فاژدرمانی و کاربرد آن در کنترل بیماری‌های گیاهی

Phage therapy and its application in plant diseases control

فاطمه سمیعی*

دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۰۲ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۱۹

چکیده

اصطلاح باکتریوفاژ به ویروس‌هایی اطلاق می‌شود که به‌طور اختصاصی باکتری‌ها را آلوده می‌کنند. باکتریوفاژها عمدتاً دارای کاربردهای پزشکی و دامپزشکی بوده و اخیراً برای کنترل بیماری‌های گیاهی مورد توجه قرار گرفته‌اند. استفاده از فاژها در کنترل زیستی بیمارگرهای گیاهی، ناشی از توانایی آنها در کشتن باکتری‌ها و همچنین مشاهده فاژها در همان محیط‌های میزبان باکتریایی است؛ همین امر نشان دهنده توانایی زنده‌مانی آنها در محیط زیست میزبان می‌باشد. فاژها به دلیل کاربرد آسان و راحت، امکان ترکیب شدن با باکتری‌کش‌های دیگر و یا استفاده متناوب با آفت‌کش‌ها و داشتن قیمت نسبتاً پایین به‌عنوان بخشی از برنامه مدیریت تلفیقی بیماری‌ها استفاده شده‌اند؛ علیرغم تردیدهای فراوان درمورد کاربرد باکتریوفاژها به‌عنوان عوامل کنترل زیستی مؤثر، ظهور باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک و نگرانی از امکان انتقال مقاومت آنتی‌بیوتیکی از بیمارگرهای گیاهی به بیمارگرهای انسانی و ظهور نژادهای متحمل به مس در میان باکتری‌های گیاهی منجر به تمایل بیشتر برای کنترل بیماری‌ها با تکیه بر باکتریوفاژها در کشاورزی مدرن شده است. تاکنون فاژ درمانی به‌طور موفقیت‌آمیزی علیه عواملی از قبیل لکه باکتریایی قارچ‌های خوراکی *Pseudomonas tolasi*، لکه‌برگی باکتریایی لوبیا، پوسیدگی‌های نرم ایجاد شده توسط گونه‌های پکتوباکتریوم، آتشک سیب و گلابی *Erwinia amylovora*، اسکب سیب‌زمینی *Streptomyces scabies*، بلایت باکتریایی شمعدانی *Xantomonas hortorum* pv. *Pelargonii*، لکه‌باکتریایی گوجه‌فرنگی *Xantomonas campestris* pv. *Vesicatoria* استفاده شده‌ا ست. این حقیقت وجود دارد که باکتری‌ها می‌توانند با روش مشابه به آنچه که در آنتی‌بیوتیک‌ها مشاهده شده، نسبت به فاژها مقاوم شوند، اما مزیت فاژها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها برای درمان بیمارگرها، توانایی آن‌ها در ایجاد جهش ژنتیکی و آلوده کردن میزبان‌های جدید است. مشکل عمده کنترل زیستی وابسته به فاژها، تبدیل آزمایشات موفق آزمایشگاهی به روش‌های کنترل مؤثر علیه بیمارگر در سطح مزرعه است. بدین منظور لازم است درک کاملی از اکولوژی و تعامل پیچیده میزبان- فاژ در محیط‌های مختلف گیاهی به‌دست آوریم تا بهره‌وری مطلوبی از فاژها به‌عنوان یک روش کنترل زیستی به عمل آید. در مقاله حاضر تلاش شده‌است تا مروری کلی بر پتانسیل باکتریوفاژها در کنترل زیستی بیمارگرهای گیاهی انجام شود و مزایا و چالش‌های آن معرفی گردد.

واژگان کلیدی: باکتریوفاژ، فاژ درمانی، کنترل زیستی، بیمارگرهای گیاهی

مقدمه

جمعیت انسان‌ها در کره زمین تا سال ۲۰۵۰ حدود ۹/۶ میلیارد نفر برآورد شده است و این افزایش جمعیت نیازهای غذایی بیشتری را به دنبال خواهد داشت. با توجه به این موضوع، افزایش تولیدات غذایی باید ۷۰ درصد رشد داشته‌باشد تا بتواند نیاز غذایی جمعیت دنیا را مرتفع کند (Anonymous, 2013). برای رسیدن به این میزان غذا، می‌بایست عرضه محصولات کشاورزی ۸۰ تا ۱۱۰ درصد افزایش یابد (Ray *et al*., 2013). با توجه به آن‌که حدود ده‌درصد از مواد غذایی دنیا توسط بیمارگرهای گیاهی از بین می‌رود، به منظور دستیابی به این بازده، بایستی خسارت بیماری‌های گیاهی کاهش یابد (Strange and Scott, 2005).

استادیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی و علوم پایه، واحد رودهن، دانشگاه آزاد اسلامی، رودهن، ایران

نویسنده مسئول مکاتبات: fa_samiee@yahoo.com

عمده‌ترین عوامل بیماری‌زا، گیاهان انگلی، نماتدها، ویروس‌ها، قارچ‌ها و باکتری‌ها می‌باشند که تاکنون بیش از ۲۰۰ گونه باکتری بیماریزای گیاهی شناسایی‌شده‌اند (Considine and Considine, 1995). مهمترین جنس‌ها شامل *Pseudomonas*، *Ralstonia*، *Agrobacterium*، *Xanthomonas*، *Erwinia*، *Xylella*، *Pectobacterium* و *Dickeya* هستند (Mansfield *et al.*, 2012). تاکنون پیشرفت‌های چشم‌گیری در جهت کنترل باکتری‌های بیمارگر گیاهی به‌دست آمده‌است که هرکدام مزایا و معایبی دارد. برای مثال استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها منجر به مقاومت ضد میکروبی در باکتری‌های بیماریزای انسانی، حیوانی و گیاهی شده است و مقاومت آنتی‌بیوتیکی در پاتوژن‌های باکتریایی حیوانی و گیاهی می‌تواند از طریق چرخه غذایی به انسان نیز منتقل شود. بنابراین گیاهان و حیوانات منبع بالقوه‌ایی از باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک برای انسان‌ها می‌باشند و بالعکس. بنابراین استفاده محتاطانه از آنتی‌بیوتیک‌ها در پزشکی، دامپزشکی و عملیات کشاورزی ضروری است. ظهور باکتری‌های مقاوم به چندین آنتی‌بیوتیک منجر به تمایل فزاینده برای استفاده از باکتریوفاژها جهت کشتن باکتری‌های بیمارگر شده است. استفاده از فاژها در درمان و پیشگیری از بیماری‌های حیوانات و دام‌ها باعث شده که فشار انتخابی برای باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک و انتشار آنتی‌بیوتیک در محیط زیست کاهش یابد (Kittler *et al.*, 2017). از سوی دیگر، استفاده از ترکیبات مسی باعث ظهور نژادهای متحمل به مس در میان باکتری‌های گیاهی شده است (Voloudakis *et al.*, 2005). همچنین یون مس باعث مسمومیت گیاهی شده (Stein *et al.*, 2005) و کاربرد فراوان و گسترده ترکیبات مسی موجب آلودگی خاک گردیده‌است (Roller, 1999). علاوه بر این، نگرانی‌ها درباره ایمنی غذا و حفظ محیط زیست و دستیابی به کشاورزی پایدار، ضرورت توسعه آفت‌کش‌های ایمن‌تر، اختصاصی‌تر و دوستدار محیط‌زیست را موجب شده است (Abril and Carrera, 2022). این عوامل، همراه با دانش روز افزون کاربرد فاژها در پزشکی، منجر به تمایل مجدد کنترل بیماری بر اساس باکتریوفاژ در کشاورزی مدرن گردیده است (Barrow, 2001؛ Duckworth and Gulig, 2002). در این بررسی به مزایا و معایب فاژ درمانی در کنترل بیماری‌های گیاهی پرداخته شده است تا با نشان دادن جایگاه و پتانسیل این روش کنترل، بتوان دیدگاه جدیدی را در بکارگیری و شناخت هر چه بیشتر آن فراهم ساخت.

کاربرد باکتریوفاژها و پتانسیل آنها در علوم مختلف

از گذشته گزارشات مستندی در مورد امکان معالجه بیماری‌های عفونی از قبیل جذام با آب رودخانه وجود داشته است؛ بیش از صد سال پیش ارنست هنبری هنکین گزارش نمود که چیزهایی در آب رودخانه‌های گنگ و جومنا در هند، نقش ضدباکتری مشخص علیه وبا دارند و می‌توانند از یک صافی به‌خوبی عبور کنند. استفاده از باکتریوفاژها در کنترل باکتری‌های بیماریزا به‌عنوان عوامل ضدباکتریایی و کشف آنها توسط تورت و دهرل بوده‌است (Twort, 1915؛ Abedon *et al.*, 2011؛ d'Herelle, 1917). پتانسیل فاژها به‌عنوان عوامل ضدباکتری به‌سرعت شناخته شد؛ دهرل در سال ۱۹۱۹ توانایی فاژها در درمان اسهال خونی را نشان داد (Wilkinson, 2001). سپس، مطالعات ابتدایی متعددی در جهت تلاش برای استفاده از فاژها برای درمان عفونت‌های استافیلوکوک، وبا و پلاک‌بوبونیک در انسان انجام شد (Sulakvelidze *et al.*, 2001). همچنین استفاده از باکتریوفاژها جهت ضدعفونی سطوح و محیط هم پیشنهاد شده‌است (Clark and March, 2006). امروزه نتایج تحقیقات فاژ درمانی در زمینه‌های مختلف برای کنترل رشد و تکثیر باکتری‌های بیماری‌زا استفاده می‌شود (Kutter *et al.*, 2010). فاژ درمانی نه تنها برای درمان بیماری‌های انسانی (Ooi *et al.*, 2017؛ Jennes *et al.*, 2017؛ Fish *et al.*, 2016) ناشی از باکتری‌ها، بلکه برای کنترل بیماری‌های باکتریایی حیوانات و گیاهان (Upadhaya *et al.*, 2021) و همچنین برای اطمینان از ایمنی مواد غذایی به‌طور مؤثر استفاده می‌شود (Sabzali and Bouzari, 2021؛ Mahony *et al.*, 2011؛Hagens and Loessner, 2010). نتایج تحقیقات متعدد نشان داده است که فاژها روی انواع باکتری‌ها از جمله *Staphylococcus aureus*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Escherichia coli* و سالمونلای مقاوم به داروها، اثر لیزکننده داشته‌اند (Alomari *et al.*, 2021). پس از اولین کاربردهای‌پزشکی (Summers, 2005) و دامپزشکی، فاژها جهت کنترل بیماری‌های گیاهی نیز ارزیابی‌شدند.

پتانسیل کاربرد فاژها در کنترل زیستی بیمارگرهای گیاهی و مکانیسم عمل آنها

فاژها برای آلوده کردن باکتری‌های بیمارگر از الگوی عمومی یکسانی تبعیت می‌کنند که شامل فرایندی سه مرحله‌ای است؛ ابتدا ذره فاژ به سطح خارجی باکتری متصل شده و DNA کروموزومی خود را به داخل سلول تزریق می‌کند؛ سپس مولکول DNA فاژ به‌طور معمول با استفاده از آنزیم‌های مخصوص که به‌وسیله ژن‌های موجود روی ژنوم فاژ کد می‌شوند، همانندسازی می‌کند؛ سایر ژن‌های فاژ، ساخت اجزاء پروتئینی کپسید را هدایت می‌کنند و ذرات فاژ جدید به هم ملحق شده، از باکتری رها می‌شوند. در بعضی از انواع فاژها مانند T4 کل چرخه آلودگی خیلی سریع و گاهی در کمتر از ۲۰ دقیقه کامل می‌شود، این نوع آلودگی سریع به دلیل همراهی رها شدن ذرات فاژ با تجزیه سلول باکتری، چرخه لیتیک نامیده می‌شود. ویژگی اساسی یک چرخه لیتیک این است که همانندسازی DNA فاژ بلافاصله با ساخت پروتئین‌های کپسید همراه می‌شود و مولکول DNA فاژ هرگز در سلول میزبان در یک وضعیت پایدار باقی نمی‌ماند؛ بنابراین فاژهای لیتیک نوع مناسبی برای فاژ درمانی هستند. برخلاف چرخه لیتیک، آلودگی لیزوژنی با باقیماندن مولکولی DNA فاژ در درون باکتری میزبان، حتی در طی هزاران تقسیم سلولی مشخص می‌شود. در مورد بسیاری از فاژهای لیزوژن، DNA فاژ به درون ژنوم باکتری وارد می‌شود، شکل ملحق شده ژنوم فاژ به ژنوم میزبان پروفاژ نامیده می‌شود. باکتری حاوی پروفاژ که به آن لیزوژن اطلاق می‌شود به‌طور معمول به لحاظ فیزیولوژیک از یک سلول‌غیر آلوده، قابل تشخیص نیست. هنگامی که شرایط میزبان به دلیل کاهش مواد غذایی وخیم می‌شود، پروفاژ فعال شده و از ژنوم میزبان جدا می‌گردد و فاژ را به چرخه لیتیک برمی‌گرداند و در نتیجه سلول را تجزیه می‌کند. عواملی از قبیل خصوصیات فاژ آلوده کننده و وضعیت متابولیکی میزبان در انتخاب سیکل لیتیک یا لیزوژنی، توسط فاژ نقش دارند. درصورتی‌که عوامل تحریک کننده وجود نداشته‌باشند، فاژ در حالت لیزوژنی همراه با ژنوم سلول میزبان به‌صورت یک ژن بزرگ و پیچیده تکثیر می‌یابد (Bertaccini and Duduk, 2009؛ Ellis *et al*., 2008؛ Gill and Abedon, 2003؛ Chen and Civerolo, 2008). استفاده از فاژها به‌عنوان عوامل کنترل بیمارگرهای گیاهی در فرایندی با عنوان فاژ درمانی پیشنهاد شده‌اند. استفاده از فاژها در کنترل زیستی بیمارگرهای گیاهی ناشی از توانایی آنها در کشتن باکتری‌ها و همچنین مشاهده فاژها در محیط زیست میزبان‌های باکتریایی است که نشان‌دهنده توانایی زنده‌مانی آنها در محیط زیست میزبان می‌باشد. برای مثال، فاژها نیز در زیستگاه‌های گیاهی از قبیل جوانه، برگ، گره‌های ریشه، ریشه، میوه پوسیده، بذور، ساقه و کاه، تومورهای گال ساقه، یونجه سالم یا بیمار، جو، لوبیا، کلم، گندم سیاه، شبدر، پنبه، خیار، توت سفید، یولاف، نخودفرنگی، درختان هلو، تربچه، چاودار، توتون، گوجه‌فرنگی و گندم یافت شده‌اند.

یکی از مزیت‌های فاژ درمانی کاهش استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها است (Goodridge, 2004؛ Gill and Abedon, 2003). علیرغم بررسی‌های گسترده اولیه بر روی فاژ درمانی (Okabe and Goto, 1963)، گوتو (۱۹۹۰) بیان نمود که استفاده عملی از فاژها جهت کنترل بیماری‌های باکتریایی گیاهان در شرایط مزرعه موفقیت‌آمیز نیست؛ اگرچه مواردی از کنترل نیز وجود دارد، اما این کنترل‌ها حاصل تلقیح ترکیب فاژ و باکتری یا تیمار گیاه و بذر با فاژها قبل از تلقیح با باکتری‌ها می‌باشد. در عمل باکتری‌های بیماری‌زا در بافت‌های گیاه در توده متراکمی از پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی فراوانی احاطه شده‌اند که از جذب مؤثر پارتیکل‌های فاژ جلوگیری می‌کنند. مشکل دیگر پیچیدگی روابط بین فاژ و باکتری در طبیعت است که به دلیل تنوع نژادهای باکتریایی، حساسیت آنها به فاژ متفاوت می‌باشد (Goto, 1992). همچنین از فاژها می‌توان جهت بقاء باکتری‌های همزیست استفاده کرد. باسیت و همکاران فاژهایی را جداسازی کردند که علیه مایه تلقیح انتخابی *Bradyrhizobium japonicum* مؤثر نبودند؛ اما علیه رقبای طبیعی آنها مؤثر بودند. با آغشته کردن بذور با فاژهای مؤثر علیه این رقبای‌بالقوه، آنها توانستند تثبیت نیتروژن را افزایش‌دهند (Basit *et al*., 1992). با وجود مؤثر بودن فاژها در موقعیت‌های خاص، فاژ درمانی علیه بیمارگرهای گیاهی باکتریایی به‌عنوان یک راه حل سریع و مؤثر در همه موارد ثابت نشده است (Gill and Abedon, 2003). تأثیر فاژ درمانی، به توانایی فاژ در یافتن میزبان قبل از نابودی بستگی دارد (Goodridge, 2004). عوامل دیگری که در موفقیت یا شکست یک سیستم فاژ درمانی بالقوه تأثیر دارند، عبارتند از محل

استقرار بیمارگر هدف، سرعت از بین رفتن فاژ، وجود آب کافی به‌عنوان بستر مناسب جهت انتشار فاژ و زمان کاربرد فاژ، توانایی چندگانه فاژ در آزمایشگاه و قابلیت نسبی موتانت‌های باکتریایی مقاوم به فاژ (Gill and Abedon, 2003).

سوابق استفاده از فاژها در کنترل بیمارگرهای گیاهی

اگرچه گیاهان در محاصره انواع مختلف فاژها قرار دارند، اما سهم زیادی از عملکرد فاژ روی گیاهـان از طریق باکتری‌های همزیست گیاه می‌باشد. باکتری‌های همزیست گیاه می‌توانند مفید یا مضر باشند. اثر فاژها نیز روی باکتری‌ها می‌تواند از نوع همزیستی یا پارازیتی باشد. علی‌رغم این عوارض، اثر مثبت یا منفی فاژ روی گیاه محدود به لیز شدن سلول باکتریایی و تغییر فاژ (تغییر فنوتیپ باکتری‌ها توسط فاژها) می‌باشد. در تحقیقات انجام شده، گـزارشاتی از کاهش رشد گیاه یا کاهش در میزان نیتروژن گیاه توسط فاژ وجود دارد (Hammad, 1998). برای مثال، جمعیت آزمایشی باکتری گرم منفی *Pseudomonas fluorescens* با خواص حفاظتی برای گیاهان، توسـط حـمله فاژها کاهـش یافت (Goodridge, 2004). محققین با جداسازی باکتری *Xanthomonas campestris* عامل پوسیدگی کلم، از کلم آلوده ثابت نمودند که عصاره جمع‌آوری شده از کلم فاسد پس از صاف‌شدن در شرایط آزمایشگاهی، از رشد بیمارگر جلوگیری می‌کند (Mallmann and Hemstreet, 1924)، سپس باکتریوفاژهای جداسازی شده از نمونه‌های خاک علیه عامل بیماری ساق سیاه سیب‌زمینی *Pectobacterium carotovorum* subsp. *atrosepticum* مؤثر بودند. در آزمایشات تلقیح همزمان باکتری با فاژ، فاژها به‌طور موفق از رشد بیمارگر و پوسیدگی غده‌ها جلوگیری کردند (Kotila and Coons, 1925). همین محققین فاژهایی علیه *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* از منابع مختلف مانند خاک، هویج‌های پوسیده و آب رودخانه جداسازی کردند (Kotila and Coons, 1925). در مطالعه دیگری، تیمار بذور ذرت آلوده به *Pantoea stewartii*، عامل بیماری پژمردگی استوارتی ذرت با باکتریوفاژهای جدا شده از مواد گیاهی آلوده باعث کاهش شدت بیماری از ۱۸ به ۱/۵درصد گردید (Thomas, 1935). با این حال، به دلیل محدودیت شناخت ماهیت فاژ و درک دقیق داده‌ها در مورد اثربخشی آنها، این نوع تحقیقات نادیده گرفته شد (Okabe and Goto, 1963). در دهه۱۹۴۰ با کشف آنتی‌بیوتیک‌ها و عرضه فراوان آن‌ها به بازار و همچنین به خاطر داشتن طیف وسیع و تأثیر بهتر و تولید، ذخیره و تجویز راحت‌تر آنها، کنترل شیمیایی با آنتی‌بیوتیک ها و ترکیبات مسی به‌عنوان روشی استاندارد جهت کنترل بیماری‌های باکتریایی گیاهی انتخاب شد و استفاده از باکتریوفاژها در کنترل زیستی به‌طور کلی فراموش شد و اکثر گروه‌های تحقیقاتی فاژی، روی تحقیقات پایه‌ای و بنیادی متمرکز شدند و باکتریوفاژ ابزاری برای زیست‌شناسی مولکولی و ژنتیک گردید و کشفیات مهمی با مطالعه تعامل بین باکتری و فاژ به‌دست آمد (Adams, 1959). می‌توان این‌طور بیان نمود که ظاهراً فاژها جهت مدیریت گسترش بیماری موثر نمی‌باشند (Okabe and Goto, 1963). سه دهه بعد گوتو نیز نتیجه مشابهی ارایه کرد (Goto, 1992). استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در کشاورزی تا حد زیادی به‌واسطه ظهور باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در مزارع و نگرانی از امکان انتقال مقاومت آنتی‌بیوتیکی از بیمارگرهای گیاهی به بیمارگرهای انسانی متوقف شد (Manulis *et al.*, 1998). با این وجود در دهه گذشته در مورد فاژ درمانی به‌عنوان یکی از ابزارهای مبارزه با بیماری‌های گیاهی، با شور و اشتیاق فراوانی تحقیق شده است. امروزه ردیابی اختصاصی باکتری‌های بیماری‌زا با استفاده از فاژها به‌صورت گسترده در پزشکی، کشاورزی و علوم وابسته انجام می‌پذیرد و استفاده از فاژها در درمان بیماری‌های گیاهی ایجاد شده توسط باکتری‌های بیماری‌زا نتایج خوبی داشته است؛ تحقیقات انجام شده در این زمینه، از سال ۲۰۰۰ تاکنون در جدول شماره ۱ ارائه شده است (جدول ۱).

مشکلات و چالش‌های کنترل زیستی بیمارگرهای گیاهی با استفاده از فاژها

دامنه میزبانی محدود از جنبه‌های منفی فاژ درمانی است؛ در حالی‌که این ویژگی در شرایط خاص می‌تواند یک مزیت باشد. بدان مفهوم که فاژ بتواند تنها یک جنس باکتریایی را از بین برده و دامنه میزبانی محدودی داشته باشد. برای رفع این مشکل می‌توان از فاژهایی با دامنه‌میزبانی وسیع و یا از فاژهای موتانت شده در دامنه میزبانی استفاده کرد و یا

جدول ۱- کاربرد باکتریوفاژها در کنترل زیستی بیماری‌های باکتریایی گیاهان از سال ۲۰۰۰ میلادی تاکنون

Table 1: The use of bacteriophages in the biological control of bacterial plant diseases from 2000 until now

References منابع	Results of phage therapy نتایج فاژ درمانی	Cause of disease عامل بیماری	Plant گیاه
Balogh *et al*., 2008	مخلوط فاژهای استفاده شده باعث کاهش شدت شانکر مرکبات گردید The mixture of phages used reduced the severity of citrus canker	*Xanthomonas axonopodis*	مرکبات Citrus
Zaczek-Moczydlowska, *et al.*, 2020	به‌طور قابل توجهی میزان پوسیدگی کاهش یافت The rate of caries decreased significantly	*Pectobacterium carotovorum, P. atrosepticum*	سیب زمینی Potato
Balogh *et al*., 2008	میزان شانکر در مرکبات تا ۵۹٪ کاهش یافت The amount of canker in citrus fruit decreased by 59%	*Xanthomonas axonopodis pv. Citri*	گریپ فروت Grapefruit
Balogh *et al*., 2008	میزان لکه‌های باکتریایی تا۴۸٪ کاهش یافت The amount of bacterial spots decreased by 48%	*Xanthomonas axonopodis pv. Citrumelo*	مرکبات Citrus
Rombouts *et al*., 2016	مخلوط فاژهای استفاده شده باعث کاهش شدت علایم شد The mixture of phages used reduced the severity of symptoms	*Pseudomonas syringae pv. Porri*	تره فرنگی Leeks
Kim *et al*., 2011	با تیمار فاژی علائم لکه قهوه‌ایی در کلاهک‌های آلوده به باکتری به‌صورت کامل کنترل شد With the phage treatment, the symptoms of brown spot in caps infected with bacteria were completely controlled	*Pseudomonas tolaasii*	قارچ خوراکی Mushroom
Boulé *et al.*, 2011	علایم آتشک در گیاهان تیمار شده تا ۵۴٪ کاهش یافت Blight symptoms in treated plants decreased by 54%	*Erwinia amylovora*	سیب و گلابی Apples and Pears
Grace *et al.*, 2021	مخلوط فاژهای استفاده شده باعث کاهش شدت شانکر در گیاهان گردید The mixture of phages used reduced the severity of canker in plants	*Pseudomonas syringae pathovars, Erwinia amylovora, Xanthomonas sp., Ralstonia solanacearum, Agrobacterium tumefaciens.*	بلوط، شاه‌بلوط، گیلاس، زبان‌گنجشک Oak, Chestnut, Cherry, Sparrow's tongue
Das *et al*., 2015	علایم پیرس انگور بعد از فاژ درمانی به‌طور کامل متوقف شد The symptoms of the disease stopped completely after phage therapy	*Xylella fastidiosa*	انگور Grape
Yoshikawa *et al*., 2018 Russo *et al*., 2019 Balog *et al*., 2008 Renu *et al*., 2017	کاهش علایم بلایت باکتریایی Reduction of bacterial blight symptoms	*Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli.*	گوجه فرنگی، کلم ، لوبیا Tomatoes, Cabbage, Beans
Yeh *et al*., 2020	کاهش علایم سوختگی برگ‌ها تا ۵۶٪ Reduction of leaf blight symptoms up to 56%	*Xanthomonas albileneans*	نیشکر Sugar cane
Sadunishvili *et al*., 2015 Stefani *et al*., 2021 Nagai *et al*., 2017	کاهش لکه‌برگی باکتریایی با استفاده از فاژ درمانی Reduction of bacterial leaf spot using phage therapy	*Xanthomonas campestris pv. Vesicatoria*	فلفل سبز Green pepper
Civerolo, 1970 Ranjan *et al*., 2018	کاهش لکه‌برگی باکتریایی Reduction of bacterial leaf spot	*Xanthomonas campestri pv. campestri* *Xanthomonas campestri pv. pruni*	هلو Peach
Dong *et al.*, 2018 Nakayinga *et al*., 2021	شدت بیماری بلایت برگی برنج کاهش یافت The severity of rice leaf blight disease decreased.	*Xanthomonas oryzae pv. oryzae*	برنج Rice
Stefani *et al.*, 2021 Sadunishvili *et al*., 2015 Nagai *et al*., 2017	کاهش شدت بیماری Reducing the severity of the disease	*Xanthomonas axonopodis pv. allii*	پیاز Onion
Romaniuk *et al*., 2010 Kim *et al*., 2019 Czajkowski *et al*., 2015 Lee *et al*., 2012	پوسیدگی نرم با فاژ درمانی کنترل شد Soft rot was controlled by phage therapy	*Pectobacterium carotovorum*	ذرت Corn

ادامه جدول ۱

References منابع	Results of phage therapy نتایج فاژ درمانی	Cause of disease عامل بیماری	Plant گیاه
Lee *et al*., 2021	پوسیدگی ریشه به میزان ۶۷٪ کاهش یافت Root rot was reduced by 67%	*Pectobacterium odoriferum*	سیب‌زمینی شیرین Sweet potato
Addy *et al*., 2019	کاهش میزان پوسیدگی قهوه ایی در تیمار با فاژ Reduction of brown rot in phage treatment	*Ralstonia solanacearum*	موز Banana
Lauman *et al*., 2021	کاهش شدت بیماری پژمردگی باکتریایی با استفاده از فاژها Reducing the severity of bacterial wilt disease using phages	*Burkholderia thailandensis, B. caryophylli, B. gladioli, B. glumae*	توتون، پیاز، برنج Tobacco, Onion, Rice
Kabanova *et al*., 2018 Adriaenssens *et al*., 2012	ساق سیاه و پوسیدگی نرم کاهش یافت Black leg and soft rot reduced	*Dickeya spp*., *Dickeya solani*	سیب‌زمینی Potato
Wittmann *et al*., 2010 Wittmann *et al*., 2011	با استفاده از مخلوط باکتریوفاژ شدت بیماری شانکر و پژمردگی باکتریایی کاهش یافت By using the bacteriophage mixture, the severity of canker disease and bacterial wilt decreased	*Clavibacter michiganensis*	فلفل، سیب‌زمینی، ذرت، گوجه‌فرنگی Pepper, Potato, Corn, Tomato
Attai *et al*., 2019 Nittolo *et al*., 2019	سرطان طوقه با استفاده از فاژ درمانی کنترل شده است Crown gall disease has been controlled using phage therapy	*Agrobacterium tumefaciens*	درختان میوه، درختان جنگلی، گیاهان زینتی Fruit trees, Forest trees, Ornamental plants

می‌توان از مخلوط فاژها برای کنترل زیستی استفاده کرد (Pirhonen and Palva, 1988, Pirhonen *et al*., 1988) ، نیاز به آستانه فراوانی باکتری (10^4- 10^6 cfu/ml) نیز می‌تواند اثر فاژ را محدود کند (Wiggins and Alexander, 1985).

ظهور موتانت‌های مقاوم به فاژ می‌تواند فاژ درمانی را غیرمؤثر کند. اما استفاده ترکیبی از فاژها با توانایی استفاده از گیرنده‌های سلولی متفاوت، می‌تواند ظهور مقاومت را سرکوب نماید. در موتانت‌های مقاوم به فاژ باکتری‌های *Ralstonia solanasearum*، *Xanthomoas campestris* pv. *Pruni* و *Pantoea stewartii* عدم بیماری‌زایی مشاهده‌شد (Balogh, 2006). عوامل محیطی از قبیل دما، اسیدیته و فیزیولوژی باکتری می‌توانند مانع اثر فاژ شوند. برای مثال، فاژهای *Xanthomonas phaseoli* فقط در دماهای بالاتر از ۲۰ درجه سلسیوس به گونه‌های زانتوموناس و سودوموناس حمله می‌کنند (Civerolo, 1970). همچنین *Pseudomonas syringae* و *P. phaseolicola*، عوامل ایجاد کننده بلایت هاله‌ای و لکه قهوه‌ای لوبیا، به دلیل مقاومت فاژی در دمای کمتر از ۲۲ درجه سلسیوس متداول‌ترند (Vidaver and Schuster, 1960). به‌علاوه ملاحظه شده است که فاژها سبب کاهش قابل توجه جمعیت *Listeria monocytogenes* روی خربزه می‌شوند، درحالی‌که روی سیب چنین تأثیری ندارد؛ علت این امر به ناپایداری فاژها روی سیب به دلیل pH پایین (۴/۳۷ در سیب در مقایسه با ۵/۷۷ در خربزه) نسبت داده شد (Leverentz *et al*., 2003). عدم دسترسی به موجود زنده هدف نیز می‌تواند مانع از عملکرد فاژ شود. باکتری‌های بیماریزای گیاهی اغلب در توده‌ای غیر مشابه وجود دارند و به‌وسیله پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی احاطه شده‌اند که مانع اتصال فاژها به آنها می‌شوند، یا موجب استقرار آنها در سطح یا در داخل گیاه در فضاهای حفاظت شده می‌گردند و در نتیجه مانع از دسترسی عوامل کنترلی به باکتری‌ها می‌شوند (Goto, 1992). این نگرانی وجود دارد که فاژها توانایی انتقال خصوصیات نامطلوب از قبیل فاکتورهای بیماریزایی را بین باکتری‌ها دارا باشند و حتی‌الامکان تبدیل عوامل غیربیماریزا به بیماریزا هم وجود دارد (Vidaver, 1976). آگاهی مصرف‌کننده از اضافه‌شدن ویروس به محصولات غذایی نیز می‌تواند مسئله‌آفرین باشد. فاژهای انتقال‌دهنده ژن می‌توانند ژن‌های پروکاریوتی فعال را به سلول‌های گیاهی و حیوانی وارد نموده و باعث تولید موجودات زنده تغییر یافته ژنتیکی (GMO) در محیط‌طبیعی شوند (Vidaver, 1976). به‌رغم دامنه میزبانی محدود اکثر فاژها، مثال‌هایی از اثرات منفی فاژها در کشاورزی وجود دارد. مطالعات انجام‌شده در مورد باکتری‌های همزیست تثبیت کننده نیتروژن نشان‌داد که میزان رشد و مقدار نیتروژن لوبیای چشم بلبلی در اثر تحریک فاژها کاهش

می‌یابد، همچنین توانایی کنترل زیستی *Pseudomonas flourescens* توسط یک باکتریوفاژ لیتیک از بین رفت (Keel *et al*., 2002). در فاژ درمانی جهت رفع مشکلات ناشی از لیزوژنی فقط از فاژهای لیتیک استفاده می‌شود. همچنین به‌منظور جلوگیری از مشکل مقاومت، مخلوطی از فاژها که دارای گیرنده‌های مختلف و مؤثر برای یک باکتری بیماریزا و گاهی برای چندین گونه متفاوت از باکتری‌های بیماریزا هستند، تهیه شده‌است، مثلاً یک فرمولاسیون تحت عنوان intestiphage توسط مؤسسه Eliava در گرجستان تهیه شده که حاوی ۲۳ فاژ مؤثر علیه دامنه گسترده‌ای از باکتری‌ها است (Balogh, 2002).

نتیجه‌گیری و چشم‌انداز آینده فاژ درمانی

کنترل مؤثر بیماری‌های گیاهی معمولاً مستلزم راهکار مدیریتی مشتمل بر رویکردی یکپارچه است. فاژها از موجودات طبیعی هستند که استفاده ترکیبی از آن‌ها درمدیریت بیماری‌های گیاهی و کشاورزی ارگانیک پیشنهاد می‌شود. یک باکتریوفاژ ایده‌آل برای کنترل زیستی باید توانایی سازگاری و پایداری محیطی خوبی داشته باشد، فاقد ژن اندوتوکسین در ژنوم بوده، به راحتی قابل جداسازی و خالص‌سازی باشد. همچنین، فاژها به‌طور طبیعی دارای پتانسیل تطبیق برای غلبه بر مقاومت به فاژ یا غلبه بر تکامل سویه‌های جدید باکتری هستند. برای کنترل زیستی می‌توان آنها را با یکدیگر یا با سموم شیمیایی ترکیب نمود. بنابر مطالعات انجام شده، راهکارهایی برای غلبه بر برخی از محدودیت‌های استفاده از فاژها یافت شده است. خواص منحصر به فرد باکتریوفاژها آنها را برای درمان بیماری‌های باکتریایی مقاوم به دارو در رقابت با آنتی‌بیوتیک‌های شیمیایی برتری داده است. بسیاری از شرکت‌های تولیدکننده آفت‌کش، از سرمایه‌گذاری در سموم دفع آفات شیمیایی دور شده و به سمت سرمایه‌گذاری بر روی آفت‌کش‌های زیستی متمایل می‌شوند. هم‌اکنون ارزش بازار آفت‌کش‌ها ۵۶ میلیارد دلار است؛ در حالی‌که آفت‌کش‌های زیستی تنها ۳-۲ میلیارد دلار از آن را به خود اختصاص داده است. با این‌حال، انتظار می‌رود رشد بخش آفت‌کش‌های زیستی در آینده از آفت‌کش‌های شیمیایی پیشی بگیرد (Marrone, 2014). قبل از این‌که فاژها بتوانند در خط مقدم کنترل زیستی قرارگیرند، باید داده‌های اکوفیزیولوژیکی بیشتری در مورد تعامل بین فاژها و باکتری‌ها در داخل گیاهان برای انتخاب فاژهای مناسب به‌دست آید و پژوهش‌های بیشتری در این زمینه صورت گیرد. تحقیقات زیاد، در این زمینه نشان داده‌است که فاژها ایمن و مؤثر هستند، با این حال، هنوز چالش‌های بحث برانگیز و محدود کننده‌ای وجود دارند که مطمئناً با افزایش تحقیقات بر روی فاژها و پیشرفت در آزمایشات، این محدودیت‌ها نیز قابل حل خواهد بود.

References

Abedon, S. T., Thomas-Abedon, C., Thomas, A. and Mazure, H. 2011. Bacteriophage prehistory: is or is not Hankin, 1896, a phage reference. Bacteriophage 1: 174–178.

Abril, G. A. and Carrera, M. 2022. The use of bacteriophages in biotechnology and recent insights in to proteomics. Antibiotics 11: 653.

Adams, M. H. 1959. Bacteriophages. Interscience Publishers: New York, NY, USA.

Addy, H. S., Ahmad, A. A. and Huang, Q. 2019. Molecular and Biological Characterization of Ralstonia Phage RsoM1USA, a New Species of P2virus, Isolated in the United States. Frontiers in Microbiology 10: 267.

Adriaenssens, E. M., Vaerenbergh, J. V., Vandenheuvel, D., Dunon, V., Ceyssens, P. J., Proft, M. D., Kropinski, A. M., Noben, J. P., Maes, M. and Lavigne, R. 2012. T4-Related bacteriophage LIMEstone isolates for the control of soft rot on potato caused by '*Dickeya solani*'. PLoS ONE, 7, e33227.

Alomari, M. M. M., Dec, M., Nowaczek, A., Puchalski, A., Wernicki, A., Kowalski, C. and Urban-Chmiel, R. 2021. Therapeutic and prophylactic effect of the experimental bacteriophage treatment to control diarrhea caused by *E. coli* in newborn calves. ACS Infectious Diseases 7: 2093–2101.

Anonymous, 2013. World must sustainably produce 70 per cent more food by mid-century-UN report. https://news.un.org/en/story/2013/12/456912

Attai, H. and Brown, P. J. B. 2019. Isolation and characterization T4- and T7-like phages that infect the bacterial plant pathogen *Agrobacterium tumefaciens*. Viruses, 11, 528.

Balogh, B. 2002. Strategies of improving the efficacy of bacteriophages for controlling bacterial spot of tomato MSc. Thesis. Gainsville, Florida: University of Florida. 79 pp.

Balogh, B. 2006. Characterization and use of bacteriophages associated with citrus bacterial pathogens for disease control. PhD Thesis. Univ. FL: Gainesville. 112 pp.

Balogh, B., Canteros, B. I., Stall, R. E. and Jones, J. B. 2008. Control of citrus canker and citrus bacterial spot with bacteriophages. Plant Diseases 92: 1048–1052.

Balogh, B., Jones, J. B., Iriarte, F. B. and Momol, M. T. 2010. Phage therapy for plant disease control. Current Pharmaceutical Biotechnology 11: 48–57.

Barrow, P. A. 2001. The use of bacteriophages for treatment and prevention of bacterial disease in animals and animal models of human infection. Journal of Chemical Technology and Biotechnology 76: 677-682.

Basit, H. A., Angle, J. S., Salem, S. and Gewaily, E. M. 1992. Phage coating of soybean seed reduces nodulation by indigenous soil *Bradyrhizobia*. Canadian Journal of Microbiology 38: 1268-1269.

Bertaccini, A. and Duduk, B. 2009. Phytoplasma and phytoplasma diseases: A review of recent research. Phytopathologia Mediterranea 48: 355–378.

Boulé, J., Sholberg, P. L., Lehman, S. M., O'gorman, D. T. and Svircev, A. M. 2011. Isolation and characterization of eight bacteriophages infecting *Erwinia amylovora* and their potential as biological control agents in British Columbia, Canada. Canadian Journal of Plant Pathology 33: 308–317.

Cha, S. B., Yoo, A. N., Lee, W. J., Shin, M. K., Jung, M. H., Shin, S. W., Cho, Y. W. and Yoo, H. S. 2012. Effect of bacteriophage in enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) infected pigs. Journal of Veterinary Medicine Science 74: 1037–1039.

Chen, J. and Civerolo, E. L. 2008. Morphological evidence for phages in *Xylella fastidiosa*. Virology Journal 5: 75.

Civerolo, E. L. 1970. Relationships of *Xanthomonas pruni* bacteriophages to bacterial spot disease in Prunus. Phytopathology 63: 1279–1284.

Civerolo, E. L. and Keil, H. L. 1969. Inhibition of bacterial spot of peach foliage by *Xanthomonas pruni* bacteriophage . Phytopathology 12: 1966-1967.

Clark, J. R. and March, J, B. 2006. Bacteriophages and biotechnology: vaccines, gene therapy and anti-bacterials. TRENDS in Biotechnology 24(5): 212-218.

Considine, D. M. and Considine, G. D. 1995. Foods and Food Production Encyclopedia. New York, NY: Springer.

Czajkowski, R., Ozymko, Z., de Jager, V., Siwinska, J., Smolarska, A., Ossowicki, A., Narajczyk, M. and Lojkowska, E. 2015. Genomic, proteomic and morphological characterization of two novel broad host lytic bacteriophages FPD10.3 and FPD23.1 infecting pectinolytic *Pectobacterium* spp. and *Dickeya* spp. PLoS ONE 10: e0119812.

Das, M., Bhowmick, T. S., Ahern, S. J., Young, R., and Gonzalez, C. F. 2015. Control of pierce's disease by phage. PLoS ONE 10: e0128902.

d'Herelle, F. 1917. Sur un microbe invisible antagoniste des *Bacillies dysentériques*. Journal of Research Microbiology 165: 373–375.

Dong, Z., Xing, S., Liu, J., Tang, X., Ruan, L., Sun, M., Tong, Y. and Peng, D. 2018. Isolation and characterization of a novel phage Xoo-Sp2 that infects *Xanthomonas* oryzae p.v. *oryzae*. Journal of Genetic Virology 99: 1453–1462.

Dowding, J. E. 1973. Characterization of a bacteriophage virulent for *Streptomyces coelicolor* A3(2). Journal of Genetic Microbiology 76: 163–176.

Duckworth, D. H. and Gulig, P. A. 2002. Bacteriophages: potential treatment for bacterial infections. BioDrugs 16: 57-62.

Ellis, S. D., Boehm, M. J. and Coplin, D. 2008. Bacterial diseases of plants. Agriculture and Natural Resources 4: 401–404.

Fish, R., Kutter, E., Wheat, G., Blasdel, B., Kutateladze, M. and Kuhl, S. 2016. Bacteriophage treatment of intransigent diabetic toe ulcers: A case series. Journal of Wound Care 25 (Suppl. S7): S27–S33.

Gill, J. J. and Abedon, S. T. 2003. Bacteriophage Ecology and Plant. APSnet November. http://www.apsnet.org/online/ feature/phages/.

Gill, J. J. and Hyman, P. 2010. Phage choice, isolation, and preparation for phage therapy. Current Pharmaceutical Biotechnology 11: 2–14.

Goodridge, L. D. 2004. Bacteriophage biocontrol of plant pathogens: fact or fiction? Trends in Biotechnology 22: 384-385.

Goto, M. 1992. Fundamentals of Bacterial Plant Physiology. Academic Press, New York.

Grace, R., Rabiey, M., Petrifriman, V. and Jackson, R. 2021. Seeing the forest for the trees: Use of phages to treat bacterial tree diseases. Plant Pathology 70: 1987-2004.

Greer, G. G. 2005. Bacteriophage control of foodborne bacteria. Journal of Food Protection 68: 1102-1111.

Hagens, S. and Loessner, M. J. 2010. Bacteriophage for biocontrol of foodborne pathogens: Calculations and considerations. Current Pharmaceutical Biotechnology 11: 58–68.

Hammad, A. M. M. 1998. Evaluation of alginate- encapsulated *Azotobacter chroococcumas* as a phage-resistant and an effective inoculum. Journal of Basic Microbiology 38: 9-16.

Jennes, S., Merabishvili, M., Soentjens, P., Pang, K. W., Rose, T., Keersebilck, E., Soete, O., François, P. M., Teodorescu, S. and Verween, G. 2017. Use of bacteriophages in the treatment of colistin-only-sensitive *Pseudomonas aeruginosa septicaemia* in a patient with acute kidney injury-a case report. Critical Care 21: 129.

Kabanova, A. P., Shneider, M. M., Korzhenkov, A. A., Bugaeva, E. N., Miroshnikov, K. K., Zdorovenko, E. L., Kulikov, E. E., Toschakov, S. V., Ignatov, A. N. and Knirel, Y. A. 2018. Host specificity of the *Dickeya* bacteriophage PP35 is directed by a tail spike interaction with bacterial O-antigen, enabling the infection of alternative non-pathogenic bacterial host. Frontiers in Microbiology 9: 3288.

Keel, C., Ucurum, Z., Michaux, P., Adrin, M. and Hass, D. 2002. Deleterious impact of a virolent bacteriophage on survival and biocontrol activity of *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO in Natural Soil. Molecular Plant- Microbe Interactions 15: 567-576.

Kim, H., Kim, M., Bai, J., Lim, J. A., Heu, S. and Ryu, S. 2019. Colanic Acid Is a Novel Phage Receptor of *Pectobacterium carotovorum* Subsp. *carotovorum* Phage POP72. Frontiers in Microbiology 10: 143.

Kim, M. H., Park, S. W. and Kim, Y. K. 2011. Bacteriophages of *Pseudomonas tolaasii* for the biological control of brown blotch disease. Journal of Applied Biology and Chemistry 54: 99–104.

Kittler, S., Wittman, J., Mengden, R. A. L., Kelin, G., Rohde, C. and Lehnherr, H. 2017. The use of bacteriophages as one- health approach to reduce multidrug-resistant bacteria. Sustainable Chemistry and Pharmacy 5: 80-83.

Roller, W. 1999. Chemical approaches to managing plant pathogens. Pp. 359-398. In: Ruberson, J. R. and Dekker, M. (eds.). Handbook of Integrated Pest Management. CRC Press, New York.

Kotila, J. E. and Coons, G. H. 1925. Investigation on the blackleg disease of potato. Michigan Agricultural Experiment Station Technical Bulletin 67: 3-29.

Kutter, E. 1997. Phage therapy: Bacteriophages as antibiotics Olympia, Washington: The evergreen state college available from http://www.evergreen.edu/phage/ phagetherapy.htm.

Kutter, E., DE vos, D., Gvasalia, G., Alavidze, Z., Gogokhia, L., Kuhl, S. and Abedon, S. T. 2010. Phage therapy in clinical practice: Treatment of human infections. Current Pharmaceutical Biotechnology 11: 69–86.

Lauman, P. and Dennis, J. J. 2021. Advances in phage therapy: Targeting the *Burkholderia cepacia* complex. Viruses 13: 1331.

Lee, J. H., Shin, H., Ji, S., Malhotra, S., Kumar, M., Ryu, S. and Heu, S. 2012. Complete genome sequence of phytopathogenic *Pectobacterium carotovorum* Subsp. *carotovorum* bacteriophage PP1. Journal of Virology 86: 8899–8900.

Lee, S., Vu, N. T., Oh, E. J., Rahimi-Midani, A., Thi, T. N., Song, Y.-R., Hwang, I. S., Choi, T. J. and Oh, C. S. 2021. Biocontrol of soft rot caused by *Pectobacterium odoriferum* with bacteriophage PhiPccP-1 in Kimchi Cabbage. Microorganisms 9(4): 779.

Leverentz, B., Conway, W. S., Camp, M. J., Janisiewicz, W. J., Abuladze, T., Yang, M., Saftner, R. and Sulakvelidze, A. 2003. Biocontrol of *Listeria monocytogenes* on fresh-cut produce by treatment with lytic bacteriophages and bacteriocin. Applied and Environmental Microbiology 69: 4519-4526.

Lim, T. H., Kim, M. S., Lee, D. H., Lee, Y. N., Park, J. K., Youn, H. N., Lee, H. J., Yang, S. Y., Cho, Y. W. and Lee, J. B. 2012. Use of bacteriophage for biological control of *Salmonella enteritidis* infection in chicken. Research in Veterinary Science 93: 1173–1178.

Mahony, J., Mcauliffe, O., Ross, R. P. and van Sinderen, D. 2011. Bacteriophages as biocontrol agents of food pathogens. Current Pharmaceutical Biotechnology 22: 157–163.

Mallmann, W. and Hemstreet, C. 1924. Isolation of an inhibitory substance from plants. Agricultural Research 28: 599–602.

Mansfield, J., Genin, S., Magori, S., Citovsky, V., Sriariyanum, M., Ronald, P., Dow, M., Verdier, V., Beer, S. V. and Machado, M. A. 2012. Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. Molecular Plant Pathology 13: 614–629.

Manulis, S., Zutra, D., Kleitman, F., Dror, O., David, I., Zilberstaine, M. and Shabi, E. 1998. Distribution of streptomycin- resistance strains of *Erwinia amylovorain* Israel and occurrence of blossom blight in the autumn. Phytoparasitica 26: 223-230.

Marrone, P. G. 2014. The market and potential for biopesticides, in Biopesticides: State of the Art and Future Opportunities, ACS Symposium Series. Pp: 245–258. In: Gross, A. D., Coats, J. R., Duke, S.O. and Seiber, J.N. (eds.). Washington, DC: American Chemical Society.

Nagai, H., Miyake, N., Kato, S., Maekawa, D., Inoue, Y. and Takikawa, Y. 2017. Improved control of black rot of broccoli caused by *Xanthomonas campestris* pv. *Campestris* using a bacteriophage and a nonpathogenic *Xanthomonas* sp. strain. Journal of Genetic Plant Pathology 83: 373–381.

Nakayinga, R., Makumi, A., Tumuhaise, V. and Tinzaara,W. 2021. *Xanthomonas* bacteriophages: A review of their biology and biocontrol applications in agriculture. BMC Microbiology 21: 291.

Nittolo, T., Ravindran, A., Gonzalez, C. F. and Ramsey, J. 2019. Complete genome sequence of *Agrobacterium tumefaciens* myophage Milano. Microbiology Resource Announcement 8(25): e00587-19.

Okabe, N. and Goto, M. 1963. Bacteriophages of plant pathogens. Annual Review of Phytopathology 1: 397–418.

Ooi, M. L., Drilling, A. J., Morales, S., Fong, S., Moraitis, S., Macias-Valle, L., Vreugde, S., Psaltis, A. J. and Wormald, P. J. 2019. Safety and tolerability of bacteriophage therapy for chronic rhinosinusitis due to *Staphylococcus aureus*. JAMA Otolaryngology, Head and Neck Surgery 145: 723–729.

Pirhonen, M., Heino, P., Helander, I., Harju, P., and Palva, E. T. 1988. Bacteriophage T4 resistant mutants of the plant pathogen *Erwinia carotovora*. Microbial Pathogenesis 4: 359–367.

Pirhonen, M. and Palva, E. T. 1988. Occurrence of bacteriophage T4 receptor in *Erwinia carotovora.* MGG Molecular Genome and Genetics 214: 170–172.

Ray, D. K., Mueller, N. D., West, P. C. and Foley, J. A. 2013. Yield trends are insufficient to double global crop production by 2050. PLoS ONE 8: e66428.

Renu, M. B., Singh, U. B., Sahu, U., Nagrale, D. T. and Sahu, P. K. 2017. Characterization of lytic bacteriophage XCC9SH3. Journal of Plant Pathology 99: 233–238.

Romaniuk, L.V., Tovkach, F. I., Ivanitsa, T. V., Kushkina, A. I., Ostapchuk, A. N. and Gorb, T. E. 2010. Abortive infection in *Erwinia carotovora*, as a source of nanoparticles of phage nature. Mikrobiolohichnyi Zhurnal 72: 51–57.

Rombouts, S., Volckaert, A., Venneman, S., Declercq, B., Vandenheuvel, D., Allonsius, C. N., Van Malderghem, C., Jang, H. B., Briers, Y. and Noben, J. P. 2016. Characterization of novel bacteriophages for biocontrol of bacterial blight in leek caused by *Pseudomonas syringae* pv. *porri*. Frontiers in Microbiology 7: 279.

Sabzali, S. and Bouzari, M. 2021. Isolation, identification and some characteristics of two lytic bacteriophages against *Salmonella enterica* serovar Paratyphi B and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium from various food sources. FEMS Microbiol. Lett., 368, fnab037.

Sadunishvili, T., Kvesitadze, E. and Kvesitadze, G. 2015. *Xanthomonas vesicatoria* specific virus and its potential to prevent tomato bacterial spot disease. Pp. 35–47. In: Camesano, T. A. (ed.). Nanotechnology to Aid Chemical and Biological Defense; Springer: Dordrecht, The Netherlands.

Stefani, E., Obradovi´c, A., Gaši´c, K., Altin, I., Nagy, I. K. and Kovács, T. 2021. Bacteriophage-mediated control of phytopathogenic Xanthomonads: A promising green solution for the future. Microorganisms 9 (5): 1056.

Russo, M., Le, T., Moreland, R., Gonzalez, C. F., Liu, M. and Ramsey, J. 2019. Complete genome sequence of *Xanthomonas* phage Pagan. Microbiology Resource Announcement 8 (39): e01031-19.

Stein, B., Ramallo, J., Fogut, L. and Moradini, M. 2005. Chemical control of citrus canker in lemons in lemons *Citrus limon.* International Citrus Canker and Huanglongbing Research Workshop, Tucuman, Argentina. pp: 25.

Strange, R. N. and Scott, P. R. 2005. Plant disease: a threat to global food security. Annual Review of Phytopathology 43: 83–116.

Sulakvelidze, A., Alavidze, Z. and Morris, J. G. 2001. Bacteriophage therapy. Antimicrobes Agents Chemotherapy 45: 649–659.

Summers, W. C. 2005. Bacteriophage research: Early History. Pp 5-27. In: Kutter, E. and Sulakvelidze, A. (eds.). Bacteriophages: biology and applications. CRC Press, Boca Raton, Florida.

Thomas, R. C. 1935. A bacteriophage in relation to Stewarts disease of corn. Phytopathology 25: 371-372.

Twort, F. W. 1915. An investigation on the nature of ultramicroscopic viruses. Lancet 186: 1241–1243.

Upadhaya, S., Ahn, J., Cho, J., Kim, J., Kang, D., Kim, S. W., Kim, H. B. and Kim, I. H. 2021. Bacteriophage cocktail supplementation improves growth performance, gut microbiome and production traits in broiler chickens. Journal of Animal Science and Biotechnology 12: 49.

Vidaver, A. K. 1976. Prospects for control of phytopathogenic bacteria by bacteriophages and bacteriocins. Annual Review of Phytopathology 14: 451-465

Vidaver, A. K. and Schuster, M. L. 1960. Characterization of *Xanthomonas phaseoli* bacteriophages. Journal of Virology 4: 300- 308.

Voloudakis, A. E., Reignier, T. M., and Cooksey, D. A. 2005. Regulation of resistance to copper in *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*. Applied Environmental Microbiology 71: 782- 789.

Wilkinson, L. 2001. Félix d'Herelle and the Origins of Molecular Biology, Medica History. Cambridge: Cambridge University Press.

Wiggins, B. A., and Alexander, M. 1985. Minimum bacterial density for bacteriophage replication: implications for significance of bacteriophages in natural ecosystems. Applied Environmental Microbiology 49: 19-23.

Wittmann, J., Eichenlaub, R. and Dreiseikelmann, B. 2010. The endolysins of bacteriophages CMP1 and CN77 are specific for the lysis of *Clavibacter michiganensis* Strains. Microbiology 156: 2366–2373.

Wittmann, J., Gartemann, K. H., Eichenlaub, R. and Dreiseikelmann, B. 2011. Genomic and Molecular Analysis of Phage CMP1 from *Clavibacter michiganensis* Subspecies *michiganensis*. Bacteriophage 1: 6–14.

Yeh, T. Y. 2020. XerD dependent integration of a novel filamentous phage Cf2 into the *Xanthomonas citri* Genome. Virology 548: 160–167.

Yoshikawa, G., Askora, A., Blanc-Mathieu, R., Kawasaki, T., Li, Y., Nakano, M., Ogata, H. and Yamada, T. 2018. *Xanthomonas citri* Jumbo phage XacN1 exhibits a wide host range and high complement of TRNA genes. Scientific Reports 8 (1): 4486.

Zaczek-Moczydlowska, M. A., Young, G. K., Trudgett, J., Plahe, C., Fleming, C. C., Campbell, K. and Hanlon, R. 2020. Phage cocktail containing Podoviridae and Myoviridae bacteriophages inhibits the growth of *Pectobacterium* spp. under in vitro and in vivo conditions. PLoS ONE 15: e0230842.

Phage therapy and its application in plant diseases control

F. Samiei*

Received: 23 Jun., 2022 Accepted: 10 Sep., 2022

ABSTRACT

Bacteriophage refers to viruses that specifically infect bacteria. Bacteriophages are mainly used in medicine and veterinary medicine and have recently been considered for the control of plant diseases. The use of phages in the biocontrol strategy of plant pathogens is due to their ability to kill bacteria, as well as the observation of phages in the same bacterial host environment, which indicates their ability to survive in the same host environment. Phages have been used as a part of the integrated management of diseases due to their easy and convenient use, the possibility of being combined with other bactericides or alternating use with pesticides, and having a relatively low price. Although there are considerable doubts about the use of bacteriophages as effective biological control agents, the emergence of antibiotic-resistant bacteria and the concern about the possibility of transferring antibiotic resistance from plant pathogens to human pathogens and the emergence of copper-tolerant strains among plant bacteria have led to a renewed desire to control disease based on bacteriophages in modern agriculture. So far, phage therapy has been successfully used against agents such as bacterial spot of edible mushrooms (*Pseudomonas tolasi*), bacterial leaf spot of mango beans, soft rot caused by *Pectobacterium* species, apple and pear blight (Erwinia *amylovora*), potato scab (*Streptomyces scabies*), geranium bacterial blight (*Xantomonas hortorum* pv. *Pelargonii*), tomato bacterial spot (*Xantomonas campestris* pv. *vesicatoria*) have been used. It is true that bacteria can become resistant to phages in a manner similar to that seen in antibiotics, but the advantage of phages over antibiotics for treating pathogens is their ability to mutate and infect new hosts. The major problem of phage-based biological control is the conversion of successful laboratory experiments into effective control methods against the pathogen at the field level. For this purpose, it is necessary to gain a complete understanding of the ecology and the complex host-phage interaction in different plant environments in order to maximize the use of phages as a biocontrol method. In this article, an attempt has been made to review the potential of bacteriophages in the biological control of plant pathogens and introduce its advantages and challenges

Key words: Bacteriophage, biological control, phage therapy, plant pathogens

Assistant professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture and Basic Sciences, Roudehen Branch, Islamic Azad University, Roudehen, Iran

Corresponding author: fa_samiee@yahoo.com