مجله دنیای میکروب‌ها
سال پنجم، شماره سوم و چهارم (پیاپی ۱۳) زمستان ۱۳۹۱
صفحات ۹۲-۸۵

Original Article

بررسی بازدارندگی ۲ عصاره گیاهی بر حساسیت جمعیتی باکتری *کروموباکتریوم ویولاسیوم* CV026

میلاد مخفیان*[۱]، نادر حسن زاده[۲]، کامبیز لاریجانی[۳]

[۱] کارشناس ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه بیماری شناسی گیاهی
[۲] دانشیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه بیماری شناسی گیاهی
[۳] استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه شیمی

چکیده

سابقه و هدف: بسیاری از باکتری‌ها از مکانیسم حساسیت جمعیتی به منظور انجام فعالیت‌های حیاتی خود مانند بقا، تحرک، تولید بیوفیلم، فاکتورهای بیماری‌زایی و غیره استفاده می‌نمایند. هرگونه اختلال در این سیستم ارتباطی سلول به سلول، موجب ناتوانی باکتری‌ها در انجام وظایف ذاتی خود از جمله بیماری‌زایی می‌گردد. این مطالعه با هدف ارزیابی تأثیر عصاره‌های گیاهی ازمک و شوید بر روی خاصیت حساسیت جمعیتی باکتری *کروموباکتریوم ویولاسیوم* CV026 انجام گردید.

مواد و روش‌ها: گونه‌های گیاهی ازمک و شوید از حاشیه اطراف مناطق کشاورزی و مزارع تجاری شهر ارومیه جمع آوری گردید. عصاره گیری به کمک حلال‌های آلی اتانول ۹۶٪، ان- هگزان و متانول انجام شد. به منظور ارزیابی میزان خاصیت باکتری کشی و کاهش ویولاسئین به ترتیب از آزمون‌های ضدمیکروبی و آزمون ضدحساسیت جمعیتی استفاده گردید. همچنین بازدارندگی قدرت بیماری‌زایی به واسطه خاصیت ضد حساسیت جمعیتی و القای اسیل هموسرین لاکتون توسط سویه پکتوباکتریوم *کاراتووروم* زیرگونه *کاراتووروم* نیز مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان داد که هر دو عصاره گیاهی مورد بررسی به صورت معنی داری دارای خاصیت ضدحساسیت جمعیتی می‌باشند. به طوری که میزان این ویژگی در گیاه ازمک کمتر از گیاه شوید بود. همچنین این دو گیاه دارای خاصیت باکتری کشی نیز بودند به طوری که میزان آن در گیاه ازمک بیش از گیاه شوید گزارش گردید.

نتیجه گیری: با توجه به کاهش میزان ویولاسئین تولیدی سویه CV026 ناشی از اثرات ضد حساسیت جمعیتی عصاره‌های گیاهی ازمک و شوید، می‌توان از این ترکیبات گیاهی به عنوان روشی مناسب در راستای مبارزه با باکتری‌های بیماری‌زا بدون ایجاد مقاومت استفاده نمود.

واژگان کلیدی: ازمک، شوید، بازدارندگی، حساسیت جمعیتی، *کروموباکتریوم ویولاسیوم* CV026.

دریافت مقاله: اردیبهشت ۱۳۹۱ پذیرش برای چاپ: تیر ۱۳۹۱

مقدمه

طیف وسیعی از باکتری‌ها به واسطه داشتن ریز مولکول های قابل انتشاری به نام خودالقاگرها (autoinducers) با یکدیگر ارتباط برقرار می کنند. این مکانسیم که به عنوان حساسیت جمعیتی (Quorum Sensing=QS) معروف است، تراکم سلول‌های باکتریایی را مشخص و سلول‌ها را وادار به بیان ژن‌های بیماری‌زایی و فعالیت‌های اجتماعی دیگر می‌نماید. سیستم حساسیت جمعیتی از دو پروتئین فرستنده و گیرنده تشکیل شده است که نوع آن در باکتری‌های گرم مثبت، ساده و از نوع پپتیدی و در گرم منفی‌ها متعدد و چندساختاری می‌باشد

* آدرس برای مکاتبه: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه بیماری شناسی گیاهی
تلفن: ۰۹۱۴۱۴۷۵۳۳۲ پست الکترونیک: m.makhfian@srbiau.ac.ir

(۱). مولکول‌های سیگنال در حالت طبیعی تولید و هم‌زمان با رشد سلول‌های باکتریایی نیز ترشح می‌شوند. با گذشت زمان و افزایش جمعیت باکتریایی، تراکم این سیگنال‌ها نیز در محیط پیرامون افزایش می‌یابد. این مولکول‌ها به محض رسیدن به میزان مشخص با فعال کردن ژن‌های هدف وابسته به سیستم QS، اثرات فنوتیپی خاصی را القا و بیان می‌نمایند (۲). بیان تنظیم شده این فنوتیپ‌ها به طور موثری می‌تواند از اتلاف انرژی باکتریایی در هنگام ساخت ترکیبات غیرضروری جلوگیری کند. مطالعات نشان داده است که بسیاری از باکتری های گرم منفی بیماری زای انسانی و گیاهی مانند جنس های *سودوموناس* (*Pseudomonas*)، *بورسلا* (*Burcella*)، *رالستونیا* (*Ralstonia*)، *ویبریو* (*Vibrio*)، *اگروباکتریوم* (*Agrobacterium*) و *یرسینیا* (*Yersinia*) از QS به منظور تنظیم سنتز فاکتورهای بیماری زا بهره می گیرند (۵-۲). در مقابل، باکتری های گرم مثبت مانند جنس های *باسیلوس* (*Bacillus*)، *استرپتومایسس* (*Streptomyces*)، *استرپتوکوکوس* (*Streptococcus*)، *استافیلوکوکوس* (*Staphylococcus*) و *انتروکوکوس* (*Entrococcus*) از این مکانیسم به منظور تولید پپتیدهای ضدمیکروبی (اگزوتوکسین) و نیز تشکیل بیوفیلم استفاده می‌نمایند (۹-۶). از آن‌جایی که مکانیسم QS فرآیندی حیاتی برای باکتری‌ها به شمار می‌آید، هرگونه اختلال در این فرآیند می‌تواند به عنوان روشی نوین و کارآمد در راستای کاهش آلودگی های باکتریایی در انسان، حیوانات و گیاهان مطرح باشد. به همین دلیل در سال های اخیر مطالعات زیادی بر روی عوامل مهارکننده این مکانیسم صورت گرفته است. از اولین ترکیبات بازدارنده QS می‌توان به ترکیبات فورانونی هالوژن‌دار حاصل از جلبک قرمز *دلیسی پولکرا* (*Delisea pulchra*) اشاره نمود (۱۰). همچنین بررسی‌ها نشان داده است که گیاهان *اسکوتلاریا بازیکالنسیس جیورجی* (*Scutellaria basicalensi* Georgi) و *ملوکوپ لونا-آنکندا* (*Melocope luna-ankenda*) می توانند به ترتیب موجب کاهش ویولاسئین (violacein) در باکتری *کروموباکتریوم ویولاسیوم* CV026 (رفتاری کاملاً وابسته به QS) و نیز مهار فاکتورهای بیماری‌زایی تحت کنترل QS در *سودوموناس آئروجینوزا* PAO1 گردند (۱۱ و ۱۲). با توجه به عدم وجود گزارشات مبنی بر بررسی خاصیت ضد حساسیت جمعیتی گیاهان ازمک و شوید این مطالعه برای اولین بار با هدف ارزیابی خاصیت ضد QS عصاره‌های گیاهان یاد شده بر روی باکتری *کروموباکتریوم ویولاسیوم* CV026 انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

الف) سویه های باکتریایی و محیط های کشت: در این مطالعه از سویه‌های باکتریایی *کروموباکتریوم ویولاسیوم* CV026 و *پکتوباکتریوم کاراتووروم* زیرگونه *کاراتووروم* (*Pcc*) به ترتیب به عنوان گزارشگر دریافت مولکول‌های اسیل هموسرین لاکتون (AHL) و عامل مولد پوسیدگی نرم گیاهی استفاده گردید (۱۳). در ابتدا باکتری‌های یاد شده به صورت غیرهوازی بر روی محیط LB (Luria Bertani) به مدت ۴۸-۲۴ ساعت به ترتیب در دمای ۲۸°C و ۲۷°C کشت داده شدند. علاوه بر این از محیط‌های کشت MH (Mueller-Hinton) جهت آزمون ضد میکروبی و STA (Soft Top Agar) همگی مربوط به شرکت مرک آلمان به منظور انجام آزمون ضدحساسیت جمعیتی و نیز به عنوان پوشش در لایه سطحی استفاده گردید (۱۴). در این مطالعه از مولکول سیگنالی N-Octanoyl-DL-homoserine (C8-HSL)، شرکت سیگما استفاده شد.

ب) مواد گیاهی و عصاره گیری آن ها: گونه های گیاهی ازمک با نام علمی *لپیدیوم درابا*-ال (*Lepidium draba* L.) و شوید با نام علمی *آنتوم گراویولنس*-ال (*Anethum graveolens* L.) به ترتیب از حاشیه اطراف مناطق کشاورزی و مزارع تجاری شهر ارومیه جمع آوری گردید. به منظور تهیه عصاره گیاهی، در ابتدا نمونه‌ها در دمای اتاق به مدت یک هفته دور از نور آفتاب خشک و سپس آسیاب شدند. سپس ۱۰۰ گرم از هر نمونه گیاهی در مجموع با ۶۰۰ میلی لیتر حلال (اتانول ۹۶٪: ان-هگزان و متانول) مخلوط و به مدت ۴۸ ساعت بر روی شیکر با دور مناسب عصاره‌گیری شدند. همچنین به منظور حذف مواد ریز ناخواسته، عصاره‌های گیاهی با استفاده از کاغذ صافی فیلتر

گردیدند. سپس در شرایط خلاء و در دمای کمتر از ۴۰°C با کمک دستگاه روتاری (Heidolph، آلمان) تمامی مواد و حلال‌های آلی از عصاره‌ها حذف شدند. عصاره‌های تغلیظ شده با غلظت مناسبی از DMSO (Dimethyl Sulfoxide) رقیق و پس از عبور از پالایه میلی پور ۰/۲۲ میکرونی، به درون ویال‌های استریل منتقل گردیدند. در نهایت تمامی عصاره‌ها برای بررسی‌های بیشتر در دمای ۲۰°C- نگهداری شدند.

ج) آزمون حساسیت ضد میکروبی: به منظور ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی عصاره های گیاهی ازمک و شوید، در ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از کشت ۲۴ ساعته باکتری *کروموباکتریوم ویولاسیوم* CV026 (OD600 ۰/۱) در محیط کشت MH پخش گردید. سپس ۲۰ میکرولیتر از هر کدام از عصاره ها به دیسک های استریل در ابعاد ۶ میلی متر آغشته شدند. دیسک های یاد شده و نیز دیسک های تتراسایکلین (به عنوان آنتی بیوتیک استاندارد) در پلیت ها قرار داده شدند و در دمای ۲۸°C به مدت ۲۴ ساعت گرماگذاری گردید. فعالیت ضدمیکروبی عصاره ها با اندازه گیری قطر هاله بازدارندگی ارزیابی شد (۱۴).

د) آزمون ضدحساسیت جمعیتی: به منظور بررسی خاصیت ضدحساسیت جمعیتی عصاره های گیاهی ازمک و شوید از محیط کشت دو لایه استفاده شد. ۱۰ میلی لیتر از محیط کشت STA با ۲۰۰ میکرولیتر از باکتری *کروموباکتریوم ویولاسیوم* CV026 و نیز ۴۰ میکرولیتر از سیگنال C8-HSL مخلوط گردید. سوسپانسیون یاد شده مستقیماً به پتری‌دیش های حاوی محیط کشت LB جامد انتقال داده شد. در ادامه چاهک‌هایی به قطر ۵ میلی متر در محیط کشت ها ایجاد و ۵۰ میکرولیتر از عصاره ها به درون این چاهک ها تزریق گردید (۱۴). در این بررسی حلال DMSO و آب استریل به عنوان کنترل منفی و آنتی بیوتیک تتراسایکلین به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شدند. پتری‌دیش ها در دمای ۲۸°C به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت گرماگذاری و نتایج بر اساس میزان هاله بازدارندگی رشد باکتری و مقایسه تأثیر خاصیت QS با فعالیت آنتی‌بیوتیکی مورد بررسی قرار گرفت.

ه) آزمون بازدارندگی بیماری زایی به واسطه خاصیت ضد QS: در ابتدا غده‌های سیب زمینی پس از شستشو با آب و ضدعفونی سطحی با محلول سدیم هیپوکلریت، در شرایط استریل خشک گردیدند. غده‌ها با ۱۵ میکرولیتر از کشت ۲۴ ساعته *پکتوباکتریوم کاراتووروم* زیرگونه *کاراتوورووم* و ۱۵ میکرولیتر از عصاره گیاهی شوید تلقیح شدند. تیمارهای شاهد با ۳۰ میکرولیتر آب استریل و پاتوژن گیاهی به طور مجزا تلقیح شدند. غده‌های یاد شده به مدت ۴ روز در دمای اتاق با رطوبت نسبی ۹۰٪ انکوبه شدند. سپس غده‌های سیب زمینی از بخش میانی بریده شده و نتایج به صورت چشمی مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۵ و ۱۶).

و) القاء تولید اسید هموسرین در پاتوژن گیاهی: از کشت ۲۴ ساعته سویه *پکتوباکتریوم کاراتووروم* بر روی محیط LB کشت خطی داده شد. سپس سویه *کروموباکتریوم ویولاسیوم* CV026 با فاصله ۱۰-۷ میلی متری از ناحیه *Pcc* کشت داده شد. پلیت‌های یاد شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۸°C گرماگذاری گردیدند. مشاهده رنگدانه بنفش در کلنی های باکتری CV026 نشان دهنده تولید ویولاسئین به ازای تولید AHL در *Pcc* می‌باشد (۱۶).

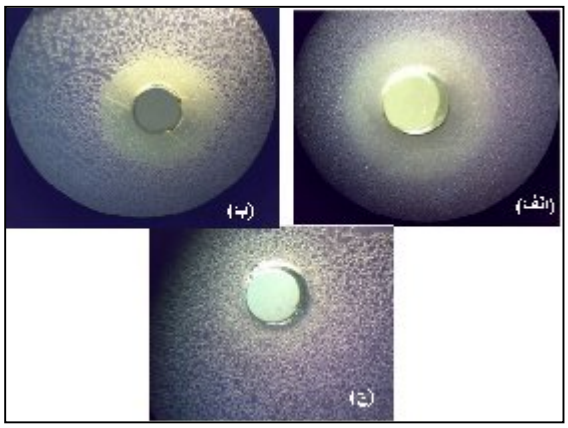
یافته‌ها

در پژوهش حاضر هر دو عصاره گیاهی ازمک و شوید موجب کاهش میزان معینی از ویولاسئین شدند که این حالت با پدیدار شدن هاله کرمی رنگ در اطراف چاهک ها مشخص گردید. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که میزان بازدارندگی گیاه شوید بیشتر از گیاه ازمک می‌باشد (شکل ۱ الف وب). علاوه بر این خاصیت باکتری کشی این ۲ عصاره نیز با نمایان شدن هاله شفاف مشخص گردید. به طوری که این ویژگی در گیاه ازمک بیش از گیاه شوید مشاهده شد. حلال DMSO و آب استریل به عنوان کنترل‌های منفی، هیچ گونه خاصیت ضد میکروبی و یا ضد QS از خود نشان ندادند (شکل ۱ ج). در حالی که آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین به عنوان کنترل مثبت، خاصیت باکتری‌کشی داشت، بدون آن‌که

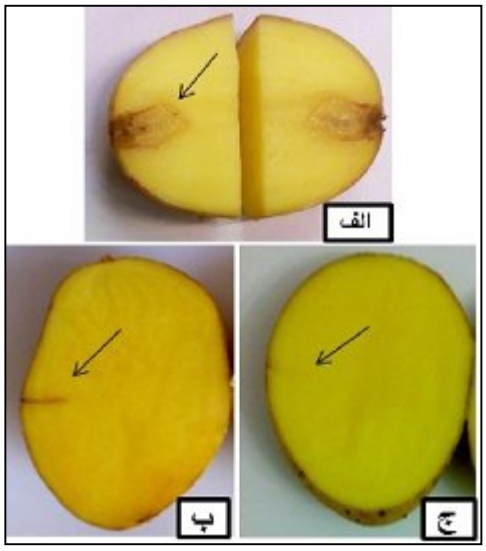
جدول ۱: میزان خاصیت ضدحساسیت جمعیتی و ضدمیکروبی عصاره‌های شوید و ازمک به ترتیب برحسب عدم تولید پیگمان و میزان بازدارندگی (انحراف معیار ± میلی متر).

گونه های گیاهی	بازدارندگی تولید ویولاسئین	خاصیت ضدمیکروبی
شوید	(۱۳/۳±۰/۵)	(۷/۴±۰/۲)
ازمک	(۱۲/۲۵ ±۰/۳)	(۹/۵۸±۰/۵)
DMSO	-	-
آب استریل	-	-
تتراسایکلین	-	(۳۴±۰/۴)

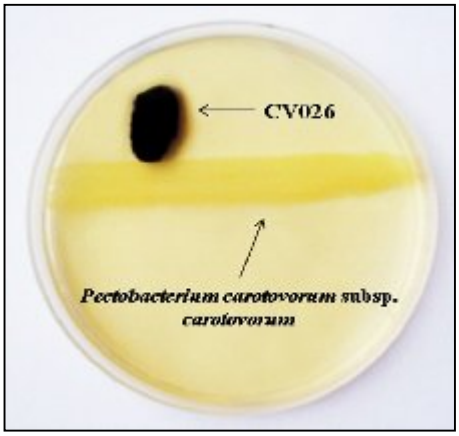
تأثیری در کاهش میزان ویولاسئین تولیدی توسط سویه CV026 داشته باشد (جدول ۱). از آن‌جایی که هدف از این پژوهش، ارزیابی خاصیت ضدحساسیت جمعیتی عصاره‌های گیاهی بود (و نه بررسی فعالیت ضدباکتریایی آن‌ها) از گیاه شوید که میزان خاصیت باکتری‌کشی بسیار کم‌تری نسبت به ازمک داشت، برای آزمون کاهش آلودگی باکتریایی پاتوژن گیاهی *پکتوباکتریوم کاراتووروم* زیرگونه *کاراتووروم* استفاده گردید. نتایج نشان داد غده‌هایی که با ترکیب عصاره گیاهی شوید و پاتوژن تلقیح شده بودند فاقد علایم پوسیدگی نرم بودند. این در حالی است که تیمارهای شاهدی که به طور مستقیم با پاتوژن یاد شده تلقیح شده بودند علایم له شدگی را نشان دادند (شکل ۲). در این مطالعه ظهور رنگدانه بنفش رنگ در



شکل ۱: آزمون عصاره‌های گیاهی ازمک و شوید با استفاده از سویه CV026. حلقه درونی و بیرونی اطراف چاهک در شوید (الف) و ازمک (ب) به ترتیب بیانگر خاصیت ضدمیکروبی و ضد QS می باشند. ج) حلال DMSO بدون خاصیت ضد QS و یا ضدمیکروبی.



شکل ۲: کنترل پوسیدگی نرم ناشی از *Pcc* توسط عصاره گیاهی شوید. الف) تلقیح *Pcc* به طور مستقیم. ب) تلقیح ترکیب عصاره گیاهی و پاتوژن. ج) تلقیح آب استریل.



شکل ۳: AHL تولیدی توسط *Pcc* با تولید رنگدانه بنفش رنگ CV026

کلنی‌های توده‌ای CV026 نشان دهنده تولید AHL طبیعی توسط سویه *پکتوباکتریوم کاراتووروم* زیرگونه *کاراتووروم* بود (شکل ۳).

بحث

مکانیسم QS روشی مناسب، سریع و مطمئن در ارزیابی اثر مواد طبیعی و غیرشیمیائی بر ضد باکتری‌های بیماری زا و رفع مشکلات ناشی از پیدایش مقاومت در باکتری ها در اثر استفاده بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد. از آن‌جایی که

بیماری‌زایی یا عوامل وابسته به بیماری‌زایی باکتری‌ها در کنترل QS می‌باشند، یافتن هر گونه ترکیبات طبیعی که در بازدارندگی QS نقش داشته باشند می‌توانند به عنوان روشی نوین در کنترل طبیعی عوامل بیماری‌زا و کاهش آلودگی‌ها مطرح باشند (۱۶). به همین دلیل پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر عصاره‌های گیاهی ازمک و شوید بر روی خاصیت QS باکتری *کروموباکتریوم ویولاسیوم* CV026 انجام گرفت. با توجه به عدم وجود گزارشات مبنی بر بررسی خاصیت ضدحساسیت جمعیتی گیاهان یاد شده این مطالعه برای اولین بار در ایران و دنیا به ارزیابی ویژگی این دو نوع گیاه پرداخته است. در سال‌های اخیر مطالعات زیادی بر روی عوامل و ترکیبات مهارکننده مکانیسم QS صورت گرفته است. بر اساس مشاهدات منفیلد (Manefield) و همکاران در سال ۱۹۹۹، ترکیبات فورانونی حاصل از جلبک قرمز *دلیسی پولکرا* (*Delisea pulchra*) با جابجایی مولکول‌های سیگنالی رسپتور (گیرنده) پروتئینی موجب عدم بیان ژن‌های وابسته به QS می‌گردند (۱۰). نتایج های حاصل از مطالعه کشاوان (Keshavan) و همکاران در سال ۲۰۰۵ مشخص نمود که ماده ال-کاناوانین (L-Canavanine) گرفته شده از گیاه یونجه (*Medicago sativa*) باعث ایجاد اختلال در مکانیسم حساسیت جمعیتی سویه *سینوریزوبیوم ملی لوتی* (*Sinorhizobium meliloti*) می‌شود (۱۷). بر اساس تحقیقات یئو (Yeo) و تام (Tham) در سال ۲۰۱۱ عصاره‌های گیاهی *لیلیوم برونی* (*Lilium brownii*) و *آنجلیکا سینینسیس* (*Angelica sinensis*) به ترتیب موجب ۱۷/۲±۰/۳ و ۱۳/۵±۰/۳ میلی متر بازدارندگی ویولاسئین در سویه CV026 شدند (۱۴). نتایج به دست آمده در مطالعه چوو (Choo) و همکاران در سال ۲۰۰۵ نشان داد که عصاره گیاهی وانیل دارای خاصیت مختل کنندگی QS می‌باشد. به طوری که این گیاه توانست موجب کاهش ۸۷/۷۳ تا ۹۸/۴۱ درصدی تولید ویولاسئین در باکتری CV026 گردد (۱۸). ارزیابی سونگ (Song) و همکاران در سال ۲۰۱۲ نشان داده است که عصاره اتانولی *اسکوتلاریا بازیکالنسیس* جیورجی علاوه بر کاهش ویولاسئین باعث مهار خاصیت بیماری‌زایی سویه *Pcc* نیز می‌گردد (۱۱). در مطالعه حاضر خاصیت ضد QS گیاهان ازمک (۰/۳ ±۱۲/۲۵ mm) و شوید (۰/۵±۱۳/۳ mm) با جلوگیری از تشکیل ویولاسئین در سویه گزارشگر و تولید هاله کرمی رنگ اثبات گردید. این در حالی است که گیاهان یاد شده علاوه بر خاصیت ضد QS، از خاصیت میکروب کشی نیز برخوردار بودند. به طوری که گیاه ازمک با تشکیل هاله بازدارندگی به قطر ۰/۵±۹/۵۸ میلی متر، سهم بیشتری از خاصیت باکتری کشی را نسبت به گیاه شوید (۰/۲±۷/۴ mm) از خود نشان داد. شایان یادآوری است که در حال حاضر مولکول‌های دقیق مهار کننده سیگنال حساسیت جمعیتی این دو گیاه، نامشخص هستند و باید به منظور آشکار شدن این فرآیند مطالعات بیشتری صورت گیرد.

نتیجه گیری

با توجه به کاهش میزان ویولاسئین تولیدی توسط سویه CV026 *کروموباکتریوم ویولاسیوم* به دلیل اثرات ضد QS عصاره های گیاهی ازمک و شوید، می توان به عنوان روشی مناسب در مبارزه با باکتری‌هایی که آلودگی شان به واسطه QS انجام می گیرد، از این ترکیبات گیاهی استفاده نمود. همچنین نتایج به دست آمده در این مطالعه کاهش خاصیت بیماری‌زایی سویه *پکتوباکتریوم کاراتووروم* زیرگونه *کاراتووروم* توسط عصاره گیاهی شوید را به دلیل ایجاد اختلال در مکانیسم حساسیت جمعیتی به اثبات رسانید.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از آقای دکتر اسماعیل محمودی به دلیل همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش کمال امتنان را دارند.

References

1. González JE, Keshavan ND. Messing with bacterial quorum sensing. Microbiol Mol Biol Rev. 2006; 70(4): 859-875.

2. Czajkowski R, Jafra S. Quenching of acyl-homoserine lactone-dependent quorum sensing by enzymatic disruption of signal molecules. Acta Biochimica Polonica. 2009; 56(1): 1-16.

3. Fuqua C, Greenberg EP. Listening in on bacteria: acyl-homoserine lactone signalling. Nat Rev Mol Cell Biol. 2002; 3(9): 685-695.

4. Loh J, Pierson EA, Pierson LS 3rd, Stacey G, Chatterjee A. Quorum sensing in plant-associated bacteria. Curr Opin Plant Biol. 2002; 5(4): 285-290.

5. Williams P, Winzer K, Chan W, Camara M. Look who's talking: communication and quorum sensing in the bacterial world. Philos Trans R Soc London B Biol Sci. 2007; 362(1483): 1119-1134.

6. Kleerebezem M, Quadri LE, Kuipers OP, de Vos WM. Quorum sensing by peptide pheromones and two-component signal-transduction systems in Grampositive bacteria. Mol Microbiol. 1997; 24(5): 895-904.

7. Knutsen E, Ween O, Havarstein LS. Two separate quorum-sensing systems upregulate transcription of the same ABC transporter in *Streptococcus pneumoniae*. J Bacteriol. 2004; 186(10): 3078-3085.

8. Claverys JP, Havarstein LS. Extracellular-peptide control of competence for genetic transformation in *Streptococcus pneumoniae*. Front Biosci. 2002; 7: 1798-1814.

9. Mayville P, Ji G, Beavis R, Yang H, Goger M, Novick RP, Muir TW. Structure-activity analysis of synthetic autoinducing thiolactone peptides from *Staphylococcus aureus* responsible for virulence. Proc Natl Acad Sci USA. 1999; 96(4): 1218-1223.

10. Manefield M, de Nys R, Kumar N, Read R, Givskov M, Steinberg P, Kjelleberg S. Evidence that halogenated furanones from *Delisea pulchra* inhibit acylated homoserine lactone (AHL)-mediated gene expression by displacing the AHL signal from its receptor protein. Microbiol. 1999; 145(2): 283-291.

11. Song C, Ma H, Zhao Q, Song Sh, Jia Zh. Inhibition of quorum sensing activity by ethanol extract of *Scutellaria baicalensis* Georgi. J Plant Pathol Microbiol. 2012; S7-001 DOI: 10.4172/2157-7471.S7-001.

12. Tan LY, Yin WF, Chan KG. Silencing quorum sensing through extracts of *melicope lunu-ankenda*. Sensors. 2012; 12(4): 4339-4351.

13. McClean KH, Winson MK, Fish L, Taylor A, Chhabra SR, Camara M, Dayykin M, Lamb JH, Swift S, Bycroft BW, Stewart GSAB, Williams P. Quorum sensing and *Chromobacterium violaceum*: exploitation of violacein production and inhibition for the detection of N-acyl homoserine lactones. Microbiol. 1997; 143(12): 3701-3711.

14. Yeo SSM, Tham FY. Anti-quorum sensing & antimicrobial activities of some traditional Chinese medicinal plants commonly used in South-East Asia. Malays J Microbiol. 2012; 8(1):

11-20.

15. Lojkowska E, Masclaux C, Boccara M, Robert-Baudouy J, Cotte-Pattat HN. Characterization of the *pel* gene encoding a novel pectate lyase of *Erwinia chrysanthemi*. Mol Microbial. 1995; 16(6): 1183-1195.

16. Mahmoudi E, Hassanzadeh N, Sayed Tabatabaei BE, Venturi V. Virulence attenuation of *Pectobacterium carotovorum* using N-Acyl-homoserine Lactone degrading bacteria isolated from potato rhizo-sphere. Plant Pathol J. 2011; 27(3): 242-248.

17. Keshavan ND, Chowdhary PK, Haines DC and González JE. L-Canavanine Made by *Medicago sativa* Interferes with Quorum Sensing in *Sinorhizobium meliloti*. J Bacteriol. 2005; 187 (24): 8427-8436.

18. Choo JH, Rukayadi Y, Hwang JK. Inhibition of bacterial quorum sensing by vanilla extract. Lett Appl Microbiol. 2005; 42(6): 637-641.

Journal of Microbial World
Volume 5, No. 3 & 4, January 2013

Original Article

The study of two plant extracts inhibitory to the quorum sensing of *Chromobacterium violaceum* CV026

Milad Makhfian[1], Nader Hassanzadeh[2], Kambiz Larijani[3]

[1]M.Sc., Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
[2]Associate Professor, Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
[3]Assistant Professor, Department of Chemistry, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Abstract

Background and Objectives: Many bacteria utilize quorum sensing mechanism in order to coordinate their vital functions such as survival, motility, production of biofilm, pathogenicity factors, etc. Interfering with the complicated cell-to-cell communication system paralyses bacterial calls to perform their different indigenous functions like pathogenicity. In this study interfering effects of two distinguished plant extracts, whitetop and dill, on bacterial quorum sensing of *Chromobacterium violaceum* CV026 was evaluated.

Materials and Methods: Whitetop and dill plant species were collected from the surrounding agricultural areas and commercial fields of Urmia City. The collected plants were extracted using three organic solvents, 96% ethanol, n-hexane and methanol. The Antimicrobial susceptibility and anti-quorum sensing bioassays were then performed to find out their bactericidal property and depletion of violacein, respectively. Furthermore, the assays regarding pathogenicity suppression using anti-quorum sensing activity and acyl homoserine lactone induction through *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum strain* were carried out.

Results: Based on the results, both of the plant extracts possess meaningful anti-QS activities; however, the proportion of the activity in whitetop was fewer than dill. Furthermore, the aforementioned plant extracts had bactericidal activity in which whitetop had more proportion in comparison to dill.

Conclusion: Due to decrease in the production level of violacein by CV026 as a result of the anti-quorum sensing activity of whitetop and dill extracts, application of the extracts can be considered as an appropriate approach for controlling bacterial pathogens without developing resistance.

Keywords: Whitetop, Dill, Inhibition, Quorum sensing, *Chromobacterium violaceum* CV026.

Correspondance to: Milad Makhfian
Tel: +989141475332
E-mail: m.makhfian@srbiau.ac.ir
Journal of Microbial World 2013, 5(3&4): 85-92.