المرجع	الموضوع
Noordam (١٩٧٣)	طرق التعرف على الفيروسات المسببة للأمراض النباتية .
Kiraly وآخرون (١٩٧٤)	مرجع رئيسى لأهم الاختبارات التى تجرى للتعرف على خصائص المسببات المرضية ، خاصة البكتيرية والفيروسية .
١٩٧٨ Taylor & Sasser	شرح مفصل لطرق التعرف على أهم أنواع نيماتودا تعقد الجذور وسلالاتها .
Schaad (١٩٨٠)	اختبارات التعرف على البكتيريا المسببة للأمراض النباتية .
Lelliott & Stead (١٩٨٧)	اختبار التعرف على الأمراض البكتيرية ومسبباتها .

تقدير أعداد البكتيريا فى الأنسجة النباتية المصابة

يلزم أحيانا تتبع أعداد البكتيريا فى الأنسجة النباتية المصابة ، ويجرى ذلك بطريقة العد فى الأطباق Plate Count Technique التى سبقت الإشارة إليها . ويوضح شكل (٣ -٣) كيفية تحضير سلسلة من التخفيفات للبكتيريا التى يحصل عليها من النسيج النباتى المصاب . يراعى غسيل العضو النباتى المستعمل أولا وتطهيره سطحيا ، ثم تؤخذ منه أقراص صغيرة باستعمال ثاقبة فلين . تهرس الأقراص فى هاون صينى ، مع استعمال ١ر٠ مل من الماء لكل قرص من الأنسجة الورقية ، ويستمر الاختبار كما فى طريقة العد فى الأطباق.

تحديد هوية الفيروسات المسببة للأمراض النباتية

يلزم فى هذا الصدد التفريق بين السلالات المختلفة لنفس الفيرس ، وبين الفيروسات المختلفة التى تنتمى لنفس مجموعة الفيروسات ، والفيروسات المختلفة كلية عن بعضها البعض ، كما يلى :

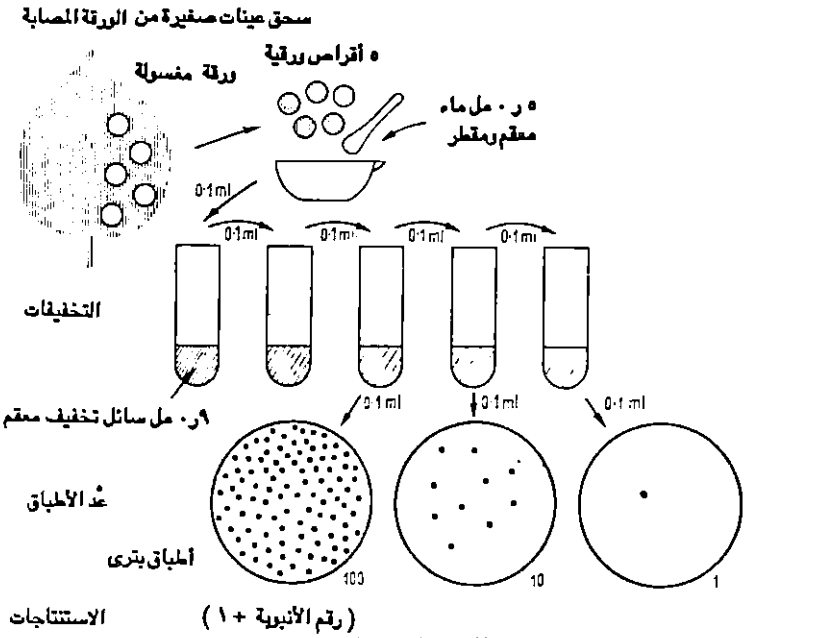
أولا : تختلف الفيروسات غير القريبة Unrelated عن بعضها فى صفة أو أكثر من الصفات الثابتة وراثيا ، مثل :

١ - نوع الحامض النووى وخصائصه .

٢ - حجم جزيئاته ، وشكلها ، ومدى تساوقها .

٣ - حجم وعدد البولى بيبتيدات فى جزىء الفيرس .

٤ - قدرة الجزيئات على التفاعل مع مضادات السيرم لجزيئات الفيروسات الأخرى .



عدد الخلايا البكتيرية / قرص ورقى = عدد المستعمرات × ١٠

$= ١ \times ١٠^{٥+١} = ١ \times ١٠^{٦}$

شكل (٣ -٣) : طريقة عَد المستعمرات البكتيرية فى الأطباق لتقدير تركيز المعلقات البكتيرية .

٥ – نوع الأعراض المرضية التى تحدثها فى عوائلها .

٦ – المجموعة التى تنتمى إليها الكائنات الناقلة له .

٧ – طبيعة العلاقة بين الفيرس والكائن أو الكائنات الناقلة له .

ثانياً : تشترك الفيروسات التى تنتمى إلى نفس المجموعة الفيروسية فى خاصية أو أكثر من الخصائص السابقة ، ولكنها قد تتميز بما يلى :

١ – الاختلاف فى بنية الغلاف البروتينى من الأحماض الأمينية بالقدر الذى يجعل لكل فيرس خصائص سيرولوجية ، وإليكتروفوريتية electrophoretic (الحركة فى المجال الكهربائى) تميزه عن غيره من الفيروسات .

٢ – يكون لها أنواع مختلفة من الكائنات الناقلة لها ، ولكنها تكون قريبة من بعضها .

٣ – تختلف فى مدى عوائلها وشدة الأعراض التى تحدث بها ، ولكنها تتشابه فى نوع الأعراض المرضية التى تحدثها .

ثالثاً : تتشابه سلالات الفيرس الواحد فى معظم الخصائص ، ولكنها غالبا :

١ – تختلف قليلا فى بنية الغلاف البروتينى من الأحماض الأمينية ، ولذا .. فإنها تختلف قليلا فى خصائصها السيرولوجية والإليكتروفوريتية .

٢ – تختلف فى نوع Species الكائن الناقل لها ، أو فى مدى سهولة انتقالها به .

٣ – تحدث أعراضا تختلف فى شدتها (Gibbs & Harrison ١٩٧٦) .

يستدل على هوية الفيروسات النباتية بعديد من الشواهد والاختبارات ، ويستفاد من بعض هذه الاختبارات فى دراسات التربية لمقاومة هذه الفيروسات ، ولذا .. فإننا نذكر – فيما يلى – بعضا من هذه الطرق ؛ لتكون دليلا للمربى فى هذا المجال .

اولاً: أعراض الإصابات الفيروسية

برغم أنه لايمكن الاعتماد كلية على أعراض الإصابة فى تحديد هوية الفيروسات المسببة للأمراض النباتية ، إلا أنها تعد مرشدا هاما فى هذا الشأن يمكن أن يوجه الباحث نحو الاتجاه الصحيح من حيث كون الإصابة فيروسية ، أم غير فيروسية ، ومن حيث حصرها فى مجموعة فيروسات معينة تتشابه من حيث الأعراض التى تحدثها للنباتات .

ويجب أن يراعى أن نفس الأعراض المشاهدة يمكن أن تحدثها الإصابة بفيروسات مختلفة ، كما أن الفيرس الواحد يمكن أن يحدث مدى من الأعراض ، ويتوقف ذلك على التركيب الوراثى للعائل والظروف البيئية . هذا .. ولا يستدل – بالضرورة – من اختفاء الأعراض على عدم وجود إصابات فيروسية ، فقد تكون الإصابة كامنة أو مستترة Latent . ونتناول – فيما يلى – أعراض الإصابات الفيروسية بشىء من التفصيل .

١ – المظهر العام للإصابة :

يتباين المظهر العام للنباتات المصابة بالفيروسات ، فقد تأخذ الأعراض مظهر تغيرات فى اللون ، أو تقزم Dwarfing ، أو توقف عن النمو Stunting، أو تورد Rosetting (نتيجة لقصر السلاميات ؛ مما يجعل الأوراق متقاربة من بعضها ، كما تتقارب بتلات الوردة) ، أو شكل المكنسة Witches' Broom (نتيجة لزيادة التبرعم ، والتفرع مع التقزم

وقصر السلاميات) ، أو التدهور Decline (نتيجة لفقد قوة النمو) الذى قد يشمل النبات كله، أو أجزاء منه .

٢ – الانحرافات فى اللون :

أ – الأوراق :

(١) تغيرات اللون المتجانسة التوزيع :

قد تكون تغيرات اللون متجانسة التوزيع على كل سطح الورقة ، ويتضمن ذلك : اللون الأخضر الباهت chlorosis ، واللون الأبيض bleaching ، و الاصفرار yellowing ، والاحمرار reddening ؛ بتكوين صبغة الأنثوسيانين ، (وهو ما قد يختلط بأعراض نقص العناصر) ، والتلون البنى browning والأسود blackening ؛ بتكوين مركبات الميلانين القاتمة اللون ، والتلون البرونزى bronzing ؛ نتيجة لتحلل وانهيار خلايا البشرة مع بقاء النسيج الوسطى سليما (وهو ما قد يختلط بأعراض الإصابة بالعنكبوت الأحمر) .

(٢) تغيرات اللون غير المتجانسة التوزيع :

قد تكون تغيرات اللون غير متجانسة التوزيع ، ويتضمن ذلك ما يلى :

(أ) الموزايك Mosaic :

يتميز الموزايك بظهور مناطق خضراء باهتة اللون ، أو صفراء متبادلة على سطح الورقة مع مناطق خضراء تكون هذه المناطق ذات زوايا ؛ حيث تحدها العروق الصغيرة التى توجد بالورقة .

(ب) التبرقش Mottling :

تكون المناطق المختلفة فى اللون متبادلة مع المناطق الطبيعية اللون كما فى الموزايك ، إلا أنها تكون متداخلة مع بعضها ، وذات حواف دائرية .

(جـ) البقع الموضعية Local Lesions :

تتراوح البقع الموضعية فى المساحة من بقع صغيرة مثل سن الدبوس pin - point إلى

مساحات كبيرة غير منتظمة الشكل . وتكون هذه البقع صفراء ، أو متحللة .

(د) البقع الحلقية Ringspots :

قد تكون الحلقات مفردة ، أو عديدة ومتتابعة حول مركز واحد للبقعة Concentric ، وتشمل أنسجة صفراء أو متحللة يفصل بينها نسيج سليم .

(هـ) التخطيط Streaking :

يظهر التخطيط على شكل مناطق صفراء طويلة ذات حدود واضحة .

(٣) تغيرات اللون المتجانسة التوزيع على أجزاء معينة من الورقة .. ويتضمن ذلك مايلى:

(أ) اصفرار العروق Vein Yellowing:

يظهر اللون الأصفر على العروق نتيجة لغياب الكلوروفيل مع بروزلون الكاروتينات والزانثوفيللات .

(ب) شفافية العروق Vein Clearing :

تبدو العروق نصف شفافة Translucent .

(جـ) تحوط العروق Vein Banding :

تبدو العروق محاطة بمناطق مختلفة اللون عن بقية نصل الورقة .

(د) تحلل العروق Vein Necrosis :

يكون ذلك مصاحبا بموت النسيج الوعائى فى الورقة وتحلله واكتسابه لونا بنيا .

ب – الأزهار :

إن من أهم التغيرات فى لون الأزهار ما يلى :

(١) تحول الأجزاء الزهرية إلى أوراق خضرية Phyllody :

(٢) انحرافات فى لون بتلات الزهرة بزيادة شدة اللون ، أو ضعفه ، أو حدوث تغير فى

الصبغات التى توجد فى طبقة البشرة فى بتلات الزهرة

(٣) تغير فجائى Breaking ، يكون عادة على صورة نقط ، أو خطوط ، أو أجزاء من نسيج متغير اللون ، وهى أعراض قد تختلط مع التغيرات الوراثية .

(٤) الاخضرار العام للبتلات Verescence .

جـ – الثمار :

قد تشمل التغيرات فى لون الثمار كل الثمرة ، أو أجزاء منها ، وتكون هذه التغيرات على شكل تعريق (مثل الرخام) Marbling ، أو تبرقش ، أو تبقع Spotting .

د – الجذور :

قد تكون التغيرات فى لون الجذور على شكل بقع ، أو تحلل .

٢ – التشوهات Malformations :

قد تشمل التشوهات أيا من الأجزاء النباتية كما يلى :

أ – الأوراق :

قد تظهر تشوهات الأوراق على إحدى الصور التالية :

(١) تحرف أو تشوه Distortion .. مثل التغضن Crinkling ، والالتفاف Curling ، والالتواء Twisting .

(٢) الانحناء لأسفل Epinasty .

(٣) ضيق نصل الورقة Narrowing مع بقاء نمو العروق طبيعيا تقريبا .

(٤) صغر الحجم .

(٥) زيادة السمك .. وقد يشمل ذلك كل نصل الورقة ، أو أجزاء منه ، أو يقتصر على العروق .

(٦) تكون بروزات على نصل الورقة Enation يترتب عليها غالبا التفافها .

ب – الأزهار .. تحدث بها أنواع مختلفة من التشوهات ، وقد تظهر أجزاء زهرية غير طبيعية .

جـ – الثمار .. تتكون ثمار مشوهة وذات أشكال غير منتظمة ، كما قد تتكون تورمات سرطانية ، وقد تفشل البذور فى إكمال تكوينها .

د – السيقان .. تحدث بها تشوهات ، وقد تقصر السلاميات .

هـ – الجذور .. قد تتحلل ، أو تموت من القمة نحو القاعدة dieback ، وقد تتكون بها أورام سرطانية .

٤ – أعراض أخرى :

تشمل الأعراض الأخرى للإصابات الفيروسية : الذبول ، و سقوط الأوراق Defoliation ، والسقوط المبكر للأوراق ، والانحراف عن العدد الطبيعى للأزهار ، والإزهار المبكر أو المتأخر عن الموعد الطبيعى، وظهور طعم غير طبيعى للثمار ، وتكوين إفرازات غير طبيعية ، والتصمغ gummosis ، وحرشفة القلف Bark Scalling ، وتكون النقر بالخشب Wood Pitting ، وتورم النموات الخضرية ، وعدم توافق الطعوم Graft Incompatibility .

٥ – احتجاب الأعراض Masking of Symptoms :

لا تظهر أية أعراض للإصابة بالفيروسات – تحت بعض الظروف – بالرغم من وجود الفيرس فى النبات ، وهى الحالة التى تعرف باسم الإصابة الكامنة Latent Infection ، وترجع إلى عوامل بيئية خاصة كدرجة الحرارة ، والضوء ، ونقص أو زيادة العناصر الغذائية .

٦ – تحمل الإصابة Tolerance :

تظهر حالة تحمل الإصابة عندما لا تظهر أية أعراض مرضية على النبات بالرغم من حمله للفيرس ، وهى ترجع إلى التركيب الوراثى للعائل .

٧ – العوامل المسببة لأعراض شبيهة بأعراض الإصابات الفيروسية :

من أهم هذه العوامل الطفرات التى تتسبب فى ظهور نموات غير طبيعية ، ونقص

العناصر ، وأضرار مبيدات الحشائش ، و أضرار الإصابات الحشرية والأكاروسية ، وأضرار ملوثات الهواء الجوى .

وتتميز جميع هذه الحالات بأن أعراضها لاتنتقل خلال التطعيم ، أو مع العصير الخلوى.

ثانياً: وسائل انتقال الإصابة بالفيرس

يعد تحديد الوسائل التى ينتقل بها الفيرس فى الطبيعة أمرا بالغ الأهمية ، وليس فقط لتحديد هوية الفيرس ، و إنما كذلك لدراسات التربية لمقاومة الفيرس ، وفضلاً عما لذلك من أهمية بالغة فى التعرف على أكثر الوسائل فاعلية فى مكافحة الفيرس . ولذا .. فإننا نتناول موضوع انتقال الفيروسات إلى النباتات بالتفصيل فى موضع آخر من هذا الكتاب .

ثالثاً: تحديد حجم الفيرس وشكله

يتحدد حجم وشكل الفيرس بواسطة الميكرسكوب الأليكترونى ، ويستخدم لذلك تحضيرات نقية ، أو شبه نقية semi - purified من الفيرس ؛ الأمر الذى يتطلب عدة دورات من الطرد المركزى السريع والبطىء ، يعقبها طرد مركزى يعتمد على الكثافة Centrifugation Density ويمكن كذلك إجراء الفحص باسخدام العصير الخلوى للنبات . وللتفاصيل الخاصة بهذه الطريقة .. يراجع Green (١٩٨٤) .

رابعاً: تحديد الخصائص الطبيعية للفيرس

من أهم الخصائص الطبيعية التى تفيد فى التعرف على هوية الفيرس ما يلى :

١ – درجة الحرارة المثبطة للفيرس Thermal Inactivation Point :

تعرف درجة الحرارة المثبطة للفيرس بأنها الدرجة التى تلزم لتثبيط نشاط الفيرس – فى العصير الخلوى – تماما خلال فترة تعرض للحرارة مقدارها عشر دقائق .

ولإجراء اختبار درجة الحرارة المثبطة للفيرس .. يتم تحضير العصير الحلوى للنبات المصاب بالفيرس فى محلول منظم مناسب ، ثم ترشيحه ، وإضافة ملليلترين من الراشح إلى كل واحدة من ثمانى أنابيب خاصة ذات غطاء بـ " قلاووظ " توضع هذه الأنابيب فى

حمامات مائية ذات درجات حرارة تتراوح من ٣٠ – ١٠٠°م بفارق ١٠°م بينها . تترك الأنابيب فى الحمامات المائية لمدة ١٠ دقائق ، ثم تخفض حرارتها بسرعة ؛ بتعريضها لتيار من الماء البارد . ويلى ذلك اختبار فاعلية الفيرس بعد المعاملة باستخدامه فى عدوى نباتات قابلة للإصابة ، ويفضل أن تكون النباتات من التى يحدث فيها الفيرس بقعا موضعية .

تلاحظ النباتات المختبرة لمدة أربعة أيام إلى ثلاثة أسابيع ، وعلى ضوء النتائج .. يحدد المجال الحرارى الذى يحدث عنده التثبيط (مثلاً من ٦٠ – ٧٠°م) . ولتحديد درجة الحرارة التى يحدث عندها التثبيط .. يكرر الاختبار السابق مع استخدام حمامات مائية ذات درجات حرارة تتراوح من ٥٩ – ٧١ °م بفارق ثلاث درجات ، حيث تكون درجة الحرارة المثبطة للفيرس هى أقل درجة حرارة لا يصاحبها ظهور أية أعراض للإصابة بالفيرس .

ويقدر معامل التثبيط الحرارى Thermal Inactivation Coefficient للفيرس – فى الحالات التى يُحدث فيها الفيرس بقعا موضعية على النباتات المختبرة – كما يلى :

$$Q_t = \frac{C_o - C_T}{C_o - C_{T-t}}$$

حيث :

Q_t = معامل التثبيط الحرارى الذى يرتبط بفرق فى درجة الحرارة قدره t .

C_o = التركيز الأصلى للفيرس (عدد البقع الموضعية التى يحدثها العصير الخلوى غير المعامل حراريا) .

C_T = تركيز الفيرس بعد معاملته حراريا عند درجة حرارة T.

C_{T-t} = تركيز الفيرس بعد معاملته حراريا عند درجة حرارة مقدرها (T – t).

وتكون قيمة t عاده ١٠ درجات مئوية ، كما تكون قيمة Q_t أكثر دقة كلما كانت T أقل قليلا من درجة التثبيط الحرارى .

٢ – فترة احتفاظ الفيرس – وهو خارج العائل – بقدرته على إحداث

الإصـــابة In Vitro Longevity :

تعرف هذه الفترة بأنها المدة التى يظل معها الفيرس – المحمول فى العصير الخلوى المستخلص من النبات المصاب – قادرا على إحداث الإصابة ، مع حفظ العصير الخلوى خلال تلك الفترة فى درجة حرارة الغرفة (٢٠ – ٢٢°م) .

وتقدر تلك الفترة بتحضير عصير خلوى رائق (مرشح) لنبات مصاب ، ويضاف إليه ٠,١ ٪ ستربتوميسين ، أو أوريوميسين Aureomycin لمنع أى تلوث بكتيرى . ويلى ذلك وضع العصير المعامل فى أنابيب ذات غطاء بـ " قلاووظ " بمعدل ملليلترين من العصير بكل أنبوبة . ويستخدم العصير المخزن بهذه الطريقة فى عدوى عائل مناسب ، ويفضل أن يكون من العوائل التى يحدث فيها الفيرس بقعا موضعية .

يجرى اختبار فاعلية الفيرس بعد ١ ، و٣ ، و٦ ، و٩ ، و١٢، و١٥ ، و ٣٠ ، و ٦٠ ، و٩٠ ، و ١٥٠ يوما من التخزين . وإذا اتضح أن مدة احتفاظ الفيرس بفاعليته تقع بين فترتين متباعدتين (مثل بين ١٥ ، و ٣٠ ، أو بين ٣٠ ، و ٦٠ يوما) .. لزم إعادة الاختبار ، مع قصر معاملات التخزين فى حدود الفترتين اللتين دل عليها الاختبار الأول ، و اختبار فاعلية الفيرس كل ٢ – ٥ أيام .

وإذا أجرى هذا الاختبار على فيرس يحدث بقعا موضعية على عوائل دالة indicator hosts ، فإنه يمكن تقدير " فترة نصف الحياة " Half- Life time – وهى الفترة التى تفقد فيها عشيرة متجانسة من الفيرس نصف نشاطها – حسب المعادلة التالية :

$$t_{1/2} = \frac{T \log 2}{\log P_0 - \log P_1}$$

حيث إن :

$t_{1/2}$ = فترة نصف الحياة .

P_0 = نشاط العشيرة الأصلية (العصير الخلوى المستخلص قبل تخزينه) .

P_1 = نشاط العشيرة بعد مرور فترة مقدارها T .

T = فترة المعاملة .

٣ – نقطة التخفيف النهائى Dilution End Point :

تعرف نقطة التخفيف النهائى بأنها أقصى تخفيف ممكن للعصير الخلوى للنبات المصاب يسمح باستمرار احتفاظه بالقدرة على إحداث الإصابة بالفيرس .

وتقدر نقطة التخفيف النهائى بسحق أوراق نبات مصاب (فى هاون صينى) مع كمية قليلة من محلول منظم buffer مناسب ، ثم تحضير سلسلة من التخفيفات من العصير الخلوى تتراوح من ١٠ $^{-١}$ إلى ١٠ $^{-٨}$ بفارق ١٠ $^{-١}$. يحضر كل تخفيف برج التخفيف السابق له جيدا ، ثم يؤخذ منه ملليلتر ويخفف بـ ٩ مل من المحلول المنظم . تستخدم هذه المستويات من العصير الخلوى الأصلى والمخفف فى عدوى عائل مناسب ، و يفضل أن يكون من العوائل التى يُحدث فيها بقعا موضعية . وبناء على نتيجة الاختبار .. يحدد أقصى تخفيف يستمر معه الفيرس فى إحداث الإصابة .

خامساً : التعرف على مدى عوائل الفيرس Virus Host Range

يجرى الاختبار – فى حالة الفيروسات التى تنقل ميكانيكا – بسحق جزء من أوراق مصابة فى هاون صينى مع خمسة أجزاء من محلول منظم مناسب ، وترشيح الناتج بعصره خلال قطعة من الشاش المعقم ، ثم يستخدم العصير الرائق فى عدوى أكبر عدد ممكن من الأنواع النباتية .

سادساً : الاختبارات السيرولوجية Serological Tests

تعتمد معظم الاختبارات السيرولوجية على الترسيب الذى يحدث عند تقابل واتحاد الأجسام المضادة antibodies (السيرم المنيع antiserum) مع الأنتيجينات (الفيرس). ويجب تحضير السيرم المنيع باستخدام تحضيرات نقية أو شبه نقية من الفيرس . كما يمكن الحصول على السيرم المنيع لكثيرمن الفيروسات من :

ATCC(American Type Culture Collection)
12301 Parklawn Drive
Rockville
Maryland 20852
USA

(عن Green ١٩٨٤) .

استخدام الأرانب فى إنتاج السيرم المنيع للفيروسات

يجب أن تكون الأرانب المستخدمة فى إنتاج السيرم المنيع Antiserum كبيرة الحجم ، وأن تكون آذانها كبيرة وذات عروق واضحة .

تستخدم حقن بحجم ملليلتر واحد مع ضرورة أن تكون إبرتها دقيقة . تملأ الحقنة بتحضير الفيرس ، ويطرد منها الهواء ، ثم تُحقن بها الأرانب داخل العرق الذى يمتد بطول السطح العلوى للأذن بمحازاة الحافة ، وعلى مسافة ٣ – ٤ مم منها . ولاتفيد محاولة استخدام العروق الأخرى برغم أن بعضها يبدو أكبر حجما .

وفى حالة إعطاء الأرنب سلسلة من الحقن فإنه يفضل إعطاء الأولى منها قرب نهاية الأذن ، ثم تعطى الباقيات فى مواضع متتالية تقترب من قاعدة الأذن تدريجيا .

وبعد مرور أسبوعين من الحقن .. تتم إسالة دم الأرنب من الأذن الأخرى بعمل قطع صغير فى العرق الحافى بالقرب من قاعدة الأذن باستعمال مشرط حاد . وفى حالة عمل سلسلة من القطوع لإسالة مزيد من دم الأرنب فإنه يفضل عملها فى مواضع متتالية تقترب من طرف الأذن تدريجيا .

يجمع الدم فى أنبوبة اختبار ، ويترك لعدة ساعات حتى يتخثر ، ثم يفرغ السيرم المنيع ويوضع فى جهاز طرد مركزى للتخلص من أية خلايا دم حمراء قد تكون متبقية فيه .

وجدير بالذكر أن هذا السيرم المنيع لا يكون معقما ، ولذا .. يجب تخزينه فى ظروف جيدة تمنع النمو البكتيرى فيه (Smith ١٩٧٧) .

وأكثر الإختبارات السيرولوجية استخداما ما يلى :

١ – اختبار الترسيب الدقيق Microprecipitation test فى أنابيب اختبار صغيرة.

٢ – اختبار أو شترلونى Ouchterlony agar gel double diffusion test فى أطباق بترى .

٣ – اختبار المناعة المرئى بالميكرسكوب الإليكترونى Immunosorbent electron

. (ISEM) microscopy

٤ – اختبار المناعة المرتبط بالإنزيمات Enzyme - linked immunosorbent assay (اختصاراً : ELISA) .

يمكن إجراء الاختبارات السابقة باستخدام العصير الخلوى العادى ، أو الرائق ، أو الفيرس النقى .

ولمزيد من التفاصيل عن الاختبارات السيرولوجية التقليدية .. يراجع Ball(١٩٦١) .