

Genetic Diversity and Pathogenicity of *Xanthomonas translucens* Strains Causing Bacterial Leaf Streak on Wheat in Khorasan Provinces

Mojtaba Dehghan Niri 

Ph.D. Student, Department of Plant Protection, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
E-mail address: m.dehghan@mail.um.ac.ir

Saeed Tarighi 

*Corresponding author. Associate Professor, Department of Plant Protection, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. E-mail address: starighi@um.ac.ir

Parissa Taheri 

Professor, Department of Plant Protection, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. E-mail address: p-taheri@um.ac.ir

Abstract

Objective

Bacterial leaf streak (BLS) caused by of *Xanthomonas translucens*, is a serious bacterial seed-borne disease of wheat (*Triticum aestivum* L.) worldwide. This research was planned to study pathogenicity of the isolates obtained from bacterial leaf streak on wheat plants. Resistance of different wheat cultivars against the isolate with the highest pathogenicity was investigated. Molecular tools were used to identify bacterial isolates and their genetic diversity.

Materials and methods

Bacterial strains with yellow and soft colonies were isolated and their pathogenicity indicated that all selected isolates are pathogen. Aggressiveness of the isolates was differing among isolates. Wheats cultivars showed different responses to selected isolate, but all cultivars were susceptible to the pathogen. Result of molecular analysis with DNA fingerprinting techniques showed genetic diversity among the bacterial isolates obtained from different wheat growing regions. In the cluster analysis of the banding pattern obtained with ERIC and BOX primers, the isolates were divided into 5 main groups at 33% similarity. The results showed significant genetic diversity among isolates causing bacterial leaf streak disease in these provinces. Sequences comparison of *gyrB* and *dnaK* genes with similar sequences in the gene bank showed high homology with sequences from *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa*.

Results

Bacterial strains with yellow and soft colonies were isolated and their pathogenicity indicated that all selected isolates are pathogen. Aggressiveness of the isolates was differing among isolates. Wheats cultivars showed different responses to selected isolate, but all cultivars were susceptible to the pathogen. Result of molecular analysis with DNA fingerprinting techniques showed genetic diversity among the bacterial isolates obtained from different wheat growing regions. In the cluster analysis of the banding pattern obtained with ERIC and BOX primers, the isolates were divided into 5 main groups at 33% similarity. The results showed significant genetic diversity among isolates causing bacterial leaf streak disease in these provinces. Sequences comparison of *gyrB* and *dnaK* genes with similar sequences in the gene bank showed high homology with sequences from *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa*.

Conclusions

The rep-PCR techniques are suitable for studying genetic diversity of the obtained isolates. In this study, geographical location had no effect on the grouping of the isolates. Bacterial leaf streak disease is found in almost every wheat growing area and better understanding of the *Xanthomonas translucens*-wheat interactions are necessary to find and develop wheat cultivars with resistance to the disease.

Keywords: Diversity, Leaf streak, Rep-PCR, *Xanthomonas*.

Paper Type: Research Paper.

Citation: Dehghan Niri M, Tarighi S, Taheri P (2023) Genetic diversity and pathogenicity of *Xanthomonas translucens* strains causing of bacterial leaf streak on wheat in khorasan provinces. *Agricultural Biotechnology Journal* 15 (2), 101-120

Agricultural Biotechnology Journal 15 (2), 101-120. DOI: 10.22103/jab.2023.20497.1441

Received: February 20, 2023.

Received in revised form: April 09, 2023.

Accepted: April 10, 2023.

Published online: June 10, 2023.


Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society.




© the authors

تنوع ژنتیکی و بیماری‌زایی جدایه‌های *Xanthomonas translucens* عامل لکه نواری


باکتریایی گندم در استان‌های خراسان

مجتبی دهقان نیری 

دانشجوی دکتری، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران. رایانامه: m.dehghan@mail.um.ac.ir

سعید طریقی 

*نویسنده مسئول: دانشیار، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران. رایانامه: starighi@um.ac.ir

پریسا طاهری 

استاد، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران. رایانامه: p-taheri@um.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۰۱ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۲/۰۱/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۱/۲۱

چکیده

هدف: لکه نواری باکتریایی گندم یکی از مهمترین بیماری‌های باکتریایی گندم در سراسر جهان است. گونه *Xanthomonas translucens* سبب بروز این بیماری می‌شود. بررسی بیماری‌زایی جدایه‌های به دست آمده از لکه نواری باکتریایی بر روی بوته‌های گندم، بررسی مقاومت ارقام مختلف گندم در برابر جدایه با بالاترین قدرت بیماری‌زایی، شناسایی مولکولی جدایه‌ها و بررسی تنوع ژنتیکی جدایه‌ها از اهداف این تحقیق به شمار می‌رود.

مواد و روش‌ها: نمونه برداری از مزارع گندم آلوده به این بیماری در سه استان خراسان رضوی، خراسان شمالی و لرستان انجام شد. قسمت‌های دارای علائم پس از ضد عفونی سطحی و ایجاد سوسپانسیون در آب مقطر استریل، روی محیط آگار غذایی حاوی سوکروز کشت شدند. آزمون بیماری‌زایی تمام جدایه‌ها روی بوته‌های گندم رقم فلات برسی شد. مقاومت ارقام مختلف گندم در برابر جدایه نماینده مورد بررسی قرار گرفت. آزمون rep-PCR با استفاده از آغازگرهای ERIC و BOX برای ارزیابی تنوع ژنتیکی جدایه‌ها استفاده شد. برای شناسایی جدایه‌های نماینده، بخشی از ژن‌های *dnaK* و *gyrB* جدایه‌ها تکثیر و توالی‌یابی شدند.

نتایج: کلونی‌های باکتریایی با مشخصات زرد روشن، گرد و صاف جداسازی و خالص گردید. آزمون بیماریزایی تمام جدایه‌ها روی بوته‌های گندم اثبات گردید. جدایه‌ها در میزان بیماریزایی روی گندم متفاوت بودند. جدایه با بالاترین میزان بیماریزایی، به ارقام مختلف گندم تلقیح شد. پاسخ ارقام مختلف گندم به جدایه منتخب متفاوت بود اما در نهایت همگی به این جدایه حساس بودند. آنالیز خوشه‌ای الگوی بانندی به دست آمده با آغازگرهای ERIC و BOX با استفاده از برنامه NTSYS انجام گردید. نتایج بررسی‌های مولکولی با تکنیک انگشت نگاری DNA نشان داد که تنوع ژنتیکی بین جدایه‌های لکه نواری باکتریایی به دست آمده از مناطق مختلف کشت گندم مورد مطالعه وجود دارد. در دندروگرام ترکیبی رسم شده حاصل از دو نشانگر، جدایه‌ها در سطح تشابه ۳۳٪ به پنج گروه تقسیم شدند. مقایسه توالی نوکلئوتیدی جدایه‌های نماینده با توالی‌های مشابه در ژن بانک، نشان دهنده تشابه بالای توالی‌های مورد بررسی با توالی‌های *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* موجود در ژن بانک NCBI بود.

نتیجه‌گیری: استفاده از آزمون rep-PCR برای بررسی تنوع ژنتیکی جدایه‌های به دست آمده مناسب می‌باشند. در این مطالعه موقعیت جغرافیایی اثری بر روی گروه‌بندی جدایه‌ها نداشت. بیماری نواری باکتریایی تقریباً در تمام مناطق کشت گندم یافت می‌شود و درک بهتر برهمکنش گیاه-بیمارگر در *Xanthomonas translucens*-گندم برای یافتن و توسعه ارقام مقاوم به این بیماری ضروری به نظر می‌رسد.

کلیدواژه‌ها: تنوع، نواری باکتریایی، Rep-PCR, *Xanthomonas*

نوع مقاله: پژوهشی.

*این تحقیق بخشی از رساله دکتری نگارنده اول می‌باشد.

استناد: دهقان نیری مجتبی، طریقی سعید، طاهری پریسا (۱۴۰۲) تنوع ژنتیکی و بیماریزایی جدایه‌های *Xanthomonas translucens* عامل لکه نواری باکتریایی گندم در استان‌های خراسان. *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی*، ۱۵(۲)، ۱۰۱-۱۲۰.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant



Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian
Biotechnology Society.

© the authors

مقدمه

گندم یکی از مهمترین غلات در سراسر جهان می‌باشد و منبع مهم کالری و پروتئین گیاهی در غذای انسان‌ها است (Figueroa et al. 2018). لکه نواری باکتریایی گندم (¹BLS) یا بلک چف² (Smith et al. 1919) که توسط پاتوارهای

1. Bacterial leaf streak

2. Black chaff

مختلف *Xanthomonas translucens* اتفاق می‌افتد یک بیماری مهم بذرزاد گندم (*Triticum aestivum* L.) در سراسر جهان می‌باشد (Bragard et al. 1997; Adhikari et al. 2012). علائم اولیه بیماری روی برگ‌ها با نوارهای آسوخته شناخته می‌شود (Adhikari et al. 2011). بیماری BLS پراکندگی جغرافیایی بالایی دارد. این بیماری در مناطق مختلف ایالات متحده آمریکا گزارش شده است (Adhikari et al. 2011). همچنین این بیماری در گندم و جو توسط گونه *X. translucens* از مناطق مختلف ایران گزارش گردیده است (Alizadeh & Rahimian 1989; Khojasteh et al. 2019). این باکتری بیماریزا بذرزاد می‌باشد و بذره‌های آلوده شده منبع اصلی آلودگی برای پراکندگی با فواصل بالا می‌باشند. بعلاوه، محیط مرطوب و گرم همراه با آبیاری بارانی مکرر، رشد و گسترش گیاه به گیاه باکتری را افزایش می‌دهد و منجر به کاهش ۱۰ تا ۴۰٪ عملکرد می‌شود (Duveiller et al. 1997). روش و ابزار مدیریت موثری برای این بیماری وجود ندارد و درک سیستم بیماری محدود است. بنابراین، تاثیر بیماری BLS بر تولید گندم در حال افزایش است (Sapkota et al. 2020).

اخیراً، بیماری BLS در مناطق مختلف ایران افزایش یافته است. دلایل مختلفی برای این اپیدمی می‌تواند وجود داشته باشد. افزایش کشت گندم پاییزه، علاوه بر مستعد بودن ابتلا به بیماری، می‌تواند منبع بالقوه برای گندم بهاره باشد. کاشت ارقام حساس به بیماری و همچنین رطوبت اطراف گیاهان، باعث آلودگی و انتشار اینوکولوم می‌شود. استفاده از تکنیک‌های مولکولی در سال‌های اخیر جهت مطالعه موجودات مختلف، کاربرد گسترده‌ای یافته است (Askari et al. 2010; Mohammadabadi 2017). میزان اطلاعات به‌دست‌آمده از این تکنیک‌های ژنتیکی، یکی از پارامترهای قابل ارزیابی برای مطالعه جمعیت‌های مختلف و درک تفاوت‌های ژنتیکی بین جمعیت‌ها است (Mohammadifar et al. 2014; Mohammadifar and Mohammadabadi 2018). همچنین، مطالعه موجودات مختلف با استفاده از تکنیک‌های مولکولی بسیار مهم و برای طبقه‌بندی آن‌ها مفید است (Mohammadabadi et al. 2017; Gholamhoseinzadeh et al. 2018). حفاظت باید بر اساس دانش عمیقی از منابع ژنتیکی خاص باشد، لذا تلاش برای شناسایی و تعیین خصوصیات ژنتیکی موجودات مختلف بسیار اهمیت دارد (Ghasemi et al. 2019; Gholamhoseinzadeh et al. 2010). تنوع ژنتیکی یک عنصر اساسی برای پیشرفت ژنتیکی، حفظ جمعیت‌ها، تکامل و سازگاری به شرایط محیطی متغیر و مختلف می‌باشد (Askari et al. 2008; Mohammadifar and Mohammadabadi 2011). درک تنوع ژنتیکی باکتری‌های بیماریزای گیاهی بخش مهمی از اصلاح موفقیت‌آمیز مقاومت به بیماری و گسترش مقاومت گیاه میزبان می‌باشد (Adhikari et al. 2012). خانواده‌های توالی‌های تکرار شونده DNA در سراسر ژنوم گونه‌های مختلف باکتری پراکنده هستند. سه خانواده با جزئیات بیشتری در تحقیقات مختلف مورد مطالعه قرار گرفتند که عبارتند از: REP، ERIC و BOX. که در همه پروکاریوت‌ها وجود دارند (Versalovic et al. 1991; Louws et al. 1994). الگوی توزیع این توالی‌های تکرار شونده از یک باکتری به باکتری دیگر متفاوت است و می‌تواند برای تعیین تمایز در جمعیت باکتری استفاده شود. از نشانگرهای Rep-PCR برای تجزیه و تحلیل جنس‌ها و گونه‌های مختلف باکتری‌ها و همچنین شناسایی سویه‌ها استفاده شده است (Louws et al. 1994; Rademaker et al. 2006).

آنالیز^۳ MLSA ژن‌های خانه‌دار^۴ یک ابزار عملی برای طبقه‌بندی *Xanthomonas* است (Young et al. 2008). اخیراً، یک مطالعه MLSA در مقیاس بزرگ‌تر برای همه پاتوهای *X. translucens* منتشر شده است (Langlois et al. 2017). هدف اصلی این تحقیق شناسایی جدایه‌های *X. translucens* جدا شده از گیاهان گندم دارای علائم لکه نواری باکتریایی و بررسی تنوع ژنتیکی و بیماری‌زایی جدایه‌های به دست آمده در گندم می‌باشد. ارزیابی تنوع ژنتیکی و بیماری‌زایی جدایه‌ها می‌تواند منجر به برنامه‌ریزی مناسب برای توسعه استراتژی‌های مدیریت بیماری شود.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و جداسازی: مزارع گندم در استان‌های خراسان رضوی، خراسان شمالی و لرستان برای یافتن علائم لکه نواری باکتریایی گندم در بهار ۱۳۹۷ مورد بررسی قرار گرفت. گیاهان دارای علائم بیماری انتخاب و به آزمایشگاه منتقل شدند. بافت‌های برگ‌های دارای علائم ضد عفونی سطحی شدند و سپس سوسپانسیون آبی این بافت‌ها روی محیط آگار غذایی حاوی سوکروز (SNA^۵) کشت داده شدند. کلونی‌های غالب ظاهر شده روی محیط کشت مجدد کشت داده و خالص شدند.

خصوصیات بیوشیمیایی: آزمون‌های پتاسیم هیدروکسید (KOH)، کاتالاز، رشد هواز/یبی هوازی (O/F)، اکسیداز، لوان و همچنین تولید رنگدانه روی محیط کشت کینگ ب^۶ برای شناسایی اولیه باکتری بیمارگر انجام شد (Schaad et al. 2001).

آزمون بیماری‌زایی: بیماری‌زایی تمام جدایه‌ها توسط تلقیح سوسپانسیون باکتری در بوته‌های گندم از طریق نفوذ به برگ‌های گیاهان تایید شد. شرایط برای رشد گیاهان در گلخانه، دمای روز و شب °C ۱۸/۲۴، تحت دوره روشنایی ۱۶ ساعته بود. غلظت سوسپانسیون باکتری حدود ۱۰^۷ CFU/ml تعیین گردید (Milus & Mirlohi 1994). گیاهان در مرحله ۳ تا ۴ برگ با باکتری بیمارگر با استفاده از روش برش برگ‌ها تلقیح شدند (Xu et al. 2013). گیاهان کنترل به طور مشابه اما با استفاده از آب مقطر استریل به جای ماده تلقیح، اینولوله شدند. رقم فلات (به عنوان رقم حساس به بیماری) در این آزمون مورد استفاده قرار گرفت. شدت بیماری‌زایی لکه نواری باکتریایی (DS^۷)، ۱۸ روز بعد از تلقیح (dai^۸) در هفت گروه بر اساس ارزیابی علائم در حال رشد در گلخانه به شرح زیر ثبت شدند: ۰: بدون علائم، ۱: تغییر رنگ خفیف در نقطه تلقیح، ۲: طول زخم کمتر از ۱۵ میلی‌متر، ۳: زخم کمتر از ۱/۴ طول از نقطه تلقیح تا پایه برگ، ۴: زخم بین ۱/۴ و ۱/۲ طول، ۵: زخم بین ۱/۲ و تمام طول، ۶: زخم تمام طول را بپوشاند اما مقداری مناطق سبز رنگ باقی مانده باشد، و ۷: زخم تمام مناطق را پوشانده باشد (Thanh et al. 2017). در صد

³. Multilocus Sequence Analysis

⁴. Housekeeping genes

⁵. Sucrose Nutrient Agar

⁶. King's B medium

⁷. Disease Severities

⁸. days after inoculation

شدت بیماری برای گندم‌های تلقیح شده با بیمارگر ۱۸ روز بعد از تلقیح تعیین گردید (Ji et al. 2008; Thanh et al. 2017). برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. این آزمایش سه مرتبه تکرار گردید.

بررسی مقاومت ارقام مختلف گندم به سویه *Xanthomonas translucens*: برای ارزیابی بیماریزایی

Xanthomonas روی ارقام مختلف گندم و مقاومت ارقام در برابر بیمارگر، تهاجمی‌ترین سویه انتخاب و روی ۲۱ رقم گندم مورد آزمایش قرار گرفت. روش آزمایش و محاسبه شدت بیماری مانند مرحله قبل انجام شد.

استخراج DNA ژنومی: جدایه‌ها روی محیط آگار غذایی کشت شده و بعد از ۲۴ ساعت سوسپانسیون از آن‌ها در ۵۰۰

میکرولیتر آب مقطر تهیه گردید. به منظور لیز شدن سلول‌ها، ۲۵ میکرولیتر KOH پنج درصد به هر سوسپانسیون اضافه و نمونه‌ها به مدت ۲ تا ۳ دقیقه در آب جوش قرار داده شدند. نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شده و سپس لایه رویی به عنوان نمونه‌های DNA برداشته و تا زمان مصرف در دمای 20°C - نگهداری شدند (Arabi et al. 2006).

بررسی تنوع ژنتیکی جدایه‌ها با استفاده از rep-PCR: تنوع ژنتیکی جدایه‌های به دست آمده با روش rep-

PCR با استفاده از پرایمرهای ERIC1R/ERIC2 (Versalovic et al. 1991) و BOX-A1R (Versalovic et al. 1994) انجام شد. حجم نهایی مخلوط واکنش PCR، ۲۵ میکرولیتر بود که شامل ۱۲/۵ میکرولیتر م ستر میکس (آمپلیکون^۹)، ۱ میکرولیتر از هر آغازگر با غلظت پایه ۱۰ پیکومول و ۲ میکرولیتر DNA ژنومی بود که با آب مقطر استریل به حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر رسید. میکروتیوب‌های حاوی ترکیبات PCR، به دستگاه ترمو سایکلر مدل Biometra (Germany) منتقل شدند و تکثیر انجام گردید. واکنش‌ها با برنامه دمایی ۷ دقیقه در 95°C و سپس ۳۵ چرخه به مدت ۱ دقیقه در دمای 95°C ، ۱ دقیقه در دمای 50°C و 48°C به ترتیب برای آغازگرهای BOX و ERIC و ۳ دقیقه در دمای 72°C و یک بسط نهایی به مدت ۱۰ دقیقه در دمای 72°C انجام شد.

الکتروفورز محصولات PCR: برای ارزیابی نهایی محصول واکنش، ۴ میکرولیتر از محصول PCR روی ژل آگارز ۱/۵

در صد و از طریق الکتروفورز به مدت ۵۰ دقیقه با ولتاژ ۸۵ ولت عبور داده شد. نشانگر مولکولی SMOBIO، DM1100 در این بررسی مورد استفاده قرار گرفت. ردیابی باندهای DNA تکثیر شده با استفاده از رنگ‌آمیزی با Green Viwer در حین تهیه ژل و عکسبرداری آن با استفاده از دستگاه Gel Documentation مدل Syngene Gene Flash Bio, USA صورت گرفت.

آنالیز داده‌ها و رسم دندروگرام بر اساس انگشت‌نگاری ژنومی برای Rep-PCR: نقوش انگشت‌نگاری

ژنومی ERIC-PCR و BOX-PCR بر اساس وجود و یا عدم وجود باند، نمره دهی و به صورت کدهای صفر و یک به صورت ماتریسی وارد نرم‌افزار Excel شد. دندروگرام با استفاده از نرم‌افزار ان تی سیس (NTSYS)، نسخه ۲/۰۲ ترسیم گردید (Rohlf

⁹. AMPLIQON, Denmark

2000). برای تعیین تشابه جدایه‌ها از ضریب تشابه ژاکارد و از روش داده‌های جفت شده غیر وزنی^{۱۰} (UPGMA)، جهت ترسیم درخت فیلوژنی و آنالیز داده‌ها استفاده شد. آنالیز خوشه‌ای نتایج به دست آمده از دو آغازگر به کار رفته به صورت ترکیبی نیز انجام گردید.

آنالیز توالی‌ها: برای شناسایی سویه‌های نماینده، بخشی از نواحی ژنومی *gyrB* (Young et al. 2008) و *dnaK*

(Curland et al. 2018) توسط PCR و با استفاده از جفت آغازگرهای *XgyrB1F*

dnaKF و *(CCCATCARGGTGCTGAAGAT) XgyrB1R* // *(ACGAGTACAACCCGGACAA)*

(CTTCTTGTCGTCCTTGACCTC) dnaKR // *(TCCTAAGCACCTCAACATCAAG)* تکثیر گردید.

واکنش‌ها برای هر دو آغازگر با برنامه دمایی ۵ دقیقه در ۹۵°C و سپس ۳۵ چرخه به مدت ۱ دقیقه در ۹۵°C، ۱ دقیقه در

دمای ۵۲°C و ۱ دقیقه در دمای ۷۲°C و یک بسط نهایی به مدت ۶ دقیقه در دمای ۷۲°C انجام شد. تمام آغازگرهای مورد

استفاده در این بررسی از شرکت ماکروژن^{۱۱} خریداری گردید. محصولات PCR در ژل آگارز یک درصد الکتروفورز و مشاهده

گردیدند و سپس با سال به شرکت بایونیر^{۱۲} توالی‌یابی شدند. توالی‌های نوکلئوتیدی به دست آمده با توالی‌های موجود در ژن

بانک NCBI با استفاده از نرم افزار بلاست^{۱۳} موجود در ژن بانک مورد مقایسه قرار گرفتند. آنالیز فیلوژنی با استفاده از نرم افزار

MEGA 5.0 و با توالی‌های به دست آمده و توالی‌های مشابه موجود در ژن بانک انجام شد (Tamura et al. 2013).

دندروگرام با روش اتصال-همسایه‌ها^{۱۴} ترسیم گردید.

آنالیز آماری: آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار اکسل و مینی‌تب^{۱۵} با روش تحلیل واریانس (ANOVA) انجام شد.

داده‌ها تحت آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) با $P \leq 0.05$ قرار گرفتند. تمام آزمایشات سه بار تکرار گردید.

نتایج

در این بررسی ۳۵ جدایه بیماریزا از استان‌های خراسان رضوی، خراسان شمالی و لرستان با کلونی‌های زرد روشن، گرد و

صاف جداسازی و خالص گردید (جدول ۱). بر اساس علائم بیماری روی گیاهان، الگوی کلونی‌ها، رنگ و خصوصیات باکتری،

بیمارگر به عنوان *Xanthomonas translucens* شناخته شد. همه جدایه‌ها گرم منفی بودند و در آزمون‌های کاتالاز و تست

لوان مثبت ارزیابی شدند و در آزمون‌های اکسیداز، رشد هوازی/بی‌هوازی و تولید رنگدانه در محیط کینگ ب منفی بودند.

¹⁰ . Unweighted pair group method with arithmetic averages

¹¹ . Macrogen (South Korea)

¹² . Bioneer, South Korea

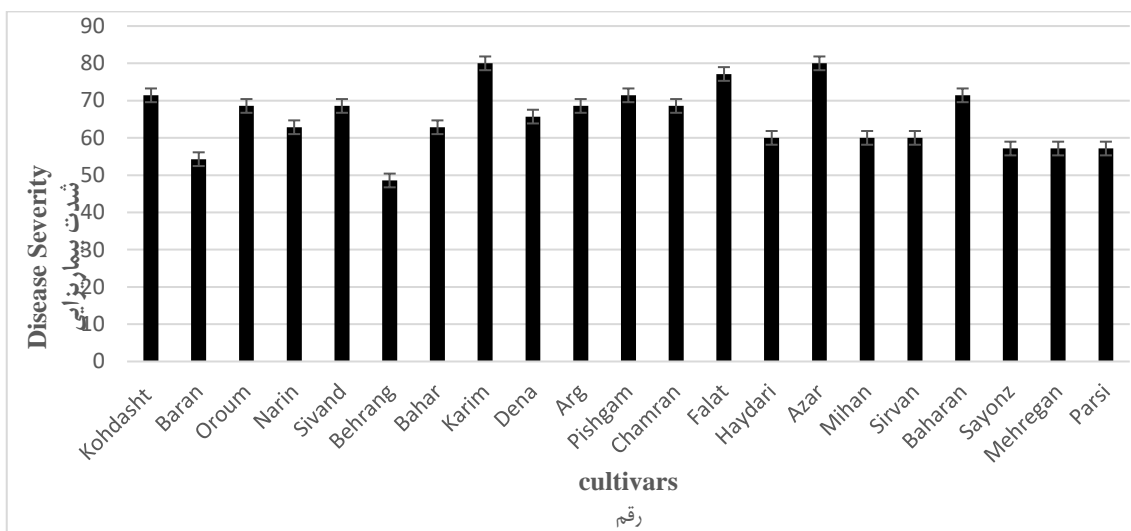
¹³ . BLASTn

¹⁴ . neighbor-joining

¹⁵ . Minitab

بیماریزایی جدایه‌های *Xanthomonas*: تمام جدایه‌ها سبب ایجاد بیماری بر روی بوته‌های گندم رقم فلات شدند. مشاهده علائم به دست آمده از تلقیح جدایه‌های *Xanthomonas* روی گیاهان نشان داد که جدایه‌های مختلف آزمایش شده دارای قابلیت بیماریزایی متفاوتی هستند (جدول ۱). بر اساس نتایج، جدایه N1 بیشترین میزان پیشرفت بیماری را روی بوته‌ها نشان داد. جدایه A4 کمترین سطح پیشرفت بیماری را روی بوته‌های گندم داشتند. سایر جدایه‌های آزمایش شده با میزان پیشرفت بیماری متفاوت در میان این جدایه‌ها قرار گرفتند (جدول ۱).

واکنش ارقام گندم به جدایه N1: بین ۱۵ رقم گندم مورد آزمایش، شدت بیماری ۵۴ تا ۸۰ درصد بود. در نتیجه، تمام ارقام نسبت به این جدایه حساس بودند. در بین ارقام مورد مطالعه، ارقام فلات، کریم و آذر بیشترین میزان پیشرفت بیماری ناشی از جدایه *Xanthomonas* را نشان دادند (شکل ۱).



شکل ۱. واکنش ارقام مختلف گندم در برابر جدایه N1 در شرایط گلخانه

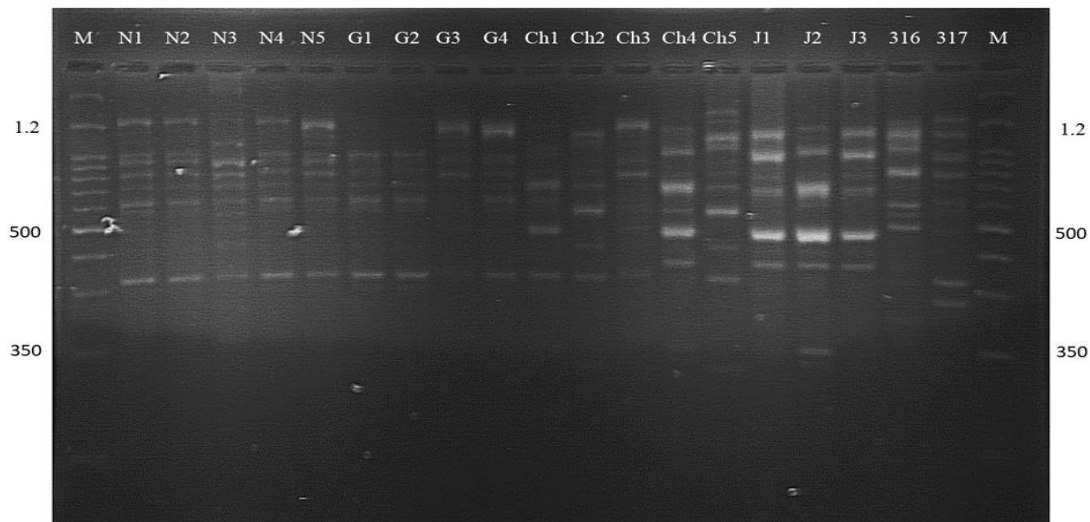
Figure 1. Reactions of wheat cultivars to N1 strain in greenhouse conditions

تنوع ژنتیکی جدایه‌ها: نتایج بررسی‌های مولکولی با تکنیک انگشت نگاری DNA نشان داد که تنوع ژنتیکی بین جدایه‌های به دست آمده از بیماری لکه نواری باکتریایی گندم در مناطق مختلف مورد مطالعه وجود دارد. در آنالیز خوشه‌ای الگوی بانندی به دست آمده با آغازگر BOX (شکل ۲)، جدایه‌ها در ۲ گروه اصلی در سطح تشابه ۲۳ درصد و ۶ گروه در سطح تشابه ۳۳ درصد قرار گرفتند (شکل ۳). در آنالیز خوشه‌ای الگوی بانندی حاصل از آغازگرهای ERIC (شکل ۴)، جدایه‌ها در سطح تشابه ۳۳ درصد به ۵ گروه تقسیم شدند (شکل ۵). تکثیر نواحی ژنومی جدایه‌ها با آغازگرهای BOX و ERIC، نرخ بانندی از حدود ۳۰۰ تا ۱۵۰۰ جفت باز را ایجاد کردند. در دندروگرام ترکیبی رسم شده حاصل از دو نشانگر، جدایه‌ها در سطح تشابه ۳۳ درصد به پنج گروه تقسیم شدند (شکل ۶).

جدول ۱. تنوع بیماریزایی جدایه‌های *Xanthomonas translucens* به دست آمده از نقاط مختلف ایران بر روی گندم رقم فالات

Table 1. Pathogenic diversity of all strains of *Xanthomonas translucens* from different locations of Iran evaluated on a Falat wheat cultivar

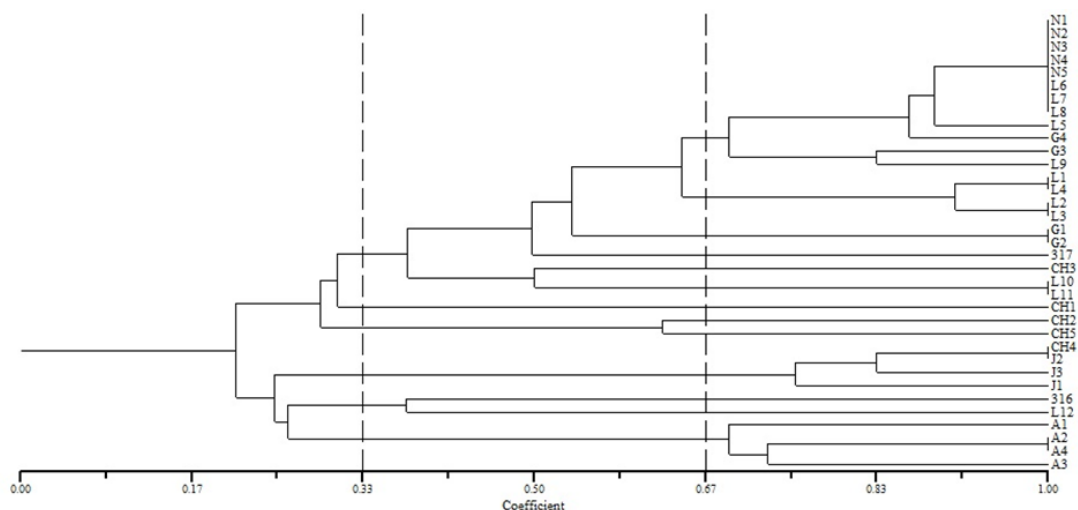
جدایه Isolate	منطقه Location	شدت بیماریزایی Disease Severity
N1	Neyshabur - Razavi Khorasan Province نیشابور-خراسان رضوی	77.14
N2	Neyshabur - Razavi Khorasan Province نیشابور-خراسان رضوی	71.42
N3	Neyshabur - Razavi Khorasan Province نیشابور-خراسان رضوی	68.57
N4	Neyshabur - Razavi Khorasan Province نیشابور-خراسان رضوی	65.71
N5	Neyshabur - Razavi Khorasan Province نیشابور-خراسان رضوی	68.57
G1	Jolgeh Rokh - Razavi Khorasan Province جلگه رخ-خراسان رضوی	62.85
G2	Jolgeh Rokh - Razavi Khorasan Province جلگه رخ-خراسان رضوی	65.71
G3	Jolgeh Rokh - Razavi Khorasan Province جلگه رخ-خراسان رضوی	65.71
G4	Jolgeh Rokh - Razavi Khorasan Province جلگه رخ-خراسان رضوی	62.85
Ch1	Chenaran - Razavi Khorasan Province چناران-خراسان رضوی	40
Ch2	Chenaran - Razavi Khorasan Province چناران-خراسان رضوی	42.85
Ch3	Chenaran - Razavi Khorasan Province چناران-خراسان رضوی	40
Ch4	Chenaran - Razavi Khorasan Province چناران-خراسان رضوی	40
Ch5	Chenaran - Razavi Khorasan Province چناران-خراسان رضوی	37.14
J1	Jajarm - North Khorasan Province جاجرم-خراسان شمالی	42.85
J2	Jajarm - North Khorasan Province جاجرم-خراسان شمالی	37.14
J3	Jajarm - North Khorasan Province جاجرم-خراسان شمالی	40
316	Mashhad - Razavi Khorasan Province مشهد-خراسان رضوی	40
317	Mashhad - Razavi Khorasan Province مشهد-خراسان رضوی	37.14
A1	Ashkhaneh - North Khorasan Province آشخانه-خراسان شمالی	31.42
A2	Ashkhaneh - North Khorasan Province آشخانه-خراسان شمالی	31.42
A3	Ashkhaneh - North Khorasan Province آشخانه-خراسان شمالی	31.42
A4	Ashkhaneh - North Khorasan Province آشخانه-خراسان شمالی	28.57
L1	Lorestan Province لرستان	57.14
L2	Lorestan Province لرستان	57.14
L3	Lorestan Province لرستان	62.85
L4	Lorestan Province لرستان	51.42
L5	Lorestan Province لرستان	48.57
L6	Lorestan Province لرستان	68.57
L7	Lorestan Province لرستان	51.42
L8	Lorestan Province لرستان	51.42
L9	Lorestan Province لرستان	54.28
L10	Lorestan Province لرستان	37.14
L11	Lorestan Province لرستان	65.71
L12	Lorestan Province لرستان	48.57



شکل ۲. الگوهای بانندی قطعات DNA تکثیر شده توسط BOX-PCR جدایه‌های *Xanthomonas* عامل لکه نوار باکتریایی گندم در برخی استان‌های ایران، در ژل آگارز ۱/۵ درصد. مشخصات جدایه‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است

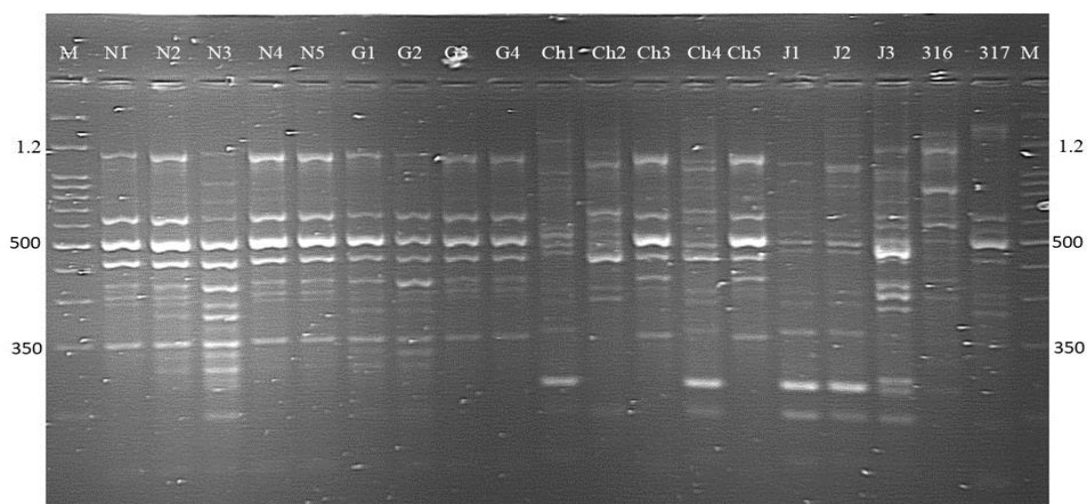
Figure 2. Banding patterns of amplified DNA fragments of *Xanthomonas* strains by BOX-PCR for the species causing bacterial leaf streak of wheat in some provinces of Iran, in a 1.5% agarose gel. Characteristics of isolates are shown in Table 1

تکثیر و توالی‌یابی ژن‌های *dnaK* و *gyrB*: قسمتی از ناحیه *dnaK* و *gyrB* جدایه‌های N1 و L1 تکثیر شد. طول قطعات به دست آمده از ژن‌های *dnaK* و *gyrB* به ترتیب حدود ۸۰۰ و ۱۰۰۰ جفت باز از روی ژل آگارز و مقایسه با نشانگر جرم مولکولی تخمین زده شد. توالی‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار بلاست موجود در ژن بانک NCBI با سایر توالی‌های موجود در این ژن بانک مقایسه شدند. توالی‌های جدایه‌های N1 و L1 بالاترین شباهت را با گونه *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* نشان دادند (شماره دسترسی: MT419359). درخت فیلوژنی با استفاده از توالی‌های به دست آمده و توالی‌های موجود در ژن بانک به روش اتصال همسایه‌ها با درجه اعتبارسنجی ۱۰۰۰ ترسیم گردید (شکل ۷).



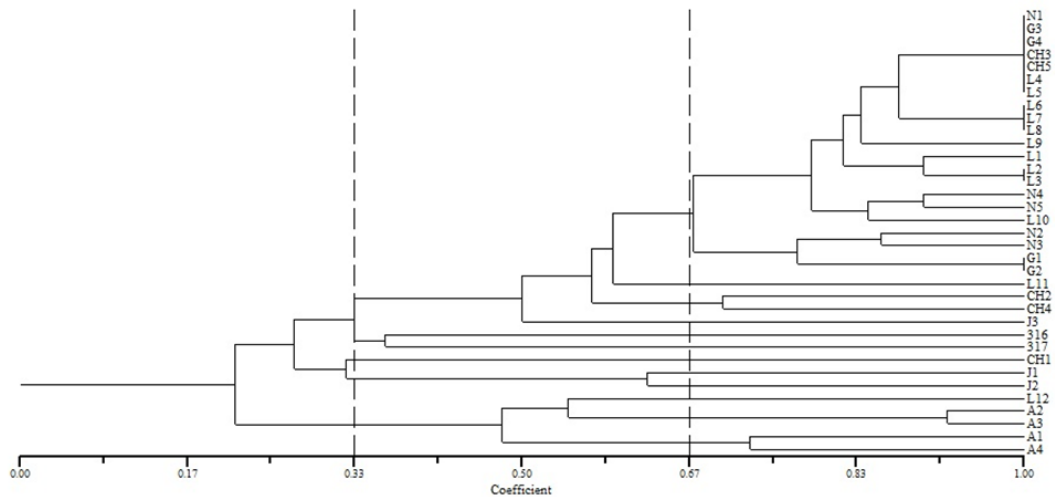
شکل ۳. دندروگرام ارتباط ژنتیکی جدایه‌های *Xanthomonas* عامل نواری باکتریایی گندم در برخی استان‌های ایران، بر اساس الگوی اثر انگشت BOX-PCR. آنالیز خوشه‌ای با ضریب تشابه ژاکارد و الگوریتم UPGMA انجام شد

Figure 3. BOX-PCR. Dendrogram of genetic relatedness of *Xanthomonas* strains causing bacterial leaf streak of wheat in some provinces of Iran, based on their BOX-PCR fingerprint patterns. Cluster analysis was performed by the Jaccard's similarity coefficient and the UPGMA algorithm



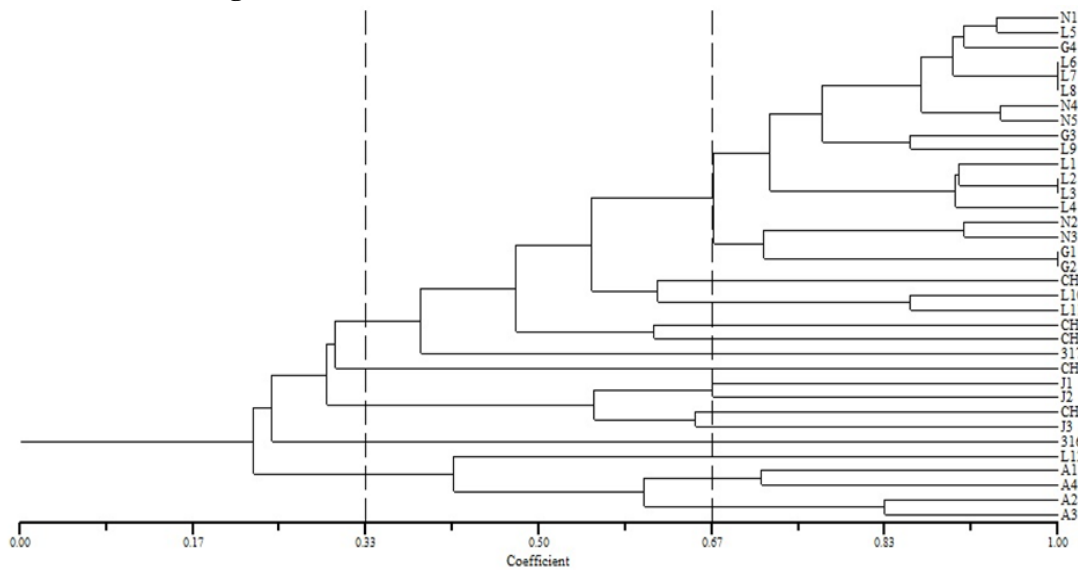
شکل ۴. الگوهای بانندی قطعات DNA تکثیر شده توسط ERIC-PCR جدایه‌های *Xanthomonas* عامل لکه نواری باکتریایی گندم در برخی استان‌های ایران، در ژل آگارز ۱/۵ درصد. مشخصات جدایه‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است

Figure 4. Banding patterns of amplified DNA fragments of *Xanthomonas* strains by ERIC-PCR for the species causing bacterial leaf streak of wheat in some provinces of Iran, in a 1.5% agarose gel. Characteristics of isolates are shown in Table 1



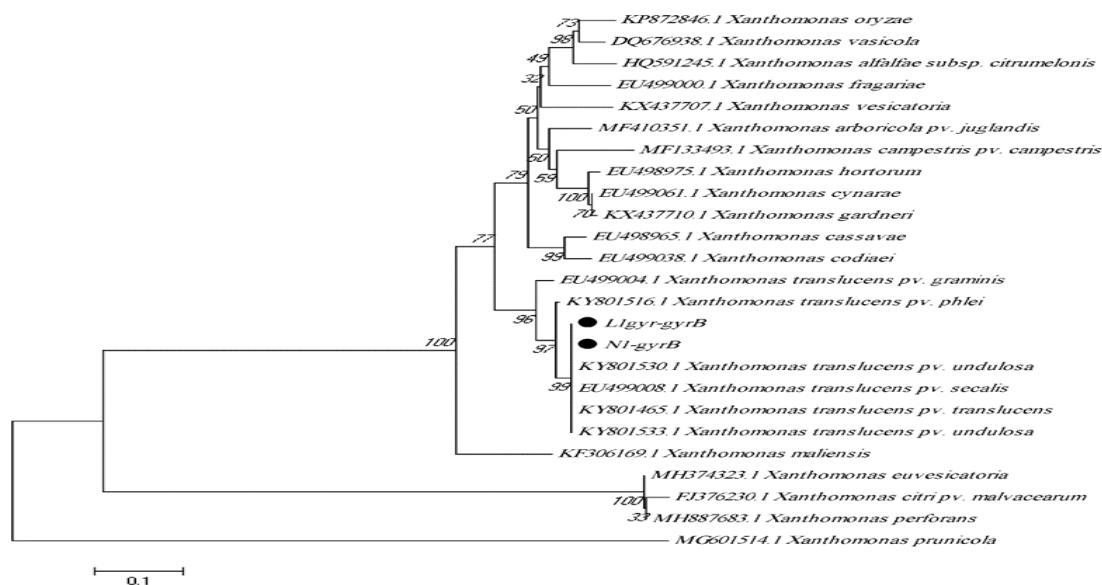
شکل ۵. دندروگرام ارتباط ژنتیکی جدایه‌های *Xanthomonas* عامل نواری باکتریایی گندم در برخی استان‌های ایران، بر اساس الگوی اثر انگشت ERIC-PCR. آنالیز خوشه‌ای با ضریب تشابه ژاکارد و الگوریتم UPGMA انجام شد

Figure 5. ERIC-PCR. Dendrogram of genetic relatedness of *Xanthomonas* strains causing bacterial leaf streak of wheat in some provinces of Iran, based on their ERIC-PCR fingerprint patterns. Cluster analysis was performed by the Jaccard's similarity coefficient and the UPGMA algorithm



شکل ۶. دندروگرام ارتباط ژنتیکی جدایه‌های *Xanthomonas* عامل نواری باکتریایی گندم در برخی استان‌های ایران، بر اساس داده‌های ترکیبی BOX-PCR و ERIC-PCR. آنالیز خوشه‌ای با ضریب تشابه ژاکارد و الگوریتم UPGMA انجام شد

Figure 6. Dendrogram of genetic relatedness of the *Xanthomonas* strains as the causing bacterial leaf streak of wheat in some provinces of Iran and based on the combined data set of BOX and ERIC-PCR using UPGMA analysis and Jaccard's coefficient



شکل ۷. درخت فیلوژنی ترسیم شده بر اساس توالی ناحیه *gyrB* جدایه‌های N1 و L1 عامل نواری باکتریایی گندم به دست آمده در این پژوهش و سایر جدایه‌های ثبت شده در ژن بانک با روش اتصال همسایه‌ها و با برنامه MEGA5. اعداد ثبت شده در محل انشعاب‌ها نشانگر درصد تایید خوشه‌بندی با ۱۰۰۰ تکرار نمونه-برداری (Bootstrap) است

Figure 7. Phylogenetic tree base on the sequences of *gyrB* region. The tree was constructed by the neighbor-joining method with MEGA 5 software. The numerals represent the confidence level (Bootstrap) from 1000 resampling

بحث

در این مطالعه، بیماریزایی و تنوع ژنتیکی جدایه‌های *X. translucens* عامل لکه نواری باکتریایی گندم در استان‌های خراسان رضوی، خراسان شمالی و لرستان با استفاده از آزمون‌های بیماریزایی، بیوشیمیایی و واکنش ارقام گندم به جدایه نماینده، تکنیک آنالیز rep-PCR و توالی‌یابی انجام شد. نتایج حاصل از تحقیق نشان داد که جدایه‌های *X. translucens* به دست آمده از مناطق مورد مطالعه دارای بیماریزایی بر روی گیاهان گندم و تنوع ژنتیکی هستند. در مطالعات قبلی، تنوع ژنتیکی جدایه‌هایی از جنس *Xanthomonas* مورد بررسی قرار گرفته است (Saeedi, 2006; Kolliker et al. 2006; Rademaker et al. 2006; Madani et al. 2010; Adhikari et al. 2012; Popovic et al. 2014; Katkar et al. 2016; Manigundan et al. 2018; Vancheva et al. 2018; Rezene et al. 2018; al. 2017). در این مطالعه اگرچه تمایز در میزان بیماری‌گری جدایه‌ها وجود داشت، اما همه جدایه‌ها روی گیاهان گندم بیماریزا بودند (Adhikari et al. 2012; Milus and Chalkly 1994). یافتن

جدایه‌های با بالاترین قدرت بیماریزایی در شناسایی ژن‌های مقاومت گندم در برابر بیماری BLS مفید است. مشاهدات نشان داد که قدرت تهاجمی جدایه‌ها متفاوت است و برخی جدایه‌ها نظیر جدایه‌های N1 و N2 دارای قدرت تهاجمی بالاتر و جدایه‌های A1 و A2 دارای قدرت تهاجمی کمتری بودند. جدایه N1 بالاترین میزان پیشرفت بیماری را بر روی گیاه گندم داشت و تمامی ارقام مورد مطالعه به این جدایه حساس بودند. در بررسی اثر متقابل ژنوتیپ‌های مختلف غلات ایرانی با سویه‌های *Xanthomonas translucens*، از بین همه ژنوتیپ‌ها، تنها دو ژنوتیپ چاودار به بیماری BLS مقاوم بودند (Falahi Charkhabi et al. 2015). وجود تنوع بیماریزایی و ژنتیکی در *X. t. pv. undulosa* مناطق مورد مطالعه، ممکن است مبنایی برای انتخاب جدایه‌هایی باشد که برای شناسایی ژن‌های مقاومت جدید در گندم مفید هستند.

همه جدایه‌ها از نظر خصوصیات بیوشیمیایی یکسان بودند و می‌توان نتیجه گرفت این آزمایشات نمی‌تواند اختلاف بین جدایه‌های *X. translucens* را نشان دهد. آزمون rep-PCR برای ارزیابی تنوع ژنتیکی جمعیت باکتری‌های بیمارگر گیاهی مفید می‌باشد. در مطالعه حاضر، دندروگرام تجمیعی تنوع ژنتیکی (شکل ۶) دو کلاستر اصلی داشت: کلاستر I شامل ۳۰ جدایه و کلاستر II شامل ۵ جدایه بودند. کلاستر I به چندین زیر کلاستر تقسیم شدند. جدایه‌های با بیشترین بیمارگری، نظیر N1 و N2 تقریباً در گروه مجزا از یکدیگر با سطح تشابه ۵۸٪ قرار گرفتند. اما در این مطالعه، موقعیت جغرافیایی اثری بر روی گروه‌بندی جدایه‌ها نداشت. در پژوهشی (Kolliker et al. 2006)، تنوع ژنتیکی *X. translucens* مرتبط با پژمردگی باکتریایی روی گراس‌های علوفه‌ای را توسط توالی‌های 16S rDNA و آنالیز AFLP مورد بررسی قرار دادند. در آنالیز AFLP دو کلاستر مجزا مشاهده شد. با استفاده از نشانگرهای AFLP و متغیرهای طول، عرض جغرافیایی و ارتفاع، تاثیر قابل توجه موقعیت جغرافیایی مکان‌های جمع‌آوری بر تنوع ژنتیکی مشاهده شد. در تجزیه و تحلیل توالی ژن‌های *dnaK*، *fyuA*، *gyrB* و *rpoD* جدایه‌های به دست آمده از نواری باکتریایی گندم در اروگوئه، این جدایه‌ها بیشترین شباهت را با *X. translucens pv. undulosa* نشان دادند. همچنین از این توالی‌ها برای بررسی تنوع ژنتیکی جدایه‌ها استفاده گردید (Clavijo et al. 2022).

بیماریزایی جدایه‌هایی که از داکوتای شمالی روی میزبان غلات جمع‌آوری شده بود بررسی گردید و همچنین تنوع ژنتیکی جدایه‌ها با استفاده از rep-PCR و IS^{۱۶}-PCR مورد ارزیابی قرار گرفت. جدایه‌ها روی گندم و جو بیماریزا بودند اما شدت علائم در گندم بالاتر بود. تنوع ژنتیکی در بین مناطق برآورد شد و تنوع جغرافیایی در بین جمعیت‌های بیمارگر نشان داده شد (Adhikari et al. 2012). در پژوهش (Curland et al. 2018)، تنوع ژنتیکی *X. translucens* از برخی نواحی ایالات متحده را با استفاده از MLST^{۱۷} و MLSA مورد بررسی قرار دادند. همه سویه‌ها به عنوان *X. translucens pv. undulosa* و *X. translucens pv. translucens* شناسایی شدند. بیماری نواری باکتریایی گندم تقریباً در تمام نقاط کشت گندم در جهان یافت می‌شود. این بیماری می‌تواند باعث کاهش قابل توجه عملکرد و کیفیت پایین دانه شود (Sapkota et al. 2020). با توجه

¹⁶. Insertion Sequence-based

¹⁷. Multilocus Sequencing Typing

به فقدان ابزارهای مدیریتی چشمگیر و درک محدود سیستم بیماری، تاثیر بیماری BLS بر تولید جهانی گندم همچنان رو به افزایش خواهد بود. در این راستا، انجام تحقیقات متنوع و در ابعاد مختلف در سطح جهانی برای این مشکل ضروری به نظر می‌رسد. در نهایت، برای یافتن و توسعه ارقام گندم با مقاومت پایدار به این بیماری، درک بهتر تعامل عامل بیماریزا و گیاه در *Xanthomonas translucens* و گندم الزامی است.

نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش نشان‌دهنده وجود تنوع ژنتیکی بین جدایه‌های عامل بیماری نواری باکتریایی گندم می‌باشد. با ارزیابی جدایه‌ها، بین تنوع ژنتیکی جدایه‌ها و تنوع جغرافیایی آن‌ها (مناطق نمونه برداری) ارتباطی مشاهده نشد. همچنین تمام ارقام گندم مورد مطالعه در برابر جدایه نماینده حساس بودند. مطالعات بیشتر برای جمع‌آوری جدایه‌های باکتریایی در مقیاس جغرافیایی گسترده‌تر برای بررسی تنوع بیماریزایی و ژنتیکی و تعیین سودمندی جدایه خاص برای شناسایی منابع جدید مقاومت به این بیماری ضروری است. دانش در مورد تعامل بین ارقام گندم و جدایه‌های باکتریایی باید به اصلاح ارقام قابل قبول و مقاوم گندم در برابر *Xanthomonas translucens* کمک کند. اطلاعات در مورد توالی ژنوم جدایه‌های *Xanthomonas translucens* در دسترس است. توسعه نشانگرهای تشخیصی مبتنی بر PCR برای ردیابی بیمارگر در تعداد زیادی بذر و شناسایی فاکتورهای شدت، مانند افکتورهای شبه فعال کننده رونویسی درگیر در بیماریزایی در حال پیشرفت می‌باشد.

سپاسگزاری: از دانشگاه فردوسی مشهد به خاطر حمایت مالی در اجرای پژوهش با شماره گرنت ۵۱۰۰۴/۳ سپاسگزاری

می‌شود.

منابع

- عربی فرشته، نیکروش زهرا، بابایی زاد ولی اله و همکاران (۱۳۸۵). وقوع بیماری باکتریایی لکه برگ و بلایت چغندر ناشی از *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* در ایران. مجله بیماریهای گیاهی ۴۲، ۶۷۲-۶۵۵.
- عسکری ناهید، باقی زاده امین، محمدآبادی محمدرضا (۱۳۸۹). مطالعه تنوع ژنتیکی در چهار جمعیت بز کرکی راینی با استفاده از نشانگرهای ISSR. مجله ژنتیک نوین ۵، ۵۶-۴۹.
- محمدی فر آمنه، فقیه ایمانی سید علی، محمدآبادی محمد رضا، سفلی محمد (۱۳۹۲). تأثیر ژن $TGF\beta 3$ بر ارزش های فنوتیپی و ارثی صفات وزن بدن در مرغ بومی استان فارس. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۵(۴)، ۱۳۶-۱۲۵.
- محمدی فر آمنه، محمدآبادی محمد رضا (۱۳۹۰). کاربرد نشانگرهای ریزماهوره برای مطالعه ژنوم گوسفند کرمانی. مجله علوم دامی ایران ۴۲(۴)، ۳۳۷-۳۴۴.

References

- Adhikari TB, Hansen, JM, Gurung S, Bonman JM (2011) Identification of new sources of resistance in winter wheat to multiple strains of *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa*. Plant Dis 95, 582-588.
- Adhikari TB, Gurung S, Hansen JM, Bonman JM (2012) Pathogenic and Genetic Diversity of *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* in North Dakota. Phytopathology 102(4), 390-402.
- Alizadeh A, Rahimian H (1989) Bacterial Leaf Streak of Gramineae in Iran. EPPO Bulletin 19, 113-117.
- Arabi F, Nickravesh Z, Babaizad V et al. (2006) The occurrence of bacterial blight of beet caused by *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* in Iran. Iran J Plant Pathol 42, 655-672 (In Persian).
- Askari N, Baghizadeh A, Mohammadabadi MR (2010) Study of genetic diversity in four populations of Raeini cashmere goat using ISSR markers. Modern Genet J 5 (2), 49-56 (In Persian).
- Askari N, Baghizadeh A, Mohammadabadi MR (2008) Analysis Of The Genetic Structure Of Iranian Indigenous Raeni Cashmere Goat Populations Using Microsatellite Markers. Biotechnology 2 (3), 1-4.
- Bragard C, Singer E, Alizadeh A et al. (1997) *Xanthomonas translucens* from Small Grains: Diversity and Phytopathological Relevance. Phytopathology 87(11), 1111-1117.
- Clavijo F, Curland RD, Croce V et al (2022) Genetic and Phenotypic Characterization of *Xanthomonas* Species Pathogenic in Wheat in Uruguay. Phytopathology 112(3), 511-520.
- Curland RD, Gao L, Bull CT et al. (2018) Genetic diversity and virulence of wheat and barley strains of *Xanthomonas translucens* from 2 the Upper Midwestern United States. Phytopathology 108, 443-453.
- Duveiller E, Fucikovsky L, Rudolph K (1997) The bacterial diseases of wheat: concepts and methods of disease management. CIMMYT.
- Falahi Charkhabi N, Shams-bakhsh M, Rahimian H (2015) Reaction of Iranian Cereal Genotypes to Multiple Strains of *Xanthomonas translucens* pv. *cerealis*. J Agric Sci Technol 17, 241-248.
- Figuroa M, Hammond-kosack KE, Solomon PS (2018) A review of wheat diseases-a field perspective. Mol Plant Pathol 19 (6), 1523-1536.
- Ghasemi M, Baghizadeh A, Abadi MRM (2010) Determination of genetic polymorphism in Kerman Holstein and Jersey cattle population using ISSR markers. Aust J Basic Appl Sci 4 (12), 5758-5760.

- Gholamhoseinzadeh Gooki F, Mohammadabadi MR, Asadi Fozi M (2018) Polymorphism of the growth hormone gene and its effect on production and reproduction traits in goat. Iran J Appl Anim Sci 8 (4), 653-659.
- Gholamhoseinzadeh Gooki F, Mohammadabadi M, Fozi MA, Soflaei M (2019) Association of Biometric Traits with Growth Hormone Gene Diversity in Raini Cashmere Goats. Walailak J Sci Technol 16 (7), 499-508.
- Ji GH, Wei LF, He YQ et al (2008). Biological control of rice bacterial disease blight by *Lysobacter antibioticus* strain 13-1. Biol control 45, 288-296.
- Katkar M, Raghuwanshi KS, Chimote VP, Borkar SG (2016) Pathological, Bio-chemical and Molecular diversity amongst the isolates of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* causing Citrus canker in acid lime from different agro-climatic region of India. Int J Environ Agric Biotech 1, 1-14.
- Khojasteh M, Taghavi SM, Khodaygan P et al. (2019) Molecular Typing Reveals High Genetic Diversity of *Xanthomonas translucens* Strains Infecting Small-Grain Cereals in Iran. Appl Environ Microbiol 85, e01518-19.
- Kölliker R, Kraehenbuehl R, Boller B, Widmer F (2006) Genetic diversity and pathogenicity of the grass pathogen *Xanthomonas translucens* pv. *graminis*. Syst Appl Microbiol 29(2), 109-119.
- Langlois PA, Snelling J, Hamilton JP et al. (2017) Characterization of *Xanthomonas translucens* Complex Using Draft Genomes, Comparative Genomics, Phylogenetic Analysis, and Diagnostic LAMP Assays. Phytopathology 107, 519-527.
- Louws FJ, Fulbright DW, Stephens CT, de Bruijn FJ (1994) Specific genomic fingerprints of phytopathogenic *Xanthomonas* and *Pseudomonas* pathovars and strain generated with repetitive sequences and PCR. Appl Environ. Microbiol 60 (7), 2286-2295.
- Manigundan K, Puneeth Kumar P, Singh R et al. (2017) REP-PCR distinguishes rice bacterial blight pathogen (*Xanthomonas Oryzae* pv. *Oryzae*) strains of Indian Mainland and bay Islands. J Plant Pathol 99 (3), 773-778.
- Milus EA, Mirlloh AF (1994) Use of Disease Reactions to Identify Resistance in Wheat to Bacterial Streak. Plant Dis 78, 157-161.
- Milus EA, Chalkly DB (1994) Virulence of *Xanthomonas campestris* pv. *translucens* on selected wheat cultivars. Plant Dis 78, 612-615.
- Mohammadabadi MR (2017) Inter-Simple Sequence Repeat loci Associations with Predicted Breeding Values of Body Weight in Kermani Sheep. Genet 3rd Millennium 14 (4), 4383-4390.

- Mohammadabadi MR, Esfandyarpoor E, Mousapour A (2017) Using Inter Simple Sequence Repeat Multi-Loci Markers for Studying Genetic Diversity in Kermani Sheep. *J Res Develop* 5 (2), e154.
- Mohammadifar A, Faghih Imani SA, Mohammadabadi MR, Soflaei M (2014) The effect of TGFb3 gene on phenotypic and breeding values of body weight traits in Fars native fowls. *Agric Biotechnol J* 5 (4), 125-136 (In Persian).
- Mohammadifar A, Mohammadabadi MR (2018) Melanocortin-3 receptor (MC3R) gene association with growth and egg production traits in fars indigenous chicken. *Malays Appl Biol* 47 (3), 85-90.
- Mohammadifar A, Mohammadabadi MR (2011) Application of Microsatellite Markers for a Study of Kermani Sheep Genome. *Iran J Anim Sci* 42 (4), 337-344 (In Persian).
- Popovic T, Balaž J, Ignjatov M et al. (2014) Identification and genetic characterisation of *Xanthomonas Campestris* PV. *campestris* as an oilseed rape pathogen in Serbia. *J Plant Pathol* 96 (3), 553-560.
- Rademaker JLW, Norman DJ, Forster RL et al. (2006) Classification and Identification of *Xanthomonas translucens* Isolates, Including Those Pathogenic to Ornamental Asparagus. *Phytopathology* 96(8), 876-884.
- Rezene Y, Mitiku M, Tesfaye K et al. (2018) Analysis of the Molecular Diversity of Common Bacterial Blight (*Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* and *X. campestris* pv. *phaseoli* var. *fuscans*) Strains from Ethiopia Revealed by Rep-PCR Genomic Fingerprinting. *J Biotechnol Biomater* 8, 286.
- Rohlf FJ (2000). NTSYSpc: Numerical Taxonomy System, ver. 2.1. Exeter Publishing.
- Saeedi Madani A, Marefat A, Behboudi K, Ghasemi A (2010) Phenotypic and genetic characteristics of *Xanthomonas citri* subsp. *malvacearum*, causal agent of cotton blight, and identification of races in Iran. *Australas Plant Pathol* 39, 440-445.
- Sapkota S, Megoum M, Liu Z (2020) The translucens group of *Xanthomonas translucens*: Complicated and important pathogens causing bacterial leaf streak on cereals. *Mol Plant Pathol* 21, 291-302.
- Schaad NW, Jones JB, Chun W (2001) Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. (3rd ed.). APS Press.
- Smith EF, Jones LR, Reddy CS (1919) The Black Chaff of Wheat. *Science* 50, 48-48.
- Tamura K, Stecher G, Peterson D et al. (2013) MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol Biol Evol* 30, 2725-2729.

- Thanh TL, Thumanu K, Wongkaew S et al. (2017) Salicylic acid-induced accumulation of biochemical components associated with resistance against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice. J Plant Interact 12(1), 108-120.
- Vancheva, T., Stoyanova, M., Tasheva-Terzieva, E et al. (2018) Molecular methods for diversity assessment among xanthomonads of Bulgarian and Macedonian pepper. Braz J Microbiol 49, 246-259.
- Versalovic J, Koeuth T, Lupski JR (1991) Distribution of repetitive DNA sequences in Eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes. Nucleic Acid Res 19(24), 6823-6831.
- Versalovic J, Schneider M, de Bruijn FJ, Lupski JR (1994) Genomic fingerprinting of bacteria using repetitive sequence based PCR (rep-PCR). Methods Mol Cell Biol 5(1), 25-40.
- Xu J, Audenaert K, Hofte M, De Vleeschauwer A (2013) Abscisic acid promotes susceptibility to the rice leaf blight pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* by suppressing salicylic acid mediated defenses. PLoS ONE 8, 1-10.
- Young JM, Park DC, Shearman HM, Fargier E (2008) A multilocus sequence analysis of the genus *Xanthomonas*. Syst Appl Microbiol 31, 366-377.