Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)

48(4), Winter, 2026

10.22055/ppr.2025.50045.1815

Multilocus sequence-based phylogeny of pathogenic *Streptomyces* isolates infecting potato

B. Rezvani[1], S. Baghaee-Ravari[2*], E. Mahdikhani-Moghaddam [3]

1. Graduated MSc. Student, Department of Crop Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
2. ***Corresponding Author:** Associate Professor, Department of Crop Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran (s.baghaee@um.ac.ir)
3. Professor, Department of Crop Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Received: 29 June 2025 Revised: 23 August 2025 Accepted: 26 August 2025

Abstract

Background and Objective

Streptomyces are recognized as a rich source of bioactive compounds among actinomycetes. Systematic studies have provided an appropriate framework for identifying species within this genus. In previous studies, isolates of the common scab pathogen from central potato-growing provinces in Iran were not grouped with any of the globally recognized pathogenic *Streptomyces* species based on 16S rRNA gene sequencing. Although the 16S rRNA gene is widely used in phylogenetic studies of *Streptomyces* species, its sequence often fails to differentiate species within this genus. In plant-pathogenic *Streptomyces*, housekeeping genes are used as stable markers for accurate identification and classification of different species. Due to their essential roles in cellular processes, housekeeping genes are rarely subject to natural selection pressures, thereby undergoing fewer changes compared to other genes. Utilizing these genes can facilitate the precise identification of *Streptomyces* species and reduce diagnostic errors. The present study aimed to investigate the phylogeny of pathogenic *Streptomyces* isolates representing different provinces of Iran using Multilocus sequence analysis.

Materials and Methods

Twelve pathogenic *Streptomyces* isolates were examined based on their morphological characteristics, including the color of aerial and substrate mycelia, colony morphology, pigment production in culture medium, and the shape of spore chains. Pathogenicity was assessed under laboratory conditions using radish seeds and seedlings as well as potato tuber slices. Additionally, the presence of *txtAB*, *tomA*, and *nec1* genes was investigated in the isolates. Finally, phylogenetic analysis of the representative pathogenic *Streptomyces* isolates was conducted based on the sequencing of four housekeeping genes: *atpD*, *recA*, *rpoB*, and *trpB*. For this purpose, multiple sequence alignments were performed, and phylogenetic trees were constructed both individually for each gene and in combination using Multilocus sequence analysis approaches. The trees were generated using the Neighbor-Joining and Maximum Likelihood methods.

Results

Variation in the color of aerial and substrate mycelia was observed among the isolates. Spore chain patterns were spiral in 57% and rectiflexibiles in 43% of the isolates. Isolates SA3 and SFF completely inhibited the germination of radish seeds. Other isolates, including SA4, SA6B,

SF6, SKH1, SKH2, and SA1, induced a broader range of symptoms, such as necrosis, stunting, and hypertrophy, excluding seed germination inhibition. Symptoms such as necrosis and pitting in potato disks were observed in isolates SA3, SA4, SFF, SKH2, and SH. In PCR assays, a 700 bp fragment corresponding to the nec1 gene was detected in two of the eight selected isolates including SA6B and SSH1. The *txt*AB gene (385 bp) was amplified in three isolates: SFF, SA4, and SKH1. The *tom*A gene (392 bp) was amplified only in isolate SF5. The phylogenetic trees generated using both Neighbor-Joining and Maximum Likelihood algorithms demonstrated consistent interpretations. The position of the *Streptomyce*s isolates from this study was identical in both algorithms when compared with reference strains.

Discussion

Detection of genes associated with the pathogenicity island in *Streptomyces* isolates using the primers employed in this study was primarily negative. It was revealed that there is no correlation between the presence of pathogenicity-related genes and the pattern of disease symptoms observed in bioassays on radish seedlings and potato slices. Identifying unknown secondary metabolites produced by species of this genus may provide insights into possible links between genotype and pathogenic phenotype. In accordance with the previous phylogenetic revision of *Streptomyces* species, the clustering pattern in the final concatenated tree, based on four housekeeping genes, was consistent in both the Neighbor-Joining and Maximum Likelihood algorithms. Accordingly, isolates SA1, SKH1, and SH were clustered within the *S. rochei* species group. Isolates SSH1 and SA6B were grouped with the reference strains *S. fimicarius* and *S. caviscabies*. Isolate SA4 was clustered with the reference strain S. *anulatus*, while isolates SFF and SF5 exhibited greater nucleotide differences and were considered as *Streptomyces* sp. To validate these results, multilocus sequence analysis (MLSA) is recommended for a larger number of pathogenic isolates collected from various regions of the country.

Keywords: Sequencing, Iran, Potato Common Scab, Housekeeping genes

Associate editor: R. Rezaei (Ph.D.)

Citation: Rezvani, B., Baghaee-Ravari, S., & Mahdikhani-Moghaddam, E. (2026). Multilocus sequence-based phylogeny of pathogenic *Streptomyces* isolates infecting potato. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, *48*(4), 103-122. https://doi.org/ 10.22055/ppr.2025.50045.1815.

گیاه‌پزشکی (مجله علمی کشاورزی)
جلد ٤٨، شماره ٤، زمستان ١٤٠٤

10.22055/ppr.2025.50045.1815

تبارشناسی جدایه‌های بیمارگر *Streptomyces* سیب‌زمینی با استفاده از توالی یابی چند جایگاه ژنی

بهناز رضوانی[۱]، ساره بقایی راوری*[۲] و عصمت مهدیخانی مقدم[۳]

۱- فارغ التحصیل کارشناسی ارشد، گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۲- * **نویسنده مسوول**: دانشیار گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۳- استاد گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۰۸ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۶/۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۰۴

چکیده

استرپتومایسس‌ها به عنوان منبع غنی از ترکیبات فعال زیستی ازاکتینومیست‌ها می‌باشند. سیستماتیک، چارچوبی مناسب برای شناسایی گونه‌های این جنس مهیا نموده است. مطالعه حاضر با هدف بررسی تبارزایی جدایه‌های *Streptomyces* بیماریزای نماینده از برخی استان‌های ایران با استفاده از توالی‌یابی چند جایگاه ژنی انجام گرفت. جدایه‌های نماینده از نظر ویژگی‌های شکل‌شناسی، بیماری‌زایی روی تربچه و برش‌های سیب‌زمینی و نیز حضور ژن‌های جزیره بیماری‌زایی ارزیابی شدند. همچنین، تبارزایی جدایه‌های *Streptomyces* بیماریزای نماینده با توالی‌یابی چهار ژن خانه‌دار *atpD*، *recA*، *rpoB* و *trpB* و بررسی ترکیبی نتایج، تحلیل شد. به نظر می‌رسد ارتباطی بین حضور ژن‌های مرتبط با بیماری‌زایی و نیز الگوی علائم بیماری در آزمون‌های سنجش زیستی روی گیاهچه‌های تربچه وبرش‌های سیب‌زمینی وجود ندارد. شناسایی متابولیت‌های ثانویه ناشناخته تولید شده توسط گونه‌های این جنس می‌تواند در دستیابی به ارتباط احتمالی راهگشا باشد. الگوی خوشه‌بندی در درخت ترکیبی نهایی مبتنی بر چهار ژن خانه‌دار در هر دو الگوریتم اتصال مجاور و درستنمایی بیشینه همخوانی دارد و براین اساس جدایه‌های SA1 ، SKH1 و SH در گروه گونه ای *S. rochei* خوشه‌بندی شده اند. جدایه های SSH1 و SA6B با جدایه‌های استاندارد *S. fimicarius* و *S. caviscabies* در یک گروه قرار گرفتند. جدایه‌ی SA4 با جدایه استاندارد *S. anulatus* در یک خوشه در کنار هم قرار گرفته اند و جدایه‌های SFF و SF5، تفاوت‌های نوکلئوتیدی بیشتری نشان داده و به عنوان *Streptomyces* sp. درنظرگرفته شدند. جهت اعتبارسنجی نتایج، توالی‌یابی چند جایگاه ژنی برای تعداد بیشتری جدایه‌ی بیماریزا از نقاط مختلف کشور پیشنهاد می‌شود.

کلیدواژه‌ها: توالی‌یابی، ایران، جرب معمولی سیب زمینی، ژن‌های خانه‌دار

دبیر تخصصی: دکتر رسول رضائی

مقدمه

بیماری جرب معمولی سیب‌زمینی ایجاد شده توسط گونه‌های مختلف جنس *Streptomyces* به عنوان یک مشکل کیفی گسترده در زمینه تولید این محصول در نظر گرفته می‌شود (Dees et al., 2013; Vadehi Hafshajani & Fadaei Tehrani, 2014). معمولا زمانی‌که این بیماری در مزرعه مستقر می‌شود، مهار آن بسیار سخت است (Dees & Wanner, 2012)، و در اغلب مناطق اصلی کشت سیب‌زمینی در ایران از جمله استان‌های همدان، خراسان، اصفهان، فارس، چهارمحال و بختیاری، زنجان و آذربایجان‌شرقی گزارش شده است (Taghavi & Faghihi, 2006; Khodakaramian et al., 2011; Hasani & Taghavi, 2014; Fadaei Tehrani & Jafari, 2016; Bisayar et al., 2021; Ramezani-Moghaddam et al., 2024).

مشخصات شکل‌شناسی و بیوشیمیایی معیار قابل‌قبولی در تفکیک جدایه‌های بیمارگر *Streptomyces* نیستند (Leiminger et al., 2013). این جنس از اکتینوباکترها تنوع بالای ژنتیکی دارد و شامل بیش از ۸۰۰ گونه‌ی می‌باشد، اما تنها حدود ۱۴ گونه‌ی آن به‌عنوان عوامل بیماریزای گیاهی شناخته می‌شوند (Weisberg et al., 2021). سازوکار بیماری‌زایی و پرآزاری در جدایه‌های بیمارگر گیاهی این جنس شامل تولید زهرابه‌های گیاهی، پروتئین‌های ترشحی، هورمون‌های گیاهی و آمینواسیدهای آروماتیک می باشد (Li et al., 2019). کلاستر ژنی درگیر در بیماری‌زایی و پرآزاری می‌تواند دربرگیرنده‌ی چندین ناحیه با مسیر تکاملی مستقل از هم باشد (Aittamaa et al., 2010). بنابراین احتمال انتقال برخی از ژن‌های جزیره بیماری‌زایی *Streptomyces* از جدایه‌های بیمارگر به غیر بیمارگر به‌واسطه انتقال افقی وجود دارد (Loria et al., 2006).

درک تنوع ژنتیکی گونه‌های *Streptomyces* برای فهم تکامل بیمارگرهای عامل جرب معمولی روی گیاهان میزبان ضروری است. باوجود استفاده گسترده از ژن 16S rRNA، اما در اغلب موارد، توالی این ژن قادر به تفکیک قابل‌قبول گونه‌های *Streptomyces* نمی‌باشد (Labeda et al., 2012). روش تجزیه و تحلیل توالی چندجایگاه ژنی (MLSA)[1] در طبقه‌بندی جدایه‌های *Streptomyces* موفقیت بیشتری نشان داده است (Labeda et al., 2017). تحلیل‌های تبارزایی که براساس MLSA و داده‌های توالی‌یابی کل ژنوم ، نشان می‌دهند که بسیاری از جدایه‌های *Streptomyces* به اشتباه طبقه‌بندی شده‌اند و این موضوع ممکن است به نتایج نادرستی درباره تکامل بیماری‌زایی در این جنس منجر شود (Labeda et al., 2012).

در *Streptomyces* های بیمارگرگیاهی، ژن‌های خانه‌دار به‌عنوان شاخص‌های ثابت برای شناسایی و طبقه‌بندی گونه‌های مختلف مورداستفاده قرار می‌گیرند. به‌دلیل نقش حیاتی ژن‌های خانه‌دار در فرآیندهای سلولی، به‌ندرت تحت فشارهای انتخاب طبیعی قرار می‌گیرند و بنابراین در مقایسه با ژن‌های دیگر، تغییرات کمتری در آن‌ها رخ می‌دهد (Kim et al., 2004). به‌کارگیری این ژن‌ها می‌تواند شناسایی دقیق گونه‌های *Streptomyces* را تسهیل کند و خطای تشخیصی را کاهش دهد. ژن‌های *rec*A (نقش در فرآیند ترمیم DNA)، *rpo*B (نقش در فرآیند رونویسی ژن‌ها)، *atp*D (نقش در فرآیند فسفریلاسیون اکسیداتیو) و *trp*B (نقش در فرآیند تولید اسید آمینه تریپتوفان) به دلیل تنوع ژنتیکی کم خود در طول زمان پایدار باقی می‌مانند، برای ایجاد درخت‌های تبارزایی با دقت بالا در مطالعات تکاملی باکتری‌ها استفاده می‌شوند (Guo et al., 2008; Labeda, 2011).

مطالعات اخیر در ایران نیز بر وجود تنوع بالای جدایه‌های بیماریزای *Streptomyces* دلالت دارند، به‌طوری‌که جدایه‌های بدست آمده از استان‌های مختلف مانند خراسان رضوی، همدان، اردبیل و اصفهان با گونه‌های رایج جهانی شباهت‌های محدودی نشان داده‌اند و به‌درستی در گروه‌های شناخته‌شده طبقه‌بندی نشده‌اند (Bisayar et al., 2021; Ramezani-Moghaddam et al., 2024). به همین دلیل، استفاده از روش‌های دقیق‌تر مولکولی نظیر MLSA برای

[1] - Multi-Locus Sequence Typing

بررسی تبارزایی این جدایه‌ها ضروری به‌نظر می‌رسد. مطالعه حاضر با هدف بررسی تبارزایی جدایه‌های منتخب *Streptomyces* جداشده از غده‌های آلوده سیب‌زمینی در ایران انجام گرفته است. در این پژوهش، از توالی‌یابی چند جایگاه ژنی برای تعیین روابط تاکسونومی این جدایه‌ها نسبت به جدایه‌های استاندارد موجود در پایگاه NCBI استفاده شده است. نتایج حاصل از این مطالعه می‌تواند به درک بهتر تنوع ژنتیکی جدایه‌های بومی و شناسایی ویژگی‌های خاص آن‌ها در ارتباط با بیماری‌زایی کمک نماید.

مواد و روش‌ها

جدایه‌های *Streptomyces*

عداد ۱۲ جدایه *Streptomyces* از کلکسیون گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد و دو جدایه از گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز مورد بررسی قرار گرفتند. این جدایه‌ها قبلاً از غده‌های سیب‌زمینی دارای علایم جرب معمولی جداسازی شده بودند.

بررسی خصوصیات ظاهری جدایه‌ها

جدایه‌های *Streptomyces* انتخاب شده در محیط عصاره مخمر، مالت، آگار (YMEA)[1] به مدت ۱۴-۷ روز در دمای ۲۸ درجه سلسیوس نگهداری شدند و تک پرگنه حاصل از هرجدایه از نظر واکنش گرم و فعالیت هوازی/ بی هوازی داشتن در محیط تیوگلیکولیت بررسی شدند، همچنین، رنگ میسلیوم‌های رویشی و زایشی، شکل پرگنه، تولید رنگدانه در محیط مربوطه و همچنین شکل زنجیره اسپوری بررسی شدند (Shirling & Gotllieb, 1966).

بیماری‌زایی روی بذر و گیاهچه تربچه

بذر تربچه رقم cherry belle با هیپوکلریت سدیم ۵ ٪ به مدت یک دقیقه ضدعفونی و سپس با آب مقطر سترون سه بار شست‌و شو داده شد (Flores-Gonzalez et al., 2008). هر جدایه به مدت هشت روز در محیط کشت YMEA رشد داده شد. سپس بذور ذکر شده به تعداد نه عدد در هر تشتک پتری حاوی Streptomyces در سه تکرار قرار داده شدند. تشتک پتری حاوی محیط YMEA فاقد باکتری به عنوان شاهد مثبت درنظر گرفته شد. نمونه‌های موردنظر به مدت هفت روز در دمای ۲۸ درجه سلسیوس در انکوباتور نگهداری شدند. واکنش‌های احتمالی شامل عدم جوانه‌زنی بذر، رشد غیرطبیعی، نکروز و هیپرتروفی در حضور باکتری‌ها بررسی شدند (Fyans et al., 2016).

بیماری‌زایی روی ورقه‌های سیب‌زمینی

جدایه‌های انتخاب‌شده به مدت پنج تا ده روز در دمای ۲۸ درجه سلسیوس در انکوباتور روی محیط *YMEA* رشد کردند (Loria et al., 1997). سیب‌زمینی‌های رقم آگریا عاری از هرگونه علائم بیماری بعد از شست‌وشو، با هیپوکلریت‌سدیم ۱۰٪ به مدت یک دقیقه ضدعفونی شدند. ورقه‌هایی با ارتفاع ۵ میلی‌متر برش و روی کاغذ صافی مرطوب در سه تکرار داخل تشتک‌های پتری سترون قرارداده شدند. حفره‌ی کوچکی در مرکز ورقه‌ها ایجاد و قرص‌هایی از محیط کشت حاوی باکتری رشدیافته برش و روی ورقه‌های سیب‌زمینی قرار داده شد. تشتک ها در دمای ۲۸ درجه سلسیوس در انکوباتور نگهداری شدند (Hao et al., 2009). پس از گذشت پنج روز، ظهور و یا عدم ظهور لکه‌های نکروز در سطح ورقه‌های سیب‌زمینی بررسی و ثبت شد.

ردیابی ژن‌های جزیره بیماری‌زایی

استخراج DNA با استفاده از کیت استخراج DNA ژنومی بافت (یکتاتجهیزآزما) با توجه به دستورالعمل شرکت سازنده انجام گرفت. به‌منظور ردیابی ژن‌های *txt*AB، *tom*A و *nec*1 در جدایه‌های موردبررسی، به ترتیب، جفت آغازگرهای TxtAB2 TxtAB1 ؛ Tom4 /Tom3 (Wanner 2006) و Nr/Nf (Bukhalid et al., 1998) استفاده شدند. مخلوط واکنش زنجیره ای پلیمراز(PCR)[2] ۲۵ میکرولیتری شامل ۱۲/۵ میکرولیتر مخلوط آماده واکنش زنجیره ای پلیمراز (شرکت Amplicon)، دو میکرولیتر DNA به همراه ۱۰ پیکومول از هر یک از آغازگرها در دستگاه ترموسایکلر Biometra (آلمان) طبق برنامه حرارتی ارائه‌شده در منابع با اندکی تغییر انجام گرفت (Wanner,

[1] - Yeast Malt Extract Agar

[2] - Polymerase Chain Reaction (PCR)

2006; Bukhalid et al., 1998). بدین‌منظور، برای هرسه ژن *txt*AB، *tom*A و *nec*1 چرخه‌حرارتی با واسرشت اولیه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه آغاز، با ۳۵ چرخه شامل واسرشت در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگرها به ترتیب در محدوده‌های دمایی ۴۸ ، ۵۸ و ۵۷ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه و گسترش در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه ادامه یافته و در نهایت با یک چرخه گسترش نهایی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه خاتمه یافت.یک واکنش بدون افزودن DNA ژنومی به عنوان شاهد منفی درنظرگرفته شد. جدایه‌های SKH1، SFF و SH مربوط به بررسی‌های پیشین (Bisayar et al., 2021; Ramezani-Moghaddam et al., 2024) در کنار سایر نمونه ها، به عنوان شاهد مثبت قرار گرفتند. محصولات به‌دست آمده از آزمون PCR به همراه یک نشانگر وزنی[1] روی ژل آگارز یک درصد که با رنگ گرین‌ویوئر[2] رنگ آمیزی‌شده، بارگذاری و بمدت ۳۰ دقیقه در ولتاژ ۸۵ ولت، الکتروفورز شده و با دستگاه ژل‌داک از ژل عکس‌برداری انجام شد.

تکثیر ژن‌های خانه‌دار، تعیین ترادف نوکلئوتیدی و آنالیز تبارزایی[3]

برای جدایه‌های منتخب، چهار ژن خانه‌دار *rpo*B,*atp*D,*rec*A,*trp*B در آزمون PCR با جفت آغازگرهای ارائه‌شده و طبق برنامه حرارتی ذکرشده در منابع (Guo et al., 2008; Labedo et al., 2011) با کمی تغییر در دمای اتصال دردستگاه ترموسایکلر Biometra (آلمان) تکثیر شدند (جدول ۱). یک واکنش بدون افزودن DNA ژنومی به عنوان شاهد منفی و به منظور اطمینان از عدم وجود آلودگی درنظرگرفته شد. محصولات PCR برای خالص‌سازی و تعیین ترادف (دورو خوانش) به همراه آغازگرهای رفت‌وبرگشت توالی یابی به شرکت کدون ژنتیک (تهران) ارسال شدند. ترادف نوکلئوتیدی حاصل از توالی‌یابی ژن‌های خانه دار ازنظر میزان مشابهت در بلاست[4] با سایر جدایه‌های ثبت شده در ژن بانک مقایسه گردیدند. از توالی‌های ثبت شده در ژن بانک مربوط به جدایه‌های مرجع برای مقایسات تبارزایی استفاده گردید. ویرایش توالی‌ها، هم‌ردیف‌سازی چندگانه توالی‌ها و رسم درخت حاصله به صورت انفرادی برای هر ژن و به صورت ترکیبی برای انجام تایپینگ چندجایگاه ژنی با روش اتصال مجاور[5]و درست‌نمایی بیشینه[6] به‌وسیله نرم‌افزار MEGA 11 همراه با ۱۰۰۰ تکرار نمونه گیری ترسیم گردید. در کلیه درخت‌ها، جدایه *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv به‌عنوان برون‌گروه درنظرگرفته شد.

نتایج

جدایه‌های عامل بیماری جرب معمولی سیب‌زمینی و شکل‌شناسی آنها

جدایه‌های *Streptomyces* مورداستفاده در مطالعه حاضر به شرح جدول ۲ ارایه شده است. شکل‌شناسی برخی از پرگنه‌ها و الگوهای اسپوری نیز در شکل ۱ نمایش داده شده است. همه جدایه‌ها گرم مثبت و هوازی اجباری بودند. از نظر تنوع در شکل، اندازه پرگنه و رنگ اسپور تولیدی در محیط عصاره مخمر، مالت، آگار(YMEA) بررسی شدند. میسلیوم‌های رویشی باکتری به رنگ‌های سفید، سفید کدر و خاکستری روشن مشاهده شدند. با شروع فاز اسپورزایی باکتری، توده‌های اسپوری به تدریج میسلیوم‌ها را پوشانده و تغییررنگ در اکثر مواقع دیده می‌شود. اسپورهای اغلب جدایه‌ها به رنگ های سفید کدر، خاکستری روشن و خاکستری تیره مشاهده شد. الگوهای اسپوری نیز به ترتیب در ۵۷ و ۴۳ درصد جدایه‌ها به ترتیب مارپیچ و صاف(دارای پیچش) بود (جدول ۱). از این بین تنها شش جدایه توانایی تولید رنگدانه در محیط YMEA را داشتند. طبق جدول ۲، چهار جدایه رنگدانه قهوه ای و دو جدایه رنگدانه زرد تولید کردند.

---

[1] -DNA ladder
[2] -Green viewer
[3] -Phylogenetic
[4] -BLAST
[5] -Neighbor joining
[6]- Maximum Likelihood

جدول ۱- توالی و دمای اتصال آغازگرهای استفاده شده جهت ردیابی ژن‌های خانه دار در جدایه‌های بیمارگر *Streptomyces* (Guo et al., 2008)

Table 1. Sequence and annealing temperature of used primers for housekeeping genes screening in pathogenic Streptomyces isolates (Guo et al., 2008)

ژن	آغازگر تکثیر/توالی یابی		توالی نوکلئوتیدی (′۵-′۳)	اندازه قطعه تکثیری(bp)	دمای اتصال(°C)
*rpo*B	تکثیر	**rpoBPF**	GAGCGCATGACCACCCAGGACGTCGAGGC	۹۹۴	۶۷
		rpoBPR	CCTCGTAGTTGTGACCCTCCCACGGCATGA		
	توالی یابی	**rpoBF1**	TTCATGGACCAGAACAACC		
		rpoBR1	CGTAGTTGTGACCCTCCC		
*trp*B	تکثیر	**trpBPF**	GCGCGAGGACCTGAACCACACCGGCTCAC ACAAGATCAACA	۸۸۲	۶۶
		trpBPR	TCGATGGCCGGGATGATGCCCTCGGTGCGC GACAGCAGGC		
	توالی یابی	**trpBF**	GCCTCACACAAGATCAACAA		
		trpBR	TCGATGGCCGGGATGATGCCC		
*rec*A	تکثیر	**recAPF**	CCGCRCTCGCACAGATTGAACGSCAATTC	۹۱۳	۶۷
		recAPR	GCSAGGTCGGGGTTGTCCTTSAGGAAGTTG CG		
	توالی یابی	**recAF**	ACAGATTGAACGGCAATTCG		
		recAR	ACCTTGTTCTTGACCACCTT		
*atp*D	تکثیر	**atpDPF**	GTCGGCGACTTCACCAAGGGCAAGGTGTT CAACACC	۹۹۸	۶۷
		atpDPR	GTGAACTGCTTGGCGACGTGGGTGTTCTGG GACAGGAA		
	توالی یابی	**atpDF**	ACCAAGGGCAAGGTGTTCAA		
		atpDR	GCCGGGTAGATGCCCTTCTC		

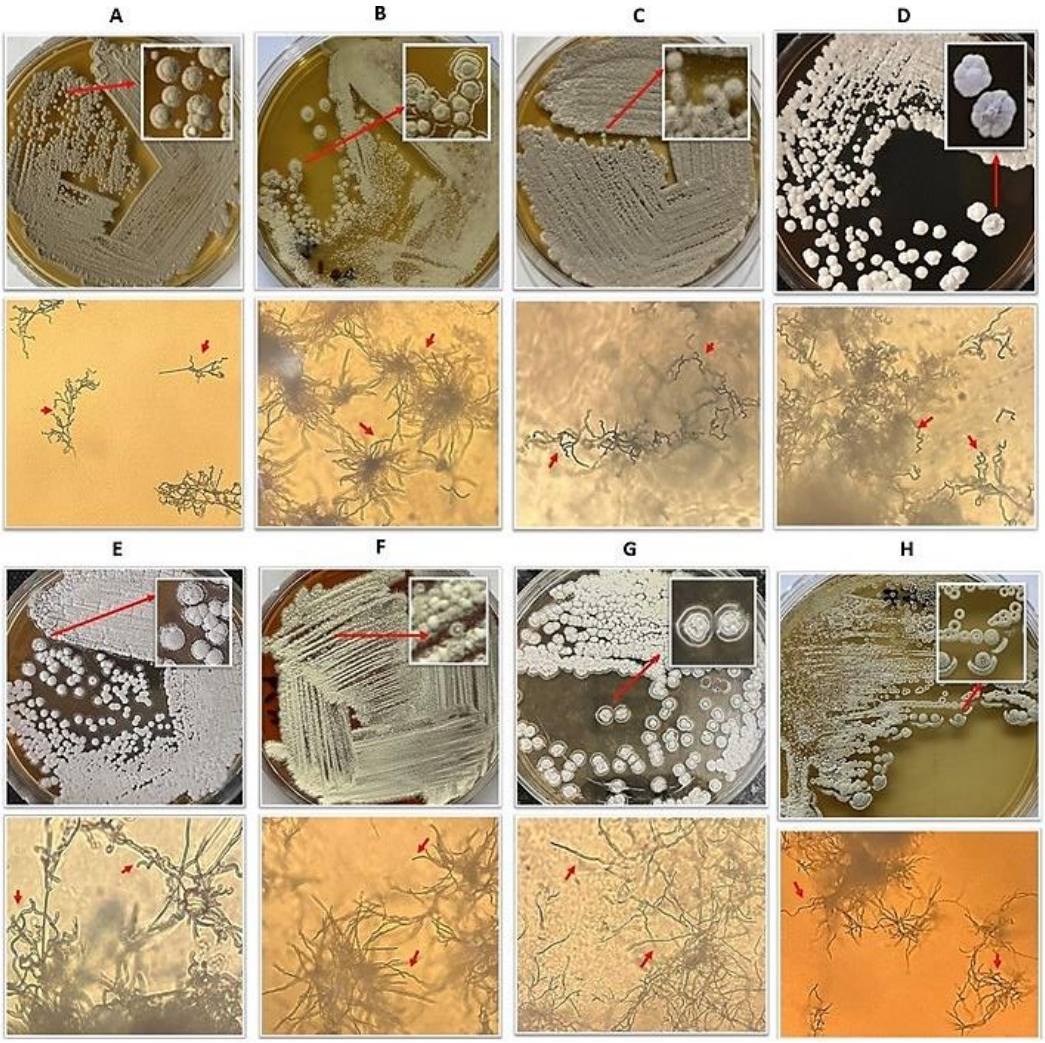
جدول ۲- ویژگی‌های شکل‌شناسی *Streptomyces* های بیماریزا بدست آمده از سیب‌زمینی دارای علایم جرب از برخی استان های ایران

Table 2. Morphological characteristics of putative pathogenic *Streptomyces* isolates obtained from scabby potato tubers related to different provinces of Iran

Bacterial isolates	Sampling region	Symptoms*	Color of colonies on YME-agar	Color of spores	Soluble pigment on YME-agar	Spore chain type
SA1	Ardabil	R	White	Grayish White	-	Spiral
SA3	Ardabil	S, P	White	Pale gray	Yellow	Rectiflexibiles**
SA4	Ardabil	S	White	Pale yellow	Yellow	Rectiflexibiles
SA6B	Ardabil	R	White	Grayish White	Brown	Rectiflexibiles
SFF	Isfahan	S, P	White	Pale yellow	-	Rectiflexibiles
SF1	Isfahan	S, P	White	Pale gray	-	Spiral
SF2	Isfahan	R	Pale gray	Dark gray	-	Spiral
SF5	Isfahan	S	Grayish White	Dark gray	-	Spiral
SF6	Isfahan	S, P	Pale gray	Dark gray	-	Spiral
SH	Hamadan	S	White	Dark gray	-	Spiral
SSH1	Fars	P	White	Grayish White	Brown	Rectiflexibiles
SSH4	Fars	R	White	Grayish White	Brown	Rectiflexibiles
SKH1	Razavi-Khorasan	ND	Grayish White	Pale gray	-	Spiral
SKH2	Razavi-Khorasan	ND	Pale gray	Dark gray	Brown	Spiral

* علائم جرب روی غده مورد بررسی: (S: Superficial): سطحی؛ (R:Raised): برجسته؛ (P:Pitted): فرورفته؛ ND: Not Determined

**زنجیره اسپوری صاف با کمی پیچش



شکل ۱- شکل شناسی پرگنه های جدایه‌های *Streptomyces* منتخب بیماریزا در سیب‌زمینی روی محیط عصاره مخمر،مالت،آگار و الگوی زنجیره اسپور آن ها (فلش های قرمز رنگ) (نوار مقیاس = ۰/۲ میلی‌متر) بااستفاده از میکروسکوپ نوری OLYMPUS BH-2. SF2(A) SA4(B) SH(C) SKH2(D) SF5(E) SA6B(F) SSH1(G) SFF(H)

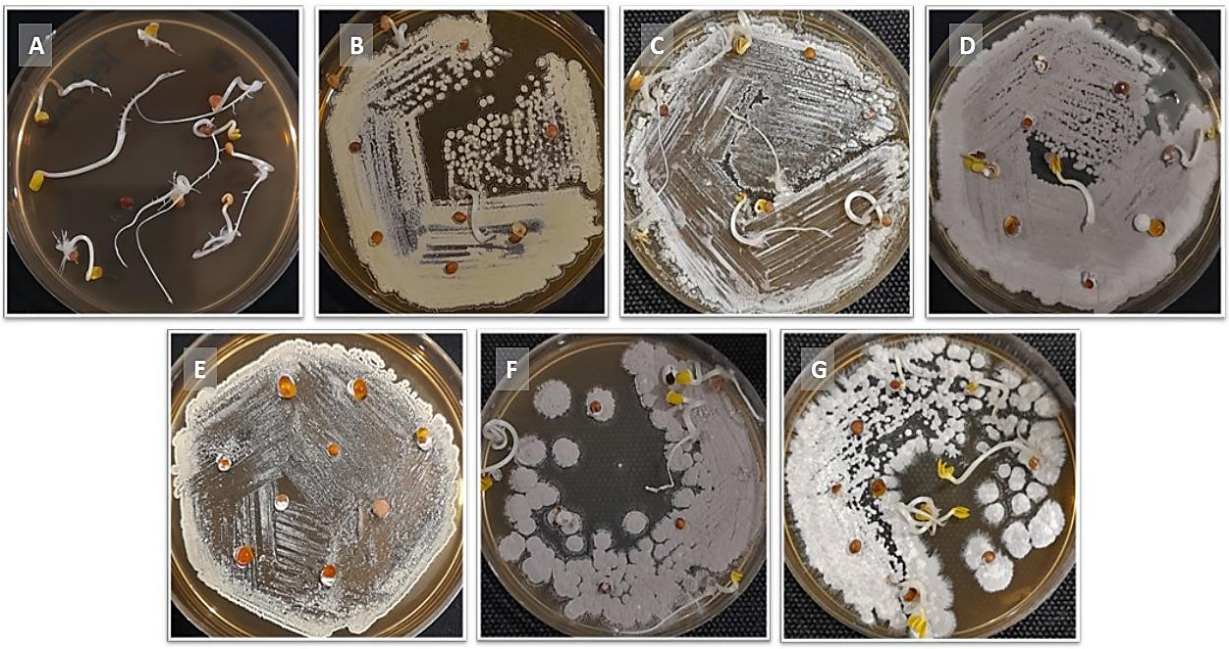
Figure 1. Pathogenic *Streptomyces* isolates colony morphology on YME agar and their pattern of spore chains (red arrows) (scale bar=0. 2 mm). A(SF2) B(SA4) C(SH) D(SKH2) E(SF5) F(SA6B) G(SSH1) H(SFF)

بیماری‌زایی روی بذور تربچه

مطابق جدول ۳ و شکل ۲، با وجود تنوع در علائم مشاهده‌شده ، جدایه‌های SA3 و SFF به‌طور کامل از جوانه‌زنی بذور تربچه ممانعت کردند و جدایه‌های SA4، SA6B، SF6، SKH1 ، SKH2 و SA1 دامنه بیشتری از علائم از جمله نکروز، کوتولگی، هایپرتروفی را به جز عدم جوانه‌زنی بذر نشان دادند. گیاهچه‌های رشد یافته در تشتک‌های پتری حاوی محیط YMEA بدون باکتری، که به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند، جوانه‌زنی و رشد طبیعی بذر را داشته، در حالیکه جدایه‌های SA4 و SA6B به وضوح فنوتیپ کوتولگی را نشان دادند.

بیماری‌زایی روی ورقه‌های سیب‌زمینی

جدایه‌های موردبررسی مرحله قبل با علائم بیماری‌زایی روی تربچه، جهت بررسی بیشتر روی ورقه‌های سیب‌زمینی رقم آگریا ارزیابی شدند. نتایج حاصل از مشاهدات نشان داد که جدایه‌های SA3، SA4، SFF، SKH2 و SH قادر به ایجاد علائمی چون نکروز و فرورفتگی در مقایسه با سایر جدایه‌ها هستند (جدول ۳، شکل۳). ورقه‌های سیب‌زمینی مایه‌زنی شده با محیط خالی YMEA به‌عنوان شاهد منفی، علائمی را نشان ندادند.



شکل ۲- تأثیر جدایه‌های *Streptomyces* بیماریزا بدست آمده از سیب‌زمینی‌های آلوده برخی استان‌های ایران بر جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه تربچه در محیط های عصاره مخمر، مالت، آگار. (A) شاهد، جوانه‌زنی و رشد طبیعی گیاهچه‌ها بدون باکتری و جدایه‌های (B)SA٤ (C)SA٦B (D)SA١ (E)SFF (F)SKH1 و (G)SKH2 درجات متفاوتی از بیماری‌زایی را نشان می‌دهند

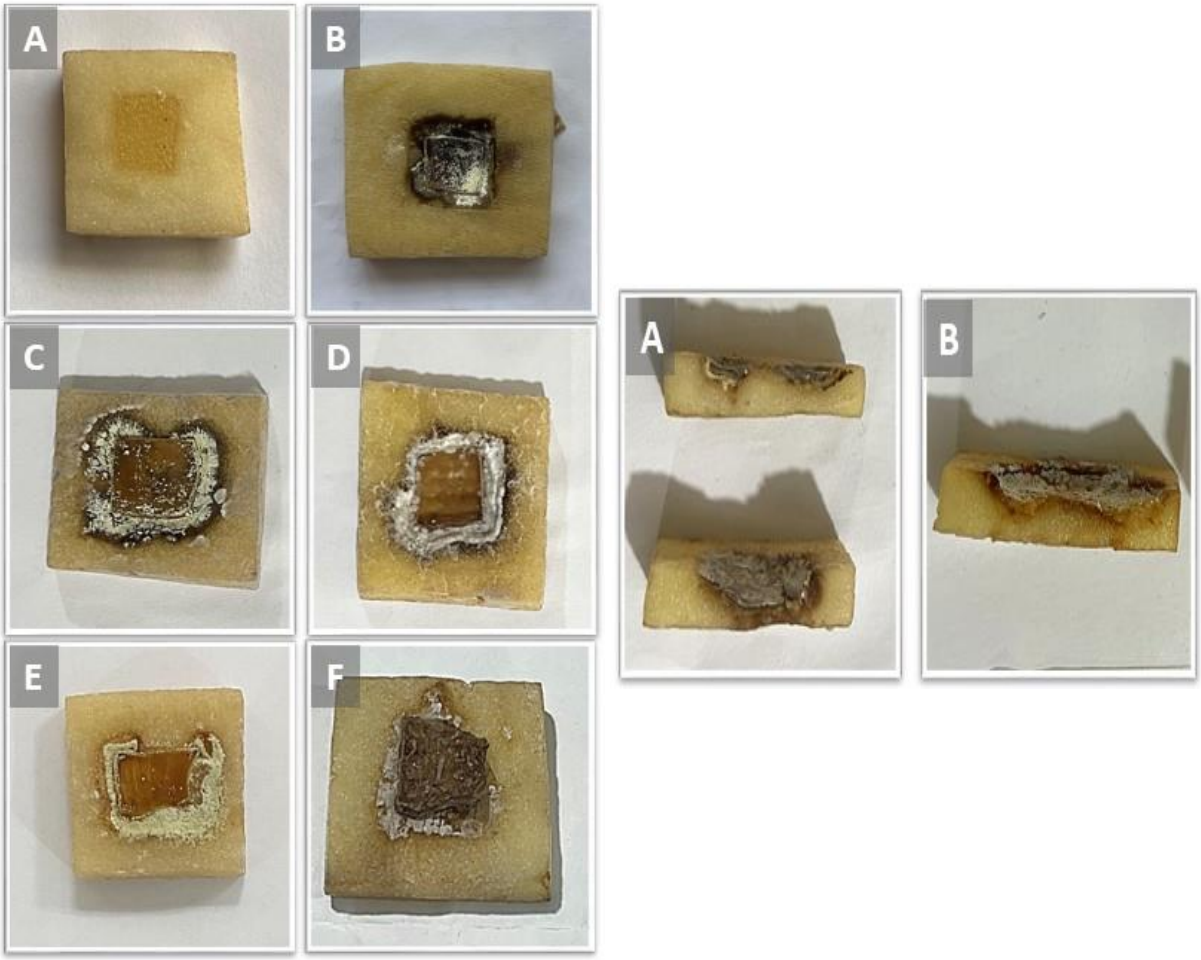
Figure 2. Effect of pathogenic *Streptomyces* isolates obtained from infected potatoes from different provinces of Iran on seed germination and radish seedling growth in Yeast, Malt Extract Agar medium. (A) Control, germination and normal seedling growth without bacteria, and isolates (B)SA4 (C)SA6B (D)SA1 (E)SFF (F)SKH1 and (G)SKH2 show different degrees of pathogenicity

جدول ۳- نتایج حاصل از بیماری‌زایی جدایه‌های نماینده *Streptomyces* به دست آمده از سیب‌زمینی‌های آلوده استان‌های اردبیل، اصفهان، همدان، فارس و خراسان رضوی روی تربچه و ورقه سیب‌زمینی.

Table 3. The results of pathogenicity of representative *Streptomyces* isolates obtained from infected potatoes in Ardabil, Isfahan, Hamadan, Fars and Khorasan Razavi provinces on radish and potato slices.

Bacterial Isolates	Pathogenicity on radish seedling*	Pathogenicity on potato slice**	Bacterial Isolates	Pathogenicity on radish seedling*	Pathogenicity on potato slice**
SA1	NG,N,D	NS	**SF5**	NG,N,D	NS
SA3	NG	N,P	**SF6**	NG,N,D	P
SA4	NG,N,D	N,P	**SH**	D،NG،N	N,P
SA6B	NG,N,D	NS	**SSH1**	N,D	NS
SFF	NG	N,P	**SSH4**	NG,N,D	NS
SF1	NG,N,D	P	**SKH1**	N،H،NG،D	NS
SF2	NG,N,D	N	**SKH2**	D،H،N،NG	N,P

*NG: No Germination, D: Dwarfing, H: Hypertrophy, N: Necrosis
**: N: Necrosis, P: Pitted, NS: No symptoms



شکل ۳- چپ: نکروز و فرورفتگی روی ورقه‌های سیب‌زمینی رقم آگریا مایه‌زنی شده با جدایه‌های Streptomyces بیمارگر. A) شاهد(محیط YMEA) B(SFF C(SA3 D(SH E(SA4 F(SKH2؛ راست: بررسی عمق فرورفتگی در ورقه‌های سیب‌زمینی آلوده به بیمارگر از پهلو؛ A(SH B(SA3

Figure 3. Left: Necrosis and pitting on potato slices of Agria cultivar inoculated with pathogenic *Streptomyces* isolates. A) Control Medium (YMEA); B)SFF; C)SA3; D)SH; E)SA4; SKH2 (F); Right: Examination of the depth of pitting in potato slices infected with the pathogen from the side; A)SH; B)SA3

ردیابی ژن‌های نشانگر جزیره بیماری‌زایی[1] در جدایه‌های *Streptomyces*

نتایج حاصل از واکنش زنجیره ای پلیمراز نشان داد که در شش جدایه، حداقل یک ژن ردیابی شد و در دو جدایه هیچ کدام از سه ژن مشاهده نگردید. (جدول ۴). قطعه ۷۰۰ جفت بازی *nec* 1، در دو جدای SA6B و SSH1 از مجموع هشت جدایه منتخب ردیابی شد. ژن *txt* AB به طول ۳۸۵ جفت باز در ۳ جدایه SFF، SA4 و SKH1 و ژن *tom A* با اندازه ۳۹۲ جفت باز در جدایه SF5 تکثیر شد. جهت اطمینان از صحت انجام آزمایش، واکنش زنجیره ای پلیمراز جدایه‌ها، چهار بار تکرار شد و در هر بار جدایه‌های دارای باند مرتبط، به عنوان شاهد مثبت درنظرگرفته شدند.

بررسی تبارزایی جدایه‌های *Streptomyces* نماینده با استفاده از توالی‌یابی چندجایگاه ژنی

درخت‌های تبارزایی برای هر چهار جایگاه‌ژنی کدکننده‌پروتئین (*atpD*، *recA*، *rpoB* و *trpB*) رسم شدند. هیچ یک از ژن‌های توالی‌یابی شده به‌تنهایی اطلاعات تبارزایی کافی برای تفکیک مطمئن تمام گونه‌ها در درخت‌ها را فراهم نمی‌کنند. درخت‌های تبارزایی حاصل از هر یک از چهار ژن، همگرایی کلی را نشان دادند، اگرچه تفاوت‌های

[1] - Pathogenicity Island Marker Genes

جزئی نیز مشاهده شد. این نتایج، مبنایی برای ترکیب توالی‌های متعدد برای تحلیل‌های یکپارچه تبارزایی فراهم نموده است.

بر اساس درخت‌های انفرادی از هر ژن (شکل های ۴ و ۵)، جدایه‌های استاندارد شناخته‌شده عامل جرب معمولی سیب‌زمینی شامل *S. scabiei*، *S. europaeiscabiei*، *S. acidiscabies* و *S. puniciscabiei* به صورت گروه‌های مجزا از هم قرار گرفتند. دو گونه استاندارد S. bottropensis و S. stelliscabiei در درخت فیلوژنتیک مربوط به *rec*A و *trp*B در کنار هم قرار گرفته و در درخت‌های مبتنی بر *rpo*B و *trp*B به صورت مجزا از هم در کنار سایر جدایه‌های استاندارد بیماریزای شناخته شده قرار گرفتند. همچنین، در درخت‌های مربوط به *rec*A و *rpo*B (شکل ۴) دو گونه استاندارد *S. turgidiscabies* و *S. reticuliscabiei* با بوت استرپ ۱۰۰ در یک گروه قرار گرفتند، در حالی‌که در بررسی دو ژن دیگر از هم مجزا شدند (شکل ۵). نوع جربی که این دو گونه در سیب‌زمینی ایجاد می کنند متفاوت است و این دو نمی‌توانند یک گونه ژنومی باشند. و ژن‌های *trp*B و *atp*D، قادر به تفکیک آنها می‌باشند.

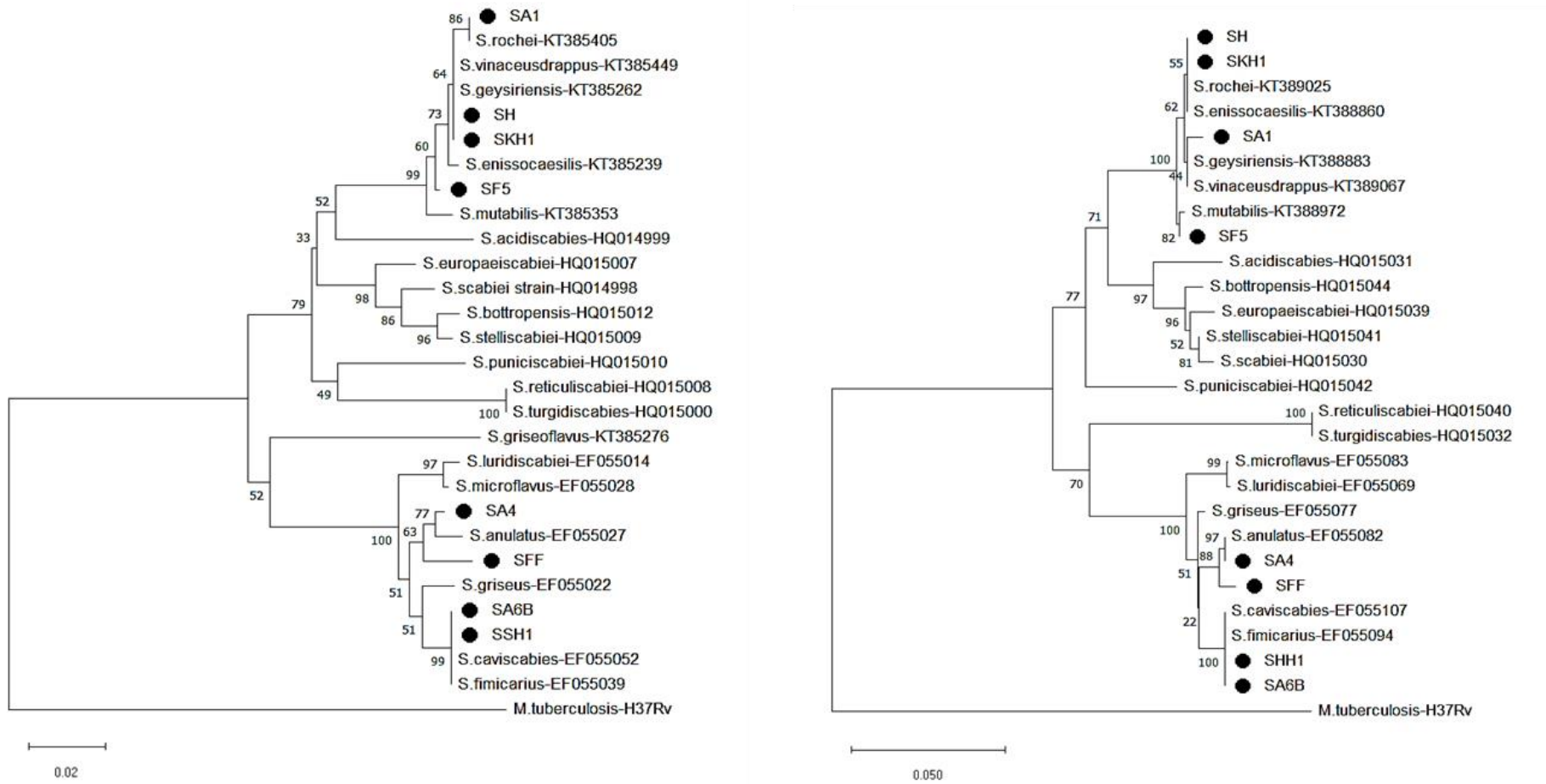
در کل، الگوی خوشه‌بندی جدایه‌های *Streptomyces* بیماریزای موردبررسی در درخت‌های انفرادی و درخت ترکیبی (شکل ۶) با یکدیگر مطابقت دارد. درخت‌های رسم شده مبتنی بر ژن‌های *trp*B و *atp*D تفاوت های نوکلئوتیدی را بیشتر نشان می‌دهند. به عنوان مثال، دو جدایه SSH1 (شیراز) و SA6B (اردبیل) در درخت‌های انفرادی مبتنی‌بر *rec*A و *rpo*B به ترتیب با بوت استرپ ۹۹ و ۱۰۰ درصد با جدایه‌های استاندارد *S. fimicarius* و *S. caviscabies* در یک گروه قرار گرفتند (شکل ۴). در حالیکه در درخت *trp*B (شکل A-۵) با بوت استرپ کمتری هم‌گروه شدند و در درخت *atp*D (شکل B-۵) جدایه SA6B در چهار نوکلئوتید با اعضای گروهش فرق داشت و در کنار کلاستر *S. luridiscabiei* و *S.microflavus* قرار گرفت.

درخت‌های ترکیبی با هر دو الگوریتم اتصال‌مجاور و درست‌نمایی بیشینه، تفسیر یکسانی را مشخص نمودند و جایگاه جدایه های *Streptomyces* مطالعه حاضر در مقایسه با جدایه‌های استاندارد با هر دو الگوریتم، یکسان است.

جدول ٤- نتایج حاصل از ردیابی ژن‌های جزیره بیماری‌زایی جدایه‌های نماینده *Streptomyces* به‌دست آمده از سیب‌زمینی‌های آلوده استان‌های اردبیل، اصفهان، همدان، فارس و خراسان رضوی

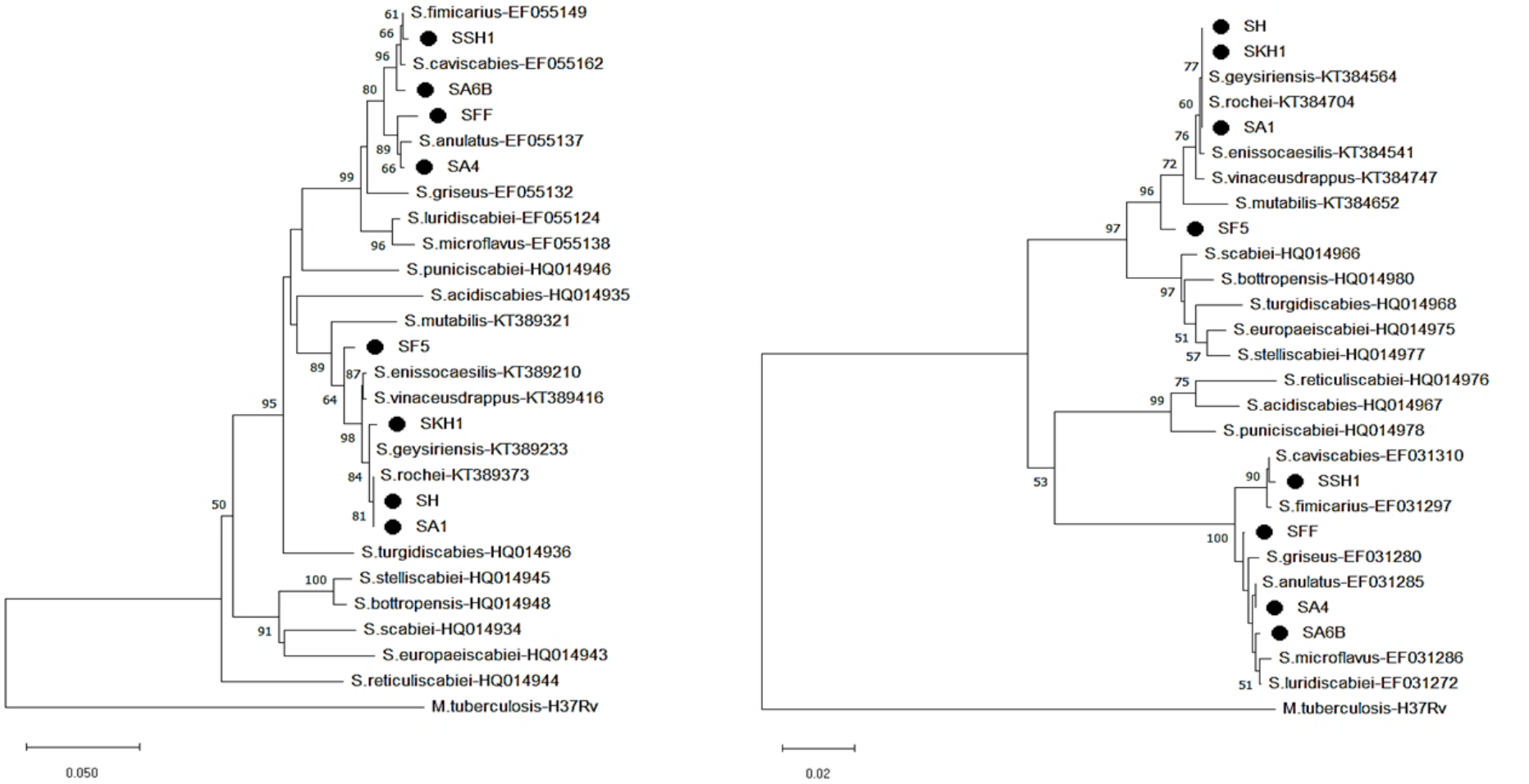
Table 4. Results from detecting pathogenicity island genes of representative *Streptomyces* isolates obtained from infected potatoes in Ardabil, Isfahan, Hamadan, Fars and Khorasan Razavi provinces

Isolate	Pathogenicity Island genes		
	***nec*1**	***tom*A**	***txt*AB**
SA1	-	-	-
SA4	-	-	+
SA6B	+	-	-
SFF	-	-	+
SF5	-	+	-
SH	-	-	-
SSH1	+	-	-
SKH1	-	-	+



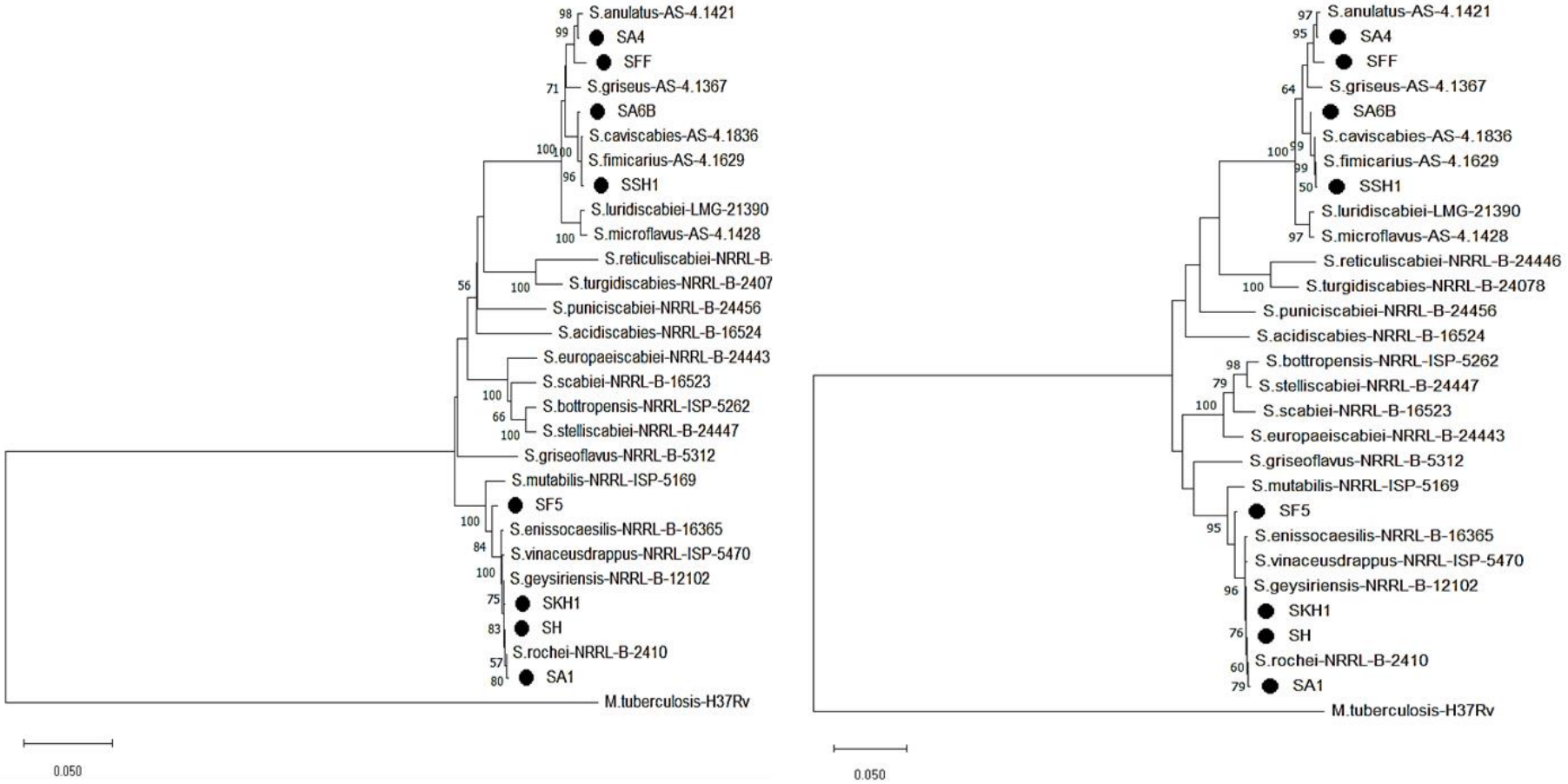
شکل ٤- درخت فیلوژنتیک رسم شده بر اساس توالی نسبی از ژن*rec*A (A) و *rpo*B (B) جدایه‌های *Streptomyces* نماینده عامل جرب معمولی سیب‌زمینی از ایران (مشخص شده با دایره توپر) با سایر جدایه‌های استاندارد ثبت شده در ژن بانک (مشخص شده با شماره کلکسیون) با استفاده از الگوریتم اتصال مجاور. اعداد ثبت شده در محل انشعاب‌ها، نشانگر درصد تایید خوشه‌بندی با۱۰۰۰ تکرار نمونه‌برداری می‌باشد.

Figure 4. Phylogenetic tree drawn based on relative sequences of *rec*A (A) and *rpo*B (B) genes of *Streptomyces* isolates representing the common potato scab pathogen from Iran (indicated by solid circle) with other standard isolates registered in the Gene Bank (indicated by collection number) using the neighbor-joining algorithm. Numbers recorded at the branch points indicate the percentage of clustering confirmation with 1000 bootstrap.



شکل ۵- درخت فیلوژنتیک رسم شده بر اساس توالی نسبی از ژن*trp*B (A) و *atp*D (B) جدایه‌های *Streptomyces* نماینده عامل جرب معمولی سیب‌زمینی از ایران (مشخص شده با دایره توپر) با سایر جدایه‌های استاندارد ثبت شده در ژن بانک (مشخص شده با شماره کلکسیون) با استفاده از الگوریتم اتصال مجاور. اعداد ثبت شده در محل انشعاب‌ها، نشانگر درصد تایید خوشه‌بندی با ۱۰۰۰ تکرار نمونه‌برداری می‌باشد.

Figure 5. Phylogenetic tree drawn based on relative sequences of *rec*A (A) and *rpo*B (B) genes of *Streptomyces* isolates representing the common potato scab pathogen from Iran (indicated by solid circle) with other standard isolates registered in the Gene Bank (indicated by collection number) using the neighbor-joining algorithm. Numbers recorded at the branch points indicate the percentage of clustering confirmation with 1000 bootstrap.



شکل ٦- درخت فیلوژنتیک رسم شده بر اساس توالی نسبی چهار ژن *atp*D ،*rec*A ،*rpo*B و *trp*B جدایه‌های *Streptomyces* نماینده عامل جرب معمولی سیب‌زمینی از ایران (مشخص شده با دایره توپر) با سایر جدایه‌های استاندارد ثبت شده در ژن بانک (مشخص شده با شماره کلکسیون) با استفاده از الگوریتم اتصال مجاور(A) و درستنمایی بیشینه (B). اعداد ثبت شده در محل انشعاب‌ها، نشانگر درصد تایید خوشه‌بندی با ۱۰۰۰ تکرار نمونه‌برداری می‌باشد.

Figure 6. Phylogenetic tree drawn based on relative sequences of *rec*A, *rpo*B, *atp* D and *trp*B genes of *Streptomyces* isolates representing the common potato scab pathogen from Iran (indicated by solid circle) with other standard isolates registered in the Gene Bank (indicated by collection number) using the neighbor-joining (A) and Maximum Likelihood (B) algorithm. Numbers recorded at the branch points indicate the percentage of clustering confirmation with 1000 bootstrap.

بحث

علائم بیماری‌زایی جدایه‌های *Streptomyces* به روش‌های انجام‌شده تنوع نشان داد و با موارد ارائه‌شده برای تربچه (Flores-Gonzalez et al., 2008; Fyans et al., 2016) و ورقه‌های سیب‌زمینی (Hao et al., 2009; Lapaz et al., 2017) مطابقت داشت. ردیابی ژن‌های مربوط به جزیره بیماری‌زایی جدایه‌های *Streptomyces* با آغازگرهای مورداستفاده در این تحقیق در بیشتر موارد منفی می‌باشد. بررسی‌های پیشین محققان نیز وجود جدایه‌های معمول *Streptomyces* القاءکننده جرب را گزارش کرده‌اند که فاقد ژن *txt*AB یا ژن‌های *nec*1 و *tom*A هستند (Wanner, 2006; Seipke and Loria, 2008). تاکستومین A در گونه‌های *S. turgidiscabies*، *S. acidiscabies* و *S. europaeiscabiei* فاکتور اصلی بیماری‌زایی است و از جدایه‌های دیگر نیز گزارش شده است. در مطالعه حاضر از هشت نماینده استان‌های دارای کشت سیب‌زمینی، فقط در سه مورد، این ژن ردیابی شد. در بررسی‌های پیشین نیز *Streptomyces* های بیمارگر فاقد ژن *txt* AB معرفی شده‌اند (Wanner, 2006; Seipke & Loria, 2008; Lapaz et al., 2017; Ramezani-Moghaddam et al., 2024). گونه *S. bottropensis* غیر بیماریزا با منشا خاک دارای توان تولید بوتروماسین گزارش شده است (Zhang et al., 2013). این گونه از جرب معمولی سیب‌زمینی از چین (Zhou et al., 2016) و اسپانیا (Sarwar et al., 2018) نیز جداسازی شده و بیماری‌زایی آن علی رغم نبود ژن *txt* AB تایید شده است. احتمال انتقال برخی از ژن‌های نشانگر جزیره بیماری‌زایی *Streptomyces* از جدایه‌های بیمارگر به غیربیمارگر وجود دارد. درصورت ثبات ژن در زمینه ژنتیکی باکتری گیرنده، امکان ظهور گونه‌های جدید بیمارگر *Streptomyces* مهیا می‌شود (Loria et al., 2006).

در بررسی حاضر، دو جدایه SA4 و SFF دارای ژن *txt* AB ، فنوتیپ نکروز و فرورفتگی در برش‌های سیب‌زمینی را نشان دادند. در حالیکه جدایه SKH1 دارای ژن ذکرشده، روی ورقه‌های سیب‌زمینی علائمی را نشان نداد. همچنین، در جدایه SH فاقد ژن *txt* AB، به وضوح نکروز و فرورفتگی بافت در برش‌های سیب‌زمینی دیده شد. به نظر می‌رسد ارتباطی بین حضور ژن‌های مرتبط با بیماری‌زایی و نیز الگوی علائم بیماری در آزمون‌های سنجش‌زیستی روی گیاهچه‌های تربچه وبرش‌های سیب‌زمینی وجود ندارد. شناسایی متابولیت‌های ثانویه سمی تولیدشده توسط گونه‌های این جنس می‌تواند در دستیابی به ارتباط احتمالی راهگشا باشد.

ژن *nec* 1 در جدایه‌های *Streptomyces* به‌دست‌آمده از سیب‌زمینی های آلوده فارس و همدان تکثیر شده است، وجود این ژن، برای بیماری‌زایی لازم نمی‌باشد (Hasani & Taghavi, 2014). جدایه SHH1 مطالعه حاضر نیز فقط ژن *nec* 1 را داراست. در تایید سایر بررسی‌ها (Fyans et al., 2016; Lapaz et al., 2017; Ramezani-Moghaddam et al., 2024)، جدایه *Streptomyces* می‌تواند فاقد هر سه ژن نشانگر مشخص جزیره بیماری‌زایی باشد ولی توانایی القا علائم مختلف را روی گیاهچه‌های تربچه و ورقه‌های سیب‌زمینی داشته باشد. در تحقیق حاضر نیز جدایه SH نماینده استان همدان، هیچکدام از سه ژن را نداشت ولی در تربچه علائم عدم‌جوانه‌زنی بذر، کوتولگی و نکروز و در ورقه‌های سیب‌زمینی نکروز و فرورفتگی بافت به وضوح مشاهده گردید. در مطالعه پیشین در مورد جدایه‌های همدان، دو توکسین تاکستومین A و کانکاناماسین ردیابی نشدند ولی یک ترکیب ناشناخته به دست آمد که به نظر در تولید علائم جرب معمولی سیب‌زمینی موثر می‌باشد (Khodakaramian et al., 2011) .

بررسی تبارزایی جنس *Streptomyces* براساس درخت‌های ترسیم شده بر پایه الگوریتم‌های مختلف مبتنی برژن 16S rRNA به دلیل توپولوژی‌های متناقض و بوت‌استرپ پایین، قابل‌اعتماد نمی باشد. به نظر می‌رسد ژن 16S rRNA برای تفکیک نسبی *Streptomyces* ها با قرابت کمتر، مناسب است، اما برای جدایه‌های گونه‌های نزدیک به هم، کارآمد نیست (Guo et al., 2008). بنابراین استفاده از این ژن به تنهایی نمی‌تواند قرابت و روابط خویشاوندی قابل اطمینانی را در بین گونه‌های

Streptomyces نشان دهد (Rong & Huang, 2010; Labeda, 2011).

در روش تایپینگ توالی چند جایگاه ژنی، ژن‌های انتخابی باید از جنبه‌های مختلف مانند سهولت تکثیر، توانایی تحلیل تاکسون‌های مرتبط قبلی، تعداد نسخه و نرخ تکامل ارزیابی می‌شوند (Hillis et al., 1996). درخت تبارزایی مبتنی بر ترکیب چند ژن خانه دار کدکننده پروتئین بهتر از درخت حاصل از اطلاعات ژن‌های خانه‌دار بعلاوه ژن 16S rRNA است، زیرا وضوح و پایداری خوبی را برای بررسی روابط خویشاوندی بین *Streptomyces* ها فراهم می کند (Guo et al., 2008; Rong & Huang, 2010) . در بررسی حاضر نیز از چهار ژن *atp*D، *rec*A، *rpo*B و *trp*B مورد استفاده در مطالعه لبدو و همکاران (۲۰۱۱) در مورد جدایه‌های بیماریزای *Streptomyces* استفاده شد. این چهار ژن به‌طور گسترده در ژنوم *Streptomyces* توزیع شده‌اند، منحصربه‌فرد هستند و به اندازه کافی طولانی می‌باشند تا اطلاعات تبارزایی مناسبی ارائه دهند (Komaki, 2021). در مقایسه با توالی کامل ژن 16S rRNA، جایگاه‌های ژنی کدکننده پروتئین مربوط به ژن‌های *atp*D، *rec*A، *rpo*B و *trp*B به درجات مختلف، تنوع بیشتری را نشان می‌دهند (Rong & Huang, 2010).

در بررسی سال ۲۰۱۱، گونه‌های مشخص جهانی *Streptomyces* بیماریزا شامل *S. scabiei*, *S. acidiscabies*, *S.europaeiscabiei*, *S. luridiscabiei*, *S. reticuliscabiei*, *S. niveiscabiei*, *S. punciscabiei*, *S. stelliscabiei*, *S. turgidiscabies*, و *S. ipomoeae* به همراه شش *Streptomyces* بیماریزا نامشخص با استفاده از چهار ژن خانه‌دار با جدایه‌های استاندارد موجود در پایگاه‌های اطلاعاتی مقایسه شدند. علی‌رغم شباهت بالای جدایه‌های بیماریزا در توالی ژن 16S rRNA، تفکیک جدایه‌ها با استفاده از ژن‌های خانه‌دار مهیا شد و توپولوژی درخت‌های فیلوژنتیکی ساخته شده با استفاده از الگوریتم‌های مختلف، مشابه بود (Labeda et al., 2011). جدایه‌های بررسی حاضر با هیچکدام از گونه‌های معمول *Streptomyces* گزارش شده از دنیا گروه‌بندی نمی‌شوند که این موضوع در بررسی‌های قبلی ما (Bisayar et al., 2021; Ramezani-Moghaddam et al., 2024) براساس توالی‌یابی ژن 16S rRNA مشاهده شده است.

در مطالعه دیگری (Labeda et al., 2017)، روش تایپینگ چند جایگاه ژنی برای جدایه‌های کلکسیون ARS[1] استفاده شد. بر اساس نتایج، انتقال برخی از گونه‌های جنس *Streptomyces*، به جنس *Kitasatospora* انجام شد، و حداقل ۳۱ کلاستر گونه ای به تاکسون انفرادی کاهش یافتند. در مطالعه ی ذکر شده، *S. anulatus* (Rong & Huang, 2010) با *S. praecox* به عنوان مترادف هتروتیپیک پیشین در یک گروه قرار گرفتند. گونه *S. microflavus* (Rong & Huang, 2010) با *S. alboviridis*, *S. griseus subsp. alpha*, *S. griseus subsp. cretosus* و *S. luridiscabiei* به عنوان مترادف هتروتیپیک پیشین در یک گروه قرار گرفتند. همچنین، *S. fimicarius* (Rong & Huang, 2010) با *S. acrimycini*, *S.baarnensis*, *S.caviscabies* و *S. flavofuscus* به عنوان مترادف هتروتیپیک پیشین و *S. bohaiensis* NRRL B-24956^T در کنار هم قرار گرفتند.

همچنین، گونه *S. luridiscabiei* از جرب معمولی سیب‌زمینی اولین بار در سال ۲۰۰۳ از کره گزارش شده است (Park et al., 2003). گونه *S. caviscabies* اولین بار در سال ۲۰۱۷ توسط گونگ و همکاران از سیب‌زمینی های آلوده به جرب در چین گزارش شده است (Gong et al., 2017). گونه *S. fimicarius* غیربیماری‌زا و آنتاگونیست در برابر جرب معمولی نیز از ایران گزارش شده است (Ramezani-Moghaddam et al., 2024).

براساس مطالعات تایپینگ چند جایگاه ژنی و هیبریداسیون DNA اسامی گونه‌های قدیمی‌تر نسبت به سایر مترادف‌های هتروتیپیک در تاکسونومی باکتریایی اولویت دارد (Rong & Huang, 2010; Labeda et al., 2017).

[1] - Agricultural Research Service

بنابراین براساس درخت ترکیبی، جدایه SSH1 با گونه استاندارد *S. fimicarius* در یک گروه و جدایه SA6B علی رغم شباهت به *S. fimicarius*، در چهار نوکلوتید به *S. microflavus* شباهت داشته و در درخت ترکیبی در کنار گونه های *S. fimicarius* و *S. caviscabies* قرار گرفته است (شکل ۶).

براساس فاصله‌های تکاملی مبتنی بر توالی یابی چند جایگاه ژنی، شباهت‌های توالی ژنوم و ویژگی‌های فنوتیپی اصلی، براساس بازبینی کوماکی درسال ۲۰۲۱ در مورد فیلوژنی *Streptomyces* ها، گونه‌های *S. enissocaesilis*، *S. geysiriensis* *S. vinaceusdrappus* *S. plicatus* به عنوان مترادف‌های هتروتیپیک *S. rochei* طبقه‌بندی مجدد شده‌اند. بنابراین جدایه‌های SA1 (اردبیل)، SKH1 (خراسان رضوی) و SH (همدان) در گروه *S. rochei* قرار می‌گیرند. جدایه SH در بررسی رمضانی مقدم و همکاران (۲۰۲۴) براساس درخت 16S rRNA، به عنوان *S. rochei* معرفی شده بود که با توجه به داده‌های MLSA مطالعه حاضر، تایید شد.

جدایه SF5 (اصفهان) در کنار گروه *S. rochei* در درخت ترکیبی قرار گرفته است ولی از نظر توالی نوکلئوتیدی شباهت بیشتری با *S. mutabilis* دارد. پیش‌نویش ژنوم جدایه *Streptomyces mutabilis* TRM45540 (چین) بدست‌آمده از خاک به عنوان جدایه غیربیماریزا و تولیدکننده آنتی‌بیوتیک *actinomycin D* انجام شده است (Luo et al., 2015).

جدایه‌های SA4 (اردبیل) و SFF (اصفهان) در درخت‌های انفرادی و ترکیبی با جدایه استاندارد *S. anulatus* (Rong & Huang, 2010) در یک گروه قرار می‌گیرند. جدایه SFF در تعدادی از نوکلوتیدها به‌ویژه در ژن *atp*D مشابه جدایه استاندارد *S. griseus* است. گونه *S. griseus* عامل جرب به تازگی از سیب‌زمینی دارای علائم جرب سطحی/فرورفته گزارش شده است (Chalupowicz et al., 2022).

براساس مطالعات قبلی، گونه‌های *Streptomyces scabies*,*S. acidiscabies*, *S. turgidiscabies*, *S. aureofaciens reticuliscabies*, *S. griseus*, *S. europaeiscabies* و *S. stelliscabies* و نیز تعدادی جدایه‌های نامشخص از غده های سیب‌زمینی دارای علائم مختلف جرب جداسازی و گزارش شده اند (Taghavi & Faghihi, 2006; Khodakaramian et al., 2011; Hasani & Taghavi, 2014; Fadaei Tehrani & Jafari, 2016). در بررسی حاضر، با توجه به داده‌های حاصل از توالی یابی چند جایگاه ژنی،گونه‌های استریتومایسس بیماریزا با گونه‌های گزارش‌شده پیشین مطابقت نداشت. الگوی خوشه‌بندی در درخت ترکیبی نهایی مبتنی بر چهار ژن خانه‌دار *atp*D، *rec*A، *rpo*B و *trp*B در هر دو الگوریتم اتصال‌مجاور و درستنمایی‌بیشینه همخوانی داشت. براین اساس، جدایه‌های SA1 ، SKH1 و SH در گروه گونه‌ای *S. rochei* خوشه‌بندی شده‌اند. جدایه‌های SSH1و SA6B با جدایه‌های استاندارد *S. fimicarius* و *S. caviscabies* در یک گروه قرار گرفتند. جدایه‌ی SA4 با جدایه استاندارد *S. anulatus* در یک خوشه در کنار هم قرار گرفته اند و جدایه های SFF و SF5، تفاوت‌های نوکلئوتیدی بیشتری نشان داده و به عنوان *Streptomyces* sp. در نظر گرفته شدند. جهت اعتبارسنجی نتایج، توالی‌یابی چند جایگاه ژنی برای تعداد بیشتری جدایه‌ی بیماریزا از نقاط مختلف کشور پیشنهاد می‌شود.

سپاس‌گزاری

نگارندگان از دانشگاه فردوسی مشهد به خاطر حمایت مالی این پروژه با کد ۳/۶۱۱۸۸ قدردانی می‌نمایند.

REFERENCES

Aittamaa, M., Somervuo, P., Laakso, I., Auvinen, P. & J. Valkonen. (2010). Microarray-based comparison of genetic differences between strains of *Streptomyces turgidiscabies* with focus on the pathogenicity island. *Molecular Plant Pathology*, *11*, 733-746. https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2010.00641.x

Bisayar, F., Baghaee-Ravari, S., & Mahdikhani-Moghaddam, E. (2021). Phenotypic, pathogenicity and molecular evaluation of potato pathogenic *Streptomyces* strains in Razavi-Khorasan. *Applied Entomology and Phytopathology*, *88*(2). https://doi.org/10.22092/jaep.2020.127992.1306 (In Farsi with English summary).

Bukhalid, R. A., Chung, S. Y., & Loria, R. (1998). *nec*1, a gene conferring a necrogenic phenotype, is conserved in plant-pathogenic *Streptomyces* spp. and linked to a transposase pseudogene. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, *11*(10), 960-967. https://doi.org/10.1094/MPMI.1998.11.10.960

Chalupowicz, L., Tsror (Lahkim), L., Hazanovsky, M., Erlich, O., Reuven, M., Dror, O., Lebiush, S., & Manulis-Sasson, Sh. (2022). Isolation and characterization of *Streptomyces* spp. from potato and peanut in Israel. *Journal od Plant Pathology*, *71*, 1870–1879. https://doi.org/10.1111/ppa.13619

Dees, M. W., & Wanner, L. A. (2012). In search of better management of potato common scab. *Potato Research*, *55*, 249-268. https://doi.org/10.1007/s11540-012-9206-9

Dees, M. W., Sletten, A. & Hermansen, A. (2013). Isolation and characterization of *Streptomyces* species from potato common scab lesions in Norway. *Plant Pathology*, *62*, 217–225. https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2012.02619.x

Fadaei Tehrani, A. A., & Jafary, A. (2016). Phenotypic diversity of causal agent strains of potato common scab (*Streptomyces* sp.) in Chaharmahal va Bakhtiari province. *Journal of Plant Protection*, *1*, 31-41. https://doi.org/10.22067/jpp.v30i1.27633

Flores-Gonzalez, R., Velasco, I., & Montes, F. (2008). Detection and characterization of *Streptomyces* causing potato common scab in Western Europe. *Plant Pathology*, *57*, 162–169. https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2007.01734.x

Fyans, J. K., Bown, L. & Bignell, D. R. D. (2016). Isolation and characterization of plant-pathogenic *Streptomyces* species associated with common scab infected potato tubers in Newfoundland. *Phytopathology*, *106*, 123-131. https://doi.org/10.1094/PHYTO-05-15-0125-R

Guo, Y., Zheng, W., Rong, X., & Huang, Y. (2008). A multilocus phylogeny of the *Streptomyces griseus* 16S rRNA gene clade: use of multilocus sequence analysis for streptomycete systematics. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *58*, 149–159. https://doi.org/10.1099/ijs.0.65224-0

Hao, J. J., Meng, Q. X., Yin, J. F., & Kirk, W. W. (2009). Characterization of a new *Streptomyces* strain, DS3024, that causes potato common scab. *Plant Dis*ease, *93*, 1329-1334. https://doi.org/10.1049/PDIS-93-12-1329

Hasani, S., & Taghavi, S. M. (2014). Phenotype and genotype diversity of Iranian *streptomyces* isolates that cause potato common scab. *Journal of Plant Pathology*, *96*, 467-476. https://www.jstor.org/stable/24332022.

Hillis, D. M., Moritz, C., & Mable, B. K. (1996). Molecular Systematics. Sunderland, MA: Sinauer Associates.

Khodakaramian, G., Zafari, D., & Soleimani Pari, M. J. (2011). Diversity of *Streptomyces* strains causing potato scab disease in Hamedan province and their thaxtomin production potential. *Applied Entomology and Phytopathology*, *79*(1), 53-70. https://doi.org/10.22092/jaep.2011.107233 (In Farsi with English summary)

Kim, B.-J., Kim, C.-J., Chun, J., Koh, Y.-H., Lee, S.-H., Hyun, J.-W., Cha, C.-Y. & Kook, Y.-H. (2004). Phylogenetic analysis of the genera *Streptomyces* and *Kitasatospora* based on partial RNA polymerase bsubunit gene (*rpo*B) sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *54*, 593–598.

Komaki, H. (2021). Reclassification of 15 Streptomyces species as synonyms of *Streptomyces albogriseolus, Streptomyces althioticus, Streptomyces anthocyanicus, Streptomyces calvus, Streptomyces griseoincarnatus, Streptomyces mutabilis, Streptomyces pilosus or Streptomyces rochei*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 71*, 004718. https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004718

Labeda, D. P. (2011). Multilocus sequence analysis of phytopathogenic species of the genus *Streptomyces*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *61*, 2525-2531. https://doi.org/10.1099/ijs.0.028514-0

Labeda, D. P., Dunlap, C. A., Rong, X., Huang, Y., Doroghazi, J. R., Ju, K. S., & Metcalf, W. W. (2017). Phylogenetic relationships in the family Streptomycetaceae using multi-locus sequence analysis. *Antonie van Leeuwenhoek*, *110* (4), 563-583. https://doi.org/10.1007/s10482-016-0824-0

Labeda, D. P., Goodfellow, M., Brown, R., Ward, A. C., Lanoot, B., Vanncanneyt, M., Swings, J., Kim, S. B., Liu, Z., Chun, J., Tamura, T., Oguchi, A., Kikuchi, T., Kikuchi, H., Nishii, T., Tsuji, K., Yamaguchi, Y., Tase, A., Takahashi, M., Sakane, T., Suzuki, K. I., and Hatano, K. (2012). Phylogenetic study of the species within the family Streptomycetaceae. *Antonie van Leeuwenhoek, 101*, 73-104. https://doi.org/10.1007/s10482-011-9656-0

Lapaz, M. I., Huguet-Tapia, J. C., Siri, M. I., Verdier, E., Loria, R., & Pianzzola, M. J. (2017). Genotypic and phenotypic characterization of *Streptomyces* species causing potato common scab in Uruguay. *Plant Disease*, *101*(8), 1362-1372. https://doi.org/10.1094/PDIS-09-16-1348-

Leiminger, J., Frank, M., Wenk, C., Poschenrieder, G., Kellermann, A. & Schwarzfischer, A. (2013). Distribution and characterization of *Streptomyces* species causing potato common scab in Germany. *Plant Pathology, 62*, 611-623. https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2012.02659.x

Li, Y., Liu, J., Díaz-Cruz, G., Cheng, Z. & Bignell, D.R. (2019). Virulence mechanisms of plant-pathogenic *Streptomyces* species: an updated review. *Microbiology*, *165*(10), 1025-1040. https://doi.org/10.1099/mic.0.000818

Loria, R., Bukhalid, R. A., Fry, B. A., & King, R. R. (1997). Plant pathogenicity in the genus *Streptomyces*. *Plant Disease*, *81*(8), 836-846. https://doi.org/10.1094/PDIS.1997.81.8.836

Loria, R., Kers, J., & Joshi, M. (2006). Evolution of plant pathogenicity in *Streptomyces*. *Annual Review Phytopathology*, *44*(1), 469– 487. https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.44.032905.91147

Luo, X., Wan, C., & Zhang, L. (2015). Draft Genome Sequence of *Streptomyces mutabilis* TRM45540, Isolated from a hypersaline soil sample. *Genome Announcements*. *3*(6), e01465-15. doi: 10.1128/genomeA.01465-15.

Park, D., Kim, J., Kwon, S., Wilson, C., Yu, Y., Hur, J. & Lim, C. (2003). *Streptomyces luridiscabiei* sp. nov., *Streptomyces puniciscabiei* sp. nov and *Streptomyces niveiscabiei* sp. nov., which cause potato common scab disease in Korea. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *53*, 2049-2054. https://doi.org/10.1099/ijs.0.02629-0

Ramezani-Moghaddam, M., Baghaee-Ravari, S., & Taghavi, M. (2024). Studying the pathogenic *Streptomyces* strains responsible for causing potato common scab in Iran and

assessing the efficacy of native *S. fimicarius*-ghR and S. rochei-FsG in reducing scab lesion development in both potato and radish hosts in vivo. *Biocontrol Science and Technology*, *34*(7), 630–657. https://doi.org/10.1080/09583157.2024.2363407

Rong X, Huang Y. (2010). Taxonomic evaluation of the *Streptomyces griseus* clade using multilocus sequence analysis and DNA-DNA hybridization, with proposal to combine 29 species and three subspecies as 11 genomic species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *60*, 696–703. https://doi.org/10.1099/ijs.0.012419-0

Sarwar, A., Latif, Z., & Cabaleiro, C. (2018). First report of *Streptomyces bottropensis* causing potato common scab in Galicia, Spain. *Plant Disease*. *102*, 1445. https://doi.org/10.1094/PDIS-11-17-1803-PDN

Seipke, R. F., & Loria, R. (2008). *Streptomyces scabies* 87-22 possesses a functional tomatinase. *Journal of Bacteriology*, *190*(21), 7185–7193. https://doi.org/10.1128/JB.01010

Shirling, E. T., & Gottlieb, D. (1966). Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *16*(3), 313-340.

Taghavi, S. M. & Faghihi, M. M. (2006). Distribution and identification of *Streptomyces* species, the causal agent of potato common scab in Fars province. *Iranian Journal of Plant Pathology*, *42*, 85-116. (In Farsi with English summary)

Vadehi Hafshajani, M., & Fadaei Tehrani, A. A. (2014). Interaction of root- knot nematode (*Meloidogyne javanica*) and bacterial agent of common scab (*Streptomyces scabies*) on potato. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, *37*(3), 49-60. (In Farsi with English summary)

Wanner, L. A. (2006). A survey of genetic variation in *Streptomyces* isolates causing potato common scab in the United States. *Phytopathology*, *96*, 1363-1371. https://doi.org/10.1094/PHYTO.96.1363

Weisberg, A. J., Kramer, C. G., Kotha, R. R., Luthria, D. L., Chang, J. H., and Clarke, C. R. (2021). A novel species-level group of *Streptomyces* exhibits variation in phytopathogenicity despite conservation of virulence loci. *Molecular Plant-Microbe Interact*ion. *34*, 39-48. https://doi.org/10.1094/MPMI-06-20-0164-R

Weisburg, W.G., Barns, S.M., Pelletier, D.A. & Lane, D.J. (1991). 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of Bacteriology*, *173*(2), 697-703. https://doi.org/10.1128/jb.173.2.697-703.

Zhang, H., Zhou, W., Zhuang, Y., Liang, X. & Liu, T. (2013). Draft genome sequence of *Streptomyces bottropensis* ATCC 25435, a bottromycin-producing actinomycete. *Genome Announcement*, *1*(2), 19- 13. https://doi.org/10.1128/genomeA.00019-13

Zhou, B., Zhang, M.S. & MA, X.K. (2016). First Report of *Streptomyces bottropensis* causing potato common Scab in Hebei province, China, *Plant Disease*. https://doi.org/10.1094/PDIS-05-16-0671-PDN

© 2026 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/.