مجله دنیای میکروب‌ها
سال هشتم شماره اول (پیاپی ۲۲) بهار ۱۳۹۴
صفحات ۵۳-۴۷

Original Article

ارزیابی اثرات آنتاگونیسمی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر روی *انتروباکترکوانی* جداسازی شده از گیاهان

فاطمه دارابی پور[۱]، خسرو عیسی زاده*[۲]، محمد فائزی قاسمی[۲]، ساسان صادقی خامنه تبریزی[۳]

[۱] کارشناس ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحدلاهیجان، دانشکده علوم پایه، گروه میکروب شناسی، [۲] استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان، دانشکده علوم پایه، گروه میکروب شناسی، [۳] مربی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه بیماری شناسی گیاهی

چکیده

سابقه و هدف: *انتروباکتر* در خاک، آب، فاضلاب و گیاهان یافت می شوند. لاکتوباسیلوس ها بخش مهمی از فلور طبیعی مجاری گوارشی، تناسلی، تنفسی انسان و حیوانات را تشکیل می دهند. این مطالعه با هدف بررسی اثرات آنتاگونیسمی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر روی *انتروباکتر کوانی* جداسازی شده از گیاه باقلا انجام گرفت.

مواد و روش ها: در این مطالعه مقطعی ابتدا نمونه های گیاهی بر روی محیط انتخابی و اختصاصی King B کشت داده شدند. *انتروباکتر کوانی* جداسازی شده به کمک آزمون های بیوشیمیایی و مولکولی تایید گردید. سپس اثرات آنتاگونیسمی باکتریوسین های جدا شده از *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بر روی *انتروباکتر کوانی* به روش انتشار چاهک بر اساس pH مورد بررسی قرارگرفت.

یافته ها: نتایج نشان داد که قطر هاله عدم رشد تشکیل شده *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر روی *انتروباکتر کوانی* در دامنه های مختلف pH نسبت به *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بیشتر می باشد. همچنین *لاکتوباسیلوس* های مورد بررسی بیشترین هاله عدم رشد را در pH ٤ نشان دادند.

نتیجه گیری: با توجه به نقش آنتاگونیستی باکتری های اسید لاکتیک در مهار *انتروباکتر کوانی*، استفاده از آن به عنوان عامل کنترل زیستی به منظور مبارزه با باکتری های بیماری زای گیاهان پیشنهاد می گردد.

واژگان کلیدی: *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتو باسیلوس پلانتاروم*، *انتروباکتر کوانی*، اثرات آنتاگونیسمی.

دریافت مقاله: مرداد ماه ۹۳ پذیرش برای چاپ: آبان ماه ۹۳

مقدمه

لاکتوباسیلوس ها (*Lactobacilles*) باکتری های میله ای (در برخی موارد مارپیچی یا کوکوباسیلی)، گرم مثبت، تخمیری و ارگانوتروف هستند. این میکروارگانیسم ها در شیر، گوشت و محصولات تخمیری مورد استفاده قرار می گیرند (٤-١). باکتری های اسیدلاکتیک به شکل گسترده ای در طبیت پراکنده هستند و قدرت تحمل اسید را دارا می باشند (٢، ٥ و ٦). این باکتری ها بخش مهمی از فلور طبیعی مجاری گوارشی، تناسلی، تنفسی انسان و حیوانات را تشکیل می دهند. *لاکتوباسیلوس* ها فلور غالب در شیر و محصولات لبنی هستند و به عنوان آغازگر به مواد غذایی تخمیری اضافه می شوند. از طرفی دارای اثرات ضد باکتریایی نیز می باشند. این اثرات به pH پایین و تولید برخی مواد اولیه و ثانویه وابسته می باشد (٥).

باکتری های اسیدلاکتیک با توجه به تولید متابولیت های ضد میکروبی اولیه و ثانویه در مراحل مختلف رشد، می توانند به صورت ماندگار از رشد باکتری های دیگر به ویژه باکتری های فاسد کننده و مولد مواد سمی در ماده غذایی

*) آدرس برای مکاتبه: لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان، گروه میکروب شناسی.
تلفن: ۰۹۳۹۱۲۲۵۵۷۰ پست الکترونیک: issa_kaam@yahoo.com

جلوگیری نمایند (٦). اساساً *لاکتوباسیلوس* ها را به عنوان میکروارگانیسم های ایمن می **شناسند**(۵، ۷ و ۸). مطالعات نشان داده است که این باکتری ها اثر ضدمیکروبی در مقابل باکتری های بیماری زا مانند *اشریشیا کلی* (*Escherichia coli*)، *استافیلوکوکوس اورئوس* (*Staphylococcus aureus*)، *سالمونلا* (*Salmonella*) و *لیستریا مونوسایتوژنز* (*Listeria monocytogenes*) دارند (۱، ۵ و ۸). باکتری های اسید لاکتیک ترکیبات مختلفی شامل روترین، اسیدهای آلی، دی استیل، دی اکسید کربن، لاکتوپراکسیداز، هیدروژن پراکسید و باکتریوسین ها را در طول تخمیر لاکتیکی تولید می نمایند. همچنین این میکروارگانیسم ها قادر به تخمیر کربوهیدرات برای تولید انرژی واسید لاکتیک می باشند (۱۰-۸). قابلیت باکتری های اسید لاکتیک در جلوگیری از رشد میکروب های بیماری زا به عوامل متعدد وابسته می باشد. از این موارد می توان به اسیدهای آلی مانند اسید لاکتیک، اسید استیک، پروپیونیک و فرمیک و یا اسیدهای چرب آزاد، آمونیاک، پراکسید هیدروژن، کاهش پتانسیل احیا و سنتز آنتی بیوتیک ها و باکتریوسین ها اشاره نمود (۱۳-۱۱).

انتروباکتر (*Enterobacter*)، یک باکتری گرم منفی و میله ای شکل و هوازی می باشد که باعث ایجاد لکه هایی در بخش بیرونی گیاهان می گردد (١٦-١٤). انگلبین (Engelbeen) و همکاران در سال ۲۰۰۹ در بررسی خود نشان دادند که باکتری انتروباکتر می تواند در بافت داخلی گیاه اکالیپتوس زندگی نماید (١٤).

هدف از این مطالعه بررسی اثرات آنتاگونیسمی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر روی *انتروباکتر کوانی* جداسازی شده از گیاه باقلا بود.

مواد و روش ها

الف) جمع آوری نمونه و شناسایی باکتری: در این مطالعه مقطعی نمونه ها در شرایط استریل به آزمایشگاه منتقل شدند. در ابتدا گیاه باقلا به وسیله ی آب مقطر استریل شستشو گردید. سپس قسمتی از پوسته نازک سطحی اولیه گیاه باقلا که به صورت غلافی دانه ها را در بر می گیرد و مشکوک به حضور باکتری مورد نظر بود (به دلیل فساد و سیاه شدگی) به کمک پنس استریل جداسازی گردید. نمونه یاد شده بر روی محیط کشت King Medium B Base (King B) (مرک، آلمان) قرار داده شد و به مدت ٢٤ تا ٤٨ ساعت در دمای ۳۰ درجه سیلیسیوس گرماگذاری گردید. کلنی هایی که بر روی محیط رشد ظاهر شدند مجدداً در محیط یاد شده کشت داده شدند.

پس از خالص سازی، کلنی های زرد رنگ و براق مشکوک به انتروباکتر به کمک رنگ آمیزی گرم، رشد در دمای ٤، ۱۰ و ٤٢ درجه سیلیسیوس، رشد در ۵ درصد NaCl و آزمون های بیوشیمیایی مانند اندول، کاتالاز، اکسیداز، MR (Methyl–Red)، VP (Voges-Proskaure) مورد شناسایی قرار گرفتند (۱۷).

ب) استخراج DNA: تک کلنی ٤٨ ساعته به ۱۰ میلی لیتر محیط کشت Trypticase Soy Broth (TSB) (مرک، آلمان) اضافه گردید و در شیکر انکوباتور با دمای ۳۰ درجه سیلیسیوس و ۱۵۰ دور در دقیقه به مدت ٢٤ ساعت گرماگذاری شد. پس از تهیه لام و بررسی خلوص، به منظور استخراج DNA از کیت استخراج باکتری های گرم منفی CinnaPure DNA (سیناژن، ایران) استفاده گردید. میزان DNA به کمک دستگاه Biowave DNA (Bioneer، کره جنوبی) در طول موج ٢٦٠ نانومتر اندازه گیری شد.

ج) واکنش زنجیره ای پلی مراز (PCR): به منظور تکثیر ژن *16S rRNA* از پرایمرهای ذکر شده در جدول ۱ استفاده گردید. واکنش PCR در حجم ۱۰۰ میکرولیتر شامل ۱۰ میکرولیتر بافر PCR (10X)، ۲ میکرولیتر dNTPs (۱۰میلی مولار)، ۳ میکرولیتر $MgCl_2$ (۵۰ میلی مولار)، ۰/۵ میکرولیتر آنزیم Taq DNA polymerase، ۵ میکرولیتر از هر پرایمر (۱۰میلی مولار) (سیناژن، ایران)، ۳ میکرولیتر DNA و ۷۱/۵ میکرولیتر آب مقطر دیونیزه انجام شد (۱۸ و ۱۹).

واکنش PCR در دستگاه Techne ساخت کشور امریکا با شرایط واسرشت شدن ابتدایی در دمای ۹۵ درجه سیلیسیوس به مدت ۳ دقیقه، ۳۰ چرخه شامل واسرشت شدن اصلی در دمای ۹۳

جدول ۱: پرایمرهای مورد استفاده در مطالعه (۱۸).

پرایمر	توالی	طول قطعه (جفت باز)
27F	5`- GAGTTTGATCCTGGCTCAG- 3`	۱۵۰۰
1541R	5`- AGTCCCGCAACGAGCGCAAC-3`	
4F	5`- TATCGGAGAGTTTGATCCTGG-3`	۱۵۰۰
1505R	5`-GATACGGCTACCTTGTTACGA-3`	

درجه سیلیسیوس به مدت ٤٥ ثانیه، اتصال در دمای ٥٨ درجه سیلیسیوس به مدت ۱ دقیقه، طویل شدن در دمای ۷۲ درجه سیلیسیوس به مدت ۹۰ ثانیه و طویل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سیلیسیوس به مدت ۱۰ دقیقه انجام گرفت (۱۹). محصولات PCR بر روی ژل آگاروز ۰/۷ درصد منتقل و الکتروفورز گردیدند. پس از رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید به منظور مشاهده اندازه باندها از دستگاه Gel Documentation استفاده شد.

در این مطالعه به منظور کنترل مثبت از DNA سویه PTCC 1339 با غلظت ٥ mg/ml و از آب مقطر به عنوان کنترل منفی استفاده گردید.

د) خالص سازی و تعیین توالی قطعات تکثیر شده: به منظور بالا بردن عملکرد محصول PCR در تعیین توالی، عمل تخلیص با کمک کیت GF-1 PCR Cleanup (مرک، آلمان) انجام شد. محصولات خالص سازی شده با استفاده از روش Dye-terminator sequencing و تکنیک Cappillary electrophoresis با دستگاه bio systems 3730 XL DNA Analyzer Applied در شرکت Bioneer کره جنوبی تعیین توالی شدند.

ه) تهیه میکروارگانیسم های مورد نظر: در این مطالعه سویه های استاندارد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* PTCC 1643 و لاکتوباسیلوس پلنتاروم PTCC 1058 از کلکسیون میکروبی سازمان پژوهش های علمی وصنعتی ایران تهیه شدند. به منظور فعال سازی باکتری های یاد شده از محیط De Man, Rogosa and Sharpe (MRS Broth) (مرک، آلمان) استفاده شد (۱۳).

لوله های محیط کشت در دمای ۳۷ ºC به مدت ۲٤ ساعت در شرایط بی هوازی گرماگذاری شدند تا کدورت معادل ۰/٥ مک فارلند به دست آید. سپس مجدداً به مدت ٤ روز در دمای ۳۷ درجه سیلیسیوس قرار داده شدند تا زمان کافی برای تولید مواد ضد میکروبی فراهم گردد.

پس از انجام مراحل یاد شده آنها به لوله استریل منتقل شدند و به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۳۰۰۰ سانتریفوژ گردیدند. محلول رویی جداسازی شد. pH مایع محیط کشت جدا شده در محدوده ۷-٦/٥ به وسیله NaOH تنظیم گردید.

و) روش انتشار در چاهک (Well diffusion): در این روش ابتدا سوسپانسیون نیم مک فارلند از باکتری های جدا شده در محیط MRS Broth تهیه گردید. سپس باکتری ها بر روی محیط مولر هینتون آگار (مرک، آلمان) کشت داده شدند.

برای پی بردن به میزان فعالیت ضد میکروبی *لاکتوباسیلوس*، چاهک هایی با قطر ٦ میلی متر در شرایط استریل بر روی محیط های یاد شده که با باکتری های مورد آزمایش کشت داده شدند، ایجاد گردید. ۱۰۰ میکرولیتر از روماند کشت های مایع *لاکتوباسیلوس* ها پس از سانتریفیوژ در دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه به در درون هر چاهک اضافه گردید. کشت های باکتریایی در دمای ۳۷ درجه سیلیسیوس به مدت ۲٤ تا ۷۲ ساعت گرماگذاری شدند. خواص ضدمیکروبی با اندازه گیری قطر هاله های مهاری میکروارگانیسم مورد آزمایش در اطراف چاهک بعد از هر گرماگذاری تعیین گردید.

هر آزمون سه بار تکرار و میانگین قطر هاله های عدم رشد محاسبه گردید. چاهک های بلانک بدون محلول روماند به عنوان کنترل در نظر گرفته شدند (۲ و ۲۰).

ز) بررسی اثرات pH : به منظور بررسی اثرات pH بر روی فعالیت ضد میکروبی باکتریوسین تولید شده توسط سویه های استاندارد بر روی باکتری های جداسازی شده، pH محلول رویی در محدوده های متفاوت ۲، ٤، ٦، ۸ و ۱۰ تنظیم گردید و به مدت ٤ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد تا مدت ماندگاری آنها سنجیده شود. سپس فعالیت ضد میکروبی آنها با روش یاد شده قبلی مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها

در این مطالعه نتایج آزمون های انجام شده با ویژگی های فنوتیپیک گزارش شده در مورد باکتری *انتروباکتر کوانی* (*Enterobacter cowanii*) مطابقت داشت. به این صورت که این باکتری گرم منفی، رشد در ۱۰ و ٤۲ درجه سیلیسیوس مثبت و در ٤ درجه سیلیسیوس منفی، رشد در ٥ درصد NaCl و از نظر آزمون های بیوشیمیایی اندول، اکسیداز و MR منفی و کاتالاز، مک کانکی و VP مثبت بود.

از ژن *16S rRNA* سویه دریافتی، ۱٤۸۷ نوکلئوتید تعیین توالی گردید. مقایسه توالی این ژن با توالی های موجود در بانک های اطلاعاتی RDP (Database Project Ribosomal) و Gen Bank حاکی از مشابهت ۹۹/۷۱ درصدی با توالی ژن *16S rRNA* سویه تایپ CIP *Enterobacter cowanii* 107300^{T} (ثبت شده در بانک ژنی با کد AJ508303) بود.

قطر هاله عدم رشد متابولیت تولید شده توسط *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* علیه باکتری *انتروباکتر کوانی* جدا شده از گیاه باقلا در pH های ۲، ٤، ٦، ۸ و ۱۰ به ترتیب برابر با ۸، ۱۲، ۱۰، ۰ و ۰ میلی متر بود.

قطر هاله عدم رشد متابولیت تولید شده توسط *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* علیه باکتری *انتروباکتر کوانی* جدا شده از گیاه باقلا در pH های ۲، ٤، ٦، ۸ و ۱۰ به ترتیب معادل ۱۲، ۱٥، ۰، ۰ و ۰ میلی متر بود.

اثر ضد میکروبی باکتریوسین جدا شده از *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در مقایسه با *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در دامنه های مختلف pH بر روی *انتروباکتر کوانی* بیشتر بود. همچنین *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بیشترین هاله عدم رشد را در pH ٤ نشان دادند.

بحث

در مطالعه حاضر برای اولین بار، اثرات آنتاگونیسمی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر روی *انتروباکتر کوانی* جدا شده از گیاه باقلا مورد بررسی قرارگرفت. نتایج نشان داد که این باکتری های اسید لاکتیک اثر مهاری بر روی *انتروباکتر کوانی* دارند. همچنین مشخص گردید که این اثرات مهاری با توجه به پارامتر pH متفاوت می باشد. در مجموع *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* نسبت به *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* اثر مهاری بیشتری را بر روی *انتروباکتر کوانی* اعمال نمود.

تاکنون مطالعه ای مبنی بر اثرات آنتاگونیسمی *لاکتوباسیلوس ها* بر روی انتروباکترهای بیماری زای جدا شده از گیاهان انجام نشده است.

گونه های متعلق به جنس انتروباکتر به طور معمول در ارتباط با محیط زیست طبیعی می باشند و معمولاً در آب، فاضلاب و خاک یافت می شوند. برخی از آن ها سبب بیماری در درختان و گیاهان می گردند. در حالی که برخی دیگر ازآن ها عوامل بیماری زای فرصت طلب در انسان می باشند (۱٤).

در مطالعه ای که توسط انگلبین (Engelbeen) و همکاران بر روی درختان اکالیپتوس در اوروگوئه انجام شد، علایمی از پژمردگی و فساد تدریجی همراه با ضایعات نمناک و ظاهری چرب در گیاهان مشاهده گردید که علتی ناشناخته داشت (۱٤).

برای مطالعه بر روی این ضایعات، برگ ها و شاخه های مشکوک جمع آوری و مورد ارزیابی قرار گرفتند. باکتری های جدا شده از بافت های آلوده، گرم منفی و بی هوازی اختیاری بودند و اکثر آن ها رنگدانه های زرد رنگ تولید می کردند.

در ابتدا تصور می شد که این باکتری ها متعلق به گونه *پانتوآ آناناتیس* (*Pantoa ananatis*)، عامل پژمردگی و بیماری زایی در گیاهان اکالیپتوس واقع در آفریقای جنوبی می باشند. اما با بررسی بیشتر مشخص گردید که این باکتری ها به گونه *انتروباکتر کوانی* تعلق دارند.

در گذشته تنها ۳ گونه متعلق به *انتروباکتر* را به عنوان عامل بیماری زا در گیاهان می شناختند که شامل: *انتروباکتر کانسروژنوس* (*Enterobacter cancerogenus*)، *انتروباکتر پیرینوس* (*Enterobacter pyrinus*) و *انتروباکتر نیمی پریسورالیس* (*Enterobacter nimipressuralis*) بوده است. اما مطالعه انگلبین (Engelbeen) نشان داد که این *انتروباکتر*

کوانی نیز می تواند به عنوان عامل پژمردگی و فساد تدریجی در گیاهان مطرح باشد (١٤). همچنین این احتمال وجود دارد که باکتری جدا شده در این مطالعه به عنوان یک اندوفیت (پارازیت گیاهی) در اکالیپتوس با سویه های دیگر از *انتروباکتر* سازگاری داشته باشد (١٤).

در مطالعه دیگری که بر روی بذر گیاه تنباکو انجام گرفت، مشخص گردید که *انتروباکتر کوانی* در شرایط زیستی (دمای ۳۰ درجه سیلیسیوس محیط) می تواند به ایجاد بیماری کمک کرده و شرایط را برای حضور باکتری های دیگر مساعد نماید (١٤).

نتیجه گیری

با توجه به نقش مهم باکتری های اسید لاکتیک در مهار *انتروباکتر کوانی*، می توان در آینده از آن برای مبارزه با باکتری های بیماری زای گیاهان به عنوان عامل کنترل زیستی استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از کارشناسان آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان به دلیل همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش کمال امتنان را دارند.

References

1. Parada JL, Caron C, Mediros A, Soccol C. Bacteriocins from lactic acid bacteria: purification, properties and use as biopreservative. An Int J. 2007; 521-542.

2. Kazemi Darsanaki R, Laleh Rokhi M, Azizollahi Aliabadi M, Issazadeh Kh. Antimicrobial activities of Lactobacillus strains isolated from fresh vegetables. Mid J Sci Res. 2012; 11(9): 1216-1219.

3. Rattanachaikunsopon P, Humkhachorn P. Lactic acid bacteria: their antimicrobial compounds and their uses in food production. Ann Biol Res.2010; 1(4): 218-228.

4. Dike KS, Sanni AL. Influence of starter culture of lactic acid bacteria on the shelf life of agidi, an indigenous fermented cereal product. Afr J Biotechnol. 2010; 9(46): 7922-7927.

5. Yang EN, Fan L, Jiang Y, Doucette C, Fillmore SH. Antimicrobial activity of bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from cheeses and yogurts. AMB Express. 2012; 2(1): 48

6. Zaheri A, Emami A, Noeiaghdam R. Antimicrobial activity of cholesterol eliminator lactobacilli. J Microbial World. 2010; 2(3): 122-127. [In Persian]

7. Ongol –Martin P. Lactic acid bacteria in health and disease. J Health Sci. 2012; 1: 1-12

8. Saranya S,Hemashenpagam N. Antagonistic activity and antibiotic sensitivity of lactic acid bacteria from fermented dairy products. Adv Appl Sci Res. 2011; 2(4): 528-534.

9. Servin AL. Antagonistic activities of lactobacilli and *Bifidobacteria* against microbial pathogens. FEMS Microbiol Rev. 2004; 28: 405-440.

10. Ligocka A, Paluszak Z. Capability of lactic acid bacteria to inhibit pathogens in sewage subjected to biotechnology. Bull Vet Inst Pulawy. 2005; 49: 23-27.

11. Sankar R, Priyanka D, Reddy S, Rajanikanth P, Kumar K, Indira M. Purification and characterization of bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* isolated from cow milk.

Int J Microbiol Res. 2012; 3 (2): 133-137.

12. Noroozi J, Hanafari A, Beiglari Sh. Isolation and identification of lactic acid bacteria in the peoples mouth and studying on their inhibitory effect on some entropathogenic bacteria. J Microbial World. 2009; 1: 29-38. [In Persian]

13. Dorri K, Hemayatkhah Jahromi V, Namdar N, Kargar Jahromi H. Inhibitory effect of *Lactobacillus* strains isolated from the feces of children on the pathogenic bacteria of the intestines and stomach. J Microbial World. 2011; 3(4): 229-237. [In Persian]

14. Engelbeen K, Telechea N, Brandy CL, Coutinho TA, Vos P DE, Wingfield MJ, Cleenwerck I. Isolation of *Enterobacter cowanii* from Eucalyptus showing symptoms of bacterial blight and dieback in Uruguay. Lett Appl Microbiol. 2009; 3: 461-465.

15. Kaznowski A, Pawtowski K. Resistance patterns and integrin cassette arrays of *Enterobacter cloacae* complex strain of human origin. J Med Microbiol. 2011; 60: 737-743.

16. Morand P, Tazi A, Domaine V. Specific distribution within the *Enterobacter cloacae* complex of strains isolated from infected orthopedic implants. J Clin Microbiol. 2009; 47(8): 2489.

17. Danesh Lari S, Tahya Tahamtan Y, Hayati M , Kargar M. Rapid and simultaneous identify of virulence factors and capsular typing of *Pasteurella multocida* isolated from sheep and goats by Multiplex PCR. J Microbial World. 2010; 3(3): 162-168. [In Persian]

18. Damiani G, Amedeo A, Bandi C, Fani R, Bellizzi D, Sgaramella V. Reference of Primers: 27f. Chapter 10. Edited by Kenneth W. Adolph. Microbial Genome Methods, Bacteria identification by PCR based techniques. CRC Press, USA. 1996; 167-178.

19. Coenye T. Reference of Primers: 1541R. Classification of *Alcaligenes faecalis* like isolates from the environment and human clinical samples as *Ralstonia gilardii* sp. nov. Int J Sys Bacterial. 1999; 49: 405-413.

20. Kazemii Darsnakii R, GHaemii N, Mirpoor M . Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from probiotic products (*Lactobacillus* and *Bifidobacterium*). J Microbial Biotech. 2011; 2(7): 29-36. [In Persian]

Journal of Microbial World
Volume 8, No. 1, April 2015

Original Article

An evaluation to survey the antagonistic effects of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus plantarum* against *E. cowanii* isolated from plants

Fatemeh Darabipour[1], Khosro Issazadeh[2], Mohammad Faezi Ghasemi[2], Sassan Sadeghi Khameneh Tabrizi[3]

[1]M.Sc., Department of Microbiology, Lahijan branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran.

[2]Assistant Professor, Department of Microbiology, Lahijan branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran.

[3]Lecturer, Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Lahijan branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran.

Abstract

Background & Objectives: *Enterobacter* are found in water, sewage and plants. *Lactobacillus* are one of the dominant microorganisms in normal flora of intestinal tracts, genital system and respiratory tracts of humans and animals. The aim of this study was to evaluate the antagonistic effects of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus plantarum* against *Enterobacter cowanii* isolated from broad bean plant.

Materials & Methods: In this sectional study Fava plants were collected, and after sampling, the samples were cultured on selective and specific King B media. The presence of *E. cowanii* was confirmed based on biochemical and molecular techniques. Then, antagonistic effects of produced bacteriocins by *L. plantarum* and *L. acidophilus* on *E. cowanii* with well diffusion method on basis of pH were studied.

Results: Based on this study, the growth inhibition zones produced by *L.plantarum* in different pH against *E.cowanii* were higher than that by *L.acidophilus*. Furthermore, the highest inhibition zone of Lactobacilli was observed in pH 4.

Conclusion: According to antagonistic effects of lactic acid bacteria in the inhibition of *E.cowanii,* this factor can be used for treatment of the diseases caused by this factor.

Keywords: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Enterobacter cowanii*, Antagonistic effects.

Correspondence to: Khosro Issazadeh

Tel: +989391225570

E-mail: issa_kaam@yahoo.com

Journal of Microbial World 2015, 8(1): 47-53.