مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية
المجلد 41 العدد 3 (2025): 301- 312

Damascus University Journal of Agricultural Sciences
Vo 41 No.3 (2025): 301 – 312

التسجيل الأولي لإشارة التواصل البكتيري 11-methyldodecanoic acid من عائلة DSF عند بكتيريا التبقع الزاوي على القطن Xanthomonas citri subsp. malvacearum

علي محمد يونس*[1] **محمود حسن أبوغرة [2]**

[1*] دكتور في مركز الدراسات والمكافحة الحيوية، كلية الهندسة الزراعية – جامعة دمشق.
ali.younes@damascusuniversity.edu.sy
[2] أستاذ في قسم وقاية النبات – كلية الهندسة الزراعية– جامعة دمشق.

الملخص:

تعد بكتيريا التبقع الزاوي على القطن Xanthomonas citri subsp. malvacearum (Xcm) والتابعة للجنس Xanthomonas من أخطر المسببات المرضية التي تصيب نبات القطن حيث يصيب معظم أجزائه مسبباً خسائر اقتصادية كماً ونوعاً. تستخدم بكتيريا الجنس Xanthomonas نظام الاتصالات البكتيرية Quorum Sensing (QS) والتي تتوسطها إشارات عائلة عامل الإشارة المنحل Diffusible Signal Factor (DSF-family) لتنظيم وتنسيق تعبير مورثات القدرة الإمراضية استجابة لكثافتها العددية في الوسط، وبالتالي هدف البحث إلى الكشف عن الإشارات البكتيرية التابعة لعائلة DSF عند البكتيريا Xcm باستخدام طريقة الكروموتوغرافيا السائلة المرتبطة بمطياف الكتلة Liquid Chromatography-Mass Spectrum (LC-MS)، كشفت نتائج تحليل LC-MS عدد من جزيئات عائلة DSF وهي: acid Cis-2-undecenoic، 12-methyltetradecenoic acid، 11-methyldodecanoic acid ذي الأوزان الأيونية m\z 197، 241، 213 على التوالي. ولابد من الإشارة إلى أن هذا البحث بيَن ولأول مرة وجود أحد مشتقات الـ DSF وهي 11-methyldodecanoic acid عند أحد أنواع الجنس Xanthomonas.

الكلمات المفتاحية: Xanthomonas Citri Subsp، Malvacearum (Xcm)، Quorum Sensing، DSF-Family، LC-MS.

تاريخ الايداع: 9 /3 /2024
تاريخ القبول: 3 /4 /2024

حقوق النشر: جامعة دمشق –سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص **CC BY-NC-SA 04**

First record of the bacterial communication signal 11-methyldodecanoic acid from the DSF family in the angular spot bacteria on the cotton, Xanthomonas citri subsp. malvacearum

Ali Mohamad Younes[1*] **Mahmoud Hasan Abogurrah[2]**

[1*]Doctor at, Biological control studies and research center, Faculty of Agriculture engineering, Damascus University.

ali.younes@damascusuniversity.edu.sy

[2] Professor at Plant Protection department, Faculty of Agriculture engineering, Damascus University.

Received: 9 /3 /2024

Accepted: 3 / 4 /2024

Copyright: Damascus University- Syria, The authors retain the copyright under a CC BY- NC-SA

Abstract:

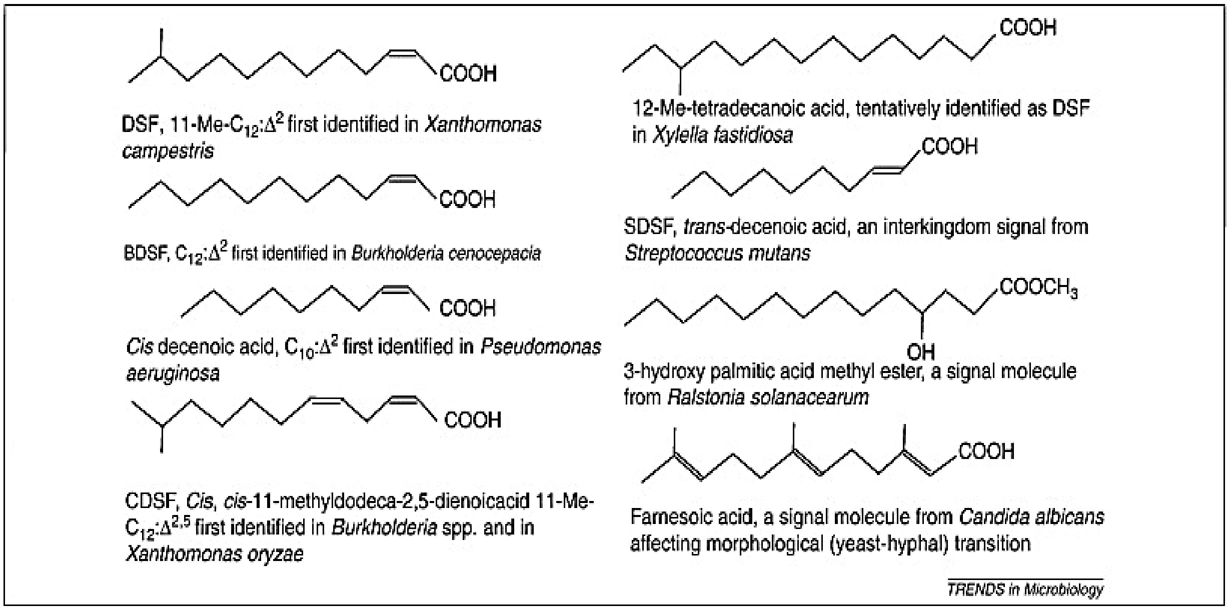
Xanthomonas citri subsp. malvacearum (Xcm), which belongs to the genus Xanthomonas, is one of the most dangerous pathogens that effect to the cotton plant, as it infects most of its parts, causing quantitative and qualitative economic losses. The Xanthomonas sp. use bacterial communication system Quorum Sensing (QS), which is mediated by Diffusible Signal Factor (DSF-family), signals to regulate and coordinate the expression of pathogenicity genes in response to their numerical density in the medium. Therefore, the research aimed to detect bacterial signals belonging to the DSF family in Xcm bacteria using the liquid chromatography method associated with a liquid chromatography-mass spectrum (LC-MS) .The results of LC-MS analysis revealed a number of DSF family molecules Cis-2-undecenoic acid, 12-methyltetradecenoic acid, and 11-methyldodecanoic acid, with ionic weights 197, 241, 213 z\m, respectively. It should be noted that this research has shown, for the first time, the presence of one of the DSF derivatives, which is 11-methyldodecanoic acid, in one of the species of Xanthomonas.

Key words: Xanthomonas Citri Subsp. Malvacearum (Xcm) , Quorum Sensing ،DSF-Family ،LC-MS.

المقدمة:

على الرغم من أن البكتيريا أحادية الخلية، إلا أنها تفاعلية للغاية، وتظهر عدداً من السلوكيات الاجتماعية الجماعية، والتي يتم تنظيمها عن طريق الاستشعار عن النصاب العددي Quorum Sensing (QS). في أبسط صورة، يعد نظام (QS) سمة مميزة تمكن الخلايا البكتيرية من التواصل فيما بينها استجابةً لكثافتها العددية في الوسط الذي تعيش فيه بهدف تنظيم تعبير المورثات المسؤولة عن عوامل القدرة الإمراضية الضرورية لاستعماريها للعائل المضيف كتحكمها بتنظيم الحركة عند البكتيريا وتشكيلها للبيوفيلم Biofilm وإنتاجها للسكريات المعقدة الخارجية Exopolysaccarides (EPS) والأنزيمات المحللة للجدر الخلوية (كالسيللولاز، والبروتياز، والأميلاز) واستقبال الحديد من الوسط (Akanksha وآخرون، 2016)، تُعد الـQS من الناحية الوظيفية، آلية ترجمة إشارات كيميائية صغيرة الحجم تسمى بالمحرضات الذاتية (Autoinducers) التي تتوسط الـ QS لتنسيق التعبير عن المورثات على مستوى المجتمع البكتيري ككل، يعتمد الـ QS على إنتاج المحرضات الذاتية وإطلاقها والاستجابة لها بطريقة تعتمد على الكثافة العددية، فعند الكثافة المنخفضة للخلايا البكتيرية، تنتج كل خلية بكتيرية المستوى الأساسي من جزيئات الإشارة، وتنتشر هذه الجزيئات في الوسط التي تعيش فيه البكتيريا، ومع زيادة الكثافة العددية للخلايا البكتيرية تتراكم جزيئات الإشارة حتى تصل إلى المستوى المطلوب لاستحثاث نظام الـ QS، وبناء عليها يتم تنشيط التعبير أو قمعه عن المورثات المستهدفة (Waters وBassler، 2005؛ Caicedo وآخرون، 2017؛ Schmid وآخرون، 2012). أُكتشف نظام الـ QS لأول مرة عند البكتيريا البحرية المضيئة Vibrio fischneri، حيث وُجد أن جزئية Acyl-homoserine lactone (AHL) تتوسط الـ QS عندها (Bainton وآخرون، 1992)، ثم اكتشفت عند جميع الأنواع البكتيرية سالبة الغرام وموجبة الغرام (Waters وBassler، 2005). تنتمي جزيئات الإشارة البكتيرية إلى مجموعة واسعة من التراكيب الكيميائية، حيث تختلف عن بعضها البعض حسب النوع البكتيري وطريقة إنتاجها واستقبالها، وبحسب طبيعتها الكيميائية (Akanksha وآخرون، 2016)، وتصنف جميعها ضمن ثلاثة صفوف: (I) المحرضات الذاتية ذات الطبيعة الببتيدية (peptides Autoinducer) والتي تتوسط الـ QS عند أنواع البكتيريا موجبة غرام وهي ذات أوزان جزيئية منخفضة (Frederick وزملائه، 2017). (II) N-acyl-homosreine lactones (AHLs) الذي يتوسط ال QS عند أنواع البكتيريا سلبة غرام ماعدا أنواع جنس Xanthomonas، ويُنتَج من S-adenosyl methionine بواسطة الأنزيم Acyl-homoserine lactone synthase وتضاف إليه مجموعة الأسيل بواسطة Acyl-coenzyme-A، أو البروتينات الحاملة لمجموعة acyl-acyl، وتختلف إشارات (AHLs) عن بعضها بطول سلسلة الأسيل (Waters وBlaaser، 2005). (III) Autoinducer-2 (Furanosyl borate diester) تنتج وتستخدم من قبل عدد من البكتيريا سالبة وموجبة غرام حيث تشكل رابطاً تطورياً بين النوعين و تتوسط الـ QS بين الأنواع البكتيرية (Rezzonico وزملائه، 2012). بينت الدراسات المرجعية السابقة بأن الـ QS عند عدد من الأنواع البكتيرية بما فيها أنواع الجنس Xanthomonas. sp تتوسطها عائلة عامل الإشارة المنحل Diffusible Signal Factor-family (DSF-family)، وهي عبارة عن مشتقات حموض دهنية غير مشبعة من النمط cis 2 ذات طول سلسلة مختلفة ونمط متفرع، وتصنع من الكربوهيدرات وسلسلة من الحموض الأمينية المتفرعة جانبياً عبر دورة استطالة الحمض الدهني FAS، كما تعد الرابطة المزدوجة التي تمتلكها صفة مهمة وأساسية لكي تعلب دور كجزيئة إشارة (Zhou وآخرون، 2015).

وُصف الـ DSF لأول مـــرة عند البكتيريا المسـببة للعفن الأسـود على الصلبيات Xanthomonas campestris pv. campestris (Xcc) بأنه cis-11-methyl-2-dodecenoic acid (Barber وآخرون، 1997؛ Wang وآخرون، 2004). ثــم وجـــد الـ DSF عنـد البكتيريا Xoo (He وآخرون، 2010) و Xylella fastidiosa (Xf) (Chatterjee وآخرون، 2008). ثم اكتشـف عدد مـن مشـتقات جزيئة الإشــارة DSF (الشكل 1) منها BDSF، CDSF، IDSF، cis-2-hexadecenoic acid، 12-methyltetradecanoic acid، cis-2-tetradecenoic acid (He وآخرون، 2011؛ Zhou وآخرون، 2015؛ He وآخرون، 2015). يتحكم الـ DSF ومشتقاته بتنظيم تعبير المورثات المسؤولة عن الوظـائف الحيويـة عند البكتيريا المنتجـة لها كاستعمار أنسجة النبات العائل وغير العائل وقدرتها علـى النمـو والتطـور، وإنتـاج الأنزيمـات المحللـة للجـدر الخلويـة (كالسـيللولاز، والبروتيـاز) وتشـكل البيـوفيلم Biofilm، ومقاومـة المضـادات الحيويـة، وتعزيز القدرة التنافسية للبكتيريا في الوسط الذي تعيش فيه، والتعرف على الأنواع البكتيريـة الأخرى في الوسط، وغيرها من عوامل الشراسة الضرورية لها في قدرتها الإمراضية على العائل النباتي (Marques وآخرون، 2015).



الشكل رقم (1): عامل الإشارة المنتشر الـ DSF ومشتقاته في الأنواع البكتيرية المختلفة (Ryan و Dow، 2011).

ويرمز لإنتاج وإفراز عائلة الـ DSF قطعة من الـ DNA وزنها الجزيئي (21.9 kd) وتسـمى بِـ (rpf) Regulation of Pathogencity Factors، وتضم تسـع مورثات rpf ABCDEFGHI (Barber وأخرون، 1997)، وحددت وظائفها عند البكتيريا Xcc و Xoo من

خلال إجراء طفرات بـ Transposon mutagensis، حيث المورثة Rpf F ترمّز للبروتين RpfF الأنزيم الرئيس في إنتاج عائلة الإشارة DSF، الذي يملك وظيفتي Acyl-ACP-thioesterase و Dehydratase (Zhou وأخرون، 2015)، والمورثة Rpf B ترمّز للأنزيم

Fatty acyl-CoA-ligase الذي يلعب دور في حركية الحموض الدهنية الحرة المشبعة المُشّكلة من قبل الفعالية الأنزيمية Thioesterase لـ RpfF، وقد بينت الدراسات أن له دور في تفكيك إشارات عائلة DSF، حيث عند حذف المورثة Rpf B أو إحداث طفرة فيها يؤدي إلى زيادة مستوى الـ DSF في معلق زرع البكتيريا Xcc (Zhou وأخرون، 2016)، بينما المورثتين Rpf C و Rpf G يشكلان نظام استقبال ونقل جزيئات عائلة DSF (Ryan وأخرون، 2015).

بينت الدراسات السابقة إلى الإشارة البكتيرية 11- methyldodecanoic acid قد سجلت لأول مرة عند البكتيريا Stenotrophomonas maltophilia، وقد بينت أنها مسؤولة عن تنظيم تعبير المورثات المسؤولة عن تحمل الإجهاد، والمضادات الحيوية، والحركة (Haung و Wong، 2007). أما بالنسبة للبكتيريا المسببة لمرض التبقع الزاوي على القطن Xanthomonas citri subsp. malvacearum (Xcm)، فتقوم البكتيريا لإنجاح إصابتها للأسطح النباتية بإنتاج وإفراز مجموعة من عوامل الشراسة كالأنزيمات المحللة للجدر الخلوية (السيللولاز، الأميلاز، البكتيناز) وإنتاج EPS (Jalloul وآخرون، 2015)، وبيَن يونس وآخرون (2018) أن البكتيريا Xcm تنتج وتفرز كل من DSF، و cis-2-hexadecenoic acid التابعتين لعائلة الـ DSF.

هدف البحث Research Objective

انطلاقاً من أهمية دور إشارات عائلة الـ DSF في تنظيم تعبير المورثات المسؤولة عن القدرة الإمراضية عند بكتيريا الجنس Xanthomonas، إضافة إلى الأضرار والخسائر الاقتصادية التي تسببها البكتيريا Xanthomonas citri subsp. malvacearum (Xcm) على محصول القطن عالمياً، والذي يعتبر المحصول الاقتصادي الثاني بعد القمح في سوريا. كانت الحاجة إلى معرفة أنواع الإشارات التي تتوسط الـ QS عند بكتيريا التبقع الزاوي على القطن Xanthomonas citri subsp. malvacearum (Xcm)، وبالتالي معرفة دورها الوظيفي في تنظيم عوامل القدرة الإمراضية للبكتيريا المدروسة، وإمكانية استهدافها أو استخدامها كعامل مكافحة حيوي ضد البكتيريا المنتجة لها لاحقاً.

مواد وطرائق العمل:

العزلة البكتيرية وأوساط النمو ومكان تنفيذ العمل:

أُستخدمت العزلة البكتيرية المحلية Xcm S101 المعزولة من بذور القطن صنف حلب 33 من مخبر ممرضات النبات البكتيرية في كلية الهندسة الزراعية –قسم وقاية النبات– جامعة دمشق. واستخدمت الأوساط الغذائية: الآغار المغذي Nutrient Agar (NA): بيبتون 0.5%، خلاصة اللحم 0.3%، سكروز 1%، خلاصة الخميرة 0.1 %، آغار 1.5%، pH=7. المرق المغذي Nutrient Broth (NB): بيبتون 0.5%، خلاصة اللحم 0.3%، سكروز 1%، خلاصة الخميرة 0.1%، pH=7، بهدف تنمية البكتيريا ولاستخلاص إشارات عائلة الـ DSF (Zhou وآخرون، 2015). ونفذت التجارب في مخبر ممرضات النبات البكتيرية–كلية الهندسة الزراعية–جامعة دمشق.

استخلاص جزيئات عائلة الـ DSF من وسط زرع البكتيريا Xcm S101:

أُتبعت طريقة Zhou وآخرون (2015) في استخلاص جزيئات عائلة الـ DSF من وسط زرع البكتيريا Xcm S101 وحفظها لحين الدراسة، فنميت العزلة البكتيرية Xcm S101 على وسط الزرع NA وحُضّنت عند درجة حرارة 28ºC لمدة 48 ساعة، ثم أُخذت

مستعمرة بكتيرية واحدة بعمر 24 ساعة لتلقيح 40 mL من الوسط NB ضمن دورق مخروطي بسعة 200 mL، وحُضّنت مع الرّج ضمن الحاضنة الرجاجة على سرعة 200 دورة/ دقيقة ودرجة حرارة 28ºC لمدة 48 ساعة، حتى وصـــول تركيز المعلق البكتيري إلى كثافة ضوئية مساوية لـ 1 (OD_{600}=1) تقريباً (~2*10^9 CFU\mL)، ثم أُخذ 20 mL من الوسط السابق، وزُرعت في 1000 mL من الوسط NB نفسه موزعة بالتساوي ضمن 5 دوارق مخروطية بسعة 500 mL، وحُضّنت ضمن الحاضنة الرجاجة وبالشروط السابقة نفسها مدة 48 ساعة، حتى أصبح تركيز البكتيريا في المعلق ثلاثة أضعاف التركيز السابق، ثم ثُفل المعلق البكتيري السابق بسرعة 8000 xg لمدة 15 دقيقة عند درجة حرارة الغرفة للتخلص من الخلايا البكتيرية، ثم نُقلت الرشاحة الطافية الخالية من الخلايا البكتيرية إلى أوعية مخروطية جديدة، وضُبطت حموضة الوسط حتى أصبحت pH=3.5-3 باستخدام HCL (6N)، ثم أُضيف حجم مماثل من خلات الايثيل إلى الرشاحة السابقة، ومُزجت محتويات الأوعية السابقة لمدة 15 دقيقة في الحاضنة الرجاجة عند درجة حرارة 28 ºC والسرعة 200 دورة /دقيقة حتى تمام التجانس، ثم ثُفلت بسرعة 8000 xg لمدة 10 دقائق عند درجة حرارة الغرفة، وجُمع المحلول العضوي الطافي (خلات الايثيل الحاوية على إشارات عائلة الـ DSF)، ونُقل إلى أنابيب زجاجية جديد بسعة 10 mL، ثم بُخّرت خلات الإيثيل بواسطة حمام مائي عند درجة حرارة 40 ºC، حتى تمام الجفاف، وحُفظت خلاصة وسط زرع البكتيريا Xcm الحاوية على إشارات عائلة الـ DSF عند درجة حرارة −20ºC لحين الاستخدام بحسب الطريقة المذكورة سابقاً.

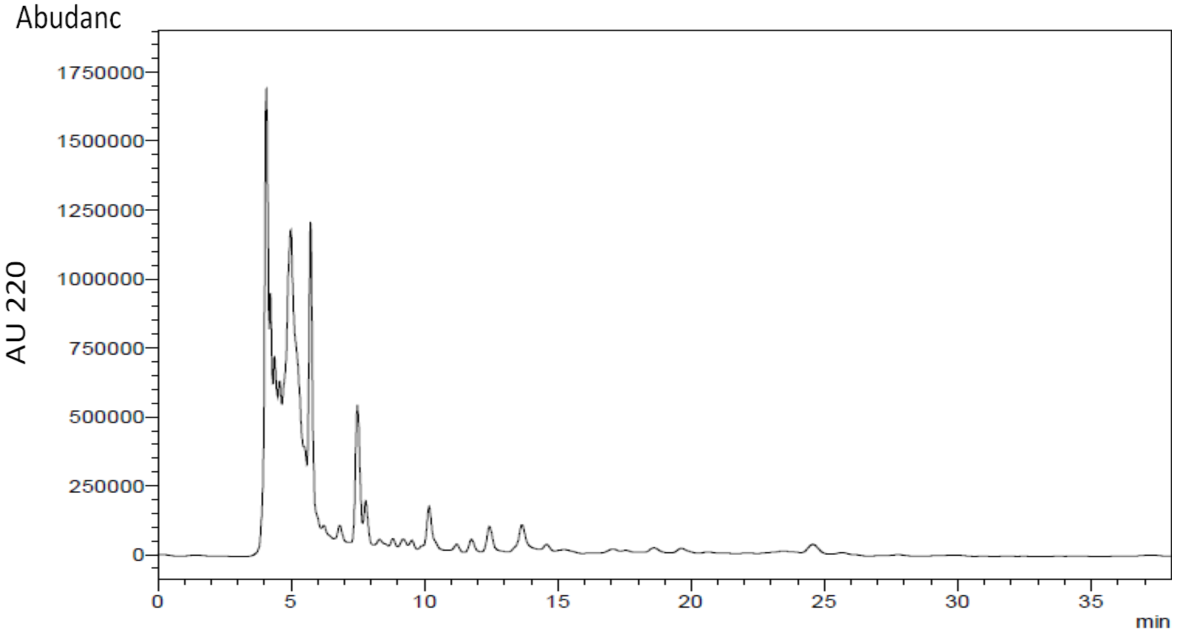
تحديد المركبات المفرزة في وسط الزرع البكتيري NB بواسطة LC-MS:

اتبعت طريقة Zhou (2015)، وذلك بحل خلاصة وسط زرع البكتيريا Xcm الحاوية على إشارات عائلة الـ DSF والمحفوظة عند درجة حرارة −20ºC في 50 µL من الميثانول النقي، وبعد الرج الشديد مُرّرت العينة عبر فلتر ميكروبي (filter Minisart) 0.2 µm للتخلص من الشوائب، ثم حقن 5 µL من العينة الناتجة بعمود طور عكسيKnauer C18 Germany, أبعاده 250*4.6mm، وبسماكة 5µm في جهاز LC-MS (كلية العلوم− جامعة دمشق)، والمتمتع بالصفات التالية جهاز SHIMADZU LC-MS 2020 مجهز بمحلل رباعي الأقطاب Quadropole ككاشف انتخابي، وكانت شروط التحليل لـ HPLC على الشكل التالي: الطور المتحرك ميثانول/ ماء 20:80، ودرجة حرارة العامود 30Cº، وتدفق بمعدل 0.4 مل/دقيقة، والكاشف Agilent G4212A على طول موجة 220 نانومتر، وعرض نطاق 4 نانومتر، أما شروط التحليل لـ MS فكانت على الشكل التالي: مطياف الكتلة MS في وضع التأين السلبي، ودرجة حرارة الغاز 325Cº، وتدفق الغاز :11 لتر/دقيقة، ونطاق المسح الأيوني: m\z 100−1700، وذلك حسب الطريقة المذكورة أعلاه.

النتائج والمناقشة:

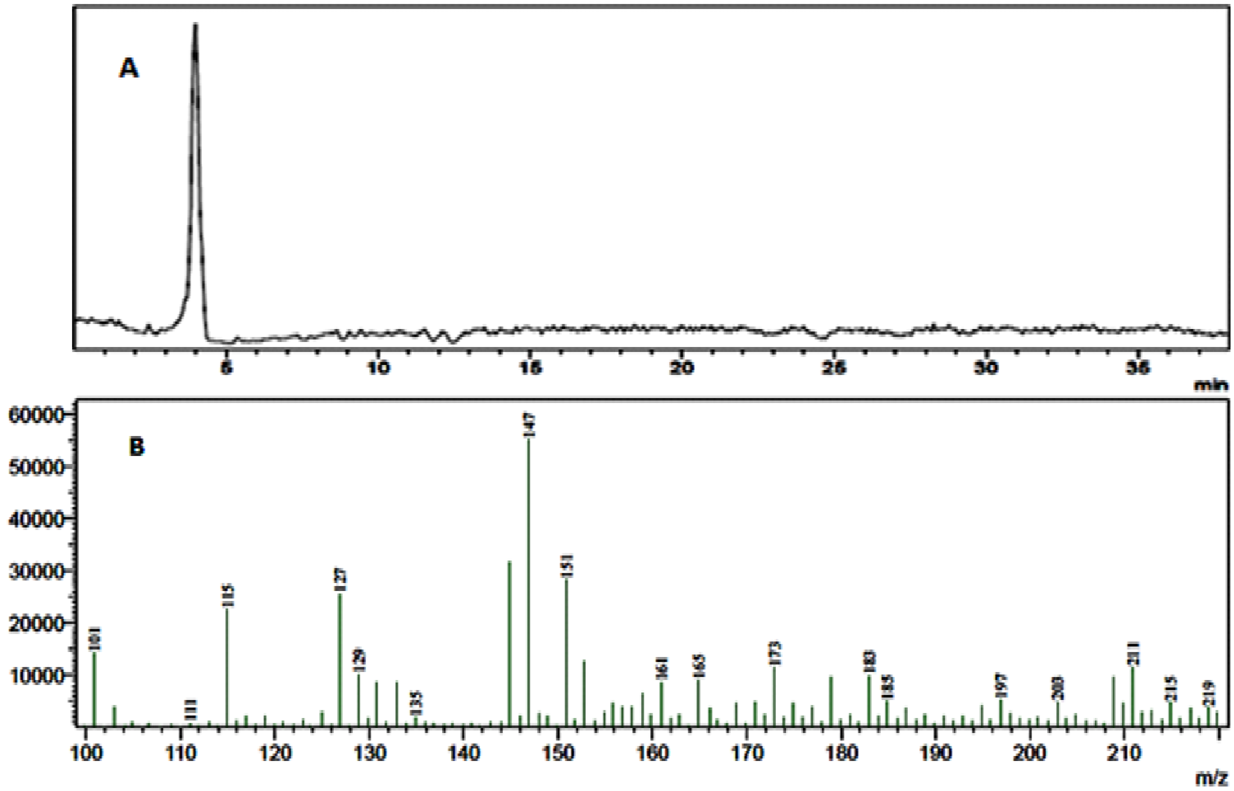
الكشف عن جزيئات تابعة لعائلة الـ DSF:

أظهرت نتائج تحليل LC باستخدام عمود طور عكسي C18، وطور متحرك ميثانول/ ماء 20:80، وتدفق بمعدل 0.4 مل / دقيقة، والكاشف على طول موجة 220 nm، قمم المركبات الكيميائية الموجودة في العينة، وزمن احتفاظها (الشكل 2).



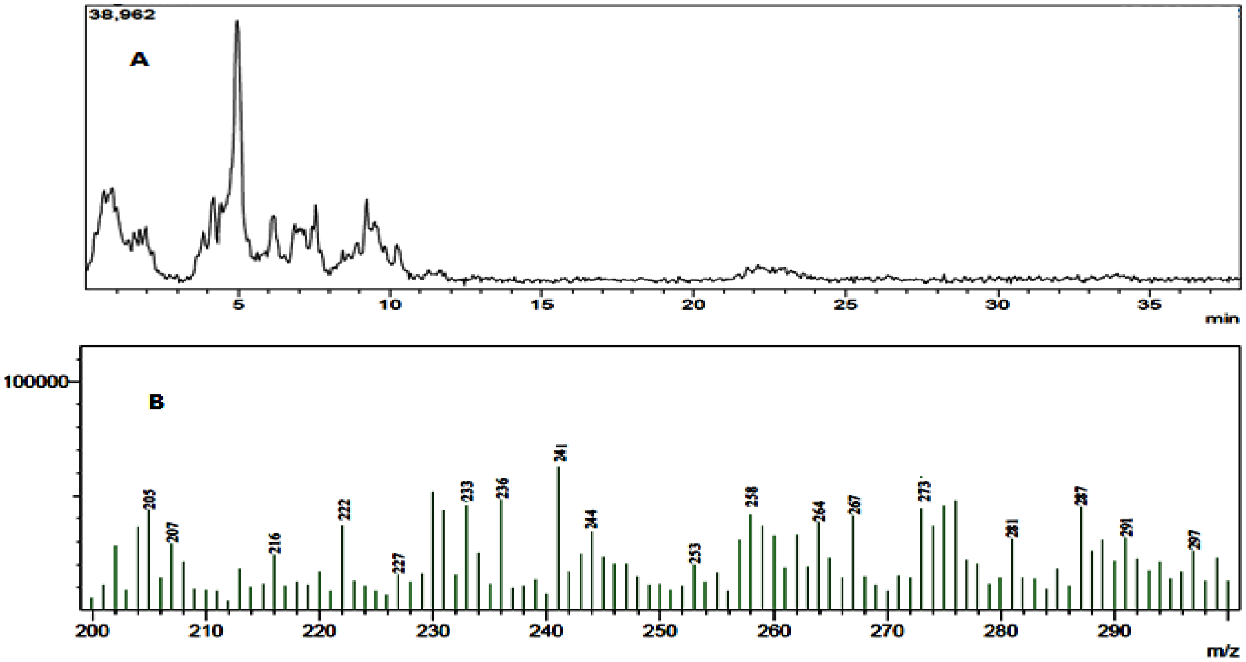
الشكل رقم (2): كروموتوغرام تحليل لمفرزات العزلة Xcm S101 الناتجة عن تحليل LC-MS وزمن احتفاظها.

فبينت النتائج وجود مشتق لحمض دهني بزمن احتفاظ 4.015 دقيقة (الشكل 3-A)، ووزن أيوني 183 m\z (الشكل 3-B)، وعُرّف باستخدام قاعدة بيانات NIST، ChemIDplud، Lipidmaps،Chemspider، Pubchem بـ Cis-2-undecenoic acid، ويُتبع عائلة DSF، وقد كشف Zhou وآخرون (2016) عن هذه الجزيئة عند البكتيريا Xoo و Xcc، وإن الوزن الأيوني 183 m/z المميز لـ cis-2-undecenoic acid عند Xcm S101 مطابق للوزن الأيوني المميز لهذه الجزيئة عند Xoo و Xcc (Zhou وآخرون 2016)، ولم تبين الدراسات المرجعية وظيفة هذه الجزيئة في البكتيريا Xcc أو Xoo (He وآخرون، 2015).



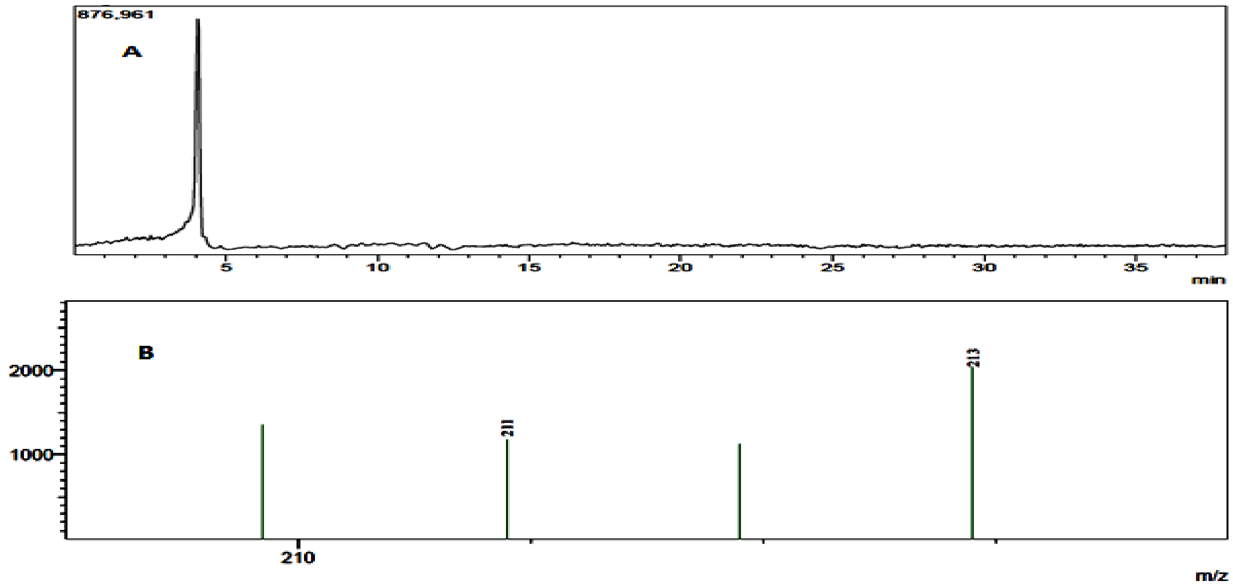
الشكل رقم (3): البصمة الكيميائية النموذجية لـ cis-2-undecenoic acid، (A) كروموتوغرام الأيون الكلي المميز لـ cis-2-undecenoic acid في خلاصة وسط الزرع للبكتيريا Xcm S101. (B) التشظي الأيوني الـ MSالمميز لـ cis-2- undecenoic acid حيث أظهر وزنًا أيونيا دقيقًا (Z = 1) بقيمة 183 m\z دالتون لـ $[\text{cis-2-undecenoic acid-H}]^-$ (القمة المنخفضة)، والتي تحدد الوزن الجزيئي للـ cis-2-undecenoic acid بـ 184.

وكما أظهرت التحليل وجود مشتق لحمض دهني بزمن احتفاظ 4.982 (الشكل 4-A)، ووزن أيوني 241 m\z (الشكل 4-B)، وعرف باستخدام قاعدة بيانات NIST، ChemIDplud، Lipidmaps، Chemspider، Pubchem بـ 12-methyltetradecanoic acid. وسجّلها Li وآخرون (2017) عند البكتيريا Xcc، و Lonescu وآخرون (2016) عند البكتيريا Xf، وأن الوزن الأيوني m/z 241 المميز لـ 12-methyltetradecanoic acid عند Xcm S101 مطابق للوزن الأيوني المميز لهذه الجزيئة عند البكتيريا Xcc (Li وآخرون، 2017) و Xf (Lonesecu وآخرون، 2016)، ولقد بينت الدراسات المرجعية أن الجزيئة 12-methyltetradecanoic acid تتحكم بتنظيم تعبير المورثات المسؤولة عن القدرة الإمراضية وتشكيل طبقات من السكريات المعقدة Biofim والحركة (Weiss وآخرون، 2012؛ Lonescu وآخرون، 2016).



الشكل رقم (4): البصمة الكيميائية النموذجية لـ 12-methyltetradecanoic acid، (A) كروموتوغرام الأيون الكلي المميز لـ 12-methyltetradecanoic acid في خلاصة وسط الزرع للبكتيريا Xcm S101. (B) التشظي الأيوني الـ MS المميز لـ 12-methyltetradecanoic acid حيث أظهر وزنًا أيونيا دقيقًا (Z = 1) بقيمة 241 m\z دالتون لـ $[\text{12-methyltetradecanoic acid -H}]^-$ (القمة الرئيسية)، والتي تحدد الوزن الجزيئي للـ 12-methyltetradecanoic acid بـ 242.

أيضاً أظهرت نتائج التحليل الوزن الأيوني المميز لـ 11-methyldodecenoic acid بزمن احتفاظ 4.049 دقيقة (الشكل 5-A)، ووزن أيوني 213 m\z (الشكل 5-B)، وعرف باستخدام قاعدة بيانات NIST، pider،Lipidmaps Chems، Pubchem بـ 11-methyldodecanoic acid. وسّجل Haung و Wong (2007) وجود هذه الجزيئة عند البكتيريا Stenotrophomonas maltophilia، وأن الوزن الأيوني 213 m/z المميز لـ 11-methyldodecanoic acid عند Xcm S101 مطابق للوزن الأيوني المميز لهذه الجزيئة التابعة لعائلة DSF عند البكتيريا Stenotrophomonas maltophilia (Haung و Wong، 2007)، ولقد بينت الدراسات المرجعية أن الجزيئة 11−methyldodecanoic acid تتحكم بتنظيم تعبير المورثات المسؤولة عن تحمل الإجهاد والمضادات الحيوية والحركة عند البكتيريا Stenotrophomonas maltophilia (Haung و Wong، 2007؛ Weiss وآخرون، 2012). ولم يسبق أن سجلت هذه الجزيئة عند أحد أنواع الجنس Xanthomonas، وبالتالي تعد هذه الدراسة الأولى التي تكشف هذه الجزيئة عند أنواع تابعة للجنس Xanthomonas.



الشكل رقم (5): البصمة الكيميائية النموذجية لـ 11-methyldodecanoic acid، (A) كروموتوغرام الأيون الكلي المميز لـ 11-methyldodecanoic acid في خلاصة وسط الزرع للبكتيريا Xcm S101. (B) التشظي الأيوني بالـ MS المميز لـ 11-methyldodecanoic acid حيث أظهر وزنًا أيونيا دقيقًا (Z = 1) بقيمة 213 m\z دالتون لـ [11-methyldodecanoic acid-H]⁻ (القمة الرئيسية)، والتي تحدد الوزن الجزيئي للـ 11-methyldodecanoic acid بـ 214.

وكشـــفت نتائج هذا البحث أن البكتيريا Xcm S101 تنتج وتفرز عدد من جزيئات الإشارة من مشتقات الحموض الدهنية غير المشبعة والتابعـــــة لعائلـــــة الـ DSF، وهي: Cis-2-undecenoic acid، 12-methyltertrad ecenoic acid، 11-methyldodecenoic acid، ولم تسجل الأخيرة في أي نوع بكتيري تابع للجنس Xanthomonas وبالتالي تعتبر هذه الدراسة أولية لهذه الإشارة في أحد أنواع الجنس Xanthomonas. وتعد جزيئات عائلة الـ DSF من إشارات التواصل البكتيري التي تتوسط الـ QS عند أنواع الجنس Xanthomonas الذي يعد من أهم الأجناس البكتيرية التي تسبب أضراراً اقتصادية كبيرة على المحاصيل الزراعية المختلفة منهت الاقتصادية كالقطن والقمح والرز، ولتستطيع البكتيريا من استعمار المضيف النباتي عليها أن تنسق وتنظم تعبير مورثات القدرة الإمراضية بشكل منسق ومتزامن ويحققها لأجلها نظام الـ QS، فهو مسؤول عن تنظيم تعبير مورثات الشراسة عندها كالأنزيمات المحللة للجدر الخلوية، وتشكل البيوفيلم، وإنتاج السكريات المعقدة الخارجية، ومن هذا المنطلق فإن معرفة أنواع الإشارات التي تتوسط الـ QS عند أنواع الجنس Xanthomonas ودورها في تنظيم الوظائف الحيوية للبكتيريا تفيد في القدرة على مكافحة المرض من خلال استهداف تلك الإشارة بتقنية Quorum Quenching (QQ) أو من خلال استخدام الإشارة نفسها في مكافحة الممرض المنتج له بتقنية التشويش على العامل الممرض Pathogen confusion (Caicedo وآخرون، 2017).

التمويل: هذا البحث ممول من جامعة دمشق وفق رقم التمويل (501100020595).

Reference:

1- يونس، علي.، أبوغرة، محمود.، جلول.، عايدة (2018). الكشف عن cis-2-hexadecenoic acid عند البكتيريا المسببة لمرض التبقع الزاوي على القطن. مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية.

2- Akanksha ,R., K, Karambir ., and K, Manoj. (2016). Repertoire of quorum sensing signaling molecules in prokaryotes. Nucleic Acids Res. D634–D639. Doi;10.1093/nar/gkv1076..

3- Barber,C.E., J.L,Tang., J.X,Feng., M.Q,Pan., T.J,Wilson., H, Slater., J.M,Dow., P, Williams and M.J, Daniels. (1997). A novel regulatory system required for pathogenicity of Xanthomonas campestris is mediumsted by a small diffusible signal molecule. Mol. Microbiol 24, 555-66.

4- Chatterjee,A., G,Aparna., and R.V, Santi.(2008) A cell wall-degrading esterase of Xanth omonas oryzae requires a unique substrate recognition module for pathogenesis on rice. Plant Cell21: 1860-1873.

5- Haung,T.P., and A.C,Wong .(2007). A cyclic AMP receptor protein-regulated cell-cell communication system mediates expression of a FecA homologue in Stenotrophomonas maltophilia. Appl Environ Microbiol 73: 5034–5040.

6- He,Y.W., W,Wu., J.Cha., and L.H, Zhang. (2010). Rice bacterial blight pathogen Xant homonas oryzae pv. oryzae produces multiple DSF-family signals in regula tion of virulen ce factor production. BMC Microbiol.10,187.

7- Jalloul,A., Sayegh, M., Champion ., M, Nicole.(2015). Bacterial blight of cotton. in Phytop athologia Mediterranea 54(1):3-20.P.233-243.

8- Lonescu, M., K,Yokota., E, Antonova., A, Garcia., E, Beaulieu., T, Hayes., and S.E, Lindow .(2016). Promiscuous Diffusible Signal Factor Production and Responsiveness of the Xylella fastidiosa Rpf System. AMericam Society for Microbiology. VOL.7, Issue 4, 054-16.

9- Ryan, R. P., and J. M, Dow. (2011). Communication with a growing family: diffusible signal factor (DSF) signaling in bacteria. Trends Microbiol. 19, 145–152.

10- Waters, C.M., and B.L, Bassler.(2005).Quorum Sensing Cell-to-Cell Communication in Bacteria. Molecular Biology.p21:319–46.

11- Wang,S., H.W, Lian., H,Yawen., G,Yunfeng., J-E,Wu., Y-H,Dong., C,He., L,Weng., J-L, Xu., L-T, R., X, Fang., and L-H, Zhang.(2004).A bacterial cell–cell communic ation signal with cross-kingd om structural analogues.Molecular Microbiology .doi:10. 1046.

12- Weiss, F., C., Jakubczyk, D., Kubas, A., Anastassacos, G; Fink, and K., Schepers. (2012) Interkingdom signaling: integration, conformation, and orientation of N-acyl-L-homoserine lactones in supported lipid bilayers. Langmuir , 28 (22) pp. 8456-8462.

13- Zhou,L., Yu, Y., Chen, X., Abdeen Diab, A., Ruan, L., He, J., Wang, H., and He ,Y.W.(2015). The Multiple DSF-family QS Signals are Synthesized from Carbohydrate and Branched- chain Amino Acids via the FAS Elongation Cycle. Sci. Rep. 5, 13294; doi: 10.10 38/srep 13294.

14- Schmid, N., Pessi, G., Deng, Y., Aguilar, C., Carlier, A.L., Grunau, A., Omasits, U., Zhang, L.H. et al. (2012). The AHL- and BDSF-dependent quorum sensing systems control specific and overlapping sets of genes in Burkholderia cenocepacia.DOI.10.1371/journal. pone.0049966.

15- Caicedo, J. C. Villamizar, S., and Ferro, J. A. (2017). Quorum Sensing, It's Role in Virulence and Symptomatology in Bacterial Citrus Canker. Doi /10.5772/66721.

16- Bainton, N.J., Bycroft, B.W., Chabra, S.R., Stead, P., Gledhill, L., Hill, P.J., et al. (1992) A general role for the lux autoinducer in bacterial cell signalling: control of antibiotic biosynthesis in Erwinia. Gene 116: 87– 91.

17- Rezzonico, F., Theo, H., Smits, M., and Duffy, B.(2012). Detection of AI-2 Receptors in genomes of

Enterobacteriaceae Suggests a Role of Type-2 Quorum Sensing in Closed Ecosyst ems.Sensors,6645-6665; doi:10.3390/s120506645.

18- Frederick, V., Craemer, S.De., Debunn, N.,Janssens, Y., Wynendaele, E., and Spiegeler, B.(2017).Peptides as Quorum Sensing Molecules:Measurement Techniq ues and Obtai ned Levels In vitro and In vivo.Frontiers in Neuoroscience .doi .10.3389\fnins.2017 . 00183.

19- Zhou, L., Zhang, L.H., Cámara, M., and He, Y.W. (2016). The DSF Family of Quorum Sensing Signals :Diversity, Biosynthesis, and Turnover. Cell press. Review. DOI.10.1016/j.tim.2016.11.013.

20- Ryan, R.P., An, S.Q., Allan, J., McCarthy, Y., and Dow, J.M. (2015). The DSF family of Cell-Cell Signals: An Exapanding Class of Bacterial Virulance Regulators. POLS.ppat.1004986.

21- He, Y.W., Wu, J., Zhou, L., Yang, F., He, Y.Q., Jiang, B.L., Bai, L., Xu, Y., Deng, Z., Tang, J.L., and Zhang, L.H. (2011). Xanthomonas campestris diffusible factor is 3-hydroxybenzoic acid and associated with Xanthomonadin biosyn-thesis, cell viability, antioxidant activity and systemic invasion. DOI: 10.1094/MPMI-02-11-0031.

22- He, Y.W., Zhou, L., Wang, X.Y., and Jiang, B.L .(2015). Identification and characterize ation of naturally occurring DSF-family Quorum Sensing signal turnover system in the phytopathogen Xanthomonas. Environ Microbiol 17:4646-4658.DOI: 10.1111/1462-2920. 129 99.

23- Marques, C. N. H., Davies, D.G., and Sauer, K. (2015). Control of Biofilms with the Fatty Acid Signaling Molecule cis-2-Decenoic Acid. Pharmaceuticals 2015, 8, 816-835; doi: 10.3390/ph80 40816.

24- Li, L., Li, J., Zhang, Y., and Wang, N. (2019). Diffusible signal factor (DSF)-mediated quorum sensing modulates expression of diverse traits in Xanthomonas citri and responses of citrus plants to promote disease. BMC Genomics 20, 55. https://doi.org/10.1186/s12864-018-5384-4.