

# SID



سرویس های ویژه



سرویس ترجمه تخصصی



کارگاه های آموزشی



بلاگ مرکز اطلاعات علمی



سامانه ویراستاری STES



فیلم های آموزشی

## کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی



مقاله نویسی علوم انسانی



اصول تنظیم قراردادها



آموزش مهارت های کاربردی در تدوین و چاپ مقاله

## تعیین خصوصیات و تفکیک استرین های ایرانی باکتری *Erwinia amylovora*

### با استفاده از روش های بیوشیمیایی و مولکولی

امیدوار رضا<sup>۱</sup>، شمس بخش مسعود<sup>۱</sup> و رحیمیان حشمت ا...<sup>۲</sup>

۱- دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس ۲- دانشکده کشاورزی، دانشگاه مازندران

#### چکیده

بیماری آتشک درختان میوه دانه دار گسترش جهانی داشته و در سال های اخیر نیز خسارات هنگفتی به باغ های میوه دانه دار در برخی مناطق ایران وارد کرده است. از آنجا که بدون شناخت دقیق عامل بیماری مدیریت مبارزه با آن مشکل خواهد بود، لزوم بررسی و شناخت دقیق عامل بیماری و تنوع ژنتیکی آن ضروری می باشد. با توجه به اینکه تنوع ژنتیکی استرین های باکتری *E. amylovora*، جدا شده از میزبان ها و مناطق مختلف ایران بررسی نشده است، این تحقیق به بررسی تنوع ژنتیکی جدایه های ایرانی باکتری اختصاص یافت. جدایه های باکتریایی جمع آوری شده از میزبان ها و مناطق مختلف جغرافیایی ایران، از لحاظ ویژگی های فنوتیپی و الگوی پروتئینی و همچنین تنوع ژنتیکی تعدادی از استرین ها با استفاده از نشانگر RAPD مورد بررسی قرار گرفت. انجام آزمون های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی و مقایسه الگوی پروتئینی، وجود سطح تشابه بالایی را در میان استرین ها آشکار ساخت. همچنین تمامی استرین ها در آزمایشات RAPD-PCR، الگوهای یکسانی تولید کردند. بنابراین مشخص گردید که استرین های ایرانی *E. amylovora* از نظر ژنتیکی مشابه بوده و بر اساس منطقه جغرافیایی، میزبان و سال جداسازی قابل تفکیک نیستند.

واژه های کلیدی: آتشک، تنوع ژنتیکی، RAPD-PCR، باکتری، ایران.

#### مقدمه

بیماری آتشک درختان میوه دانه دار با عامل باکتریایی *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow *et al.*, 1920 در ایران اولین بار در سال ۱۳۶۸ در منطقه برغان کرج، روی درختان گلابی مشاهده شد و پس از آن به تدریج به بسیاری از مناطق پرورش سیب و گلابی در کشور گسترش یافت. طی سال های اخیر این بیماری به باغ های میوه دانه دار برخی مناطق کشور خسارات جبران ناپذیری وارد نموده است و هم اکنون یکی از مهمترین بیماریهای درختان میوه دانه دار محسوب می شود. به علت اهمیت بیماری و از آنجا که بدون شناخت دقیق عامل بیماری کنترل آن مشکل خواهد بود، لزوم بررسی و شناخت دقیق عامل بیماری ضروری می باشد. ابزار و وسایل پیش آگاهی و دستورالعمل های قرنطینه ای، برنامه های اصلاح نژادی و مهندسی ژنتیک جهت انتخاب پایه ها و کولتیوارهای مقاوم نیازمند داشتن اطلاعات جامعی در مورد تنوع ژنتیکی استرین ها می باشند. با توجه به اینکه تنوع ژنتیکی استرین های باکتری *E. amylovora*، جدا شده از میزبان ها و مناطق مختلف ایران بررسی نشده است، هدف مطالعه حاضر بررسی تنوع ژنتیکی جدایه های ایرانی باکتری *E. amylovora* می باشد.

#### مواد و روش ها

پس از نمونه برداری از درختان سیب، گلابی و به از مناطق آلوده در اطراف کرج، قزوین، سمنان، آذربایجان غربی، آذربایجان شرقی و خراسان، جدا و خالص سازی باکتری انجام گرفت. ۲۵ استرین از استرین های جمع آوری شده همراه با ۱۲ استرین دریافتی و یک استرین استاندارد (در مجموع شامل ۳۸ استرین)، از لحاظ ویژگی های بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و تغذیه ای مورد بررسی قرار گرفتند (Schaad *et al.*, 2001). همچنین الکتروفورز پروتئین (SDS-PAGE) با استفاده از سیستم ناپیوسته لملی برای تمامی استرین ها انجام شد (Ausubel *et al.*, 1987). آزمایشات RAPD به منظور بررسی تنوع ژنتیکی بر اساس روش ممل و همکاران و با استفاده از شش آغازگر تصادفی (CUGE1-6) بر روی ۱۳ استرین *E. amylovora* که از مناطق مختلف جغرافیایی ایران و از میزبان های متفاوت در سال های مختلف جداسازی شده بودند، انجام گرفت (Momol *et al.*, 1997). یک استرین از *Agrobacterium tumefaciens* و یک استرین از *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* به عنوان کنترل در این آزمایشات به کار رفتند.

#### نتایج و بحث

بر اساس نتایج آزمون های انجام شده، باکتری های جدا شده به عنوان *E. amylovora* شناسایی شدند. انجام ۸۱ آزمون فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی نشان داد که استرین های متعلق به میزبان ها و نواحی مختلف از لحاظ ویژگی های فنوتیپی مشابه هم بوده و فقط در تحمل نمک طعام ۵٪ و تولید اسید از دی سوربیتول و دی آرابینوز متغیر عمل نمودند. مقایسه الگوی پروتئینی استرین ها

وجود سطح تشابه بالایی را در میان آنها آشکار ساخت. در آزمایشات RAPD-PCR تمامی استرین ها با استفاده از آغازگرهای تصادفی (CUGEA1-6)، الگوهای یکسانی تولید کردند (تصویر ۱). بنابراین مشخص گردید که استرین های ایرانی *E. amylovora* از نظر ژنتیکی مشابه بوده و بر اساس منطقه جغرافیایی، میزبان و سال جداسازی قابل تفکیک نیستند. این نتیجه نشان می دهد که این استرین ها احتمالاً از یک منشاء به وجود آمده اند.

منابع

- 1- Ausubel, F. M. O., Brent, R. and D.D. Moore. 1987. Current protocols in molecular biology. Green pub. Associates/Wiley Interscience. New York.
- 2- Momol, M. T., Momol, E. A., Lamboy, W. F., Norelli, J. L., Beer, S. V. and H. S. Aldwinckle. 1997. Characterization of *Erwinia amylovora* strains using random amplified polymorphic DNA fragments (RAPD). Applied Microbiology **82**: 389-398.
- 3- Schaad, N. W., Jones, J. B. and W. Chun. 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria, third edition. St. Paul, MN, APS Press. pp. 373.

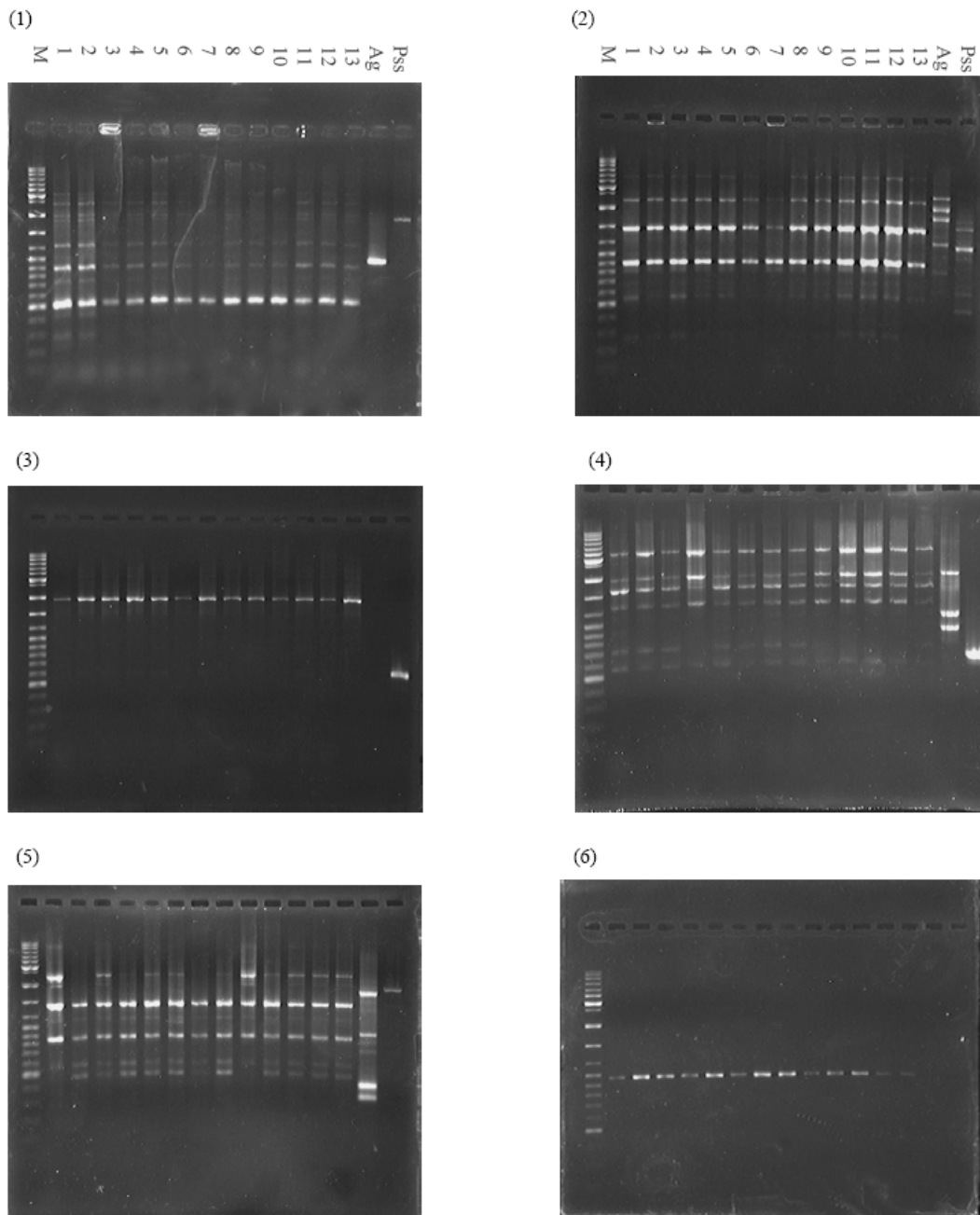
### Characterization and differentiation of Iranian *Erwinia amylovora* strains using biochemical and molecular methods

R. Omidvar, M. Shams-bakhsh and H. Rahimian

#### Abstract :

Fire blight of pome fruit trees is a worldwide disease. In recent years high crop losses from the disease have been reported in some regions of Iran. The present investigation was undertaken to determine the possible genetic diversity of the strains of the causal bacterium, as the basic information needed for the disease management practices. Phenotypic characteristics, electrophoretic pattern of cell proteins and DNA fingerprints of the strains of *E. amylovora* were determined. The strains were similar phenotypic characteristics and protein profiles. All strains produced identical RAPD profiles too. It is concluded that Iranian strains of *E. amylovora* from separated geographical regions and different hosts are genetically homogenous.

**Keywords :** Fireblight, Genetic Diversity, RAPD-PCR, Bacteria, I



تصویر ۱: الگوی قطعات DNA تکثیر شده استرین های *Erwinia amylovora* (Ea 1-13) و باکتری های *Pseudomonas syringae* pv *syringae* و *Agrobacterium tumefaciens* به وسیله آغازگرهای (CUGEA 1-6) در آزمایشات RAPD-PCR.

# SID



سرویس های ویژه



سرویس ترجمه تخصصی



کارگاه های آموزشی



بلاگ مرکز اطلاعات علمی



سامانه ویراستاری STES



فیلم های آموزشی

## کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی



مقاله نویسی علوم انسانی



اصول تنظیم قراردادها



آموزش مهارت های کاربردی در تدوین و چاپ مقاله