**دوفصلنامه تحقیقات بیماری‌های گیاهی**
**سال ششم، شماره اول، بهار و تابستان ۱۳۹۹**
**صص ۷۲-۶۱**

# شناسایی عوامل بیماری بلایت باکتریایی گیاه یاس هلندی در تهران و کرج

**زهرا نوبختی[۱]، نادر حسن زاده*[۲]، جواد رزمی[۳]**

تاریخ دریافت: ۹۸/۱۰/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۲/۶

## چکیده

طی ماه‌های تابستان تا پاییز سال ۱۳۹۶ تعداد ۵۰ نمونه مشکوک به بیماری باکتریایی از گیاه یاس هلندی از پارک‌ها و فضای سبز شهرهای تهران و کرج جمع آوری شد. نمونه‌ها جهت بررسی‌های بیشتر به آزمایشگاه منتقل شد. ابتدا از نمونه‌های آلوده پس از شستشو و ضد عفونی سطحی با محلول ۱٪ آب ژاول و شستشوی مجدد با آب مقطر استریل، سوسپانسیون لازم تهیه شد. سپس یک لوپ از هر سوسپانسیون روی محیط کشت‌های نوترینت آگار(NA) و کینگس-بی (KB) کشت گردید. تک کلنی‌های غالب در هر پتری ابتدا خالص سازی و سپس اثبات بیماریزایی شدند. جدایه‌های باکتریایی که قادر به ایجاد فوق حساسیت روی گیاه شمعدانی و لکه برگی و پژمردگی روی گیاه یاس هلندی بودند انتخاب شدند. از بین جدایه‌های منتخب، تعداد ۷ جدایه که دارای صفات فنوتیپی متفاوت از بعد صفات مرفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بودند انتخاب شدند. با استفاده از PCR، ژن 16S rRNA جدایه‌های منتخب توسط جفت آغازگر عمومی P1 و P6 تکثیر شدند. پس از توالی یابی محصولات PCR و بلاست توالی‌ها مشخص شد که ۷ جدایه منتخب به جنس/گونه *Stenotrophomonas maltophilia*، *Pseudomonas plecoglossida*، *Staphylococcus* sp.، *Ochrobactrum* sp.، *Achromobacter* sp.، *Bacillus* sp. و *Paenibacillus* sp. تعلق دارند.

**واژه های کلیدی**: بلایت باکتریایی، یاس هلندی، پارک‌های تهران و کرج، ژن 16S rRNA.

[۱]- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
[۲]- دانشیار، گروه بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
[۳]- استادیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
*- نویسنده مسئول مقاله: hasanzadehr@yahoo.com

**مقدمه**

تولید و پرورش گیاهان زینتی یکی از راه‌های نزدیکی انسان با طبیعت است و در حفظ سلامت روانی انسان موثر است. همچنین واجد ارزش اقتصادی می‌باشد زیرا زمینه مساعدی برای ایجاد اشتغال بوده و منبعی برای تامین ارز محسوب می‌شود. ضمن اینکه از گیاهان زینتی می‌توان در تثبیت و ایجاد فضای سبز سطوح شیب‌دار، مخصوصا شیب‌های تند در شهرهای بزرگ نظیر تهران که دارای جاده‌ها و خیابان‌ها متعددی در مناطق ناهموار و تپه ماهور هست بعنوان یک چشم‌انداز مناسب استفاده کرد. بررسی پوشش‌گیاهی اینگونه سطوح در تهران نشان می‌دهد که تعداد بسیار کمی از گیاهان بومی و سازگار با شرایط آب هوایی این ناحیه از قابلیت رشد در این سطوح بر خوردارند. لذا کاشت این گیاهان در سطوح شیب‌دار می‌تواند کمک موثری بر حل این مشکل نماید.

درختچه همیشه سبز گیاه یاس هلندی یکی از این گیاهان است که بومی اروپا می‌باشد. در ایران در سواحل دریای خزر می‌روید. از بعد اهمیت اقتصادی روغن‌های استخراج شده از دانه‌های این گیاه برای ساخت صابون استفاده می‌شود و برگ‌های آن از لحاظ پزشکی برای رفع حساسیت‌های پوستی مفید می‌باشد. در عین حال، باید متذکر شد همه اندامهای این گیاه سمی است و در صورت تغذیه عوارض ناگواری را در پی خواهد داشت (AKE, 2010).

این گیاه زینتی در فضاهای سبز شهرها و پارک‌ها استفاده می‌شود زیرا بسیار مقاوم به کم آبی و دارای گل‌هایی زیبا و خوشبو است. سه گونه معروف آن شامل برگ نو برگ درشت (*Ligustrum latifoltum*)، برگ نومعمولی (*Ligustrum oualifolium*) و مندارچه (*Ligustrum vulgur*e) است (CAES, 2020). از ویژگی‌های دیگر گیاه مذکور مقاومت در برابر بسیاری از آفات و بیماری‌های گیاهی است. گزارش در خصوص بروز بیماری‌های گیاه یاس هلندی اندک است. از بیماری‌های قارچی می‌توان به آنتراکنوز (*Glomerella cingulata*)، گال ساقه (*Phomopsis* sp.)، سفید پودری (*Microsphaera penicillata*)، پوسیدگی ریشه (*Armillaria mellea*) اشاره نمود. در مورد بیماری‌های باکتریایی، بیماری گال طوقه با عامل *Agrobacterium tumefaciens* از بیماری‌های شناخته شده است (Gilman and Watson,1994). اخیرا آلودگی گونه برگ نوی درخشان (*Ligustrum lucidum*) به باکتری سخت کشت *Xylella fastidiosa* نیز گزارش شده است (European Food Safety Authority, 2016). مورد اخیر نشان می‌دهد عوامل ناشناخته اما بالقوه خطرناک می‌توانند در آینده سبب بیماری‌های مهم این گیاه و گیاهان مشابه بشوند. یکی از جدیدترین آن‌ها ویروس عامل بیماری لکه برگی های نکروتیک–سفید است (Navarro *et al*., 2107).

در ایران تاکنون تحقیقی در مورد بیماری‌های باکتریایی این گیاه صورت نگرفته است. در بین گونه‌های باکتریائی مهم که به‌طور بالقوه می‌تواند تهدیدی برای گیاهان زینتی محسوب شود می‌توان از گونه‌های جنس *Pseudomonas* نام برد. یکی از مهم ترین گونه ها/پاتوارهای آن که موجب طیف وسیعی از بیماری‌های گیاهی می‌شود *P. syringae* pv. *Syringae* می‌باشد (Gilman and Watson, 1994).

با توجه به اهمیت گیاه یاس هلندی از نظر ارزش فضای سبز و سطح زیر کشت بالای آن به خصوص در تهران و مشاهده چند درخت آلوده از فضاهای سبز پارک‌های تهران و کرج، اقدام به شناسایی عوامل باکتریایی آن شد. جداسازی این تعداد گونه باکتریایی بیماریزا از نمونه های مشکوک می‌تواند از بعد بیماری شناسی و مدیریت آتی آنها حائز اهمیت باشد.

## مواد و روش‌ها

### نمونه برداری و جداسازی باکتری‌ها

پس از جمع آوری نمونه‌های مشکوک به بیماری باکتریایی با علائم لکه برگی و بلایت سرشاخه، نمونه‌ها به آزمایشگاه بیماری‌شناسی منتقل شدند. نمونه‌های گیاهی شامل قطعات برگ و سرشاخه پس از شستشوی سطحی با آب و ضدعفونی با محلول ۱٪ آب ژاول برای مدت ۱ دقیقه، مجددا با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. سپس قطعات کوچکی از مرز بافت آلوده و سالم با اسکالپل استریل تهیه و در ۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل به مدت ۱۵ دقیقه غوطه‌ور و سپس ورتکس شدند. یک لوپ از هر سوسپانسیون روی محیط‌های کشت نوترینت آگار(NA) و کینگس-بی (KB) به صورت خطی کشت گردید. پتری‌ها در انکوباتور در دمای ۲۷°C به مدت ۷۲-۴۸ ساعت نگهداری شدند. تک کلنی‌های با ظاهر متفاوت اما غالب انتخاب و پس از خالص سازی به منظور نگهداری بلند مدت داخل میکروتیوب‌های حاوی محیط کشت مایع NB در دمای ۲۰°C- نگهداری شدند (Schaad *et al*., 2001; Tripathi *et al*., 2006).

### اثبات بیماری زایی باکتری‌های خالص سازی شده

همه جدایه‌های باکتریایی با غلظت $10^6$ cfu/ml طبق پروتکل مک فارلند به سطح زیرین برگ‌های گیاه شمعدانی بعنوان گیاه محک تلقیح شدند. در تکمیل این آزمون، ۷ جدایه که واکنش فوق حساسیت آنها مثبت بود روی میزبان اصلی به ترتیب تلقیح به پشت برگ و نیز قرار دادن شاخه‌های بریده گیاه یاس هلندی در سوسپانسیون جدایه‌ها اثبات بیماریزایی شدند. نتایج بطور روزانه بررسی و یادداشت برداری شد (Schaad *et al*., 2001).

### شناسایی فنوتیپی جدایه‌ها

برای جدایه‌هایی که آزمون بیماریزایی آن‌ها مثبت بودند علاوه بر آزمون‌های موسوم به لوپات (لوان، اکسیداز، فعالیت پکتیناز، تولید آرژنین دی هیدرولیزه و فوق حساسیت توتون)، آزمون‌های کلیدی دیگر چون تولید پیگمان فلورسنت، هیدرولیز ژلاتین، نشاسته و توئین۸۰ احیاء نیترات، اکسیداسیون یا تخمیر گلوکز نیز استفاده شد. چند قند نیز بعنوان منبع کربن استفاده گردید (Janse, 1992).

**شناسایی جدایه‌های منتخب به روش PCR**

استخراج DNA به روش لیز قلیائی انجام شد (Elboutahiri *et al*., 2010). بدین ترتیب که ۲-۱ کلنی باکتری به محلول حاوی ۵۰۰ میکرولیتر NaOH ۰/۱ نرمال و ۱۰ میکرولیتر از محلول نیم درصد SDS اضافه شد. میکروتیوب‌های حاوی مخلوط فوق به مدت ۱۰ الی ۱۵ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۹۵°C قرار داده شدند. بلافاصله نمونه‌ها به مدت ۲ تا ۳ دقیقه روی یخ گذاشته شدند. سپس در ۱۳۰۰۰ دور به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. در نهایت ۱۰۰ میکرولیتر از سطح محلول حاوی DNA به میکروتیوب‌های استریل منتقل و در دمای ۲۰°C- نگهداری شدند.

**شناسایی مولکولی به روش PCR**

جهت تکثیر ژن 16S rDNA از جفت آغازگرهای P1 و P6 با توالی زیر استفاده شد (Wang *et al*., 2011).

P1 5′-AGAGTTTGATCCTGGTCAGAACGCT-3′
P6 5′-TACGGCTACCTTGTTACGACTTCACCCC-3′

حجم نهایی مخلوط واکنش برای هر تیوب ۲۵ میکرولیتر و شامل یک واحد Taq Polymerase، ۲/۵ میکرولیتر 10X PCR buffer، ۲ میکرولیتر $MgCl_2$، ۱ میکرولیتر dNTPs (2.5 mM)، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر ($100\ ng\ \mu l^{-1}$) و ۲ میکرولیتر DNA ($12.5\ ng\ \mu l^{-1}$) و ۱۴/۵ میکرولیتر آب مقطر دوبار استریل بود.

در برنامه PCR، مرحله آغاز (initialization step) ۹۴°C به مدت ۲ دقیقه، واسرشت (denaturation) ۲۵ سیکل ۹۴ درجه به مدت یک دقیقه، مرحله اتصال (annealing) در دمای ۵۲°C به مدت یک دقیقه، مرحله ساخت (extension) در دمای°C ۷۲ به مدت ۳ دقیقه، مرحله طویل شدن نهایی (final elongation) در دمای ۷۲°C به مدت ۲۰ دقیقه در دستگاه (T100 thermal cycler Bio-Rad) انجام شد. محصول PCR توسط الکتروفورز روی ژل آگارز ۱٪ و بافر EDTA–Borate–Tris تفکیک و زیر نور UV عکس برداری شد.

**تعیین توالی ژن 16S rDNA جدایه ها و ترسیم درخت فیلوژنی جدایه‌ها**

توالی‌یابی توسط شرکت Bioneer کره جنوبی انجام شد. توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزار BioEdit اصلاح و میزان مشابهت توالی‌های مورد مطالعه با توالی ژن‌های 16S rDNA موجود در بانک ژن مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی (NCBI) بلاست (BLAST) و مقایسه شدند. جهت ترسیم درخت ژنی و مقایسه جایگاه فیلوژنتیکی ایزوله‌ها از نرم افزار MEGA 7 استفاده گردید. جهت تعیین صحت رسم شاخه‌ها از آزمون Bootstrap با تکرار پذیری ۱۰۰۰ استفاده شد.

## نتایج

### جداسازی باکتری‌ها از نمونه های آلوده

طی ماه های تابستان تا پائیز سال ۱۳۹۶ تعداد ۵۰ نمونه گیاه زینتی یاس هلندی مشکوک به بیماری باکتریایی از سطح پارک‌ها و فضای سبز شهرهای تهران و کرج جمع آوری شد. ۷ جدایه باکتریایی که بیمارگر بودند و جمعیت غالب کشت‌ها را شامل می‌شدند بر حسب صفات فنوتیپی متفاوت انتخاب شدند (جدول ۱).

جدول۱- کد جدایه¬های بیماریزا و مناطق نمونه¬برداری طی ماه های تابستان تا پائیز سال۱۳۹۶

| کد جدایه | محل نمونه¬برداری |
|---|---|
| N1 | تهران- پارک کوروش |
| N2 | تهران- پارک کوروش |
| N3 | تهران- پارک کوروش |
| N4 | تهران- پارک کوروش |
| N5 | تهران- پارک کوروش |
| N6 | کرج- جاده شهریار بلوار نور |
| N7 | کرج- جاده شهریار بلوار نور |

### اثبات بیماریزایی جدایه‌های باکتریایی

از بین ۲۰ جدایه اولیه، ۷ جدایه باکتریایی دارای واکنش فوق حساسیت مثبت روی گیاه شمعدانی بودند. هر۷ جدایه منتخب روی برگ گیاه یاس هلندی ایجاد علائم لکه برگی کردند. علائم روی شاخه های بریده بصورت پژمردگی بود (شکل ۱ و ۲).

شکل۱- بروز علایم نکروز روی گیاه شمعدانی (سمت راست) و لکه برگی روی برگ گیاه یاس هلندی و پژمردگی روی شاخه بریده (سمت چپ).

شکل۲- بروز علایم پژمردگی روی شاخه بریده یاس هلندی (سمت راست) در مقایسه با شاهد (سمت چپ) پس از مدت شش روز.

**شناسایی جدایه‌های منتخب بر اساس صفات فنوتیپی**

نتایج آزمون‌های فنوتیپی از جمله لوپات و دیگر آزمون‌های کلیدی در جدول ۲ منعکس است.

**شناسایی جدایه‌های منتخب بر اساس نتایج آنالیز PCR**

ژن 16S rDNA هر ۷ جدایه با جفت آغازگر عمومی P1 و P6 تکثیر و تشکیل باند ۱۵۰۰ جفت بازی نمودند (شکل۳).

**تعیین توالی ژن 16S rDNA و ثبت توالی‌ها**

توالی‌های اخذ شده ابتدا با نرم‌افزار BioEdit اصلاح و سپس با انجام بلاست، درصد تشابه نوکلئوتیدی توالی-های مورد نظر با توالی‌های 16S rDNA موجود در بانک NCBI مقایسه و تعیین نام در حد جنس/گونه شدند. نام تایید شده جدایه‌ها و کد دسترسی به توالی جدایه‌های ثبت شده در بانک ژن پایگاه NCBI به شرح زیر می‌باشد (جدول۳).

**ترسیم درخت فیلوژنی جدایه‌ها**

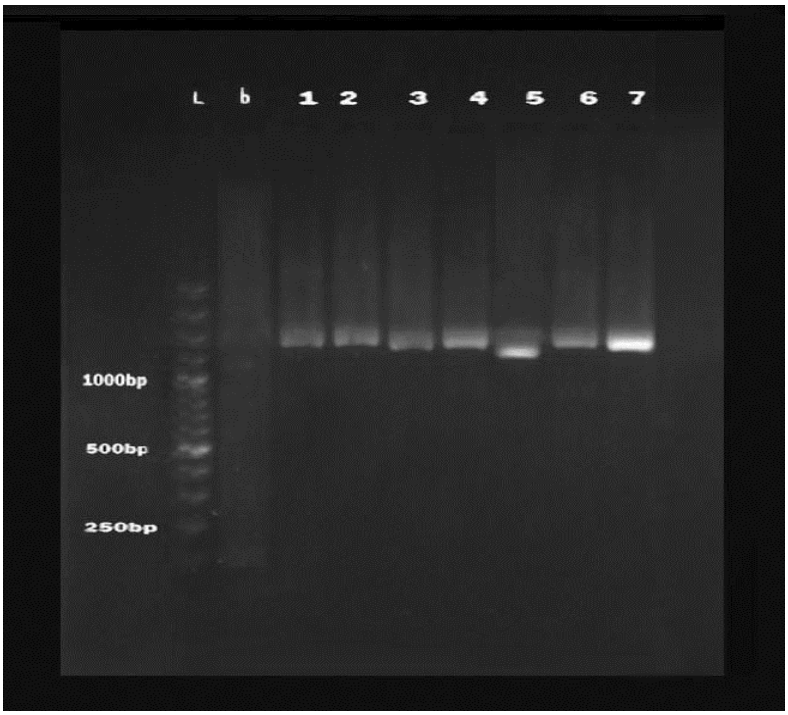
بر اساس پیش فرض موجود در نرم افزار MEGA 7 درخت فیلوژنتیکی به روش Nieghber-joining ترسیم و جهت تعیین صحت رسم شاخه‌ها از آزمون Bootstrap با تکرار پذیری ۱۰۰۰ استفاده شد. طبق شکل زیر ایزوله‌های منتخب در سه کلاستر مجزا قرار گرفتند. قرار گرفتن دو استرین *Bacillus* و *Paenibacillus* با ۷۷٪ تشابه در کنار هم قابل انتظار بود. در سایر گونه‌ها این تجانس مشاهده نشد. گونه *Clavibacter michianensis* به عنوان گونه برون گروه (outgroup) مورد استفاده قرار گرفت (شکل ۴).

جدول ۲- نتایج آزمون¬های فنوتیپی ۷ جدایه منتخب

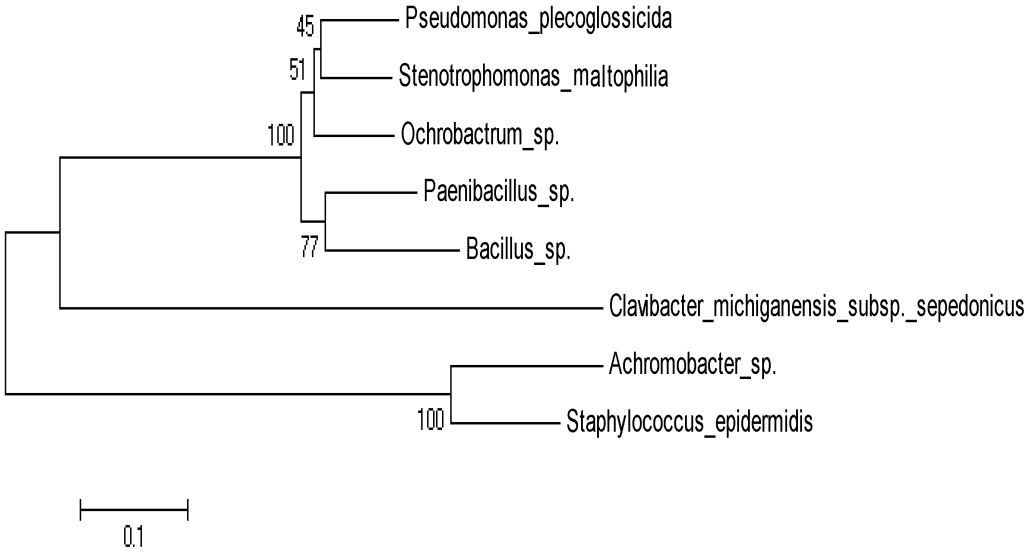
| کد ایزوله / آزمون | N1 | N2 | N3 | N4 | N5 | N6 | N7 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| گرم | - | - | + | + | - | - | + |
| رنگ کلنی | کرم/لعابی | کرم/لعابی | کرم/لعابی | کرم/لعابی | کرم/لعابی | کرم/لعابی | کرم/لعابی |
| پیگمان فلورسنت | - | + | - | - | - | - | - |
| آزمون O/F | + | + | + | + | + | + | + |
| اکسیداز | - | + | - | + | + | + | + |
| آرژنین دی هیدرولیز | - | - | - | - | - | - | - |
| احیای نیترات | - | - | - | - | - | + | - |
| تولید گاز ($H_2S$) | - | + | + | - | - | - | - |
| تولید لوان | - | - | - | - | - | - | - |
| کاتالاز | + | + | + | + | + | + | + |
| لهیدگی قطعات غده سیب زمینی | - | - | - | - | - | - | - |
| متیل رد | + | - | + | + | + | + | + |
| VP | - | - | - | - | - | - | - |
| هیدرولیز ژلاتین | + | + | - | - | + | - | + |
| هیدرولیز کازئین | - | - | - | - | - | - | - |
| هیدرولیز توئین | + | - | - | - | - | - | + |
| **جنس/گونه شناسایی شده** | *Stenotrophomonas maltophilia* | *Pseudomonas plecoglossicidas* | *Staphylococcus* sp. | *Paenibacillus* sp. | *Ochrobactrum* sp. | *Achromobacter* sp. | *Bacillus* sp. |

جدول ۳- بلاست توالی‌ها و تعیین درصد تشابه نوکلئوتیدی ایزوله ها در مقایسه با توالی‌های موجود در بانک ژن NCBI

| نام گونه باکتری | درصد تشابه نوکلئوتیدی | شماره ثبت توالی |
|---|---|---|
| *Stenotrophomonas maltophilia* (N1) | 99% | Mn882699 |
| *Pseudomonas plecoglossida* (N2) | 100% | Mn960105 |
| *Staphylococcus epidermidls* (N3) | 97% | Mn960107 |
| *Paenibacillus* sp. (N4) | 99% | Mn960112 |
| *Ochrobactrum* sp. (N5) | 98% | Mn960157 |
| *Achromobacter* sp. (N6) | 98% | Mn960160 |
| *Bacillus* sp. (N7) | 98% | Mn960164 |




شکل ۳- الگوی باندی تکثیر قطعه ۱۵۰۰ جفت بازی توسط ۷ جدایه منتخب روی ژل آگارز با استفاده از جفت آغازگر P1/P6 از سمت چپ به راست: L) نشانگر مولکولیKb، b) شاهد، ۱)N1: *Stenotrophomonas maltophilia*، ۲) N2: *Pseudomonas plecoglossida*، ۳) N3: *Staphylococcus epidermidls*، ۴) N4: *Paenibacillus* sp.، ۵) N5: *Bacillus* sp. ۷) N7: *Achromobacter* sp. ۶) N6: *Ochrobactrum* sp.




شکل ۴- ترسیم درخت فیلوژنتیکی جدایه‌های منتخب با استفاده از نرم افزار MEGA 7 و به روش Neighber-joining با Bootstrap ۱۰۰۰ تکرار. نوار مقیاس بیانگر ۱۰٪ اختلاف بین دو توالی است (p-distance= 0.1).

**بحث**

گیاه یاس هلندی یکی از گیاهان پوششی مهم در فضای سبز شهرها بشمار می‌رود. ضمن اینکه این گیاه از لحاظ دارویی و اقتصادی هم دارای ارزش بالایی است. مقاومت به بیماری‌ها ارزش این گیاه را دو چندان می‌کند زیرا مدیریت آن را برای بهره بردار آسان می‌کند. در عین حال سمیت اندامهای آن و نیز حساسیت گونه‌های آن به بیماری‌های قارچی آنتراکنوز، پوسیدگی ریشه، پژمردگی، سفیدک پودری، شانکر، بلایت سرشاخه و نیز گال باکتریائی *A. tumefaciens* حائز اهمیت می باشد (Gilman and Watson,1994). در مورد نقش عوامل باکتریایی در بروز آلودگی‌های این گیاه مهم زینتی گزارش های رسمی وجود ندارد و تا به امروز هم تحقیق جامعی در سطح دنیا درباره آن صورت نگرفته است، لذا بیشترین گزارش‌ها مربوط به سایت های علمی دانشگاه ها و مراکز تحقیقاتی است.

تحقیق حاضر بر اساس مشاهدات اولیه علائم بیماری روی چند گیاه یاس هلندی از فضای سبز شهر تهران انجام گرفت. سپس سطح نمونه برداری افزایش یافت و فضاهای سبز شهر کرج هم شامل شد. در مجموع تعداد ۵۰ نمونه مشکوک به آلودگی‌های باکتریایی بررسی شد. بر اساس نتایج آزمون‌های فنوتیپی شناسایی اولیه آن‌ها در حد جنس مشخص شد، اما پس از توالی‌یابی و بلاست آن‌ها در سایتNCBI، ۷ جنس باکتریایی مورد شناسایی دقیق‌تر قرار گرفتند. طبق نتایج بدست آمده گونه‌های ناهمگن و شامل سه جدایه *Stenotrophomonas maltophilia*، سه جدایه *Pseudomonas plecoglossida*، دو جدایه .*Bacillus* sp و .*Paenibacillus* sp و یک جدایه از جنس‌های .*Ochrobactrum* sp، .*Achromobacter* sp و *Staphylococcus epidermidls* بودند. وجود طیف وسیعی از باکتری‌های نه چندان شناخته شده اما بیمارگر موید اهمیت آن‌ها حداقل به عنوان پاتوژن‌های ثانویه است.

طبق منابع موجود باکتری *Pseudomonas plecoglossicida* یک پاتوژن مهم در بخش آبزی پروری محسوب می‌شود. باکتری مهم دیگر *Stenotrophomonas maltophilia* است که یک اپی‌فیت و اندوفیت و محرک رشد گیاهان در برابر عوامل قارچی و باکتریایی و یک پاتوژن فرصت طلب مقاوم به چند آنتی‌بیوتیک است که باعث افزایش عفونت‌های بیمارستانی می‌شود (Denet *et al*., 2018).

از دیگر باکتری‌های شناسایی شده در این تحقیق باکتری *Staphylococcus epidermidis* است که بخشی از فلور بدن انسان را تشکیل می‌دهد. اثبات بیماریزایی آن با تلقیح مصنوعی روی برگ گیاه یاس هلندی حائز اهمیت است. جداسازی گونه مذکور از روی گیاه یاس هلندی برای اولین بار از ایران طی این تحقیق گزارش می‌شود. نمونه مورد بررسی همچنانکه پیشتر آمد از فضای سبز تهران (منطقه ۵) تهیه شده بود و احتمال آن می‌رود که علت وجود این گونه باکتریائی روی گیاه یاس هلندی بدلیل استفاده از فاضلاب و احیانا مصرف کودهای دامی بوده باشد که در آن صورت بررسی جمعیت میکروبی و تصفیه آب و فاضلاب و خاک برای حفظ سلامتی انسان حائز اهمیت می‌باشد. ردیابی و جداسازی بیشتر این باکتری در سطح پارک‌ها و از روی این گیاه و گیاهان دیگر با توجه به عدم رعایت اصول اولیه بهداشتی دور از انتظار نخواهد بود.

باکتری دیگر *Ochrobactrum* sp. است که بخشی از میکروبیوم گیاه و نماتد است. بعضا به عنوان پاتوژن بالقوه انسانی و به عنوان عوامل تسریع رشد گیاه شناخته می شوند (Kämpfer *et al*., 2008). گونه بیماری‌زای آن *Ochrobactrum tritici* از ریزوسفر گندم گزارش شده است (Lebuhn *et al*., 2005). گزارشی از آن روی یاس هلندی موجود نیست.

یکی دیگر از باکتری‌های مورد شناسایی گونه‌ای از جنس *Achromobacter* است که غالبا از نمونه‌های بیمارستانی بدست می‌آید (Vandamme *et al*., 2013). گونه *Achromobacter xylosoxidans* بطور اخص از روی گندم (Prabhat and Kumar, 2009) و به عنوان عامل بیوکنترل از ریزوسفر گندم گزارش شده است (Bagheri *et al*., 2014).

دو باکتری گرم مثبت *Bacillus* sp. و *Paenibacillus* sp. که درگذشته تحت یک نام طبقه بندی می‌شدند به دو جنس مجزا تقسیم اما از بعد عملکرد این باکتری‌ها به عنوان عوامل کنترل بیولوژیکی مطرح می باشند. در عین حال تعدادی از گونه های هر دو جنس به عنوان عوامل بیماریزای گیاهی یا انسانی شناخته می‌شوند (Grady *et al*., 2016; Schaad *et al*., 2001).

با توجه به مراتب فوق باید اذعان نمود ردیابی این طیف از باکتری‌ها با کارآیی های متفاوت روی گیاه یاس هلندی که غالبا در پارک ها و فضاهای سبز تکثیر می‌یابند می‌تواند پیآمدهای خوب و بد را با هم داشته باشد. از بعد بیماری‌ها، جداسازی جدایه‌های باکتریایی بیماری‌زا از روی یک میزبان گیاهی آنهم در فضاهای سبز و پارک‌ها گزارش خوشایندی نیست. ضمن اینکه هیچ یک از این عوامل بطور رسمی در منابع علمی گزارش نشده است. منشا آلودگی‌ها را باید از ماهیت و سکونت خود باکتری‌ها جستجو کرد. اکثر باکتری‌های مطالعه شده یا به عنوان اندوفیت و عامل تسریع رشد گزارش شدند یا منشا بیمارستانی داشتند. مورد دوم به مراتب مهمتر از مورد اول است. زیرا انتقال آن‌ها از سطح یک گیاه به گیاه دیگر بویژه گیاهان زینتی که مصرف عموم دارد تهدیدی بالقوه برای حفظ سلامت جامعه است. خوشبختانه روش‌های مولکولی جدید، ردیابی و شناسایی آن‌ها را برای ما آسان کرده است. اما تحلیل آنها و تعیین درجه اهمیت آن‌ها و تعامل بیش از پیش آن‌ها با هم و با میزبان‌های متعدد پرسش کلیدی برای هر محقق اپیدمولوژیست است. تعدادی از این باکتری‌ها از روی همه گیاهان جداسازی شده اند اما میکروبیومی که این تحقیق از بعد بیماریزائی ارائه می‌دهد در نوع خود منحصر بفرد است. زیرا دخالت چند باکتری با منشا بیمارستانی در آن مطرح است. همانگونه که در بالا آمد تمامی باکتری‌های مورد مطالعه برای اولین بار از روی گیاه یاس هلندی گزارش می‌شود.

**References**


1. AKE, Agricultural Articles Center [Internet]. 2010. Tehran: Iran's largest agricultural blog [cited 2021 Feb 12]. Available from: http://www.ake.blogfa.com/post/8539/Ligustrum vulgarl
2. Bagheri N, Ahmadzadeh M and Heydari R. 2014. Effects of *Pseudomonas fluorescens* strain UTPF5 on the mobility, mortality and hatching of root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. Archives of phytopathology and plant protection 47(6): 744–752.
3. CAES. 2020. Privet (*Ligustrum*). Plant Pest Handbook (Douglas SM and Cowles RS eds.) Hartford, Connecticut: The Connecticut Agricultural Experiment Station [cited 2020 Nov 18]. Available from: https://portal.ct.gov/CAES/Plant-Pest-Handbook/pphP/Privet-Ligustrum
4. Denet E, Vasselon V, Burdin B, Nazaret S, Favre-Bonté S. 2018. Survival and growth of *Stenotrophomonas maltophilia* in free-living amoebae (FLA) and bacterial virulence properties. PLoS ONE 13(2): e0192308.
5. Elboutahiri N, Thami-Alami I and Udupa SM. 2010. Phenotypic and genetic diversity in *Sinorhizobium meliloti* and *S. medicae* from drought and salt affected regions of Morocco. BMC Microbiology 10: 15. https://doi.org/10.1186/1471-2180-10-15
6. European Food Safety Authority. 2016. Update of a database of host plants of *Xylella fastidiosa*. EFSA Journal 14(2):4378.
7. Gilman EF and Watson DG. 1994. *Syringa reticulata* 'Ivory Silk'; 'Ivory Silk' Japanese tree Lilac. Fact Sheet ST-611. 4 p.
8. Grady, EN, MacDonald J, Liu L, Richman A and Yuan ZC. 2016. Current knowledge and perspectives of *Paenibacillus*: a review. Microbial Cell Factories 15: 203.
9. Janse JD, Derks JHJ, Spit BE and Van Der Tuin WR.1992. Classification of fluorescent soft rot *Pseudomonas* bacteria, including *P. marginalis* strains, using whole cell fatty acid analysis. Systematic and Applied Microbiology 15(4): 538–553.
10. Kämpfer P, Sessitsch A, Schloter M, Huber B, Busse HJ, Scholz HC. 2008. *Ochrobactrum rhizosphaerae* sp. nov. and *Ochrobactrum thiophenivorans* sp. nov., isolated from the environment. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 58: 1426–1431.
11. Lebuhn M, Achouak W, Schloter M, Berge O, Meier H and Barakat M. 2005. Taxonomic characterization of *Ochrobactrum* sp. isolates from soil samples and wheat roots, and description of *Ochrobactrum tritici* sp. nov. and *Ochrobactrum grignonense* sp. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 50: 2207–2223.
12. Navarro B, Loconsole G, Giampetruzzi A, Aboughanem-Sabanadzovic N, Ragozzino A, Ragozzino E and Di Serio F. 2017. Identification and characterization of privet leaf blotch-associated virus, a novel idaeovirus. Molecular Plant Pathology 18(7), 925–936.
13. Prabhat JHA and Kumar A. 2009. Characterization of novel plant growth promoting endophytic bacterium Achromobacter xylosoxidans from wheat plant. Microbial Ecology 58: 179–188.
14. Schaad NW, Jones JB and Chun W. 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenetic bacteria. 3rd ed. New York: APS Press. 373 p.

15. Tripathi AK, Verma SC, Chowdhury SP, Lebuhn M, Gattinger A and Schloter M. 2006. *Ochrobactrum oryzae* sp. nov. an endophytic bacterial species isolated from deep-water rice in India. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 56(7): 1677–1680.
16. Vandamme P, Moore ERB, Cnockaert M, De Brandt E, Svensson-Stadler L, Houf K, Spilker T, LiPuma JJ. 2013. *Achromobacter animicus* sp. nov., *Achromobacter mucicolens* sp. nov., *Achromobacter pulmonis* sp. nov. and *Achromobacter spiritinus* sp. nov., from human clinical samples Systematic and Applied Microbiology 36: 1–10.
17. Wang W, Wang S, Ma X and Gong J. 2011. Recent advances in catalytic hydrogenation of carbon dioxide. Chemical Society Reviews 40(7): 3703–3727.