شباهت الگوی الکتروفورز پروتئین استرین‌های *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* جداشده از مرکبات استان‌های هرمزگان وکرمان با استرین‌های برخی دیگر از گونه‌های *Xanthomonas*

غلام خداکرمیان[1*] و ژان سوینگز[2]

(تاریخ دریافت: ۸۶/۶/۲۴ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۶/۱۱/۳۰)

چکیده

الگوی پروتئین الکتروفورز شده ۲۱ استرین *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* جدا شده از مرکبات دو استان هرمزگان و کرمان به همراه استرین‌های استاندارد نماینده *X. a.* pv. *citri* و *X.a.* pv. *aurantifoli* توسط نرم افزار Gel Compar version 4.2 با ۲۴۶ استرین از گونه‌های: *X. a.* pv. *citri, X. a.* pv. *glycins*, *X. a.* pv. *manihotis, X. campestris* pv. *campestris, X. a.* pv. *phaseoli, X. cassavae, X. vesicatoria, X. c.* pv. *euphorbia, X. c.* pv. *arracaciae, X. a.* pv. *malvacearum, X. a.* pv. *clitoriae, X. a.* pv. *citrumelo, X. a.* pv. *aurantifolii, X. a.* pv. *alfalfae*, *X. cucurbitae, X. a.* pv. *dieffenbachiae, X. vasicola.* pv. *holcicola*, *X. melonis, X. hortorum.* pv. *pelargonii*, *X. a.* pv. *poinsettiicola, X. arboricola* pv. *pruni, X. c. pv. raphani, X. a.* pv. *ricini, X. a.* pv. *vasculorum*, *X. a.* pv. *vesicatoria, X. c. vignicola, X. c.* pv. *armoraciae,* و *X. c.* pv. *barbareae* مقایسه و میزان شباهت آنها محاسبه شد. نتایج نشان داد که شباهت استرین‌های مورد بررسی به طور متوسط بیش از ۸۶٪ بود. استرین‌های جدا شده از استان‌های هرمزگان و کرمان دارای بیشترین شباهت(۱۰۰٪) به استرین‌های *X. a.* pv. *citri* LMG 9176 و *X. a.* pv. *citri* LMG 9654 و کمترین شباهت(۸۴/۹۰٪)به استرین‌های *X. c.* pv. *euphorbia* LMG 7402 و *X. a.* pv. *ricini* LMG 7444 بودند. شباهت کامل الگوی پروتئین الکتروفورزشده استرین‌های جدا شده از استان‌های هرمزگان و کرمان به برخی استرین‌های پاتوتیپ A یا *X. a.* pv. *citri* با الگوی بیماری‌زایی آن که در مطالعات پیشین ما تعیین شده بود، مطابقت دارد.

واژه‌های کلیدی: شانکر باکتریایی مرکبات، کرمان، هرمزگان، *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* ، *Xanthomonas*

مقدمه

پروتئین‌ها یکی از منابع اطلاعاتی مهم برای تعیین ویژگی‌ها، شناسایی و رده‌بندی میکروارگانیسم‌ها بوده و الکتروفورز پروتئین روش حساسی است که معمولاً قادر به تفکیک شباهت‌ها و تفاوت‌ها در بین استرین‌های یک گونه، زیر گونه یابیوتیپ می‌باشد(۹). هنگامی که پروتئین‌های محلول سلولی باکتری‌ها در ژل پلی‌آکریل‌آمیدالکتروفورز می‌شوند، استرین‌های وابسته به یک گونه، الگوی مشابه داشته ولی الزاماً یکسان (Identical) نبوده وممکن است برخی از نوارهای پروتئینی پررنگ‌تر از بقیه باشند. در این حالت الگوی عمومی نوارهای

۱. استادیار بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

۲. استاد باکتری شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گنت، بلژیک

* : مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Khodakaramian@yahoo.com

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1387.12.45.23.5]

پروتئینی مشابه بوده و ممکن است نوارهای خاصی با هم متفاوت باشند. بررسی‌های پژوهشگران مختلف نشان داده که همیشه رابطه‌ای بین میزان شباهت الگوی الکتروفورز شده پروتئین و DNA:DNA hybridization وجود دارد از جمله کاتو و همکاران (۶) مشاهده کردند که استرین‌های با بیش از ۸۰٪ شباهت در DNA الگوی الکتروفورزی پروتئین مشابه دارند ولی استرین‌های با ۷۰٪ شباهت در DNA، تفاوت‌های جزئی داشته و چنانچه شباهت DNA کمتر از ۷۰٪ باشد تفاوت‌های قابل توجهی در الگوی الکتروفورز شدهٔ پروتئین دیده می‌شود. اهمیت روش الکتروفورز پروتئین در رده‌بندی استرین‌های جنس *Xanthomonas*، ابتدا به وسیله ال‌شرکاوی و هیوزینق (۵) گزارش گردید و بعد توسط واترین و همکاران به صورت وسیع درگروه‌بندی استرین‌های جنس *Xanthomonas* از منابع مختلف استفاده شد (۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳ و ۱۴). پس از آن این روش رایانه‌ای شد و هر بار استرین‌های زیادی از باکتری‌های مختلف مورد تجزیه قرارگرفتند، از جمله سن‌توس و دیانز (۷) تفاوت‌های *X. a.* pv. *manihotis* و *X. c.* pv. *casala* را با روش الکتروفورز پروتئین نشان دادند و واترین و همکاران (۱۰) با مقایسه ۱۵۵ استرین *X. c.* pv. *Begoniae*، *X. hortorum.* و *X. c.* pv. *pelargonii* جمع‌آوری شده از نقاط مختلف جهان، نتیجه گرفتند که این دو پاتووار شبیه بوده ولی از *X. c.* pv. *campestris* قابل تفکیک هستند. در یک بررسی گسترده با روش الکتروفورز پروتئین، ۳۰۷ استرین از گونه‌های جنس *Xanthomonas* و۲۷ پاتووار از *X. campestris* به وسیله واترین و همکاران (۱۲) در ۱۹ دسته، گروه‌بندی شدند.

استرین‌های *X. axonopodis* عامل شانکر و لکه برگی مرکبات از نظر ویژگی‌های بیماری‌زایی در سه پاتووار و پنج پاتوتیپ قرار می‌گیرند که این پاتوارها و تیپ‌ها شامل *X. a.* pv. *citri* یا تیپ A، *X. a.* pv. *aurantifolii* یا تیپ‌های B، C و D و *X. a.* pv. *citrumelo* یا تیپ E هستند. واترین و همکاران (۱۱) استرین‌های نماینده پاتوتیپ‌های عامل بیماری شانکر و لکه برگی مرکبات را باروش الکتروفورز پروتئین به چهار گروه تفکیک کردند که گروه یک شامل استرین‌های تیپ A، گروه دو استرین‌های تیپ B، D و برخی استرین‌های تیپ A، گروه سه شامل استرین‌های تیپ C و گروه چهار شامل استرین‌های تیپ E بودند. نتایج این تحقیق نیز گویای حساسیت این روش می‌باشد که با نتایج DNA:DNA hybridization مطابقت داشته است. در هیچ‌یک از تحقیقات انجام شده در ایران، استرین‌های *X. axonopodis* عامل بیماری شانکر مرکبات استان‌های هرمزگان و کرمان که ابتدا توسط علیزاده و رحیمیان(۳) گزارش گردید و بعد به وسیله مستوفی زاده (۴) برخی ویژگی‌های آنها بررسی شد، استفاده از الکتروفورز پروتئین برای گروه‌بندی استرین‌های این باکتری به کار گرفته نشده است. هدف این تحقیق بررسی هم‌گونی و یا ناهم‌گونی استرین‌های باکتری عامل شانکر مرکبات جنوب ایران و تعیین میزان شباهت آنها به استرین‌های سایر گونه‌های *Xanthomonas* است تا نشان داده شود که بررسی الگوی الکتروفورز پروتئین به تنهایی برای تفکیک و شناسایی پاتووارها و حتی گونه‌های یک جنس کافی نیست و باید از روش‌های دیگرهمانند بررسی بیماری‌زایی نیز کمک گرفت. از نظر شباهت الگوی پروتئینی، برخی از گونه‌های *Xanthomonas* دارای درجه شباهت مشابه و حتی بیشتر از استرین‌های درون یک گونه به همدیگر می باشند و لذا مقایسه الگوی پروتئین به تنهایی برای شناسایی و تفکیک گونه‌های مختلف یک جنس کافی نبوده و قابل اعتماد نمی‌باشد. استرین‌های عامل بیماری شانکر باکتریایی مرکبات قبلاً از نظر ویژگی‌های بیماری‌زایی، دامنه میزبانی، الگوی پروتئین و فنوتیپی به وسیله خداکرمیان و همکاران (۱و۲) بررسی شده‌اند و در این بررسی با سایرگونه‌های *Xanthomons* مقایسه شدند.

مواد و روش‌ها

استرین‌های مورد استفاده در جداول ۱ و ۲ نشان داده شده‌اند.

الکتروفورز پروتئین‌های سلولی و تجزیه آنها با نرم افزار Gel Compar

استرین‌های نماینده گونه‌های مختلف *Xanthomonas* و پنج

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1387.12.45.23.5]

جدول۱. استرین‌های بررسی شده *Xanthomonas axonopodis* عامل بیماری‌های شانکر و لکه برگی باکتریایی مرکبات

محل جدا سازی	شمارهٔ استرین	نام پاتووار
نیوزلند	LMG - 680, 9654, 9659	*X.a.* pv. *citri*
آرژانتین	LMG - 9181, 9183	*X.a.*pv.*aurantifolii*
آمریکا	LMG- 9163	*X.a.* pv. *citrumelo*
ایران	R- 4818, 4867, 4869, 4891, 4894, 4904, 4906, 4907, 4917,4929, 5226, 5235, 5239, 422, 5423, 5424, 5427, 5439, 5440, 5242, 5443, 5242	*X.a.* pv. *citri* *X.a.* pv. *citri* *X.a.* pv. *citri*

*: LMG و R به ترتیب کلکسیون دائمی و موقت آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه GENT کشور بلژیک

جدول ۲. استرین‌های برخی گونه‌های *Xanthomonas* مقایسه شده با استرین‌های *X. axonopodis* pv. *citri* جدا شده از مرکبات استان‌های هرمزگان و کرمان

شمارهٔ استرین	نام استرین باکتری
LMG - 8080	*X. a.* pv. *alfalfae*
LMG - 7383	*X. c.* pv. *armoraciae*
LMG - 8240, 8242	*X. c.* pv. *arracaciae*
LMG - 7385, 547	*X. c.* pv. *barbareae*
LMG - 568, 575, 947, 8095, 7514	*X. c.* pv. *campestris*
LMG - 8048, 8237	*X. cassavae*
LMG - 680, 681, 682, 683, 8650, 8653, 8654, 8657, 9176, 9178, 9652, 9653, 9655, 9656, 9657, 9654, 9659, 9660, 9662, 9663, 9664, 9666, 9667, 9668, 9669, 9670, 9671, 9672	*X. a.* pv. *citri* *X. a.* pv. *aurantifolii*
LMG - 9182, 9185	*X. a.* pv. *citrumelo*
LMG - 9168, 9321	
LMG - 9045	*X. a.* pv. *clitoriae*
LMG - 7479, 8689	*X. cucurbitae*
LMG - 695, 8664	*X.a..*pv. *dieffenbachiae*
LMG - 863, 7402	*X. c.* pv. *euphorbiae*
LMG -712, 7488, 8023, 8125, 8128	*X. a.* pv. *glycins*
LMG - 736	*X. vasicola.* pv. *holcicola*
LMG - 760, 763, 764, 7426, 7427, 7428, 7429, 9572,11169	*X.a.* pv. *malvacearum*
LMG - 766, 769, 771, 777, 779, 780, 784	*X. a.* pv. *manihotis*
LMG - 8673	*X. melonis*
LMG - 7312, 7314	*X. hortorum.* pv. *pelargonii*
LMG - 823, 834, 8014	*X. a.* pv. *phaseoli*
LMG - 849, 8677, 8678	*X. a.* pv. *poinsettiicola*
LMG - 851	*X. arboricola* pv. *pruni*
LMG - 7505, 8010	*X. c.* pv. *raphani*
LMG - 864, 7442, 7444, 8683	*X. a.* pv. *ricini*
LMG - 902	*X. a.* pv. *vasculorum*
LMG -667, 668, 904, 905, 906, 907, 908, 910, 913, 914, 922, 7514	*X. vesicatoria*
LMG - 839, 8138	*X. a.* pv. *vignicola*

*: LMG کلکسیون دائمی آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه GENT کشور بلژیک

پاتوتیپ شناخته شده باکتری عامل بیماری‌های شانکر و لکه برگی مرکبات به همراه استرین‌هایی که پیش از این بررسی از مرکبات جنوب ایران جداسازی و ویژگی‌های فنوتیپی، بیماری‌زایی و دامنه میزبانی آنها توسط خداکرمیان و همکاران بررسی گردیده بود (استرین‌های ذکر شده جدول ۱) مورد استفاده قرار گرفت (۱ و ۲). یاخته‌های باکتری در تشتک‌های حاوی محیط

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1387.12.45.23.5]

کشت GYCA(Glucose Yeast Chalk Agar) که شامل: ۱٪ گلوکز، ۰/۵٪ شیرهٔ مخمر، ۳٪ کربنات کلسیم و ۲٪ آگار بود، کشت شدند. تشتک‌ها به مدت یک تا دو روز، در دمای ۲°C نگه‌داری شدند. استخراج پروتئین، الکتروفورز در ژل پلی‌آکریل‌آمید (SDS-PAGE)، رنگ‌آمیزی، رنگ‌بری، خشک و اسکن کردن ژل‌ها و پردازش داده‌های به دست آمده با روش واترین و همکاران(۱۲)انجام شد.

نرمال کردن داده‌ها (DATA normalization) وتجزیه داده‌ها (DATA analysis) با استفاده از نرم‌افزار رایانه‌ای Gel Compar version 4.2 انجام شد. داده‌های به‌دست آمده با بانک داده‌های (DATA base) ایجاد شده به وسیله واترین و همکاران (۱۲) مقایسه شد و با استفاده از نرم‌افزار یاد شده درصد شباهت هریک از استرین‌ها با سایر استرین‌های مورد بررسی محاسبه گردید.

نتایج و بحث

نتایج مقایسه الگوی الکتروفورز پروتئن‌های محلول سلولی استرین‌های مورد بررسی به تفکیک در جدول ۳ و میانگین شباهت هر استرین به استرین‌های سایر گونه‌های *Xanthomonas* در جدول ۴ نوشته شده است.

همان طوری‌که در جداول ۳ و ۴ دیده می‌شود میانگین شباهت الگوی الکتروفورز پروتئین بین استرین‌های *Xanthomonas axonopodis* جداشده از مرکبات استان‌های هرمزگان و کرمان و استرین‌های مورد بررسی از سایر گونه‌های *Xanthomonas* بیش از ۸۶٪ می‌باشد. محاسبه میانگین شباهت‌ها برای استرین‌های *X. axonopodis* جدا شده ازمرکبات دو استان مزبور نشان می‌دهد که این استرین‌ها بیشترین شباهت را با استرین‌های *X. a.* pv. *citri* یا پاتوتیپ A دارند. استرین‌های مزبور با برخی استرین‌های استاندارد تیپ A از جمله *X. a.* pv. *citri* LMG 9176 و *X. a.* pv. *citri* LMG 9654 ۱۰۰٪ شباهت داشتند. این نتایج با داده‌های به دست آمده از بررسی دامنه میزبانی و الگوی بیماری‌زایی در بررسی‌های پیشین (۱ و ۲) مطابقت کامل دارد. کمترین میزان شباهت ۸۳/۹٪ بود که بین استرین‌های *X. axonopodis* جدا شده از مرکبات استان‌های هرمزگان و کرمان و استرین‌های *X. c.* pv. *euphorbia* LMG 7402 و *X. a.* pv. *ricini* LMG 7444 وجود داشت. میانگین شباهت استرین‌های جدا شده از دو استان مزبور بااسترین‌های نماینده *X. a.* pv. *aurantifolii* ۸۶/۵۳٪ و بیشترین شباهت بین استرین‌های فوق و این پاتووار ۸۶/۷٪ برای *X. a.* pv. *aurantifolii* LMG 9185 بوده است. این میزان از شباهت نیز با سایر داده‌های بررسی‌های قبلی از جمله ویژگی‌های فنوتیپی و دامنه میزبانی مطابقت داشته و گویای تفاوت قابل توجه این استرین‌ها به ویژه از دید بیماری‌شناسی گیاهی می‌باشد.

استرین‌های *X. axonopodis* عامل بیماری‌های شانکر و لکه برگی مرکبات از نظر ویژگی‌های بیماری‌زایی در سه پاتووار *X. a.* pv. *citri* یا تیپ A، *X. a.* pv. *aurantifolii* یا تیپ‌های B، C و D و *X. a.* pv. *citrumelo* یا تیپ E قرار می‌گیرند. واترین وهمکاران (۱۱و۱۴)استرین‌های نماینده پاتوتیپ‌های عامل بیماری شانکر و لکه برگی مرکبات را با روش الکتروفورز پروتئین به چهار گروه تفکیک کرده‌اند که گروه یک شامل استرین‌های تیپ A، گروه دو استرین‌های تیپ B، D و برخی استرین‌های تیپ A، گروه سه استرین‌های تیپ C و گروه چهار استرین‌های تیپ E بودند. نتایج تحقیق واترین و همکاران (۱۱) گویای حساسیت روش الکتروفورز پروتئین می‌باشد که با نتایج DNA:DNA hybridizationمطابقت داشته است. در تحقیق دیگری توسط واترین و همکاران(۱۳) تعداد ۱۴۴استرین نماینده گونه‌ها و پاتووارهای *Xanthomonas* بیماری‌زا روی غلات و گراس‌های وحشی با سه روش الکتروفورز پروتئین، آنالیز اسیدهای چرب وDNA:DNA hybridization مقایسه گردیده‌اند. نتایج این بررسی نشان داده که روش الکتروفورز پروتئین در مقایسه با روش آنالیز اسیدهای چرب، با توجه به تفکیک این گونه‌ها و پاتووارها بر اساس الگوی بیماری‌زایی از قابلیت اطمینان بیشتری برخوردار بوده و توانسته است که پاتووارهای مشابه از نظر الگوی بیماری‌زایی

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1387.12.45.23.5]

جدول ۳. میزان شباهت الگو ی الکتروفورزی پروتئین‌های محلول سلولی استرین‌های *X. a.* pv. *citri* جدا شده از مرکبات استان‌های هرمزگان و کرمان با استرین‌های برخی از گونه‌های *Xanthomonas*

نام باکتری	میزان شباهت(٪)	نام باکتری	میزان شباهت(٪)
***X. a.* pv. *citri* R- 4867**		***X. a.* pv. *citri* R- 4869**	
X. a. pv. *citri* LMG 9 176	100.00	*X. a.* pv.*citri* LMG 8657	87.00
X. a. pv.*citri* LMG 9662	90.80	*X. a.* pv.*citri* LMG 9663	90.60
X. a. pv.*citri* LMG 99669	89.00	*X. a.* pv.*citri* LMG 9660	90.50
X. a. pv.*citri* LMG 8657	87.00	*X. a.* pv.*citri* LMG 9672	90.50
X. a. pv.*citri* LMG 682	87.70	*X. a.* pv.*citri* LMG 9653	90.20
X. a. pv.*citri* LMG 680	86.50	*X. a.* pv.*citri* LMG 9659	89.80
X. a. pv.*citri* LMG 681	86.40	*X. a.* pv.*citri* LMG 9666	88.30
X. a. pv. *aurantifolii* LMG 9182	86.00	*X. a.* pv.*citri* LMG 9657	88.20
X. vesicatoria LMG 907	90.20	*X. a.* pv.*citri* LMG 8650	87.10
X. vesicatoria LMG 908	88.00	*X. a.* pv.*citri* LMG 9668	86.90
X. vesicatoria LMG 922	86.40	*X. a.* pv.*citri* LMG 9652	86.70
X. c. euphorbiae LMG 863	87.10	*X. a.* pv.*citri* LMG 8654	86.20
X. c. arracaciae LMG 8242	86.00		
***X. c.* pv. *citri* R-5242**		***X. a.* pv. *citri* R- 4891**	
X. c. pv. *campestris* LMG 568	80.20	*X. a.* pv.*citri* LMG 9654	100.00
***X. c.* pv. *citri* R- 5427**		***X. a.* pv. *citri* R- 5239**	
X. a. pv.*citri* LMG 683	87.90	*X. a.* pv.*citri* LMG 681	86.80
X. a. pv. *malvacearum* LMG 764	86.20	*X. a.* pv.*citri* LMG 680	86.60
		X. a. pv.*citri* LMG 9671	86.40
***X. a.* pv. *citri* R- 5424**		***X. a.* pv. *citri* R- 4929**	
X. a. pv. *citri* LMG 680	86.70	*X. a.* pv.*citri* LMG 680	88.40
X. a. pv. *citri* LMG 9178	86.30	*X. a.* pv.*citri* LMG 681	87.00
X. a. pv. *citri* LMG 683	86.10	*X. a.* pv. *aurantifolii* LMG 9182	86.40
X. a. pv. *malvacearum* LMG 764	87.90	*X. a.* pv. *malvacearum* LMG 7427	87.10
X. a. pv. *malvacearum* LMG 7427	87.40	*X. a.* pv. *glycins* LMG 7488	87.00
X. a. pv. *clitoriae* LMG 9045	87.70	*X. a.* pv. *manihotis* LMG 766	86.10
***X. a.* pv. *citri* R- 5422**		***X. a.* pv. *citri* R- 4906**	
X. a. pv. *citrumelo* LMG 9168	85.00	*X. a.* pv.*citri* LMG 9176	100.00
X. a. pv. *malvacearum* LMG 7427	85.60	*X. a.* pv.*citri* LMG 9662	88.20
X. a. pv. *malvacearum* LMG 764	85.20	*X. a.* pv.*citri* LMG 9669	87.10
X. c. pv. *campestris* LMG 947	85.00	*X. a.* pv.*citri* LMG 682	86.60
X. c. pv. *campestris*LMG 568	85.40	*X. vesicatoria* LMG 907	88.30
		X. vesicatoria LMG 922	87.10
		X. a. pv. *vasculorum* LMG 902	86.40

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1387.12.45.23.5]

ادامه جدول ۳

***X. a.* pv. *citri* R- 4904**		***X. a.* pv. *citri* R- 5440**	
X. a. pv. *citrumelo* LMG 9168	89.60	*X. a.* pv.*citri* LMG 9178	86.30
X. a. pv.*citri* LMG 683	87.20	*X. a.* pv. *malvacearum* LMG 7427	88.50
X. a. pv. *malvacearum* LMG 764	90.70	*X. a.* pv. *malvacearum* LMG 7429	87.50
X. a. pv. *malvacearum* LMG 7427	89.60	*X. a.* pv. *glycins* LMG 7488	86.50
X. a. pv. *malvacearum* LMG 9572	86.70	*X. a.* pv. *glycins* LMG 8128	89.00
X. a. pv. *glycins* LMG 8128	86.30	*X. a.* pv. *manihotis* LMG 779	86.50
X. c. pv. *raphani* LMG 8010	88.20	*X. c.* pv. *campestris* LMG 569	86.90
X. a. pv. *clitoriae* LMG 9045	87.30		
X. vesicatoria LMG 904	86.70		
X. a. pv. *poinsetticola* LMG 849	86.40		

***X. a.* pv. *aurantifolii* LMG 9181**		***X. a.* pv. *aurantifolii* LMG 9654**	
X. a. pv. *glycins* LMG 712	90.90	*X. a.* pv. *citri* LMG 8657	87.30
X. a. pv. *glycins* LMG 8023	87.00	*X. a.* pv. *citri* LMG 9662	86.20
X. a. pv. *phaseoli* LMG 834	86.10	*X. c.* pv. *campestris* LMG 568	86.00

***X. a.* pv. *citri* R-5421**		***X. a.* pv. *citri* R-5226**	
X. a. pv. *citri* LMG 9178	86.10	*X. a.* pv. *citri* LMG 9655	86.60

***X. a.* pv. *citri* R-4917**		***X. a.* pv. *citri* R- 5443**	
X. a. pv. *citri* LMG 9176	100.00	*X. a.* pv. *citri* LMG 9178	86.10

***X. a.* pv. *citri* R-4818**		***X. a.* pv. *citri* LMG 9659**	
X. a. pv. *citri* LMG 9662	90.30	*X. a.* pv. *citri* LMG 9666	89.90
X. a. pv. *citri* LMG 682	87.30	*X. a.* pv. *citri* LMG 9670	89.90
X. a. pv. *citri* LMG 8657	86.90	*X. a.* pv. *citri* LMG 9664	89.90
X. a. pv. *citri* LMG 8650	86.30	*X. a.* pv. *citri* LMG 682	89.50
X. a. pv. *citri* LMG 9672	85.80	*X. a.* pv. *citri* LMG 9653	89.10
X. a. pv. *citri* LMG 9669	85.50	*X. a.* pv. *citri* LMG 8650	88.90
X. c. pv. *euphorbiae* LMG 863	89.90	*X. a.* pv. *citri* LMG 9660	88.30
X. c. pv. *euphorbiae* LMG 7402	84.90	*X. a.* pv. *citri* LMG 8657	88.20
X. vesicatoriae LMG 922	88.00	X. a. pv. citri LMG 9652	88.10
X. vesicatoriae LMG 907	89.00	*X. a.* pv. *citri* LMG 9654	87.80
X. vesicatoriae LMG 7514	86.60	*X. a.* pv. *citri* LMG 8650	87.70
X. vesicatoriae LMG 908	86.50	*X. a.* pv. *citri* LMG 9657	87.60
X. vesicatoriae LMG 905	85.10	*X. a.* pv. *citri* LMG 9659	87.40
X. a. pv. *glycins* LMG 712	87.30	*X. a.* pv. *citri* LMG 9663	87.00
X. a. pv. *glycins* LMG 8125	85.40	*X. a.* pv. *citri* LMG 680	87.00
X. c. pv. *campestris* LMG 568	86.90	*X. a.* pv. *citri* LMG 8652	86.90
X. c. pv. *campestris* LMG 7514	86.60	*X. a.* pv. *citri* LMG 9667	86.70
X. cassavae LMG 8237	86.80	*X. a.* pv. *citri* LMG 9656	86.50
X. c. pv. *arracaciae* LMG 8242	86.70	*X. a.* pv. *citri* LMG 681	86.30
X. a. pv. *manihotis* LMG 769	86.20	*X. a.* pv. *citrumelo* LMG 9321	89.20
X. a. pv. *malvacearum* LMG 7427	86.10	*X. c.* pv. *campestris* LMG 568.A	88.40
X. c. pv. *barbareae* LMG 547	86.10	*X. c.* pv. *barbareae* LMG 7385	87.10
X. a. pv. *poinsettiicola* LMG 8677	85.90		
X. cucurbitae LMG 7479	85.50		
X. a. pv. *vignicola* LMG 8138	85.20		
X. a. pv. *dieffenbachiae* LMG 695	85.10		
X. a. pv. *ricini* LMG 7444	84.90		

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1387.12.45.23.5]

ادامه جدول ۳.

***X. a.* pv. *citri* R-5235**		***X. a.* pv. *aurantifollii* LMG 9658**	
X. a. pv. *citri* LMG 9176	100.00	*X. c.* pv. *glycines* LMG 712	87.50
		X. c. pv. *citri* LMG 8657	86.57

***X. a.* pv. *dieffenbachiae* LMG 8664**		***X. a.* pv. *citri* R-5426**	
X. a. pv. *manihotis* LMG 777	88.20	*X. a.* pv. *citri* LMG 9662	90.60
X. a. pv. *manihotis* LMG 771	86.40	*X. a.* pv. *citri* LMG 9669	87.00
X. a. pv. *manihotis* LMG 780	86.30	*X. a.* pv. *citri* LMG 8657	86.90
X. vasicola pv. *holcicola* LMG 736	88.10	*X. c.* pv.*aurantifolii* LMG 9182	86.50
X. a. pv. *ricini* LMG 7442	87.80	*X. cucurbitae* LMG 7479	88.40
X. a. pv. *ricini* LMG 864	87.40	*X. c.* pv. *vignicola* LMG 839	87.60
X. a. pv. *ricini* LMG 8683	86.70	*X. a.* pv. *malvacearum* LMG 7428	87.30
X. c. pv. *campestris* LMG 568	87.80	*X. vesicatoria* LMG 910	87.00
X. c. pv. *campestris* LMG 8005	86.50	*X. vesicatoria* LMG 907	86.70
X. c. pv. *campestris* LMG 575	86.50	*X. vesicatoria* LMG 667	86.60
X. cucurbitae LMG 8689	87.20	*X. vesicatoria* LMG 905	86.10
X. arboricola pv. *pruni* LMG 851	87.10	*X. vesicatoria* LMG 906	86.40
X. c. pv. *armoraciae* LMG 7383	87.00	*X. vesicatoria* LMG 922	86.30
X. c. pv. *arracaciae* LMG 8240	87.00	*X. vesicatoria* LMG 914	88.30
X. hortorum. pv. *pelargonii* LMG 7314	86.50	*X. a.* pv. *dieffenbachiae* LMG 695	87.40
X. hortorum. pv. *pelargonii* LMG 7312	86.40	*X. a.* pv. *glycins* LMG 712	86.70
X. melonis LMG 8673	86.40	*X. c.* pv. *euphorbiae* LMG 863	86.80
X. c. pv. *raphani* LMG 7505	86.40	*X. a.* pv. *phaseoli* LMG 823	86.60
		X. a. pv. *poinsetticola* LMG 8678	86.40
		X. a. pv. *malvacearum* LMG 11169	87.20
		X. c. a. pv. *alfalfa* LMG 8080	86.00

***X. a.* pv. *citri* R-4894**		***X. a.* pv. *citri* R-5423**	
X. a. pv. *citri* LMG 9176	87.20	*X. a.* pv. *citri* LMG 9662	90.60
X. a. pv. *aurantifolii* LMG 9185	86.70	*X. a.* pv. *citri* LMG 9669	87.00
X. a. pv. *citrumelo* LMG 9168	86.60	*X. a.* pv. *citri* LMG 8657	86.90
X. a. pv. *citri* LMG 683	86.50	*X. c.* pv.*aurantifolii* LMG 9182	86.50
X. a. pv. *citri* LMG 682	86.30	*X. cucurbitae* LMG 7479	88.40
X. a. pv. *malvacearum* LMG 7428	90.90	*X. c.* pv. *vignicola* LMG 839	87.60
X. a. pv. *malvacearum* LMG 7429	90.00	*X. a.* pv. *malvacearum* LMG 7428	87.30
X. a. pv. *malvacearum* LMG 760	88.80	*X. vesicatoria* LMG 910	87.00
X. a. pv. *malvacearum* LMG 7426	87.90	*X. vesicatoria* LMG 907	86.70
X. a. pv. *malvacearum* LMG 764	87.70	*X. vesicatoria* LMG 667	86.60
X. a. pv. *malvacearum* LMG 763	86.90	*X. vesicatoria* LMG 905	86.10
X. vesicatoria LMG 908	90.10	*X. vesicatoria* LMG 906	86.40
X. vesicatoria LMG 922	88.60	*X. vesicatoria* LMG 922	86.30
X. vesicatoria LMG 668	88.30	*X. vesicatoria* LMG 914	88.30
X. vesicatoria LMG 914	87.40	*X. c.* pv. *dieffenbachiae* LMG 695	87.40
X. vesicatoria LMG 905	87.30	*X. a.* pv. *glycins* LMG 712	86.70
X. vesicatoria LMG 913	86.70	*X. c.* pv. *euphorbiae* LMG 863	86.80
X. c. pv. *barbareae* LMG 547	89.60	*X. a.* pv. *phaseoli* LMG 823	86.60
X. a. pv. *glycins* LMG 712	89.30	*X. c.* pv.*poinsetticola* LMG 8678	86.40
X. a. pv. *dieffenbachiae* LMG 695	88.20	*X. a.* pv. *malvacearum* LMG 11169	87.20
X. a. pv. *dieffenbachiae* LMG 695	87.30	*X. a.* pv. *alfalfa* LMG 8080	86.00

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1387.12.45.23.5]

ادامه جدول ۳.

X. a. pv. *aurantifolii* LMG 9183		*X. a.* pv. *citri* LMG 682	
X. a. pv. *citri* LMG 9669	87.40	*X. a.* pv. *citri* LMG 9660	90.90
X. a. pv. *citri* LMG 9662	87.70	*X. a.* pv. *citri* LMG 9666	90.20
X. a. pv. *citri* LMG 9672	87.30	*X. a.* pv. *citri* LMG 9663	90.20
X. a. pv. *citri* LMG 9657	86.80	*X. a.* pv. *citri* LMG 9672	89.10
X. a. pv. *citri* LMG 9660	86.60	*X. a.* pv. *citri* LMG 9659	88.90
X. a. pv. *citri* LMG 682	86.40	*X. a.* pv. *citri* LMG 9667	87.90
X. a. pv. *citri* LMG 8657	86.40	*X. a.* pv. *citri* LMG 9321	89.60
X. a. pv. *glycins* LMG 712	88.20	*X. a.* pv. *citri* LMG 9668	87.10
X. a. pv. *manihotis* LMG 784	88.20	*X. a.* pv. *citri* LMG 9652	86.90
X. a. pv. *manihotis* LMG 769	86.40	*X. a.* pv. *citri* LMG 9653	90.20
X. a. pv. *phaseoli* LMG 8014	87.80	*X. a.* pv. *citri* LMG 9664	89.90
X. c. pv.*campestris* LMG 568	87.70	*X. a.* pv. *citri* LMG 9670	86.90
X. cassavae LMG 8048	86.20	*X. a.* pv. *citri* LMG 9656	86.70
		X. a. pv. *citri* LMG 9657	86.50
		X. a. pv. *citri* LMG 8654	86.20
		X. c. pv. *campestris* LMG 568	86.60

جدول۴. میانگین شباهت الگوی پروتئین استرین‌های بررسی شده*Xanthomonas axonopodis* عامل بیماری شانکر مرکبات با برخی استرین‌های سایرگونه‌های *Xanthomonas*

Xanthomonas spp.	*X. a.* pv. *Citri*	*X. a.* pv. *Aurantifolii*
X. a. pv. *citri*	88.59 (86)	86.79 (11)
X. a. pv. *glycins*	87.19 (8)	88.40 (4)
X. a. pv. *manihotis*	86.62 (6)	87.30 (2)
X. c. pv. campestris	86.07 (11)	86.85 (2)
X. a. pv. *phaseoli*	86.60 (1)	86.95 (2)
X. cassavae	86.80 (1)	86.20 (1)
X. vesicatoria	87.30 (32)	--
X. c. pv. *euphorbia*	87.17 (4)	--
X. c. pv. *arracaciae*	86.57 (3)	--
X. a. pv. *malvacearum*	87.74 (22)	--
X. a. pv. *clitoriae*	87.03 (3)	--
X. a. pv. *citrumelo*	87.60 (4)	--
X. a. pv. *aurantifolii*	86.53 (3)	--
X. a. pv. *alfalfae*	86.20 (2)	--
X. cucurbitae	87.63 (4)	--
X. a. pv. *dieffenbachiae*	87.07 (6)	--
X. vasicola. pv. *holcicola*	88.10 (1)	--
X. melonis	86.40 (1)	--
X. hortorum. pv. *pelargonii*	86.45 (2)	--
X. a. pv. *poinsettiicola*	86.40 (4)	--
X. arboricola pv. *pruni*	87.10 (1)	--
X. c. pv. *raphani*	87.30 (2)	--
X. a. pv. *ricini*	86.70 (4)	--
X. a. pv. *vasculorum*	86.40 (1)	--
X. a. pv. *vignicola*	87.05 (4)	--
X. c. pv. *armoraciae*	87.00 (1)	--
X. c. pv. *barbareae*	87.30 (30)	--
	87.10 (1)	--

*: اعداد داخل پرانتز تعداد استرین‌های بررسی شده را نشان می‌دهد.

-- = بررسی نشده است.

را تفکیک نماید. باتوجه به مبنای روش SDS-PAGE، نوارهای پروتئینی عمدتاً براساس اندازه تفکیک می‌شوند، الزاما دو نوار پروتئینی هم‌اندازه دارای عملکرد یکسان در سلول زنده نمی‌باشند، در تعیین عملکرد و ایفای نقش یک پروتئین در

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1387.12.45.23.5]

سلول زنده ساختمان اولیه یا ترتیب قرارگرفتن اسیدهای آمینه نقش تعیین کننده دارد. این واقعیت به روشنی از داده‌های این بررسی قابل استنتاج است چرا که مشاهده می‌شود پاتووارهای با الگوی بیماری‌زایی متفاوت، دارای شباهت نسبتاً یکسانی نسبت به یک استرین مشخص از یک پاتووار مشخص *X. axonopodis* می‌باشند. با توجه به این نقیصه در روش SDS-PAGE باید برای تشخیص دقیق به ویژه هنگامی‌که ازنظر بیماری‌زایی اهمیت دارد، از سایر روش‌ها نیز به عنوان فاکتورهای تکمیلی کمک گرفت. علی رغم دقت و سرعت بالای روش SDS-PAGE در تفکیک و طبقه‌بندی موجودات و باتوجه به نشان داده شدن الگوهای کلی در این روش، لازم است که به ویژه هنگامی که پروتئین‌های ویژه‌ای که محصول ژن یا ژن‌های به‌خصوصی هستند برای تفکیک دو یا چند ارگانیسم مهم هستند، از روش‌های تکمیلی کمک گرفته شود که توجه به این اصل در بیماری‌شناسی گیاهی بسیار مهم است.

میانگین شباهت استرین‌های *X. axonopodis* جدا شده از مرکبات استان‌های هرمزگان و کرمان با استرین‌های مورد بررسی سایر گونه‌های *Xanthomonas* با توجه به داده‌های جدول ۴ حدوداً بین ۸۶ تا ۸۷ درصد نوسان دارد. با توجه به داده‌های این جدول تفاوت چشم‌گیری ازنظر درجه شباهت بین پاتووارهای مختلف وجود ندارد ولی چنانچه به داده‌های جدول ۳ و به ویژه به شباهت بالای برخی از استرین‌ها توجه نماییم آنگاه به تفاوت قابل توجه این استرین‌ها از نظر درجه شباهت پی خواهیم برد، در حالی‌که در نگاه کلی و محاسبه میانگین این شباهت‌ها، تفاوت‌های چشمگیر برخی از استرین‌ها روی سایر استرین‌های هم گروه خود سرشکن شده و خود را نشان نمی‌دهند. روش SDS-PAGE برای دسته‌بندی استرین‌ها به ویژه اگر استرین‌ها نماینده گروه‌های مختلف باشند، روش مناسبی است. به ویژه داده‌های جدول ۳ به خوبی نشان می‌دهد که شباهت الگوی پروتئینی برخی استرین‌های گونه‌های مشخص مانند *X. a.* pv. *vesicatoria* LMG 907، *X. a.* pv. *malvacearum* LMG 764، *X. a.* pv. *glycins* LMG 712 و *X. cucurbitae* LMG 7479 به استرین‌های پاتووارها *X. axonopodis* عامل بیماری شانکر باکتریایی مرکبات جنوب ایران یکسان و یا حتی بیش از شباهت الگوی پروتئینی این استرین‌ها به همدیگر می‌باشد. این یافته به روشنی یکی از اهداف این بررسی را که در مقدمه به آن اشاره شده، را برآورده نموده و ضرورت به‌کارگیری سایر روش‌ها را برای تفکیک استرین‌های گونه‌های مختلف و استرین‌های وابسته به یک گونه گوشزد می‌کند. مقایسه بین گونه‌های مختلف یک جنس به روش SDS-PAGE توسط سایر محققین هم برای نشان دادن جنبه کاربردی این روش و هم اهمیت و کاستی‌های آن به کار گرفته شده است. از جمله در بررسی ۳۰۷ استرین گونه‌های جنس *Xanthomonas* و ۲۷ پاتووار از *X. campestris* به وسیله واترین و همکاران (۱۳) تعداد ۱۹ دسته از همدیگر قابل تفکیک بودند. این روش برای تفکیک استرین‌ها درحد پاتووار همیشه دقیق نمی‌باشد و برای تفکیک در این سطح تاکسونومیکی باید از روش‌های تکمیلی دیگر نیز کمک گرفته شود. نتایج این بررسی گویای شباهت بسیار بالای استرین‌های *X.axonopodis* جدا شده از مرکبات استان‌های هرمزگان و کرمان به استرین‌های پاتوتیپ A بوده و الگوی بیماری‌زایی آنها را که در بررسی‌های پیشین تعیین شده بود (۱ و ۲) تأیید می‌نماید.

منابع مورد استفاده

۱. خداکرمیان، غ.، ح. رحیمیان، و. محمدی و ع. علامه. ۱۳۷۸. خصوصیات فنوتیپی، دامنه میزبانی و چگونگی پراکنش استرین‌های باکتری *Xanthomonas axonopodis* عامل شانکر مرکبات جنوب ایران. بیماری‌های گیاهی ۳۵ (۱ ، ۳): ۱۰۲ –۱۱۱.

۲. خداکرمیان، غ.، ژ. سوینگز، س. استوارت، س. ون‌ایژن و ح. رحیمیان. ۱۳۷۹. گروه‌بندی استرین‌های باکتری عامل ایجاد زخم و

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1387.12.45.23.5]

لکه‌برگی مرکبات از آسیا، آمریکا و استرالیا بـر اسـاس الگـوی الکتروفـورز پـروتئین و سیـستم بیولـوگ. بیمـاری‌هـای گیـاهی ۳۶ (۴، ۶): ۱۶۵ –۱۷۸.

۳. علیزاده، ع. و ح. رحیمیان. ۱۳۶۹. شانکر باکتریایی مرکبات در استان کرمان. بیماری‌های گیاهی ۲۶: ۱۱۸.

۴. مستوفی‌زاده قلمفرسا، ر.۱۳۷۵. بررسی استرین‌های عامل شانکر باکتریایی مرکبات در جنوب ایران. پایـان نامـۀ کارشناسـی ارشـد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران.

5. El-Sharkavy, T. A. and D. Huisingh. 1971. Elctrophoretic analysis of estrases and other slouble proteins from representatives of phytopathogenic bacterial genera. J. Gen. Microbiol. 68: 149-154.
6. Cato, E. P., D. E. Hash, L. V. Holdman and W. E. C. Moor. 1982. Electrophretic study of *Clostridium* species. J. Clin. Microbiol. 15: 688-702.
7. dos Santos, R. M. D. B. and J. C. Dianese. 1985. Comparative membrane characterization of *Xanthomonas campestris* pv. *cassavae* and *X. campestris* pv. *manihotis*. Phytopathology 75: 581-7.
8. Kersters, K. and J. De Ley. 1980. Classification and identification of bacteria electrophoresis of thier preteins. *In*: Goodfellow, M. and Board, R. G. (Eds.), Microbiological Classification and Identification, Academic Press, London.
9. Vandamme, P., B. Pot, M.Gillis, P. De Vos, K. Kersters, and J. Swings. 1996. Polyphasic taxonomy a consensus approach to bacterial systematcis. Microbiol. Rev. 60: 407 - 438.
10. Vauterin, L., R. Vantomme, B. Pot, B. Hoste, J. Swings and K. Kersters. 1990. Taxonomic analysis of *Xanthomonas campestris* pv. *begoniae* and *X. c.* pv. *pelargoni* by means of phytopathological, phenotypic, protein electrophoretic and DNA hybridization methods. Syst. Appl. Microbiol. 13: 166-76.
11. Vauterin, L., P. Yang, B. Hoste, M. Vancannyet, E. Civerolo, J. Swings and K. Kersters. K.1991a. Differentiation of *Xanthomonas campestris* pv. *citri* strains by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis of proteins,fatty acid analysis and DNA-DNA hybridization. Int. J. Syst. Bacteriol. 41: 535 - 542.
12. Vauterin, L., Swings, J. and K. Kersters 1991b. Grouping of *Xanthomonas campestris* strains by SDS-PAGE of proteins. J. Gen. Microbiol. 137: 1677-1687.
13. Vauterin, L., P. Yang, B. Hoste, B. Pot, J. Swings and K. Kersters. 1992. Taxonomy of Xanthomonads from cereals and grasses based on SDS-PAGE of proteins, fatty acid analysis and DNA-DNA hybridization. J. Gen. Microbiol. 138: 1467-77.
14. Vauterin, L., B. Hoste, K. Kersters and J. Swings. 1995. Reclassification of *Xanthomonas.* Int. J. Syst. Bacteriol. 45: 472 - 489.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1387.12.45.23.5]