

Bacteriophages are the new plant disease treatment agents

سمیه سبزعلی^{۱*}، ستاره پژوه‌نیا^۲، حمزه امیری^۳

Somaieh Sabzali^{1*}, Setareh Pazhouhnia², Hamzeh Amiri³

۱- استادیار گروه زیست‌شناسی، ۳- استاد گروه زیست‌شناسی،

دانشکده علوم پایه، دانشگاه لرستان، ایران.

۲- دکتری میکروبیولوژی، گروه سلولی مولکولی و میکروبیولوژی،

دانشکده علوم و فناوری‌های زیستی، دانشگاه اصفهان، ایران

1. Assistant Professor, 3. Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Lorestan University, Khorramabad, Iran.

2. PhD in Microbiology, Department of Cell and Molecular Biology & Microbiology, Faculty of Biological Science and Technology, University of Isfahan. Isfahan, Iran

*Corresponding Author, Email: پست الکترونیکی: Sabzali.s@lu.ac.ir, Sabzali.somaieh@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۲/۱۳ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۶/۲۳ - تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۶/۲۹)

Received: 2024/05/02 | Accepted: 2024/09/13 | Published: 2024/09/19

Abstract

Since a long time ago, preparing healthy and fresh food has been one of the most important issues facing mankind. With the advancement of technology and the increase in population, this issue has received more attention. Currently, reducing the use of antibiotics and increasing the use of biological methods in order to control pests and increase the health of food is the concern of all sections of society, especially those active in the field of food production. Antibiotic resistance and adverse effects, the use of chemical pesticides by consumers have caused many restrictions on the use of these compounds. For this reason, attention to the use of biological methods for pest control has increased. Bacteriophages are a group of viruses that inhibit the growth of prokaryotic hosts (bacteria) without affecting eukaryotic hosts (plants and animals). The most important feature of these organisms is that they are out of the cycle after their last host dies and do not cause concern for the consumer. This review study examines the studies conducted in this field, as well as the advantages and disadvantages of this treatment method.

Keywords: Antibiotic, Pathogenic bacteria, Bacteriophage, Sustainable agriculture, Biological control



چکیده

رفرانس دهی این مقاله Citation

Sabzali S, Pazhouhnia S, Amiri H. (2024). Bacteriophages are the new plant disease treatment agents. Genetic Engineering and Biosafety Journal ,13 (1) :74-85.

Doi:10.61186/gebsj.13.1.4

URL: <http://gebsj.ir/article-1-491-fa.html>

سبزعلی س، پژوه نیا س، امیری ح. (۱۴۰۳). باکتریوفاژها درمانگرهای جدید بیماری‌های گیاهی. مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی. ۱۳ (۱): ۷۴-۸۵.

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 13, Number 1, 2024

خلاصه

از دیرباز تهیه مواد غذایی سالم و تازه یکی از مهمترین مسائل پیشروی بشر بوده و با افزایش جمعیت در دهه‌های اخیر بیش از پیش مورد توجه قرار گرفته است. در همین راستا کاهش استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و افزایش استفاده از روش‌های زیستی جهت کنترل آفات و افزایش سلامت مواد غذایی مورد توجه تمام اقشار جامعه به‌ویژه افراد فعال در زمینه تولید غذا می‌باشد. مقاومت آنتی‌بیوتیکی و آثار سوء، استفاده از آفت‌کش‌های شیمیایی در مصرف‌کنندگان باعث ایجاد محدودیت‌های فراوانی در استفاده از این ترکیبات شده است. از این‌رو توجهات به استفاده از روش‌های زیستی برای کنترل آفات افزایش یافته است. باکتریوفاژها دسته‌ای از ویروس‌ها هستند که باعث مهار رشد میزبان‌های پروکاریوتی (باکتری‌ها) شده بدون آنکه تأثیری بر میزبان یوکاریوتی (گیاهان و جانوران) داشته باشند. مهمترین ویژگی این موجودات این است که با ازبین‌رفتن آخرین میزبان خود نیز از چرخه خارج شده و نگرانی برای مصرف‌کنندگان ایجاد نمی‌کنند. در این مطالعه با مروری جامع به بررسی ویژگی درمانی باکتریوفاژها مزایا و شناخت بیشتر معایب فاژدرمانی در کنترل بیماری‌های گیاهی پرداخته شده است.

کلمات کلیدی: آنتی‌بیوتیک، باکتری بیماری‌زا، باکتریوفاژ، کشاورزی پایدار، کنترل زیستی

مقدمه

Introduction

اهمیت گیاهان و بیماری‌های گیاهی

غذایی را از بین می‌برند (Strange & Scott, 2005)، که علاوه بر کمبود مواد غذایی، خسارت اقتصادی زیادی به دولت‌ها و کشاورزان را به همراه داشته که در نهایت منجر به افزایش قیمت محصولات کشاورزی برای مصرف‌کنندگان می‌شود (Czajkowski, 2016; Oerke et al., 2014). به عنوان مثال، شانکر باکتریایی (*Pseudomonas syringae* pv.) آلو و گیلان در انگلستان، هر ساله منجر به بروز خسارت ۵/۶ میلیون پوندی می‌شود (Toth et al., 2021). همچنین خسارت بیماری گرینینگ یا سبز شدن مرکبات (huanglongbing)، در ایالات متحده بالغ بر ۱ میلیارد دلار در سال تخمین زده می‌شود (Li et al., 2020).

با جهانی شدن و گسترش مراودات تجاری بین کشورهای مختلف گسترش و شیوع بیماری‌های گیاهی با عامل باکتریایی نیز افزایش یافته است. در بسیاری از موارد بیمارگرهای گیاهی می‌توانند از طریق واردات مواد گیاهی آلوده یا جابجایی حشرات ناقل آلوده، وارد کشورهای جدید شوند. آلودگی باکتریایی گیاهان می‌تواند در هر مرحله از رشد از انتخاب بذر تا کشت در مزرعه، برداشت محصول، حمل و نقل یا حتی ذخیره‌سازی اتفاق بیافتد. بیش از ۲۰۰ باکتری بیماریزای گیاهی وجود دارد (Mansfield et al., 2012). مهم‌ترین آن‌ها از جنس‌های آگروباکتریوم، اروینیا، رالوستونیا،

جمعیت کره زمین به سرعت در حال افزایش است و طبق آمارها تخمین زده می‌شود تا سال ۲۰۵۰ جمعیت کره زمین به ۹/۶ میلیارد نفر برسد، که این موضوع تهدیدی جدی برای امنیت زنجیره تامین مواد غذایی است (Nations, 2015). پاسخگویی به این نیاز در طولانی مدت نیازمند ایجاد یک سیستم تولید مواد غذایی پایدار با استفاده از کاهش تأثیر بیماری‌ها در کاهش محصولات گیاهی است (Sundin & Wang, 2018). بررسی‌ها نشان دهنده افزایش ۸۰ تا ۱۱۰ درصدی نیاز غذایی در آینده است (Ray et al., 2013) که با استفاده از راهکارهایی مانند افزایش سطح زیرکشت، (Mackay, 2009) افزایش عملکرد محصول با بهینه سازی دسترسی به آب، استفاده از کودها و یا کنترل عوامل بیماری‌زا این نیاز را تا حدی پاسخ داد. بیماری‌های گیاهی به وسیله‌ی انواع مختلفی از بیمارگرهای گیاهی، از جمله ویروس‌ها، باکتری‌ها، قارچ‌ها، نماتدها و اومیس‌ها ایجاد می‌شوند و می‌تواند امنیت غذای جهانی را با خطر جدی مواجه سازند (Subbarao et al., 2015).

تخمین زده می‌شود در سراسر جهان بیماری‌های گیاهی که توسط باکتری‌ها به وجود می‌آیند؛ حدود ۱۰ الی ۲۵ درصد از محصولات

مواد گیاهی به اروپا، مصر، آسیای مرکزی و اقیانوسیه و سراسر جهان گسترش یافت (Bultreys & Kaluzna, 2010). اگر باغی به این باکتری آلوده شود، کل برداشت سال آن باغ از دست می‌رود (Denning, 1794).

Xanthomonas

Xanthomonas یک جنس از باکتری‌های میله‌ای شکل، گرم منفی است، که زانتومونادین (رنگدانه زرد رنگی که به بقای اپی‌فیتیک در شدت نور بالا کمک می‌کند) را تولید می‌کند (Poplawsky et al., 2000). بیش از ۳۵ گونه در این جنس حضور دارند که قادر به آلوده کردن بیش از ۴۰۰ میزبان گیاهی هستند (Timilsina et al., 2020). چندین گونه در این جنس عامل بیماری درختان هستند، که از جمله‌ی آنها می‌توان به *X. arboricola* pvs *juglandis* عامل بلایت باکتریایی گردو، *X. arboricola* pvs *corylina* عامل بلایت باکتریایی فندق، *X. arboricola* pvs *pruni* عامل نکروز پوست درخت صنوبر و *X. axonopodis* pvs *citri* عامل بروز شانکر مرکبات آسیایی اشاره کرد (Ferraz et al., 2018).

Agrobacterium tumefaciens

A. tumefaciens باکتری میله‌ای شکل، گرم منفی که منجر به ایجاد بیماری گال طوقه در گیاهان دولپه‌ای می‌شود. ادغام بخش کوچکی از ژنوم باکتری به نام T-DNA در ژنوم گیاه میزبان منجر به تشکیل تومورهایی به نام گال در ریشه و پایه ساقه می‌شود. این بیماری بیشترین آسیب را به نهالستان‌های درختی وارد می‌کند، زیرا درختان جوان بیشتر مستعد آلودگی هستند و درختان آلوده به طور معمول غیرقابل فروش می‌شوند. درختان و درختچه‌های میوه‌دار مثل درختان انگور و درختان سیب بیشتر در معرض ابتلا به این بیماری هستند (Kado, 2002).

Xylella fastidiosa

Xylella fastidiosa باکتری گرم منفی میله‌ای شکل هوازی که باعث ایجاد بیماری در میزبان‌های گیاهی مختلف می‌شود. بیماری پیرس انگور که منجر به سوختگی و ریزش برگ، پژمردگی میوه و کاهش رشد انگور می‌شود (Jackson, 2008) همچنین سندرم زوال سریع زیتون که علائم مشابهی را ایجاد کرده و منجر به خشکی و مرگ درخت می‌شود. بیماری سوختگی هلو، سوختگی برگ درختان

سودوموناس و زانتوموناس هستند (Buttimer et al., 2017; Sundin & Wang, 2018).

به عنوان مثال می‌توان به ورود بیمارگر *Xylella fastidiosa* (عامل سوختگی برگ) در سال ۲۰۱۲ به اروپا اشاره کرد (Janse, 2010) و یا حضور پیرس مو (عامل سوختگی برگ درختان مو) که در سال ۲۰۱۳ به اروپا رسید و ابتدا در ایتالیا و سپس در سایر نقاط اروپای جنوبی شناسایی شد (Authority et al., 2020). سایر بیماری‌های باکتریایی درختان در فهرست نظارت اتحادیه اروپا شامل: *Candidatus Liberibacter asiaticus* عامل بیماری میوه سبز مرکبات (Huanglongbing) و *Candidatus Phytoplasma* *Candidatus Phytoplasma phoenicium phoenicium* عامل بیماری جارو جادوگر هلو و بادام، *Pseudomonas avellanae* عامل ایجاد شانکر و زوال فندق و *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* عامل بیماری گال باکتریایی زیتون است (Janse, 2010).

معرفی برخی از باکتری‌های بیماری‌زای مهم گیاهی

Pseudomonas savastanoi

Pseudomonas savastanoi باکتری میله‌ای گرم منفی، تازکدار و هوازی اجباری ایجاد کننده بیماری در گیاهان چوبی است. سودوموناس باعث ایجاد لکه‌های متعدد روی برگ، سوختگی، پژمردگی عروقی، پوسیدگی نرم، شانکر و گال می‌گردد. گیاه آلوده به این باکتری در محل آلودگی رشد بیش‌ازحدی را نشان می‌دهند که به آنها گال، گره یا تومور گفته می‌شود، این تظاهرات عمدتاً در قسمت‌های هوایی گیاهان دیده می‌شود. آلودگی به باکتری *Pseudomonas savastanoi* باعث کاهش میوه‌ها و بهره‌وری درختان زیتون می‌شود و درحال حاضر درمان موثری برای آن وجود ندارد (Kalpage & De Costa, 2014).

Erwinia amylovora

Erwinia amylovora باکتری میله‌ای گرم منفی بوده که باعث بروز سوختگی در سیب، گلابی و گونه‌های مختلف *Rosaceae* می‌شود. این بیماری میوه‌ها، شکوفه‌ها و شاخه‌های گیاه آلوده را تحت تأثیر قرار می‌دهد. آلودگی پیشرفته منجر به بروز نکروز شده، نواحی آلوده را سیاه و در نهایت می‌سوزاند. *E. amylovora* اولین بار در دهه ۱۷۸۰ در نیویورک شناسایی شد (Denning, 1794) و با واردات

بلوط، سنجد، چنار و توت از دیگر بیماریهای بوجود آمده توسط این باکتری است (Fahrenkamp-Uppenbrink, 2016).

Ralstonia solanacearum

R. solanacearum باکتری گرم منفی میله‌ای شکل دارای تاژک قطبی است که به وسیله‌ی آن در محیط حرکت می‌کند. این باکتری عمدتاً در خاک یافت می‌شود (Pires et al., 2016). گونه‌های متعددی از این باکتری در مناطق آب‌وهوایی مختلف از جمله مناطق گرمسیری، نیمه‌گرمسیری و معتدل وجود دارند. در حال حاضر به سه گونه *R. solanacearum*، *R. pseudosolanacearum* و *R. syzygii* پراکندگی جغرافیایی وسیع نشان می‌دهند و محصولات کلیدی مانند سیب‌زمینی، گوجه‌فرنگی و بادمجان و تنباکو را آلوده می‌کنند (Safni et al., 2018). *R. solanacearum* قادر است بسیاری از گونه‌های درختی را آلوده کند (Ji et al., 2008). به ترتیب باعث پژمردگی باکتریایی درختان اکالیپتوس در قاره آمریکا و آسیا و آفریقا می‌شوند (Carstensen et al., 2017). ابتلا به آلودگی توسط این باکتری‌ها در درختان ۲ تا ۴ ساله شایع‌تر است و منجر به قرمزی و پژمردگی بافت و ریزش برگ‌ها می‌شود (Coutinho & Wingfield, 2017). *R. solanacearum* عامل ایجاد پژمردگی باکتریایی در درختان در گوام است (Ayin et al., 2019). *R. syzygii* بیشتر در جنوب شرقی آسیا دیده می‌شود. و زیرگونه‌های آن باعث بروز بیماری در گیاه‌های مختلفی از جمله میخک، سیب‌زمینی، گوجه‌فرنگی و فلفل می‌شوند (Polizzi et al., 2008).

درمان‌های رایج برای کنترل بیماری‌های باکتریایی گیاهی

استفاده از مواد شیمیایی و آنتی‌بیوتیک‌ها یکی از اجزای اصلی مدیریت بیماری‌های گیاهی، به ویژه برای بیماری‌های ناشی از باکتری‌ها است. متأسفانه، بیمارگرهای باکتریایی نسبت به همتایان قارچی خود مقاوم‌تر به درمان هستند. تجربه نشان داده است که عملکردهای درمانی که تنها برپایه موادشیمیایی بوده‌است، موفقیت محدودی در درمان بیماری‌ها ایجاد کرده‌است. از درمان ترکیبی آنتی‌بیوتیک‌ها و ترکیبات مبتنی بر مس برای کنترل شیمیایی بیماری‌های باکتریایی استفاده می‌شود. مس به‌عنوان یک محافظ شیمیایی برای کنترل بیماری‌های باکتریایی استفاده می‌شود؛ که این

موضوع باعث افزایش مقاومت وابسته به پلاسمید و کروموزوم به مس در باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی شده است. پلاسمید مولکول DNA کوچکی است که به‌طور مجزا از کروموزوم در سلول وجود دارد زمانیکه باکتری وارد گیاه می‌شود، تعدادی از ژنها از پلاسمید باکتری، به گیاه منتقل شده و وارد ژنوم هسته‌ای گیاه میزبان می‌شود و می‌تواند ژن مقاومت به مس را به گیاه جدید منتقل کند. (Thayer & Stall, 1962). سال‌های زیادی است که استفاده گسترده از آفت‌کش‌های ضد میکروبی برپایه مس منجر به تجمع مس در محیط و محصولات غذایی شده که با ملاحظاتی از قبیل: اثرهای سمی روی گیاهان و تکامل بیمارگرهای گیاهی مقاوم به مس، مسمومیت ناشی از مس در انسان‌ها و حیوانات که با اختلالات تولیدمثلی، کبدی، گوارشی و عصبی همراه شده است. علاوه براین در برخی گزارش‌ها افزایش مرگ و میر مگس *Apis mellifera* در اثر استفاده از مس و آفت‌کش‌های مبتنی بر نانوذرات مس بر روی محصولات کشاورزی دیده شده است (Abolaji et al., 2020; Nikolić et al., 2019). استفاده بیش از حد از آفت‌کش‌های مس و نانوذرات اکسید مس بر روی محصولات کشاورزی مختلف مانند جو، شیرین‌بیان و کلم برگ‌چینی منجر به استرس اکسیداتیو، اختلال در رشد و جوانه‌زنی می‌شود (Richard et al., 2017).

در دهه ۱۹۴۰ و به دنبال کشف پنی‌سیلین توسط فلیمنگ استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان بیماری‌ها رواج پیدا کرد. اما در حال حاضر استفاده گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها منجر به بروز مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌ها به واسطه روش‌های معمول انتقال مقاومت مانند پلاسمیدها و سازوکارهای دخیل در انتقال افقی ژن‌ها شده است (Graham & Leite Jr, 2004) (Noohpisheh et al., 2020). شیوع عوامل بیماری‌زای مقاوم یکی از جدیدترین تهدیدها برای درمان موفقیت‌آمیز بیماری‌های میکروبی است (Amiri, 2007; Esmaeili et al., 2008; Mohsenzadeh et al., 2011).

بیمارگرهای گیاهی دارای مقاومت در برابر آفت‌کش‌ها، به چالش جدی در سیستم تولید کشاورزی تبدیل شده‌اند (Griffin et al., 2017). گزارش‌هایی مبنی بر مقاومت باکتری‌هایی مانند *Sodomonas*، *Zanatomonas* در برابر مس و آنتی‌بیوتیک‌ها دیده شده است (Richard et al., 2017). به‌عنوان مثال گونه‌های مقاوم به

سازوکار عمل باکتریوفازها

جذب فاز به سطح باکتری

آلودگی سلول‌های باکتریایی توسط فازهای کشته شده و معتدل با اتصال اندامک جذب کننده فاز به گیرنده‌های خاص باکتری روی سطح باکتری آغاز می‌گردد. محل اتصال باکتری و ویروس متفاوت است. از اجزای سطح سلولی که می‌توانند به عنوان گیرنده فاز عمل کنند پروتئین‌ها، لیپوپلی‌ساکاریدها در باکتری‌های گرم منفی و پپتیدوگلیکان و اسید تیکوئیک در باکتری‌های گرم مثبت را می‌توان نام برد. ممکن است که دو یا چند فاز محل گیرنده یکسانی را در یک باکتری شناسایی کنند. تعداد کمی از فازها حتی ممکن است قادر به اتصال به دو یا چند گیرنده مختلف باشند (Lenski, 1988). در ابتدا، اندامک جذب کننده فاز به طور برگشت پذیر به گیرنده-های باکتری متصل می‌شود. فرآیندی که منجر به نفوذ مواد ژنتیکی فاز به داخل سلول باکتری می‌شود، در نهایت این رابطه را غیرقابل برگشت می‌کند (Goldberg, 1980).

تزریق مواد ژنتیکی فاز به سلول‌های باکتریایی

پس از اتصال اندامک جذب کننده فاز به گیرنده باکتری، فاز شروع به وارد کردن مواد ژنتیکی خود به سیتوپلاسم می‌کند. این به دلیل انقباض غلاف دم رخ می‌دهد که به عنوان یک سوزن زیرپوستی عمل می‌کند تا ژنوم فاز را به غشای سلولی و دیواره تزریق کند. فقط ماده ژنتیکی فاز وارد باکتری می‌شود و سایر قسمت‌های فاز (بخش ساختاری) بیرون از سلول باقی می‌ماند (Xu & Xiang, 2017).

آلودگی

این مرحله در فازهای کشته شده با فازهای معتدل متفاوت است. در فازهای کشته شده پس از اینکه ماده ژنتیکی فاز وارد سیتوپلاسم باکتری شد، فاز اندونوکلازهای کدگذاری شده با ژنوم ویروس را سنتز می‌کند تا کروموزوم باکتری را تجزیه کند. متعاقباً، ژنوم فاز ماشین‌های متابولیک باکتری را در اختیار می‌گیرد و آن را به یک "کارخانه" برای تولید اجزای فاز، از جمله کپسومرها، غلاف، صفحات پایه، الیاف دم و آنزیم‌های فاز تبدیل می‌کند. هنگامی که سنتز اجزای فاز کامل شد، آنها جمع می‌شوند تا فازهای جدیدی به

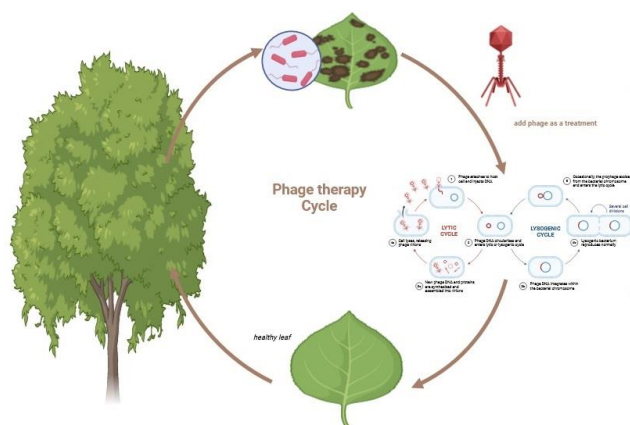
استرپتومایسین باعث بروز بیماری لکه‌زایی در گوجه‌فرنگی و فلفل می‌شود. مقاومت به استرپتومایسین در باکتری‌های ایجاد کننده بیماری‌هایی مثل سوختگی سیب و گلابی نیز دیده شده است. اخیراً، استفاده از ترکیبات محافظتی مبتنی بر مس در چندین کشور ممنوع و یا محدود شده است، و استفاده از روش‌های جدید، از جمله کنترل زیستی مطرح شده است (Holtappels et al., 2021; Vu & Oh, 2020).

کنترل زیستی باکتری‌های بیماری‌زا

با در نظر گرفتن تمام اثرهای مخرب آفت‌کش‌ها بر بهره‌وری محصول، شیوع مقاومت در میان باکتری‌های بیمارگر و اثرهای مخرب عوامل شیمیایی بر مصرف کننده‌نهایی، پیدا کردن عوامل جایگزین کنترل باکتری‌های بیمارگر گیاهی با ویژگی‌های مطلوب نیاز است. یکی از راه‌هایی که در سال‌های گذشته بسیار مورد توجه قرار گرفته است استفاده از ابزارها و ماشین‌آلات جدید مبتنی بر عوامل کنترل زیستی است. کنترل زیستی به معنای استفاده از موجود زنده برای کنترل و از بین بردن هرگونه بیمارگر و انگل گیاهان است. کنترل زیستی بیمارگرهای گیاهی سبب کاهش مصرف سموم شیمیایی و توسعه کشاورزی پایدار با کمترین هزینه زیست محیطی می‌شود (Malekzadeh et al., 2023). امروزه استفاده از باکتریوفاز به عنوان یک عامل کنترل زیستی به یک زمینه پژوهشی جذاب و درحال پیشرفت برای مقابله با بیمارگرهای گیاهی تبدیل شده است.

باکتریوفازها

باکتریوفازها ویروس‌هایی هستند که باکتری‌ها (میزبان پروکاریوتی) را آلوده می‌کنند بدون اینکه اثر مضر روی میزبان یوکاریوتی (گیاهان و حیوانات) داشته باشند (Chevallereau et al., 2016; Sabzali & Bouzari, 2021). باکتریوفازها را می‌توان در هر زیستگاهی از خاک تا اقیانوس‌ها یافت. باکتریوفازهای با چرخه زندگی کشته شده برای انجام مطالعات و بررسی خواص ضد میکروبی مناسب هستند (Pazhouhnia et al., 2022; Abedon, 2017).



شکل ۱- نمای شماتیک استفاده از باکتریوفازها در مهار و از بین بردن بیماری-های باکتریایی گیاهان. باکتریوفاز کشته شده بعد از ورود به باکتری میزبان با استفاده از چرخه کشته شده منجر به حذف و کشته شدن باکتری میزبان خود شده و از باکتری خارج شده و میزبان بعدی را آلوده می‌کند. این نحوه عملکرد تا از بین رفتن آخرین میزبان باکتریایی ادامه دارد.

Figure 1. Schematic view of the use of bacteriophages in the control and elimination of bacterial diseases of plants. After entering the host bacterium, the lethal bacteriophage kills the host bacterium by using the lytic cycle and leaves the bacterium and infects the next host. This mode of action continues until the last bacterial host is killed.

۲- باکتریوفازها خودتکثیر شونده و خود محدود شونده هستند. آنها تنها تا زمانی که باکتری میزبان در محیط وجود دارد تکثیر می‌شوند، اما در غیاب آن به سرعت از بین می‌روند.

۳- باکتریوفازها را می‌توان علیه گیرنده‌های باکتریایی که برای بیمارگری ضروری هستند، انتخاب کرد، بنابراین جهش یافته‌های مقاوم به فاز از نظر فاکتورهای ویروالانس به شدت ضعیف می‌شوند.

۴- تنها یاخته‌های پروکاریوتی میزبان باکتریوفازها هستند؛ بنابراین، می‌توان از باکتریوفازها در شرایطی که استفاده از مواد شیمیایی به دلیل مقررات قانونی مجاز نیست مانند کنترل آفات هلو قبل از برداشت یا برای کنترل بیمارگرهای انسانی در محصولات تازه چیده شده استفاده کرد.

۵- فازها دارای دامنه میزبانی بسیار اختصاصی هستند و فقط باکتری‌های هدف را بدون آسیب رساندن به سایر اعضای فلور مقیم، از بین می‌برند. بنابراین استفاده از باکتریوفازها می‌تواند با استفاده از باکتری‌های آنتاگونیست برای افزایش فشار روی باکتری بیماری‌زا همراه شود.

نام فازهای دختری را تشکیل دهند. سپس پروتئین‌های فاز مانند هولین یا لیزوزیم دیواره سلولی باکتری را مختل می‌کنند تا فازهای جدید را آزاد کرده که در نهایت سلول‌های جدید را آلوده می‌کنند (شکل-۱) (Grabowski et al., 2021).

در فاز معتدل، پس از ورود به سیتوپلاسم باکتری، ماده ژنتیکی فاز در کروموزوم باکتری ادغام شده و به پروفاز تبدیل می‌شود از این مرحله به بعد باکتری را لیزوژن می‌نامند. لیزوژنی فرآیندی است که طی آن یک فاز معتدل یک باکتری را آلوده می‌کند. در طول تولیدمثل، همانطور که باکتری کروموزوم خود را تکثیر می‌کند، DNA فاز را نیز تکثیر کرده و آن را به سلول‌های دختر جدید منتقل می‌کند (Davies et al., 2016). وجود یک ژنوم فاز در کروموزوم باکتری می‌تواند فنوتیپ باکتری را با معرفی ژن‌های اضافی مانند ژن‌های سم که می‌تواند ویروالانس باکتری را افزایش دهد، تغییر دهد. این تغییر در فنوتیپ میزبان "تبدیل لیزوژنیک" یا "تبدیل فاز" نامیده می‌شود.

در برخی از باکتری‌ها، مانند ویبریوکلرا و کلوستریدیوم بوتولینوم، فقدان پروفاز منجر به کاهش حدت می‌شود. فازهایی که این باکتری‌ها را آلوده می‌کنند، ژن‌های سمی را در ژنوم خود حمل می‌کنند که در صورت بیان، بیماری‌زایی میزبان را افزایش می‌دهد. سموم کدگذاری شده با فاز می‌توانند باعث فلج در کلوستریدیوم بوتولینوم و اسهال شدید در ویبریوکلرا شوند (Kuhl et al., 2012).

در طول لیزوژن، پروفاز در کروموزوم باکتری باقی می‌ماند و بدون از بین بردن سلول باکتری به صورت یک واحد تکثیر می‌شود. با این حال، تحت شرایط خاصی، فازهای لیزوژنیک را می‌توان وادار کرد تا یک چرخه لیتیک را دنبال کنند و در یک سلول تازه آلوده تحت لیزوژنی قرار گیرند (Davies et al., 2016).

مزیت‌های استفاده از باکتریوفازها در درمان بیمارگرهای گیاهی

چندین مزیت بالقوه برای استفاده از باکتریوفازها در کنترل بیماری وجود دارد:

۱- فازها اجزای طبیعی بیوسفر بوده و امکان جداسازی ساده‌ی آنها از منابع مختلف از جمله خاک، آب، گیاهان، حیوانات و بدن انسان وجود دارد.

کاربردهای گذشته باکتریوفاژها برای کنترل بیمارگرهای گیاهی

از باکتریوفاژها در تولید گیاهان تراریخته که آنزیمهای لازم برای بقا و محافظت از بیمارگرهای باکتریایی را بیان می‌کنند استفاده شده است (Harshitha et al., 2022). در دهه گذشته، مطالعات متعددی بر روی جداسازی و شناسایی باکتریوفاژ علیه باکتری‌های ایجاد کننده بیماری‌های گیاهی انجام شده است. که می‌توان به مطالعات انجام شده بر روی بیمارگرهای گیاهی *P. syringae* اشاره کرد (Sakata et al., 2021). زائر آناقز و همکاران ۷۵ جدایه فاژی از ۵ خانواده *Microviridae*، *Tectividae*، *Myoviridae* و *Microviridae* از ۵۶ نمونه خاک اطراف درختان میوه هسته‌دار مشکوک به شانکر باکتریایی از شمال غرب ایران جداسازی کرده است (Zaer Anaqz et al., 2023). Liu و همکاران کوکتل فاژی علیه این باکتری تهیه کردند که این کوکتل شامل شش باکتریوفاژ بود و تاثیر آن را بر روی بیماری سوختگی باکتریایی تره‌فرنگی بررسی کردند. نتایج نشان دهنده اثر مثبت و مہاری استفاده از کوکتل فاژی بر آلودگی باکتریایی گیاه مذکور بود (Liu et al., 2021; Liu et al., 2021). از نکات مهم در انتخاب باکتریوفاژها توجه به شرایط رشد باکتری‌میزبان آنها است. به عنوان مثال باکتری *Ralstonia solanaceum* مقاوم به حرارت است و قادراست در دماهای بالا نیز فعالیت کرده و بوته‌های گوجه فرنگی را آلوده کند و منجر به پژمرده شدن گیاه شود. Sasaki و همکاران در سال ۲۰۲۱ موفق به جداسازی فاژ RSL1 علیه این باکتری شده و نتایج تیمارهای انجام شده توسط این تیم نشان داد که فاژ مقاوم به دمای جداسازی شده قادر به مهار آلودگی باکتریایی در بوته‌های گوجه‌فرنگی بوده و از پژمردگی بوته‌ها جلوگیری کرده است (Sasaki et al., 2021). در مطالعه‌ی دیگری که توسط Civerolo و Keil انجام شد ده فاژ جدید علیه *Agrobacterium tumefaciens* جداسازی و شناسایی شد که قادر بودند در مدت زمان ۲۱ ساعت به طور کامل تومور القا شده توسط سویه‌های ویروالانس این باکتری را مهار کنند (Civerolo & Keil, 1969). نتایج مطالعات دیگری نشان داد که باکتریوفاژهای جداسازی شده علیه *Xanthomonas campestris* pv. *Pruni* قادر به کاهش بیش از ۲۹ درصد جمعیت باکتری‌ها در مدت زمان انکوباسیون یک ساعته بودند. بررسی‌های انجام شده توسط Kuo و همکاران نشان داد که فاژ جداسازی شده علیه باکتری *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

۶- هزینه جداسازی و آماده سازی حجم‌های بالای فاژ به طور نسبی مقرون به‌صرفه است و می‌توان آن را در دمای 4°C برای ماه‌ها بدون کاهش قابل توجهی در تیتراژ نگهداری کرد. با توجه به این نکته که فاژها در مقابل بیشتر مواد شیمیایی کشاورزی مقاوم هستند، می‌توان آنها را با بسیاری از مواد شیمیایی کشاورزی بدون کاهش قابل توجهی در تیتراژ مخلوط کرد (Obradovic et al., 2004; Obradovic et al., 2005).

محدودیت‌های استفاده از باکتریوفاژها

فاژدرمانی دارای عیب‌هایی نیز است که از جمله‌ی آنها می‌توان به مواردی مانند:

- ۱- احتمال ایجاد سویه‌های باکتریایی مقاوم به فاژ، ماندگاری ضعیف یا کوتاه مدت در ریزوسفر و فیلوسفر.
- ۲- ناتوانی فاژها در پراکندگی یا تعامل با باکتری هدف خود در صورت کمبود رطوبت در سطح برگ؛ برای اطمینان از زمان طولانی‌تر قرار گرفتن در معرض باکتری‌های هدف، می‌توان با استفاده از فاژها در طول دوره‌هایی که رطوبت آزاد طولانی‌تر روی برگ‌ها وجود دارد، مانند هنگام بارندگی یا زمانی که شبنم روی برگ‌ها در شب و در اوایل صبح وجود دارد، مشکل را حل کرد.
- ۳- مشکل احتمالی بعدی در استفاده از فاژها، پاشش به طور یکنواخت روی برگ‌های درختان بزرگ است که استفاده از فاژها از طریق سیستم آوندی درختان می‌تواند این مشکل را حل کنند. علاوه بر این، این نوع کاربرد فاژ ممکن است تحویل سیستمیک فاژها را در سراسر سیستم آوندی درخت و جریان آب را تسهیل کند.
- ۴- غیرفعال شدن فاژها در اثر تابش اشعه ماوراء بنفش خورشید محدودیت دیگر استفاده از باکتریوفاژهاست. اشعه ماوراء بنفش می‌تواند به DNA فاژها آسیب برساند و به طور بالقوه از تکثیر DNA جلوگیری کند. برای کاهش اثرها مخرب اشعه ماوراء بنفش می‌توان فاژها را بعد از غروب آفتاب بر روی گیاه اسپری کرد (Grace et al., 2021; Jones et al., 2012).

پژوهش‌هایی نیز در مورد سرکوب لکه باکتریایی گوجه فرنگی با استفاده از فاژها انجام شده است. فلاهرتی و همکاران به طور موثر بیماری ایجاد شده توسط *X. campestris* را در آزمایشات گلخانه‌ای و مزرعه‌ای با استفاده از کوکتل فاژی که از چهار فاژ کشته تهیه شده بود مهار کردند (Flaherty et al., 2000). بالوگ و همکاران اثربخشی و ماندگاری فاژ را با فرمول‌های محافظتی مختلف روی شاخه و برگ گوجه‌فرنگی مورد مطالعه قرار دادند. نتایج این مطالعه نشان داد که فرمول‌های پایدار کننده به افزایش عملکرد باکتریوفاژها کمک می‌کند (Balogh et al., 2003). در فلوریدا امریکا محلول‌های تجاری فاژی با نام Agriphage در دسترس است و در کنترل بیماری لکه باکتریایی گوجه‌فرنگی از آن استفاده می‌شود (Momol et al., 2002). از دیگر مطالعات انجام شده بر روی کاهش و کنترل بیماری‌های ایجاد شده توسط باکتری *Xanthomonas* می‌توان به استفاده از اسپری کوکتل فاژی برای کاهش بروز سوختگی باکتریایی گیاه شمعدانی (Flaherty et al., 2001)، ضد عفونی بذر سیب‌زمینی آلوده به گال استرپتومایسس با استفاده از فاژ با دامنه میزبانی وسیع (McKenna et al., 2001)، کنترل سوختگی پیاز (Lang et al., 2004)، همچنین کنترل شانکر باکتریایی مرکبات و لکه‌های باکتریایی مرکبات (Balogh et al., 2006) و کنترل و کاهش معدوم شدن قارچ‌های پرورشی ناشی از بیماری‌های باکتریایی اشاره کرد (Munsch & Olivier, 1995; Munsch et al., 1991) (جدول - ۱).

که در مقدار بالا به آب شالیزارها وارد شده بود منجر به مهار رشد این باکتری در شالیزارها شد. نتایج نشان داد که تیمار فاژی در ۱، ۳ و ۷ روز قبل از تلقیح *X. oryzae* به ترتیب ۱۰۰، ۹۶ و ۸۶ درصد باعث کاهش بروز بیماری آتشک برنج توسط این باکتری شد (Kuo et al., 1971). ساکاردی و همکاران با استفاده از اسپری دو هفته‌ای سوسپانسیون فاژ بر روی *Xanthomonas campestris* pv. *Pruni*، بروز لکه‌های میوه را در هلو کاهش دادند. برای این منظور آنها هشت فاژ کشته علیه این بیمارگر، جداسازی و شناسایی کرده و مورد مطالعه قراردادند. نتایج نشان داد که کوکتل فاژی تهیه شده باعث مهار بروز بیماری در گیاه مورد مطالعه شد (Saccardi et al., 1993). مطالعات متعددی بر روی کنترل *Erwinia amylovora* بیمارگر باکتریایی عامل ایجاد سوختگی سیب، گلابی و تمشک با استفاده از باکتریوفاژها انجام شده است. اشنابل و همکاران از کوکتل فاژی حاوی سه فاژ برای کنترل سوختگی بر روی شکوفه‌های سیب استفاده کردند و به کاهش قابل توجه (۳۷ درصد) بیماری در گیاهان مورد مطالعه دست یافتند (Schnabel et al., 1998). گیل و همکاران (Gill et al., 2003) نیز موفق به جداسازی فاژ کشته علیه *E. amylovora* شدند. همچنین به بررسی قدرت فاژها در کنترل بیماری در گیاه گلابی پرداختند و فاژهایی با دامنه میزبان وسیع و دوز عفونت‌زایی پایین برای مطالعات بیشتر انتخاب شدند.

جدول ۱ - کاربرد باکتریوفاژها برای کنترل بیمارگرهای گیاهی

Table 1- The use of bacteriophages to control plant pathogens

Ref. مرجع	Bacterium نام باکتری	Pathogen نام بیماری گیاهی
Liu et al., 2021; Liu et al., 2021	<i>Pseudomonas syringae</i>	سوختگی باکتریایی تره‌فرنگی
Sasaki et al., 2021	<i>Ralstonia solanaceum</i>	پژمردگی بوته‌های گوجه‌فرنگی
Civerolo & Keil, 1969	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	تومور گیاهی
Civerolo & Keil, 1969	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>Pruni</i>	تومور گیاهی
Kuo et al., 1971	<i>Xanthomonas oryzae</i>	آتشک برنج
Saccardi et al., 1993	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>Pruni</i>	لکه‌های میوه در هلو
Schnabel et al., 1998	<i>Erwinia amylovora</i>	سوختگی سیب، گلابی و تمشک
Gill et al., 2003	<i>Erwinia amylovora</i>	بیماری در گیاه گلابی
Flaherty et al., 2000	<i>Xanthomonas campestris</i>	لکه باکتریایی گوجه فرنگی
Flaherty et al., 2001	<i>Xanthomonas</i>	سوختگی باکتریایی گیاه شمعدانی

نتیجه گیری

در انتها با توجه به تمام موارد ذکر شده به نظر می‌رسد که در آینده بیشتر شاهد استفاده از باکتریوفاژها برای کنترل و از بین بردن بیماری‌های باکتریایی ایجاد شده در گیاهان باشیم. به نظر می‌رسد با توسعه مطالعات انجام شده در زمینه افزایش پایداری فاژها و استفاده از کوکتل‌های فاژی زمینه برای استفاده هرچه بیشتر از این ویروس‌ها در درمان بیماری‌های باکتریایی فراهم شود. با توجه به اهمیت توسعه زنجیره غذایی سالم و افزایش میزان تولید محصولات

کشاورزی، کاهش هزینه‌های تولید و همچنین کاهش عوارض جانبی استفاده از ترکیبات شیمیایی توجه به روش‌های کنترل زیستی و توسعه‌ی روش‌های کارآمد در این حوزه ضروری می‌باشد. با توجه به اینکه مطالعات در این زمینه در ایران بسیار محدود بوده و تاکنون مطالعه مروری با گستردگی مطالعه حاضر انجام نشده امید است این مطالعه مروری نقطه‌ی عطفی در جهت افزایش مطالعات و بهبود راهکارها در زمینه فاژدرمانی در کنترل بیماری‌های گیاهی باشد.

References

منابع

- Abedon, S. T. (2017). Information phage therapy research should report. *Pharmaceuticals*, 10 (2), 43. doi.org/10.3390/ph10020043.
- Abolaji, A. O., Fasae, K. D., Iwezor, C. E., Aschner, M., Farombi, E. O. (2020). Curcumin attenuates copper-induced oxidative stress and neurotoxicity in *Drosophila melanogaster*. *Toxicology reports*, 7, 261-268. doi.org/10.1016/j.toxrep.2020.01.015.
- Amiri, H. (2007). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Allium jesdianum* Boiss. & Buhse from Iran. *Journal of Medicinal Plants*, 6, 39-44.
- Authority, E. F. S. Lazaro, E., Parnell, S., Vicent Civera, A., Schans, J., Schenk, M., Schrader, G., Cortinas Abrahantes, J., Zancanaro, G., Vos, S. (2020). Guidelines for statistically sound and risk-based surveys of *Xylella fastidiosa*. (8325-2397). doi.org/10.2903/sp.efsa.2020.en-1873.
- Ayin, C., Alvarez, A., Awana, C., Schleinz, F., Marx, B., Schlub, R. (2019). *Ralstonia solanacearum*, *Ganoderma australe*, and bacterial wetwood as predictors of ironwood tree (*Casuarina equisetifolia*) decline in Guam. *Australas. Plant Pathol*, 48, 625-636. doi.org/10.1007/s13313-019-00666-8.
- Balogh, B., Jones, J., Stall, R., Dilley, J., Yonce, H., Canteros, B., Gochez, A. (2006). Control of Asiatic citrus canker and citrus bacterial spot with bacteriophages in Florida. *Plant Dis*, 92 (7), 1048-1052. doi.org/10.1094/PDIS-92-7-1048.
- Balogh, B., Jones, J. B., Momol, M., Olson, S., Obradovic, A., King, P., Jackson, L. (2003). Improved efficacy of newly formulated bacteriophages for management of bacterial spot on tomato. *Plant disease*, 87 (8), 949-954. doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.8.949.
- Bultreys, A., Kaluzna, M. (2010). Bacterial cankers caused by *Pseudomonas syringae* on stone fruit species with special emphasis on the pathovars *syringae* and *morsprunorum* race 1 and race 2. *Journal of Plant Pathology*, S21-S33. doi.org/10.4454/JPP.V9211SUP.2503.
- Buttimer, C., McAuliffe, O., Ross, R. P., Hill, C., O'Mahony, J., Coffey, A. (2017). Bacteriophages and bacterial plant diseases. *Frontiers in microbiology*, 8, 34. doi.org/10.3389/fmicb.2017.00034.
- Carstensen, G., Venter, S., Wingfield, M., Coutinho, T. (2017). Two *Ralstonia* species associated with bacterial wilt of Eucalyptus. *Plant Pathology*, 66 (3), 393-403. doi.org/10.1111/ppa.12577.
- Chevallereau, A., Blasdel, B. G., De Smet, J., Monot, M., Zimmermann, M., Kogadeeva, M., Sauer, U., Jorth, P., Whiteley, M., Debarbieux, L. (2016). Next-generation “-omics” approaches reveal a massive alteration of host RNA metabolism during bacteriophage infection of *Pseudomonas aeruginosa*. *PLoS genetics*, (7) 12, e1006134. doi.org/10.1371/journal.pgen.1006134.
- Civerolo, E., Keil, H. (1969). Inhibition of bacterial spot of peach foliage by *Xanthomonas pruni* bacteriophage. *Phytopathol. Mediterr*, 31 (3), 133-140.
- Coutinho, T. A., Wingfield, M. J. (2017). *Ralstonia solanacearum* and *R. pseudosolanacearum* on Eucalyptus: Opportunists or Primary Pathogens? *Frontiers in plant science*, 8, 761. doi.org/10.3389/fpls.2017.00761.
- Czajkowski, R. (2016). Bacteriophages of soft rot *Enterobacteriaceae*—a minireview. *FEMS Microbiology Letters*, 363 (2), fnv230. doi.org/10.1093/femsle/fnv230.
- Davies, E. V., Winstanley, C., Fothergill, J. L., James, C. E. (2016). The role of temperate bacteriophages in bacterial infection. *FEMS microbiology letters*, 363(5), fnw015; . doi.org/10.1093/femsle/fnw015
- Denning, W. (1794). On the decay of apple trees. *New York Society for the Promotion of Agricultural Arts and Manufacturers Transaction*, 2, 219-222.

- Esmaeili, A., Rustaiyan, A., Nadimi, M., Larijani, K., Nadjafi, F., Tabrizi, L., Chalabian, F., & Amiri, H. (2008). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from leaves, stems and flowers of *Salvia reuterana* Boiss. grown in Iran. *Natural Product Research*, 22 (6), 516-520. doi.org/10.1080/14786410701592067.
- Fahrenkamp-Uppenbrink, J. (2016). Olive quick decline syndrome. *Science*, 353 (6297), 359-361. doi.org/10.1126/science.353.6297.359-p.
- Ferraz, H. G. M., Badel, J. L., da Silva Guimaraes, L. M., Reis, B. P., Totola, M. R., Goncalves, R. C., Alfenas, A. C. (2018). *Xanthomonas axonopodis* pv. eucalyptorum pv. nov. causing bacterial leaf blight on eucalypt in Brazil. *The plant pathology journal*, 34 (4), 269. doi.org/10.5423/PPJ.OA.01.2018.0014.
- Flaherty, J., Harbaugh, B., Jones, J., Somodi, G., Jackson, L. (2001). H-mutant bacteriophages as a potential biocontrol of bacterial blight of geranium. *HortScience*, 36 (1), 98-100. doi.org/10.21273/HORTSCI.36.1.98
- Flaherty, J., Somodi, G., Jones, J., Harbaugh, B., Jackson, L. (2000). Control of bacterial spot on tomato in the greenhouse and field with H-mutant bacteriophages. *HortScience*, 35 (5), 882-884. doi.org/10.21273/HORTSCI.35.5.882.
- Gill, J., Svircev, A., Smith, R., Castle, A. (2003). Bacteriophages of *Erwinia amylovora*. *Applied and environmental microbiology*, 69 (4), 2133-2138. doi.org/10.1128/AEM.69.4.2133-2138.2003.
- Goldberg, E. (1980). Bacteriophage nucleic acid penetration. *Receptors and Recognition, series B*, 7, 115-141.
- Grabowski, L., Lepek, K., Stasiłojc, M., Kosznik-Kwasnicka, K., Zdrojewska, K., Maciag-Dorszynska, M., Węgrzyn, G., Węgrzyn, A. (2021). Bacteriophage-encoded enzymes destroying bacterial cell membranes and walls, and their potential use as antimicrobial agents. *Microbiological research*, 248, 126746. doi.org/10.1016/j.micres.2021.126746.
- Grace, E. R., Rabiey, M., Friman, V. P., Jackson, R. W. (2021). Seeing the forest for the trees: Use of phages to treat bacterial tree diseases. *Plant Pathology*, 70 (9), 1987-2004. doi.org/10.1111/ppa.13465
- Graham, J., Leite Jr, R. (2004). Lack of control of citrus canker by induced systemic resistance compounds. *Plant Disease*, 88 (7), 745-750. doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.7.745
- Griffin, K., Gambley, C., Brown, P., Li, Y. (2017). Copper-tolerance in *Pseudomonas syringae* pv. tomato and *Xanthomonas* spp. and the control of diseases associated with these pathogens in tomato and pepper. A systematic literature review. *Crop Protection*, 96, 144-150. doi.org/10.1016/j.cropro.2017.02.008
- Harshitha, N., Rajasekhar, A., Saurabh, S., Sonalkar, R., Tejashwini, M., Mitra, S. D. (2022). Bacteriophages: Potential Biocontrol Agents and Treatment Options for Bacterial Pathogens. *Clinical Microbiology Newsletter*, 44 (5), 41-5. doi.org/10.1016/j.clinmicnews.2022.02.002
- Holtappels, D., Fortuna, K., Lavigne, R., Wagemans, J. (2021). The future of phage biocontrol in integrated plant protection for sustainable crop production. *Current Opinion in Biotechnology*, 68, 60-71. doi.org/10.1016/j.copbio.2020.08.016
- Jackson, R. S. (2008). *Wine science: principles and applications*. 3rd edition, Academic press, London, 776.
- Janse, J. (2010). Emerging bacterial and phytoplasma diseases of fruit trees that are or may become a threat for the Mediterranean basin: notes on epidemiology, risks, prevention and management on first occurrence. *IHC2010*, 1, 940-981. doi.org/10.17660/ActaHortic.2012.940.81
- Ji, X., Lu, G., Gai, Y., Zheng, C., Mu, Z. (2008). Biological control against bacterial wilt and colonization of mulberry by an endophytic *Bacillus subtilis* strain. *FEMS microbiology ecology*, 65 (3), 565-573. doi.org/10.1111/j.1574-6941.2008.00543.x
- Jones, J. B., Vallad, G. E., Iriarte, F. B., Obradovic, A., Wernsing, M. H., Jackson, L. E., Balogh, B., Hong, J. C., Momol, M. T. (2012). Considerations for using bacteriophages for plant disease control. *Bacteriophage*, 2 (4), e23857. doi.org/10.4161/bact.23857
- Kado, C.L. (2002). Overview of how *Agrobacterium tumefaciens* infects plants and causes disease. *The Plant Health Instructor*; 11, 01-15. doi.org/10.1094/PHI-I-2002-1118-01.
- Kalpage, M., De Costa, D. (2014). Isolation of bacteriophages and determination of their efficiency in controlling *Ralstonia solanacearum* causing bacterial wilt of tomato. *Trop. Agric. Res.* 26 (1), 140-152. doi.org/10.4038/tar.v26i1.8079.
- Kuhl, S., Hyman, P., Abedon, S. (2012). Diseases caused by phages: Bacteriophages in health and disease. *CABI*, 1, 21-32. doi.org/10.1079/9781845939847.0021
- Kuo, T., Chang, L., Yang, C., Yang, S. (1971). Bacterial leaf blight of Rice plant. IV. Effect of bacteriophage on the infectivity of *Xanthomonas oryzae*. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 12, 1-9.
- Lang, J., Schwartz, H., Gent, D. (2004). Management of *Xanthomonas* Leaf Blight of Onion with Bacteriophages and a Plant Activator. *Plant Dis*, 9 (7), 16-22. doi:10.1094/PDIS-91-7-0871.
- Lenski, R. E. (1988). Dynamics of Interactions between Bacteria and Virulent Bacteriophage. In: Marshall, K.C. (eds) *Advances in Microbial Ecology*. *Advances in Microbial Ecology*, vol 10. Springer, Boston, MA. doi.org/10.1007/978-1-4684-5409-3_1
- Li, S., Wu, F., Duan, Y., Singerman, A., Guan, Z. (2020). Citrus greening: Management strategies and their

- economic impact. *HortScience*, 55 (5), 604-612 . doi.org/10.21273/HORTSCI14696-19
- Liu, J., Chia, S. L., & Tan, G. H. (2021). Isolation and characterization of novel phages targeting *Xanthomonas oryzae*: culprit of bacterial leaf blight disease in rice. *Therapy, Applications, and Research*, 2 (3), 142-151. doi.org/10.3389/fmicb.2023.1084025
- Liu, Y., Liu, M., Hu, R., Bai, J., He, X., Jin, Y. (2021). Isolation of the novel phage PHB09 and its potential use against the plant pathogen *Pseudomonas syringae* pv. actinidiae. *Viruses*, 13 (11), 2275 . doi.org/10.3390/v13112275
- Mackay, G. (2009). New Light on a Hidden Treasure. Rome: FAO (2009), pp. 136. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 45 (3), 376-376 .
- Malekzadeh, M., sharifi, M., Rafiei, B. (2023). Survey on the effects of some pesticides on Armoured scale (*Chrysomphalus dictyospermi*) and the heather ladybird (*Chilocorus bipustulatus*). *Genetic Engineering and Biosafety Journal*, 11 (2), 191-200. doi.org/20.1001.1.25885073.1401.11.2.7.6
- Mansfield, J., Genin ,S., Magori, S., Citovsky, V., Sriariyanum, M., Ronald, P., Dow, M., Verdier, V., Beer, S. V., Machado, M. A. (2012). Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. *Molecular plant pathology*, 13 (6), 614-629. doi.org/10.1111/j.1364-3703.2012.00804.x
- McKenna, F., El-Tarabily, K ,Hardy, G. S. J., Dell, B. (2001). Novel in vivo use of a polyvalent *Streptomyces* phage to disinfect *Streptomyces* scabies-infected seed potatoes. *Plant pathology*, 50 (6), 666-675. doi.org/10.1046/j.1365-3059.2001.00648.x
- Mohsenzadeh, F., Chehregani, A., Amiri, H. (2011). Chemical composition, antibacterial activity and cytotoxicity of essential oils of *Tanacetum parthenium* in different developmental stages. *Pharmaceutical Biology*, 49 (9), 920-926. doi.org/10.3109/13880209.2011.556650.
- Momol, T., Jones, J., Olson, S., Obradovic, A., Balogh, B., King, P. (2002). Integrated Management of Bacterial Spot on Tomato in Florida: PP110/PP110. doi.org/10.32473/edis-pp110-2002
- Munsch, P., Olivier, J. (1995). Biocontrol of bacterial blotch of the cultivated mushroom with lytic phages: some practical considerations.in: Elliot(ed.),science and cultivation of edible fungi. balkema, rotterdam,pp.595-602.
- Munsch P, Oliver JM, Houdeau G. Experimental control of bacterial blotch by bacteriophages. In: Maher MJ, editor. Science and cultivation of edible fungi. Balkema, Rotterdam, Netherlands: 1991. pp. 389–396.
- Nations, U. (2015). World population prospects: The 2015 revision. *United Nations Econ Soc Aff*, 33 (2), 1-66 .
- Nikolic, T. V., Kojic, D., Orcic, S., Vukasinovic, E. L., Blagojevic, D. P., Purac, J. (2019). Laboratory bioassays on the response of honey bee (*Apis mellifera* L.) glutathione S-transferase and acetylcholinesterase to the oral exposure to copper, cadmium, and lead. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 6890-6897. doi.org/10.1007/s11356-018-3950-6
- Noohpisheh, Z., Amiri, H., Farhadi, S., Mohammadi-Gholami, A. (2020). Green synthesis of Ag-ZnO nanocomposites using *Trigonella foenum-graecum* leaf extract and their antibacterial, antifungal, antioxidant and photocatalytic properties. *Spectrochimica Acta Part A: Mol Biomol Spectrosc*, 240, 118595. doi.org/10.1016/j.saa.2020.118595
- Obradovic, A., Jones, J. B., Momol, M., Balogh, B., Olson, S. (2004). Management of tomato bacterial spot in the field by foliar applications of bacteriophages and SAR inducers. *Plant Disease*, 88 (7), 736-740. doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.7.736
- Obradovic, A., Jones, J. B., Momol, M., Olson, S., Jackson, L., Balogh, B., Guven, K., Iriarte, F. (2005). Integration of biological control agents and systemic acquired resistance inducers against bacterial spot on tomato. *Plant Disease*, 89 (7), 712-716. doi.org/ 10.1094/PD-89-0712
- Oerke, E.-C., Mahlein, A.-K., Steiner, U. (2014). Proximal sensing of plant diseases. *Detection and diagnostics of plant pathogens*, 55-68. doi.org/ 10.1007/978-94-017-9020-8_4
- Pazhouhnia, S., Bouzari, M., Arbabzadeh-Zavareh, F. (2022). Isolation, characterization and complete genome analysis of a novel bacteriophage vB_EfaS-SRH2 against *Enterococcus faecalis* isolated from periodontitis patients. *Scientific reports*, 12 (1), 13268. doi.org/10.1038/s41598-022-16939-0
- Pires, D. P., Cleto, S., Sillankorva, S., Azeredo, J., Lu, T. K. (2016). Genetically engineered phages: a review of advances over the last decade. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80 (3), 523-543. doi.org/10.1128/MMBR.00069-15.
- Polizzi, G., Dimartino, M., Bella, P., Catara, V. (2008). First report of leaf spot and blight caused by *Ralstonia pickettii* on bird of paradise tree in Italy. *Plant Disease*, 92 (5), 835-83. doi.org/ 10.1094/PDIS-92-5-0835A.
- Poplawsky, A., Urban, S., Chun, W. (2000). Biological role of *Xanthomonadin* pigments in *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. *Applied and environmental microbiology*, 66 (12), 5123-5127. doi.org/10.1128/aem.66.12.5123-127.2000
- Ray, D. K., Mueller, N. D., West, P. C., Foley, J. A. (2013). Yield trends are insufficient to double global crop production by 2050. *PloS one*, 8 (6), e66428. doi.org/10.1371/journal.pone.0066428
- Richard, D., Tribot, N., Boyer, C., Terville, M., Boyer, K., Javegny, S., Roux-Cuvelier, M., Pruvost, O., Moreau, A., Chabirand, A. (2017). First report of copper-resistant

- Xanthomonas citri* pv. *citri* pathotype A causing Asiatic citrus canker in Réunion, France. *Plant Disease*, 101 (3), 503. doi.org/10.1094/PDIS-09-16-1387-PDN
- Sabzali, S., Bouzari, M. (2021). Isolation, identification and some characteristics of two lytic bacteriophages against *Salmonella enterica* serovar Paratyphi B and *S. enterica* serovar *Typhimurium* from various food sources. *FEMS Microbiology Letters*, 368 (7), fnab037. doi.org/10.1093/femsle/fnab037.
- Saccardi, A., Gambin, E., Zaccardelli, M., Barone, G., Mazzucchi, U. (1993). *Xanthomonas campestris* pv. *pruni* control trials with phage treatments on peaches in the orchard. *Phytopathologia Mediterranea*, 206-210.
- Safni, I., Subandiyah, S., Fegan, M. (2018). Ecology, epidemiology and disease management of *Ralstonia syzygii* in Indonesia. *Frontiers in Microbiology*, 9, 419. doi.org/10.3389/fmicb.2018.00419
- Sakata, N., Ishiga, T., Masuo, S., Hashimoto, Y., Ishiga, Y. (2021). Coronatine contributes to *Pseudomonas cannabina* pv. *alisalensis* virulence by overcoming both stomatal and apoplastic defenses in dicot and monocot plants. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 34(7), 746-757. doi.org/10.1094/MPMI-09-20-0261-R.
- Sasaki, R., Miyashita, S., Ando, S., Ito, K., Fukuhara, T., Takahashi, H. (2021). Isolation and characterization of a novel jumbo phage from leaf litter compost and its suppressive effect on rice seedling rot diseases. *Viruses*, 13(4), 591. doi.org/10.3390/v13040591
- Schnabel, E., Fernando, W., Meyer, M., Jones, A., Jackson, L. (1998). Bacteriophage of *Erwinia amylovora* and their potential for biocontrol. VIII International Workshop on Fire Blight 489. doi.org/10.17660/ActaHortic.1999.489.116
- Strange, R. N., Scott, P. R. (2005). Plant disease: a threat to global food security. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 43, 83-116. doi.org/10.1146/annurev.phyto.43.113004.133839.
- Subbarao, K. V., Sundin, G. W., Klosterman, S. J. (2015). Focus issue articles on emerging and re-emerging plant diseases. *Phytopathology*, 105(7), 852-854. doi.org/10.1094/PHYTO-105-7-0001
- Sundin, G. W., Wang, N. (2018). Antibiotic resistance in plant-pathogenic bacteria. *Annual Review of phytopathology*, 56, 161-180. doi.org/10.1146/annurev-phyto-080417-045946
- Thayer, P., Stall, R. (1962). The survey of *Xanthomonas vesicatoria* resistance to streptomycin. *Florida online journal*, 75, 733-736.
- Timilsina, S., Potnis, N., Newberry, E. A., Liyanapathirana, P., Iruegas-Bocardo, F., White, F. F., Goss, E. M., Jones, J. B. (2020). *Xanthomonas* diversity, virulence and plant-pathogen interactions. *Nature Reviews Microbiology*, 18 (8), 415-427. doi.org/ 10.1038/s41579-020-0361-8
- Toth, I. K., Barny, M.-a., Brurberg, M. B., Condemine, G., Czajkowski, R., Elphinstone, J. G., Helias, V., Johnson, S. B., Moleleki, L. N., Pirhonen, M. (2021). *Pectobacterium* and *Dickeya*: environment to disease development. *Plant diseases caused by Dickeya and Pectobacterium Species*, 39-84. doi.org/ 10.1007/978-3-030-61459-1_3
- Vu, N.T., Oh, C.S. (2020). Bacteriophage usage for bacterial disease management and diagnosis in plants. *The Plant Pathology Journal*, 36 (3), 204. doi.org/10.5423/PPJ.RW.04.2020.0074
- Xu, J., Xiang, Y. (2017). Membrane penetration by bacterial viruses. *Journal of virology*, 91(13), 10.1128/jvi. 00162-00117. doi.org/10.1128/JVI.00162-17
- Zaer Anaqz, Z., Khakvar, R., Mohammadi, S.A., Benazadeh Baghi, H. (2023). Isolation and characterization of bacteriophages infecting *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, and evaluating their biological control efficiency. *Genetic Engineering and Biosafety Journal*, 11 (2), 253-265. doi.org/20.1001.1.25885073.1401.11.2.12.1