيح بالبكتيريا، وقد استخدم في هذا الاختبار ثلاثة تخفيفات لكلا المصلين هي: 200/1، 400/1 و 800/1.

كما تم دراسة تفاعل المصلين المضادين المنتجين مع السلالات المنتجة ضدهما وذلك لدراسة مدى القرابة مابين السلالة 299A والعزلة PI96/22، وقد استخدم في هذا الاختبار ستة تخفيفات للمصل المضاد هي: 200/1، 400/1، 800/1، 1600/1، 3200/1 و 6400/1.

استخدمت أيضاً ثمانية تخفيفات من المصل المضاد لكلا المصلين وهي على التوالي 10^{-2}، 10^{-3}، 10^{-4}، 10^{-5}، 10^{-6}، 10^{-7}، 0.5×10^{-7} و 0.25×10^{-7}، وذلك من أجل معرفة أقل تركيز للمصلين يمكنه إعطاء تفاعل إيجابي، وقد استخدم في هذه التجربة سحبة الدم رقم سبعة لكلا المصلين المنتجين.

وللتأكد من قراءات التفاعلات الإيجابية للمصلين، تم استخدام البكتيريا (*Bacillus* sp.) كشاهد سلبي في كل اختبارات اليزا، إضافةً إلى وضع محلول كربونات منظم درجة حموضته 9.6 كشاهد سلبي آخر.

النتائج والمناقشة

1. اختبار التراص على الشريحة الزجاجية (Slide agglutination test).

أظهرت النتائج ترسيباً شديد الوضوح بين المصل المضاد للسلالة 299A وسلالة البكتريا 299A وترسيباً أقل وضوحاً مع عزلة البكتريا PI96/22 ، وكما أظهر المصل المضاد للعزلة PI96/22 ترسيباً واضحاً مع العزلة PI96/22 وترسيباً أقل وضوحاً مع السلالة 299A، بينما لم يكن هناك أي ترسيب بين المصلين والبكتريا *P.s.* pv. *syringae* سلالة رقم 238C.

أعطت تخفيفات المصل المضاد 100/1، 500/1 و 1000/1، تفاعلاً ترسيبياً تناسب وضوحه طرداً مع تركيز المصل، ولم يكن هذا الترسيب بمستوى الوضوح الذي أعطاه التخفيف 50/1، بينما لم يكن واضحاً عند التخفيف 10000/1. ولذلك يفضل تحضير المصل المحضر بطريقة الترسيب على الشريحة الزجاجية بتركيز 50/1 لأنه يعطي تفاعلاً أكثر وضوحاً من التخفيفات الأخرى، وهذا يماثل ما ذكره Taylor & Lyons (6).

تميزت طريقة التراص االشريحة الزجاجية بمزايا عديدة تمكنها من التفوق على الطرق السيرولوجية الأخرى بالرغم من أن هذه الطريقة أقلها حساسية، حيث يمكن أن يبلغ حد الكشف في طريقة الإليزا 5×10^{5} خلية بكتيرية/مل (9). إلا أن بساطة طريقة الترسيب وسهولة تطبيقها وسرعة إجرائها وأخذ نتائجها خلال عدة ثوان إضافةً إلى متطلباتها القليلة تجعل هذه الطريقة قابلة للتطبيق حتى خارج مجال المختبر.

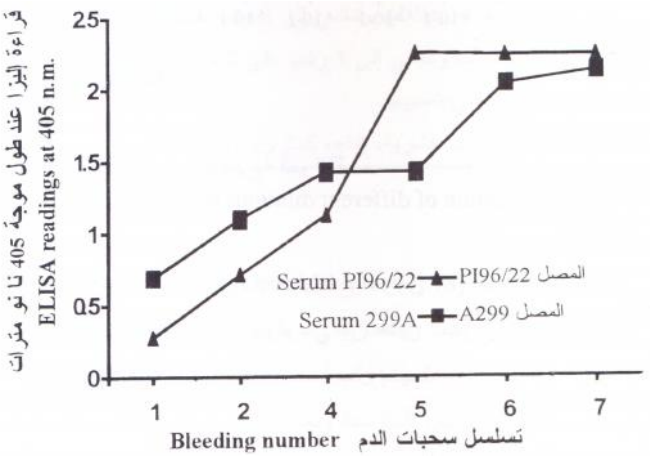
2. اختباراليزا مع تغطية الأطباق مباشرة بالبكتيريا (Direct antigen coating –ELISA)

أظهرت نتائج اختبار اليزا زيادة القيم عند الموجة 405 نانومترات خلال سحبات الدم المتعاقبة لكلا المصلين وذلك عند استعمال التخفيف 3200/1، الأمر الذي يشير إلى ارتفاع نسبة الأجسام المضادة في دم الأرنب مع مرور الزمن (شكل 1)، وبناءً على ذلك اعتبرت السحبة السادسة من الدم وما تلاها مناسبة لاعتماد دم الأرنب المحقون بالبكتيريا 299A والسحبة الخامسة للأرنب المحقون بالبكتيريا PI96/22 .

وعند مقارنة الدم المأخوذ بعد الحقن مع ذلك المأخوذ قبل الحقن للأرنبين وفق ثلاثة تخفيفات 200/1، 400/1 و 800/1، وباستخدام

الأنتجين الموافق للمصل والشاهد السلبي .*Bacillus* sp، لوحظ وجود فارق كبير في قراءة الإليزا بين دم الأرنب قبل الحقن وبعده لكلا الأرنبين (جدول 1).

وعند دراسة مدى تفاعل العزلات البكتيرية مع الأمصال المضادة المنتجة ضدهما وتفاعل كل مصل مضاد مع العزلة المنتجة ضده والعزلة الأخرى وباستعمال تخفيفات مختلفة للمصلين، وجد أن المصل المضاد للسلالة 299A تفاعل مع كلتا العزلتين على أن التفاعل الأقوى كان مع البكتريا المنتجة ضده أي السلالة 299A. وينطبق الأمر ذاته على المصل المضاد PI96/22 مما يشير وجود قرابة بين العزلتين (جدول 2).



شكل 1. عيارية سحبات الدم المتعاقبة للمصلين المضادين المنتجين ضد الأنتجين الموافق لكل منهما.

Figure 1. Titer of different bleedings of the two *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* antisera when used against the homologus antigen.

وعند دراسة كفاءة الأمصال المضادة المنتجة باستعمال ثمانية تخفيفات سحبة الدم السابعة لكلا المصلين المنتجين، وجد أن المصل المضاد 299A كان فعالاً حتى التخفيف 100000/1 إلا أن تحديد أقل تركيز للمصل يمكنه إعطاء تفاعل إيجابي كان 10000/1، حيث كان الانخفاض في قراءة الإليزا قليلاً مقارنةً مع التخفيف 100/1. إلا أن تحديد أقل تركيز للمصل المضاد لـ PI96/22 يمكن له إعطاء تفاعل إيجابي هو 10000/1 حيث كان الانخفاض في قراءة الإليزا قليلاً مقارنةً مع التخفيف 100/1، وذلك بالرغم من أن التفاعل كان مستمراً حتى التخفيف 100000/1 (شكل 2).

جدول 1. قيم إليزا للعزلتين 299A و PI96/22 من البكتيريا المسببة للمرض اللفحة البكتيرية على البازلاء *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* عند فحصهما مع الأمصال المنتجة ضدهما.

Table1. ELISA values obtained when testing two *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* isolates (299A and PI96/22) using homologous and heterologous antisera.

المصل المضاد المستخدم Antisera used	التخفيف المستخدم Dilution Used	قراءات اليزا عند الموجة 405 نانومترات ELISA readings at 405 nm الأنتجن المستخدم * Antigen tested*			
		299A	PI96/22	ش.س N. C	م. م Bu.
299 A (أرنب 1) 299 A (rabbit 1)	200/1	1.62	NT	0.51	0.55
	400/1	1.42	NT	0.64	0.63
	800/1	1.41	NT	0.45	0.57
قبل الحقن (أرنب 1) Normal serum (rabbit 1)	200/1	0.49	NT	0.34	0.39
	400/1	0.47	NT	0.33	0.51
	800/1	0.41	NT	0.47	0.46
PI96/22 (أرنب 2) PI96/22 (rabbit 2)	200/1	NT	1.40	0.66	0.50
	400/1	NT	1.45	0.55	0.50
	800/1	NT	1.34	0.44	0.47
قبل الحقن (أرنب 2) Normal serum (rabbit 2)	200/1	NT	0.57	0.30	0.28
	400/1	NT	0.58	0.50	0.42
	800/1	NT	0.48	0.39	0.35

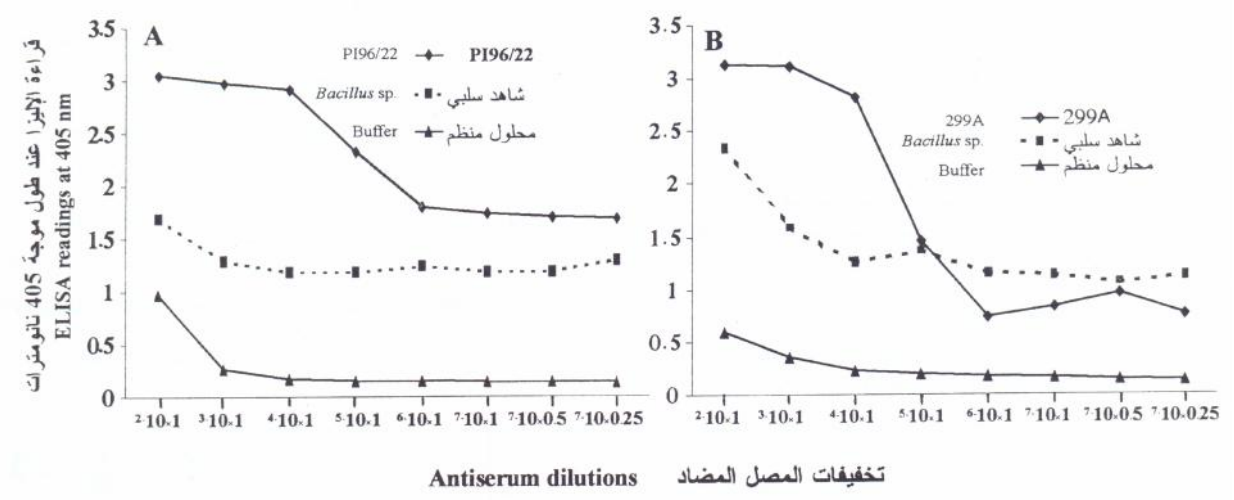
* ش.س = الشاهد السلبي (*Bacillus* sp.)، م.م= المحلول الكربونات المنظم
* N.C= Negative control (*Bacillus* sp.), Bu= Carbonate buffer
NT= Not tested NT = غير مفحوصة

جدول 2. تفاعل التخفيفات المختلفة لكلا المصلين المضادين مع موالدات الضد.

Table 2. Reactions of different dilutions of the two antisera against the antigens.

التخفيف المستخدم Dilution used	قراءات اليزا عند الموجة 405 نانومترات ELISA readings at 405 nm المصل المضاد لـ 299 A Antiserum for 299A				المصل المضاد لـ PI96/22 Antiserum for PI96/22			
	PI96/22	299A	شاهد سلبي Negative Control	محلول منظم Buffer	PI96/22	299A	شاهد سلبي Negative control	محلول منظم Buffer
غير مخفف Undiluted	1.48	1.52	0.65	0.60	1.46	1.26	0.70	0.62
1/200	1.49	1.67	0.44	0.35	1.40	1.10	0.46	0.23
1/400	1.42	1.67	0.35	0.31	1.36	1.01	0.29	0.27
1/800	1.41	1.53	0.30	0.22	1.44	1.11	0.19	0.16
1/1600	1.34	1.53	0.31	0.21	1.44	0.96	0.19	0.15
1/3200	1.31	1.53	0.29	0.21	1.41	0.91	0.15	0.14
1/6400	1.26	1.52	0.28	0.20	1.42	0.75	0.14	0.14

الشاهد السلبي كان *Bacillus* sp. Negative control was *Bacillus* sp



شكل 2. عيارية التخفيفات المختلفة للأمصال المضادة للعزلة PI96/22 (A) وللسلالة 299A (B) مع البكتيريا الموافقة.

Figure 2. Titration of different dilutions of PI96/22 (A) and 299A (B) antisera with the homologous bacteria.

أشارت نتائج اختباري التراص على الشريحة الزجاجية والإليزا إلى وجود قرابة بين السلالة 299A والعزلة PI96/22 المحلية للبكتيريا المسببة للفحة البكتيرية على البازلاء، إلاّ أن تلك القرابة لم تكن موجودة بينها وبين البكتيريا *P.s.* pv. *syringae* سلالة رقم 238C وهذه النتائج تؤكد ما ذكره Mazarei وآخرون (8) عن وجود براهين قاطعة على التخصص السيرولوجي بين هذين الممرضين بسبب وجود مولدات الضد السطحية المتخصصة بكل منهما.

Abstract

Hamwieh, A. K. Makkouk, B. Debs, A. El-Ahmed. 1999. Production of specific antiserum to *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* the causal organism of bacterial blight of pea in Syria. Arab J. Pl. Prot. 17(1): 26-30.

Bacterial blight caused by *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* is one of the most important diseases of peas in Syria. A specific antiserum was produced against the isolate PI96/22 and compared with the specific antiserum for the reference strain 299A. Tests (slide- agglutination test and ELISA) of both antisera revealed the occurrence of serological relationship between the reference strain and the strain isolated from Syria.

Key words: Bacterial blight, *Pseudomonas syringae* pv, *pisi*, *Staphylococcus aureus*, Peas, Syria.

References

المراجع

1. **Allan, E. and A. Kelman**, 1977. Immunofluorscent stain procedures for detection and identification of *Erwinia carotovora* var. *atroseptica.* Phytopathology. 67:1705-1312.
2. **Clark, M. and A. Adams** 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. J.Virol. 34:475-483.
3. **Fahy, P.C. and G.J. Persley.** 1983. Plant Bacterial Diseases. Academic Press, Sydney, 393 p.
4. **Hagedorn D. G**. 1985. Compendium of Pea Diseases, 2nd. The American Phytopathological Society, St. Paul, USA. 57 p.
5. **Koenig, R**. 1981. Indirect ELISA methods for the broad specificity detection of plant viruses. Journal of General Virology. 55:53-62.
6. **Lyons, N. F. and J. D. Taylor.** 1990. Serologicl detection and identification of bacterial blight from plants by the conjugated *Staphylococcus aureus* slide agglutination test. Plant Pathology. 39:584-590.
7. **Mazarei, M. and A. Kerr,** 1990. Distinguish pathovars of *Pesudomonas syringae* on peas: nutrition, pathogenicity and serological tests. Plant Pathology 39:278-285.
8. **Mazarei, M., M.R. Hajimorad and A. Kerr.** 1992. Specificity of polyclonal antibodies to different antigenic preparations of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* strain UQM551 and *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strain L. Plant Pathology. 41(4):437-443.
9. **Mollenbruck, G and E. Sander.** 1991. Optimisation of serological detection (ELISA) of the quarantine bacterium *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*, using IgY-type antibodies from chicken egg yolk and selection of a pea cultivar for biotest. Zeitschrift-fur-Pflanzenkrankheiten-und- flanzenschutz. 98(6) :630-639.
10. **Schaad, N.** 1988. Bacteria, inoculum threshold of seedborne pathogens. Phytopathology 78:872-875.
11. **Taylor, J.D. and D.W. Dye.** 1976. Evaluation of streptomycin seed treatment for the control of bacterial blight of peas (*Pseudomonas syringae* pv.*pisi* Sackett 1916). N. Z. J. Agric. Res., 19: 91-95.