گزارش کوتاه علمی

بررسی تنوع ژنتیکی زانتوموناس عامل لکه زاویه‌ای توسکا در استان‌های مازندران و گلستان با استفاده از BOX-PCR و REP-PCR*

Assessment of the genetic diversity of *Xanthomonas* the causal agent of alder angular spot in Mazandaran and Golestan provinces using BOX-PCR and REP-PCR

رقیه ابراهیمی، حشمت اله رحیمیان، ولی‌اله بابایی زاد و ناهید معرف زاده[۱]

۱. گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی ساری

توسکا یکی از مهم‌ترین گونه‌های درختی جنگل‌های شمال کشور بوده و از نظر اقتصادی به عنوان چهارمین درخت تجاری محسوب می‌شود. یک بیماری لکه برگی ناشی از گونه‌ای زانتوموناس در توسکا ییلاقی (*Alnus subcordata subsp. Subcordata*) در چند منطقه جنگلی استان مازندران گزارش شده است (Rahimian *et al*. 1383. 16th Iran. Plant Protec. Cong.,439). براساس یک بررسی ژنومی که در سال‌های اخیر انجام شده بود باکتری عامل بیماری بالاترین شباهت را به *Xanthomonas arboricola* داشت (Rahimian *et al*. 1387. 18th Iran. Plant Protec. Cong., 428). بررسی محدودی در زمینه همسانی جدایه‌ها و پراکندگی بیماری (Rahimian *et al*. 1383. 16th Iran. Plant Protec. Cong., 439) انجام گردید ولی اطلاع دقیقی از تنوع ژنتیکی جدایه‌های مناطق مختلف در دست نیست. بررسی حاضر به منظور ارزیابی همسانی یا تنوع ژنتیکی جدایه‌های به‌دست آمده از مناطق مختلف استان‌های مازندران و گلستان انجام گرفت. از نظر ویژگی‌های فنوتیپی جدایه بسیار شبیه هم بوده و فقط در مصرف L-سرین، لوسین، دکسترین، کوئینات، تایروزین به عنوان منبع کربن اختلاف نشان دادند. تنوع ژنتیکی جمعیت باکتری عامل لکه زاویه‌ای توسکا با استفاده از BOX-PCR و REP-PCR انجام شد. DNA ژنومی جدایه‌ها به روش لیز قلیایی استخراج و PCR در شرایط توصیه شده *ورسالوویچ و همکاران* (Versalovich *et al*. 1991. Nucleic Acids Res, 24: 6823 -6831) ولی با کاهش زمان واسرشت (Denaturing) انجام شد. محصول PCR در ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز و ژل با اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی گردید. از ضریب تشابه جاکارد برای تعیین تشابه جدایه‌ها و از روش UPGAMA و نرم افزار NTSYS برای آنالیز خوشه‌ای استفاده شد. آنالیز خوشه‌ای نتایج به‌دست آمده با آغازگر BOXAIR نشان داد که در سطح ۸۰ درصد جدایه‌ها به ۲۴ گروه تقسیم شدند. این در حالی است که جدایه‌های توسکا با جدایه استاندارد *Xanthomonas arboricola pv. coryli* نیز همین میزان شباهت را نشان دادند. در سطح ۶۳ درصد، جدایه‌های توسکا به ۱۵ گروه تقسیم شده ولی با همین میزان شباهت با *Xanthomonas arboricola pv. pruni* هم خوشه بودند. در سطح ۴۰ درصد هم ضمن تقسیم شدن جدایه‌ها به ۷ گروه، همسانی مشابهی را با جدایه مرجع *Xanthomonas arboricola pv. juglandis* نشان دادند. با توجه به این یافته‌ها می‌توان نتیجه گرفت که جدایه‌های عامل لکه زاویه‌ای توسکا تنوع زیادی داشته و در عین حال BOX-PCR توانایی متمایز ساختن پاتووارهای متعلق به گونه *Xanthomonas arboricola* را ندارد. نتایج به‌دست آمده با آغازگر REP1R,REP2I نشان داد که در سطح ۷۸ درصد جدایه‌ها به ۱۴ گروه تقسیم شدند. در حالی که این جدایه‌ها با پاتووارهای *X. arboricola pv. juglandis* و *X. arboricola pv. coryli* نیز همین میزان شباهت را نشان دادند. در سطح تشابه ۵۷ درصد، جدایه‌ها به ۷ گروه تقسیم شده و در همین میزان شباهت با *X. arboricola pv. pruni* هم خوشه بودند. داده‌ها نشان می‌دهند جدایه‌های توسکا دارای تنوع زیادی بوده و REP-PCR کارایی بهتری برای گروه‌بندی جدایه‌های عامل لکه زاویه‌ای توسکا دارد.