کروم سنسینگ روشی نوین در کنترل بیماری‌های آبزیان

عصمت محمدی‌باغملایی[۱]، مریم میربخش[۲]، بابک قائدنیا[۳*]

۱- کارشناس ارشد بخش بهداشت و بیماری‌های پژوهشکده میگوی کشور
۲و۳- اعضای هیات علمی پژوهشکده میگوی کشور
*babak.ghaednia@gmail.com

تاریخ دریافت: دی۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: فروردین۱۳۹۳

چکیده

شیوع بیماری‌هایی که عامل باکتریایی دارند و نیز ایجاد بیوفیلم روی سطوح تجهیزات و محصولات آبزی‌پروری یکی از بزرگ‌ترین عوامل محدودکننده توسعه بخش آبزی‌پروری بوده است. بسیاری از گونه‌های باکتریایی قادر به تولید و ترشح مولکول‌های پیام‌رسان هستند که توسط باکتری‌های همجنس یا متفاوت مجاور تشخیص داده می‌شوند. با افزایش تراکم جمعیت باکتریایی، این مولکول‌ها نیز در محیط خارج سلولی افزایش یافته و باکتری را قادر می‌سازد تا از نظر کمی حضور سایر باکتری‌ها را درک کند. باکتری‌ها با استفاده از این سیستم که کروم سنسینگ (ادراک حد نصاب) نامیده می‌شود، تغییرات بیان ژن و پاسخ‌های بیوشیمیایی را در تمام جمعیت هماهنگ می‌سازند. کروم سنسینگ در تنظیم تشکیل بیوفیلم، پروتئازها، فاکتورهای تهاجمی و سایر عوامل بیماری‌زا نقش دارد. با پیشرفت بیولوژی مولکولی و تکنیک‌های شناسایی و نقش کروم سنسینگ در بیماری‌زایی میکروارگانیسم‌ها، کروم سنسینگ یک هدف مطالعاتی برای کنترل عوامل بیماری‌زا شد. از آنجایی‌که کروم سنسینگ وابسته به حضور مولکول‌های پیام‌رسان و برهمکنش آن‌ها با گیرنده‌های هم‌جنس است، هر مولکول یا آنزیمی که سنتز یا تجمع مولکول‌های پیام‌رسان را مسدود سازد، یا مانع از اتصال آن‌ها به گیرنده شود، قادر به ایجاد تداخل در سیستم کروم سنسینگ است. یکی از هوشمندانه ترین روش‌ها برای مقابله با باکتری‌هااستفاده از ترکیبات کروم سنسینگ به‌منظور ایجاد ادراک نادرست و به بیان دیگر به اشتباه انداختن باکتری است. به عبارت دیگر باکتری‌ها دچار این توهم می‌شوند که جمعیت آن‌ها بسیار زیاد است و از این رو رشد و یا فعالیت متابولیک خود را متوقف می‌سازند.

کلمات کلیدی: آبزی‌پروری، کروم سنسینگ (ادراک حد نصاب)، مولکول‌های پیام‌رسان، عوامل بیماری‌زا.

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2022-05-19]

[DOR: 20.1001.1.24234575.1393.1.2.5.2]

کروم سنسینگ (ادراک حد نصاب)

بسیاری از گونه‌های باکتریایی قادر به تولید و ترشح مولکول‌های پیام‌رسان کوچک مثل آسیل هموسرین لاکتون‌ها یا اولیگوپپتیدهای ویژه‌ای هستند که توسط باکتری‌های همجنس یا متفاوت مجاور تشخیص داده می‌شوند. زمانی که تراکم جمعیت باکتریایی افزایش یابد این مولکول‌ها در محیط خارج سلولی افزایش یافته و باکتری را قادر می‌سازد از نظر کمی حضور سایر باکتری‌ها را درک کند. باکتری‌ها با استفاده از این سیستم که کروم سنسینگ (ادراک حد نصاب) نامیده می‌شود، تغییرات بیان ژن و پاسخ‌های بیوشیمیایی را در تمام جمعیت هم‌زمان و هماهنگ می‌کنند (Coutteau., Goossens). صفاتی از قبیل تشکیل بیوفیلم، ایجاد مقاومت علیه استرس اکسیداتیو و تولید عوامل ویرولانس (واگیر) مثل پروتئازها، همولیزین، سیستم ترشحی نوع III، توکسین خارج سلولی و سیدروفور صفاتی هستند که توسط سیستم کروم سنسینگ باکتری‌های بیماری‌زای آبزیان تنظیم می‌شوند (Defoirdt *et al.* ,2005).

نقش کروم سنسینگ در صنعت آبزی‌پروری

آبزی‌پروری صنعت مهم جهانی تامین‌کننده غذای ضروری برای جمعیت در حال رشد جهان، با نقشی اساسی در تامین پروتئین برای افراد کم درآمد کشورهای دچار کمبود غذاست. در سال ۲۰۰۹ آبزی‌پروری بیش از نیمی از ماهی مصرفی، متجاوز از ۵۵/۷ میلیون تن و به ارزش ۱۰۵ بیلیون دلار را تامین کرد (Fitridge *et al.*.2012). باکتری‌های فرصت طلب یا بیماری‌زای متعددی مثل ویبریو، آئروموناس، آلکالیژنز، آسینتوباکتر، سودوموناس، موراکسلا، پلسیوموناس، گونه‌های سلولوموناس، پاستورلا و اعضای خانواده باکتریوناسه، لاروهای میگوی آب شیرین ماکروبراکیوم روزنبرگی[1] را درگیر می‌کنند. این باکتری‌های بیماری‌زا یا فرصت‌طلب نه تنها منجر به وقوع بیماری در هچری‌های میگو شده بلکه در پرورش ماهی و نرم‌تنان منجر به زیان زیاد تا حدود ۱۰۰ درصد می‌شوند(Baruah *et al*,2009.). آئروموناس هیدروفیلا[2]، آئروموناس سالمونیسیدا[3] و ویبریو آنگوئیلاروم[4] سه نمونه از پاتوژن ماهی‌ها هستند (Bosgelmez-Tinaz). روتیفرها عناصر مهم زنجیره غذایی آبزی‌پروری هستند که به‌عنوان یک سیستم تجربی برای مطالعه بیماری‌زایی به‌واسطه کروم سنسینگ در ویبریو هاروی مورد استفاده قرار گرفتند. روتیفر براکینوس پلیکاتیلیس[5] به عنوان ارگانیسم غذایی زنده ضروری و با ارزش در صنعت پرورش لارو بسیاری از گونه‌های ماهی و میگوی دریایی به‌کار می‌رود. یکی از محدودیت‌های موجود در پرورش روتیفر تنوع زیاد میکروبیوتای همراه با این ارگانیسم است، که ریسک آلودگی لارو ماهی با پاتوژن‌های فرصت‌طلب مثل گونه‌های ویبریو، آئروموناس و سودوموناس را افزایش می‌دهد. از آنجائی‌که میکروبیوتای دستگاه گوارش در مراحل اولیه زندگی لارو ماهی تحت تاثیر میکروبیوتای غذای زنده است، در زمان تغذیه لارو ماهی با روتیفرها، باکتری‌های فرصت‌طلب منجر به اثرات زیان‌آوری می‌شوند(Tinh, *et al* 2007.).

علاوه براین در صنعت فرآوری ماهی تجهیزات و کیفیت آب از نگرانی‌های عمده در این زمینه هستند. بسیاری از باکتری‌های آلوده‌کننده ماهی شامل ویبریو کلرا، ویبریو پاراهمولیتیکوس، ویبریو وولنیفیکوس، و ویبریو آلژینولیتیکوس بیوفیلم ایجاد می‌کنند. علاوه‌بر ویبریو بسیاری از جنس‌ها، مثل لیستریا مونوسایتوژنز، سالمونلاها، باسیلوس‌ها، آئروموناس‌ها و سودوموناس‌ها در ماهی و غذاهای دریایی بیوفیلم تشکیل می‌دهند. علاوه براین با توجه به اینکه استفاده از آب دریا بجای آب تازه به علت صرفه اقتصادی آن در صنعت غذاهای دریایی رایج است، هرچند که آب دریا با کلر و اشعه فرابنفش تیمار می‌شود ولی همچنان به ویبریوآلوده می‌شود این امر به علت تشکیل بیوفیلم در سیستم توزیع آب دریا بعد از فرایند

[1] *Macrobrachium rosenbergii*

[2] *Aeromonashydrophila*

[3] *A. salmonicida*

[4] *Vibrio anguillarum*

[5] *Brachionusplicatilis*

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2022-05-19]

[DOR: 20.1001.1.24234575.1393.1.2.5.2]

تیمار است. به علت جدا شدن سلول‌ها از بیوفیلم در سیستم توزیع به علت ناکارآمدی کلر باقی مانده کیفیت آب بعد از اینکه تحت فرایندهای تیماری قرار می‌گیرد کم می‌شود(Srey *et al.*, 2013.).

سندرم مرگ زودرس یا نکروز حاد هپاتوپانکراس نوعی بیماری میگو است که از سال ۲۰۰۹ تولید میگو در کشورهای اصلی تولیدکننده میگو مختل کرده است. این سندرم اولین بار در چین گزارش شد، در ویتنام، مالزی و تایلند و اخیرا در مکزیک و احتمالا هند منتشر شده است. این بیماری توسط سویه‌ای خاص از یک باکتری ویبریو پاراهمولیتیکوس آلوده به فاژ ایجاد می‌شود. این باکتری از راه دهان منتقل شده، در لوله معده-روده‌ای تکثیر یافته و توکسینی تولید می‌کند که منجر به تخریب بافت و تخریب عملکرد هپاتوپانکراس (ارگان هضمی میگو) می‌شود. به احتمال زیاد پاتوژنیسیتی سندرم مرگ زودرس توسط مکانیسم کروم سنسینگ تنظیم می‌شود، به این دلیل که کلنی‌های ویبریو قادر به آزاد سازی هماهنگ توکسین هستند(Coutteau., Goossens. 2014).

مطالب بیان‌شده نشانگر پیچیدگی انکارناپذیر شبکه ارتباطی باکتری‌ها و جانداران آبزی است. از این رو مدیریت این شبکه ارتباطی در صنعت آبزی‌پروری به عنوان یک رکن اساسی در جلوگیری از هر گونه خسارت، حفظ سود آوری وتامین غالب غذای مصرفی جهانی از اهمیت بسیاری برخوردار است. اهمیت این امر به ویژه در زمینه کنترل بیماری‌زایی باکتری‌های پاتوژن در هر مقطعی از پرورش، بهره‌برداری و فرآوری آبزیان نمود پیدا می‌کند. از این رو در سال‌های اخیر تحقیقات بر روی قطع سیگنال کروم سنسینگ، که کروم کوئنچینگ نیز نامیده می‌شود، متمرکز بوده است. در ادامه به بررسی مختصر اصول استراتژی‌های مهارکننده سیستم کروم سنسینگ در باکتری‌های پاتوژن آبزی پرداخته شده است.

استراتژی‌های مقابله با عوامل بیماری‌زا در آبزی‌پروری

درمان سنتی عفونت‌های باکتریایی به شدت بر پایه استفاده از ترکیبات آنتی‌بیوتیکی است که یا باکتری را می‌کشد و یا رشد آن‌ها را متوقف می‌سازد. به‌طور معمول آنتی بیوتیک‌ها فرایندهای ضروری سلولی مثل بیوسنتز دیواره سلولی باکتریایی، سنتز پروتئین باکتریایی و تعمیر و تکثیر DNA باکتریایی را تحت تاثیر قرار می‌دهند. با این حال مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها افزایش یافته و به سرعت در حال پیشروی است، به طوری که باکتری‌هایی شناسایی شده‌اند که به همه آنتی‌بیوتیک‌های در دسترس مقاوم هستند. افزایش وقوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی به‌تدریج آنتی‌بیوتیک‌ها را غیر موثر ساخته و عواقب اقتصادی و انسانی متعدد در سطح جهانی دارد(Defoirdt *et al.*, 2010). به‌عنوان مثال شیوع بیماری‌های باکتریایی یکی از بزرگ‌ترین عوامل محدودکننده پیشروی بخش آبزی‌پروری بوده است که تاکنون، آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد ضدعفونی‌کننده موفقیت محدودی در مقابله با بیماری آبزیان و یا درمان آن‌ها داشته‌اند. با این حال استفاده مکرر از بیوسیدها به ویژه در دوزهای کمتر از حد درمان منجر به پیشروی سریع مقاومت نسبت به آن‌ها شده است. علاوه بر این وجود آنتی‌بیوتیک‌های باقی‌مانده در محصولات آبزی‌پروری تجاری مشکلات دیگری را در رابطه با سلامت انسان ایجاد می‌کند چراکه منجر به تغییر در میکروفلور نرمال روده انسان شده و می‌تواند آلرژی یا سمیت ایجاد کند. از این رو نیاز فوری به تکوین مسیرهای دیگری به منظور کنترل عفونت‌باکتریای‌ها در آبزی‌پروری احساس می‌شود. باکتری‌ها با استفاده از سیستم کروم سنسینگ شانس خود را در عفونی ساختن میزبان از طریق به تاخیر انداختن تولید فاکتور عفونت‌زایی تا زمانی که تراکم جمعیت آن‌ها به اندازه‌ای شود که برای درهم شکستن سیستم ایمنی میزبان کافی باشد، افزایش می‌دهند. یکی از روش‌های کشتن یا مهار رشد باکتری‌های پاتوژن کاهش هدفمند ویرولانس باکتریایی است که با هدف قرار دادن سیستم‌های تنظیمی کلیدی کروم سنسینگ که بیان فاکتورهای ویرولانس را وساطت می‌کنند، حاصل می‌شوند. از این رو قطع سیگنال کروم سنسینگ باکتریایی یک استراتژی موثر ضدعفونی کنندهاست(Defoirdt *et al.*,2004). ترکیبات قطع‌کننده کروم سنسینگ رشد ویبریوز را تحت تاثیر قرار نمی‌دهند، و از این رو هیچ‌گونه فشار انتخابی اعمال نمی‌کنند. نتیجتاً شانس پیشروی

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2022-05-19]
[DOR: 20.1001.1.24234575.1393.1.2.5.2]

مقاومت احتمالا کمتر از آنتی‌بیوتیک‌های مرسوم خواهد بود. از آنجایی‌که ترکیبات قطع‌کننده کروم سنسینگ ویرولانس باکتری‌های بیماری‌زا را بدون تحت تاثیر قراردادن رشد آن‌ها کاهش می‌دهند، برعکس داروهای آنتی باکتریایی، اصطلاحا داروهای آنتی‌پاتوژنیک نامیده می‌شوند. داروهای آنتی پاتوژنیک سیستم‌های تنظیمی کلیدی را در پاتوژن‌های باکتریایی مورد هدف قرار می‌دهند (Defoirdt *et al.*, 2007). چندین تکنیک مختل‌کننده کروم سنسینگ وجود دارد که شامل موارد ذیل می‌باشند: مهار سنتز مولکول پیام‌رسان، غیرفعال‌سازی مولکول‌های پیام‌رسان، استفاده از آنتاگونسیت‌های کروم سنسینگ، تجزیه زیستی مولکول پیام‌رسان توسط لاکتونازها و آسیلازهای باکتریایی و یوکاریوتی، استفاده از آگونیست‌های کروم سنسینگ، تداخل با پیام‌رسانی کروم سنسینگ به واسطه آسیل هموسرین لاکتون، تداخل با گیرنده‌های کروم سنسینگ.

الف- مهار سنتز مولکول سیگنال: از آنجائی‌که تمام انواع مولکول‌های کروم سنسینگ در باکتری‌ها توسط سنتازهای مربوط به خود سنتز می‌شوند، واضح است که اگر آنزیم سنتاز مهار شود، کروم سنسینگ و ژن‌های تنظیم‌شونده توسط کروم سنسینگ نیز تحت تاثیر قرار می‌گیرند. چندین ترکیب مهارکننده سنتز مولکول‌های کروم سنسینگ شناسایی شده‌اند مثل S- آدنوزیل سیستئین که می‌توان از این نوع ترکیبات بدون این‌که تاثیری بر سایر فرایندهای حیاتی در ارگانیسم‌های یوکاریوتی و پروکاریوتی داشته باشند، به‌عنوان مهارکننده‌های کروم سنسینگ استفاده نمود (Raut N).

ب- غیرفعال‌سازی مولکول‌های پیام‌رسان. استفاده از هالوژن‌های اکسیدشده یکی از روش‌های غیرفعال‌سازی مولکول‌های پیام‌رسان کروم سنسینگ است که آلکالین مولکول‌های پیام‌رسان را هیدرولیز می‌کنند. تیمار آب با غلظت‌های پایین عوامل اکسیدکننده قوی مثل ازون ممکن است به عنوان یک عامل ضد عفونی‌کننده در آبزی‌پروری از طریق حذف مولکول‌های کروم سنسینگ پاتوژن‌ها مناسب باشد. علاوه‌بر این، افزایش pH به بیش از ۷، منجر به لیز لاکتون[1] مولکول پیام‌رسان و تجزیه زنجیره کوتاه آسیل هموسرین لاکتون آن شده و مولکول را غیرفعال می‌کند (Defoirdt, *et al.* and Dobretsov, *et al.* 2009). آزمایشات صورت گرفته روی جلبک قهوه‌ای لامیناریا دیجیتاتا[2] نشان داد که سیستم‌های هالوپراکسیداز طبیعی قادر به غیرفعال سازی این مولکول‌های پیام‌رسان هستند (Daniels, *et al.*,2004).

ج- استفاده از آنتاگونیست‌های[3]کروم سنسینگ. از آنجایی‌که فرایندهایی که به واسطه کروم سنسینگ صورت می‌گیرند در برهمکنش با میزبان‌های جانوری و گیاهی نیز نقش دارند، وجود مکانیسم‌های پیشرفته در ارگانیسم‌های عالی‌تر برای قطع کروم سنسینگ تایید می‌شود. تولید آنتاگونیست‌های کروم سنسینگ یکی از این مکانیسم‌هاست: مولکول‌هایی که می‌توانند به تنظیم‌کننده‌های پاسخ به کروم سنسینگ متصل شوند اما نمی‌توانند آن‌ها را فعال سازند. این مواد شامل مواد طبیعی و نیز فورانون‌های هالوژنه مصنوعی[4]، و مواد مترشحه جلبک‌ها و گیاهان عالی‌تر هستند. مهارکننده‌های طبیعی را می‌توان از منابع طبیعی مثل گیاهان و قارچ‌ها جداسازی نمود، چراکه هم گیاهان و هم قارچ‌ها برای میلیون‌ها سال با باکتری‌های کروم سنسینگ همزیستی داشته‌اند. جلبک دریایی قرمز دلیسی پولکرا مکانیسم دفاعی پیشرفته‌ای برای مقابله با کلونیزاسیون وسیع باکتریایی دارد. جلبک مجموعه‌ای از فورانون‌های هالوژنه به عنوان آنتاگونیست تولید می‌کند که اتصال باکتریایی به سطوح جلبکی را کاهش داده و منجر به مهار سوارمینگ باکتریایی می‌شود. احتمالا به علت شباهت ساختاری این فورانون‌ها با آسیل هموسرین لاکتون‌ها، این مولکول‌های هالوژنه غالبا به پروتئین‌های گیرنده پیام متصل شده و مانع از اتصال آن‌ها به DNA تنظیم‌کننده پاسخ کروم سنسینگ می‌شوند (Manefield *et al.*,2001). بررسی‌ها نشان داده است که

[1]Lactonolysis

[2]*Laminariadigitata*

[3]Antagonists

[4]Synthetic halogenated furanones

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2022-05-19]

[DOR: 20.1001.1.24234575.1393.1.2.5.2]

فورانون‌های هالوژنه از میگوی آب شور آرتمیا فرانسیسکانا[1] در برابر ویبریوهاروی BB120 محافظت نموده و فورانون‌های برومیناته منجر به خنثی‌شدن اثرات منفی ویبریو هاروی BB120 بر روتیفرهای گنوتوبیوتیک[2] می‌شوند. با این حال به نظر می‌رسد که فورانون برای میگوی آب شور و روتیفرها سمی باشد (Bai *et al*.،2008). برخی تحقیقات نشان داده‌اند که فورانون‌های جلبکی و آنالوگ‌های مصنوعی آن‌ها مهارکننده برخی خصوصیات باکتری‌ها مثل بیان ژن‌های عفونت‌زایی، تولید آنتی‌بیوتیک‌ها، تشکیل بیوفیلم، کلونیزاسیون و حرکت باکتریایی هستند. فورانون‌ها با اتصال به پروتئین‌های گیرنده مولکول‌های پیام‌رسان باکتری و افزایش میزان تجزیه پروتئینی باکتری‌ها منجر به قطع کروم سنسینگ می‌شوند (Teplitski,., *et al*. 2000). تحقیقات صورت‌گرفته روی ریز جلبک دلیسی پولکرا و جلبک تک‌سلولی کلامیدوموناس و کلرلا نشان داد که ممکن است استفاده از جلبک برای کنترل عفونت‌ها در آبزی‌پروری با قطع سیستم کروم سنسینگ باکتری‌های بیماری‌زا مناسب باشد (Defoirdt, *et al*.2004). بیشتر آنتاگونیست‌ها در عصاره‌های گیاهان یافت شده‌اند. گیاهانی مثل هویج، سویا، نیلوفر آبی، گوجه فرنگی، جوانه‌های نخود، فلفل و سیر ترکیبات مداخله‌گر با کروم سنسینگ باکتریایی تولید می‌کنند. عصاره سیر حاوی حداقل سه مهارکننده متفاوت کروم سنسینگ است. یکی از آن‌ها ترکیب حلقوی دی‌سولفوری است که اثر آنتاگونیستی قوی روی کروم سنسینگ بر پایه گیرنده آسیل هموسرین لاکتون اعمال می‌کند (Adak, *et al*.). از آنجایی‌که گیاهان توسط انسان مصرف می‌شوند، این عقیده وجود دارد که ترکیبات گیاهی فعالی که دارای خاصیت مهارکنندگی کروم سنسینگ هستند ایمن بوده و نبایست منجر به سمیت سلول‌های انسانی شوند، با این حال مطالعه سمیت این ترکیبات ضروری است. علاوه‌بر تولید مولکول‌های مقلدی که آنتی کروم سنسینگ هستند توسط برخی گیاهان، در مناطق ویژه‌ای از گیاه مثل جوانه‌های هل و مواد مترشحه‌ای وجود دارد که حاوی ترکیبات مداخله‌گر با کروم سنسینگ هستند (Koh, *et al* .2013). ترکیبات طبیعی ویژه‌ای که فیتوبیوتیک نامیده می‌شوند، قادر به تعدیل میکروفلور روده میگو به سمت و سوی مطلوب می‌شوند. تحقیقات نشان داده اند که از ترکیب مواد ضدمیکروبی طبیعی اضافه شده به غذای آبزیان می‌توان به عنوان اخلال‌گرهای قدرتمند پیام‌رسانی کروم سنسینگ باکتریایی در پاتوژن‌های آبزی‌پروری مثل ویبریو هاروی در غلظت‌های پایین‌تراز حداقل غلظت مهارکنندگی عمل کند.

د- تجزیه زیستی مولکول سیگنال توسط لاکتونازها و آسیلازهای باکتریایی و یوکاریوتی. آنزیم‌هایی که قادر به غیرفعال‌نمودن آسیل هموسرین لاکتون‌ها هستند در گونه‌های متعلق به بتا پروتئوباکتری‌ها[3]، آلفا پروتئوباکتری‌ها، گاما پروتئوباکتری‌ها و نیز گونه‌های گرم مثبت یافت شده‌اند. این باکتری‌ها ممکن است سیستم کروم سنسینگ رقبای باکتریایی خود را از طریق تجزیه مولکول‌های پیام‌رسان آن‌ها مسدود نموده و یک مزیت انتخابی نسبت به آن‌ها به دست آورند. لاکتوناز حلقه لاکتون آسیل هموسرین لاکتون‌ها را هیدرولیز نموده و از این رو ساختار مولکول پیام‌رسان را تغییر داده، مانع از اتصال آن‌ها به گیرنده می‌شود. فعالیت AHL- لاکتوناز (AiiA[4]) برای اولین‌بار از یک باسیلوس جدا شده از خاک شناسایی شد (Daniels, *et al*.2014). پروتئین AiiA به طور اختصاصی خودالقاگر ویبریو هاروی را هیدرولیز می‌کند، از این رو سمیت کمی بر روی میزبان داشته و یا برای میزبان سمی نیست (Bai, *et al*2008.).آنزیم دیگر،

[1] *Artemiafranciscana*

[2]- اکوسیستمی است دارای جامعه مشخص که می‌تواند حداقل داری سه گونه موجود زنده باشد. این اکوسیستم از جمله سیستم‌های مصنوعی است که با افزودن تدریجی گونه‌های موجود زنده به محیط کشت شروع می‌شود و تا زمانی که مجموعه دلخواه بدست آید، ادامه می‌یابد. در این نوع اکوسیستم ترکیب دقیق اجزاء و حتی وجود یا عدم باکتری مشخص می‌باشد.

[3] β-Proteobacteria

[4] Acyl homoserinelactonase activity

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2022-05-19]

[DOR: 20.1001.1.24234575.1393.1.2.5.2]

AHL- آسیلاز، اتصال آمیدی موکول‌های آسیل هموسرین لاکتون را شکسته و اسیدهای چرب و یک هموسرین لاکتون آزاد می‌کند که نمی‌تواند گیرنده‌های کروم سنسینگ را فعال سازد. این آنزیم‌ها توسط باکتری‌ها به منظور قطع پیام‌رسانی سایر گونه‌ها استفاده می‌شود و از این طریق رقابت برای غذا و مکان صورت می‌گیرد (Zhang, 2004). در یک بررسی محیط‌های غنی دژنره‌کننده مولکول پیام‌رسان از دستگاه گوارش میگوی سفید اقیانوسیه (پنئوس وانامی)[1] جداسازی شد. سویه‌های باسیلوس برای آزمایش در این زمینه با ارزش خواهند بود، چرا که گونه‌های مختلف باسیلوس، آسیل هموسرین لاکتون‌ها را دژنره می‌کنند (Defoirdt, *et al*.2008). یکی از روش‌های مدیریت سلامت هچری‌های میگو استفاده از پروبیوتیک‌ها و محرک‌های سیستم ایمنی برای کنترل بیماری‌های میگو است. استفاده از پروبیوتیک‌ها، باکتری‌های انتخاب شده‌ای که روده را در برابر باکتری‌های پاتوژن واکسینه می‌کنند یکی از روش‌های تعدیل‌کننده میکروفلور روده میگو در مواجهه با باکتری‌های بیماری‌زاست. QSI-1[2] مهارکننده کروم سنسینگ باکتریایی است که از سویه‌های باسیلوس روده ماهی طلایی دم چادری[3] شناسایی و جداسازی شد.QSI-1 از مولکول‌های آسیل هموسرین لاکتون به عنوان منبع انرژی استفاده نموده و حداقل دارای یکی از آنزیم‌هایی است که قادر به دژنراسیون مولکول پیام‌رسان آئروموناس هیدروفیلا (یکی از پاتوژن‌های ماهی) است، از این رو کاهش تولید پروتئازهای خارج سلولی منجر به افزایش بقای ماهی آلوده می‌شود، بنابراین امکان استفاده از سویه QSI-1 به عنوان پروبیوتیک در آبزی‌پروری وجود دارد (Chu, *et al*. 2010). پروبیوتیک‌هایی از قبیل باسیلوس سرئوس، پانی باسیلوس پلی میکسا[4] و سودوموناس به‌عنوان عوامل زیست‌کنترلی علیه پاتوژن‌های ویبریویی میگو مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. برای مثال از ویبریو آلژینولیتیکوس به‌عنوان پروبیوتیک برای افزایش بقا و رشد میگوی سفید لیتوپنئوس وانامی استفاده شده است (Martínez Cruz, *et al*. 2012).

ه- کاربرد آگونیست‌های کروم سنسینگ. زمانی تولید عامل پاتوژن برای باکتری سودمند است که میزان این عوامل به حد نصاب برسد، و در چنین شرایطی است که باکتری بر سیستم دفاعی میزبان غلبه می‌کند. در دسترس قرارگرفتن مولکول‌های پیام‌رسان به‌صورت کاذب در اختیار باکتری‌ها یک پیام اشتباه به باکتری در رابطه با تراکم جمعیتی آن می‌فرستد که نتیجتا منجر به تولید ناکافی عامل پاتوژن توسط باکتری می‌شود. مائی و همکارانش بیان عامل عفونت‌زایی تنظیم‌شونده توسط کروم سنسینگ را با استفاده از آگونیست‌های کروم سنسینگ فعال ساختند و با اضافه‌کردن مولکول سیگنال یک پاتوژن، بیان فاکتور عفونت‌زایی باکتری‌ها در شرایطی که تراکم جمعیتی آن‌ها هنوز کم است فعال شد و متعاقبا این عوامل عفونت‌زا در مقیاس اندک منجر به فعال‌سازی سیستم دفاعی میزبان شده و امکان مقاومت در برابر پیشروی بیماری فراهم شد (González & Keshavan, 2006).

ز- تداخل با پیام‌رسانی کروم سنسینگ به واسطه آسیل هموسرین لاکتون. ارگانیسم‌های دریایی نه فقط به سیگنال‌های کروم سنسینگ باکتریایی پاسخ می‌دهد، بلکه با آن‌ها تداخل نموده و آن‌ها را مسدود می‌سازند. یک تحقیق صورت‌گرفته روی دیواره بزرگ مرجانی[5] نشان داد که ۲۳ درصد از عصاره‌های ۲۸۴ ارگانیسم دریایی، شامل مرجان‌ها، اسفنج‌ها و جلبک‌ها پیام‌رسانی کروم سنسینگ بواسطه آسیل هموسرین لاکتون را مهار می‌کنند. در یک بررسی مشخص شد تومونیک اسیدهای[6] جداسازی شده از از نوعی سیانوباکتر، بیولومینسانس سویه وحشی ویبریو هاروی که به طور معمول از طریق کروم سنسینگ تنظیم می‌شود، مهار می‌سازد. تحقیقی بر اساس ۷۹ عصاره از ۲۵

[1]Pacific white shrimp (*Penaeusvannamei*)

[2]*Quorum sensing Inhibitor-1*

[3]*Carassiusauratusgibelio*

[4]*Paenibacilluspolymyxa*

[5]Great Barrier Reef

[6]Tumonoic acids

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2022-05-19]

[DOR: 20.1001.1.24234575.1393.1.2.5.2]

گونه ارگانیسم دریایی جمع‌آوری شده از آب‌های فلوریدا در فصل‌ها و مکان‌های مختلف نشان داد که سیانوباکتر پتانسیل زیادی برای مهار کروم سنسینگ دارد (Dobretsov, *et al.* 2009). در بررسی دیگری برای جلوگیری از تشکیل بیوفیلم و از بین بردن آن، عصاره‌های ۸۸ اکتینومیست دریایی غربال‌گری گردید و مشخص شد که اکتینومیست‌ها تشکیل بیوفیلم ویبریو هاروی، ویبریو وولنیفیکوس[1]، و ویبریو آنگوئیلاروم را مهار و برخی بیوفیلم را متلاشی می‌کنند. تعدادی ازاکتینومیست‌ها سیستم کروم سنسینگ ویبریو هاروی را با کاهش فعالیت مولکول‌های پیام‌رسانN- استیل هموسرین لاکتون مهار می‌کنند، از این رو اکتینومیست‌ها کاندید مناسبی برای استفاده در آبزی‌پروری هستند (You, *et al* ,2007).

ر- تداخل با گیرنده‌های کروم سنسینگ

طیفی از باکتری‌ها سیگنال‌های کروم سنسینگ تولید می‌کنند که به نوبه خود می‌توانند با پیام‌رسانی کروم سنسینگ در سایر باکتری‌ها تداخل ایجاد کنند. برای مثال، تولید رنگیزه ویولاسئین، اگزوپروتئاز[2]، و کیتیناز در کروموباکتریوم ویولاسئوم توسط سیگنال آسیل هموسرین لاکتون با زنجیره کوتاه القا می‌شود (Teplitski, *et al.*McLean *et al.*2000 1997). علاوه‌بر این، برخی باکتری‌ها دی پپتیدهایی تولید می‌کنند که به عنوان تقلیدگر آسیل هموسرین لاکتون عمل کرده و کروم سنسینگ باکتری‌ها را با اتصال به پروتئین‌های گیرنده آسیل هموسرین لاکتون تحت تاثیر قرار می‌دهند. جدا از فعالیت مهاری کروم سنسینگ، دی‌کتوپیپرازین‌ها[3] خصوصیات ضدباکتریایی، ضدقارچی و آنتی‌فولینگ دارند (Li, *et al.* 2006). دی‌کتوپیپرازین‌های سودوموناس آئروژینوزا، سودوموناس میرابیلیس، سیتوباکتر فروندی و انتروباکتر آگلومرانس اثرات زیستی و دارویی زیادی بر روی ارگانیسم‌های عالی‌تر دارند (Daniels, *et al*. 2004).

کیتیناز یک فاکتور ویرولانس است که به اتصال باکتری پاتوژن به میزبان و نفوذ به درون بافت میزبان (مثل میگو)کمک می‌کند. کیتین دومین پلی‌مر از نظر فراوانی روی زمین است. ویبریوز و سایر باکتری‌های دریایی با تولید کیتیناز و پروتئین‌های متصل‌شونده به کیتین از کیتین به عنوان منبع کربن و نیتروژن استفاده می‌کنند. تولید کیتیناز توسط ویبریوز پاتوژن به عنوان یک فاکتور ویرولانس در نظر گرفته می‌شود، چرا که به باکتری کمک می‌کند به بافت‌های کیتینی میزبان نفوذ کند. کروم سنسینگ به‌طور منفی فعالیت کیتیناز و بیان کیتیناز A در ویبریو هاروی را تنظیم می‌کند. فعال‌شدن سیستم کروم سنسینگ منجر به کاهش فعالیت کیتینولیتیک شده، اما آن را کاملا مهار نمی‌کند. این یافته برعکس حالتی است که در کروموباکتریوم ویولاسئوم صورت می‌گیرد. در کروموباکتریوم ویولاسئوم کیتیناز به‌طور مثبت توسط کروم سنسینگ تنظیم می‌شود. ویبریو هاروی یک گونه دریایی است که هم به صورت آزاد و هم همراه با ارگانیسم‌های عالی‌تر یافت می‌شود. کاهش بیان کیتیناز در تراکم سلولی بالا مکانیسمی برای تعویض از سبک زندگی همراه با میزبان به سبک زندگی آزاد است. ویبریو هاروی با کاهش تولید کیتیناز در تراکم سلولی بالا، نسبت سلول‌هایی که از اپیتلیوم میزبان جدا می‌شوند را افزایش داده و به آن‌ها امکان رسیدن به محیط خارجی و نهایتا کلونیزه‌شدن درون یک میزبان جدید را فراهم می‌سازد. ویبریو هاروی با کاهش فعالیت کیتینولیتیک در تراکم سلولی زیاد، مانع از رهاسازی سطوح بسیار زیاد محصولات دژنره‌کننده کیتین محلول در آب که ممکن است برای باکتری‌ها توکسیک باشد، می‌شود (Defoirdt, *et al.*2010). با توجه به مطلب ذکر شده این امکان وجود دارد که بتوان با تنظیم میزان کیتیناز مانع از شیوع بیماری در میزبان‌های جدید شد.

محدودیت تکنیک‌های قطع سیگنال کروم‌سنسینگ

با وجود تمام مزایای قطع سیگنال کروم سنسینگ، محدودیت‌هایی نیز در این روند وجود دارد. اولین محدودیت استفاده از این تکنیک‌ها امکان پیش روی

[1] *Vibrio vulnificus*
[2] Exoprotease
[3] Diketopiperazines

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2022-05-19]
[DOR: 20.1001.1.24234575.1393.1.2.5.2]

مقاومت به گونه‌ای دیگر است. برای مثال ژو و همکارانش نشان دادند که باکتری‌ها ممکن است به راحتی انسداد سیستم کروم سنسینگ را از طریق بیان بیش از حد ژن‌های کروم سنسینگ دور زنند (Zhu, *et al*, 1998). علاوه‌بر این، فقدان اختصاصیت می‌تواند استفاده از تکنیک‌های قطع کروم سنسینگ را برای کنترل پاتوژن‌ها محدود سازد. بسیاری از تکنیک‌های قطع کروم سنسینگ که تاکنون توسعه یافته‌اند به طور اختصاصی سیستم کروم سنسینگ باکتری‌ها را بلوکه نمی‌کنند، برای مثال بیشتر باکتری‌های دژنره‌کننده آسیل هموسرین لاکتون، طیف وسیعی از این مولکول‌ها را غیرفعال می‌کنند. با این حال، همه باکتری‌های حاوی سیستم کروم سنسینگ پاتوژن نیستند. قطع انبوه کروم سنسینگ ممکن است فرایندهای مطلوب تنظیم‌کننده کروم سنسینگ در سیستم‌های آبزی را به طور منفی تحت تاثیر قرار دهد. از طرف دیگر تکوین تکنیک‌هایی که فقط سیستم کروم سنسینگ گونه‌های بیماری‌زا را مسدود سازند مشکل خواهد بود (Defoirdt, *et al.* 2004).

نتیجه‌گیری

شناخت ارتباط سلول‌های باکتریایی با یکدیگر کارکردهای مهمی در کنترل ارگانیسم‌های بیماری‌زا، غربال‌گری و استخراج باکتری‌هایی دارد که محصولات با ارزش تولید می‌کنند. به کمک استراتژی‌های مداخله گر با سیستم‌های پیام‌رسان کروم سنسینگ و دست‌ورزی برنامه‌ریزی شده این سیستم‌ها، حل مشکلات مربوط به کمبود غذا، شیوع بیماری‌ها و ... آسان شده و بدون تردید بیوتکنولوژی دریایی و کاربرد میکروارگانیسم‌ها و ماکروارگانیسم‌های دریایی در تولید محصولات غذایی، صنعتی، پزشکی، دارویی، آبزی‌پروری و کشاورزی در کشورهای درحال توسعه از منابع موثر و درآمدزا خواهد بود.

منابع

Adak, S., Upadrasta, L., Kumar, S. P. J., Soni, R., Banerjee, R. 2011. Quorum quenching – an alternative antimicrobial therapeutics. A Méndez-Vilas (Ed.).pp. 586-593.

Bai, F., Han, Y., Chen, J., Zhang, X-H. 2008. Disruption of quorum sensing in *Vibrio harveyi* by the AiiA protein of *Bacillus thuringiensis*. Aquaculture. 274, 36–40.

Baruah, K, Cam, D. T. V, Dierckens, K., Wille, M., Defoirdt, T., Sorgeloos P, Bossier P. 2009. In vivo effects of single or combined N-acyl homoserine lactone quorum sensing signals on the performance of *Macrobrachium rosenbergii* larvae. Aquaculture. 288, 233–238.

Bosgelmez-Tinaz, G. 2003.Quorum Sensing in Gram-Negative Bacteria. Turk J Biol. 27, 85-93.

Chu, W., Lu, F., Zhu, W. and Kang, C. 2010. Isolation and characterization of new potential probiotic bacteria based on Quorum sensing system. J Appl Microbiol.110, 202–8.

Coutteau, P. and Goossens, T. 2014. Feed Additives Based On Quorum Sensing Disruption Could Aid Fight Against EMS/AHPN. Global aquaculture advocate. pp. 14-15.

Coutteau, P. and Goossens, T. 2013. Novel additives to reduce the economic impact of disease on shrimp production. International Aqua feed. pp. 44-48.

Daniels, R., Vanderleyden, J.andMichiels, J. 2004 Quorum sensing and swarming migration in bacteria. FEMS Microbiol Rev. 28(3): 261-89.

Defoirdt, T., Boon, N., Bossier, P. and Verstraete, W. 2010. Disruption of bacterial quorum sensing: an unexplored strategy to fight infections in aquaculture. Aquaculture. 240: 69–88.

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2022-05-19]

[DOR: 20.1001.1.24234575.1393.1.2.5.2]

Defoirdt, T., Boon, N.andBossier, P. Can bacteria evolve resistance to quorum sensing disruption? PLoSPathog. Jul 8;6(7):e1000989.

Defoirdt, T., Boon, N., Sorgeloos, P., Verstraete, W.andBossier, P. 2007. Alternatives to antibiotics to control bacterial infections: luminescent vibriosis in aquaculture as an example. Trends Biotechnol. 25(10): 472-9.

Defoirdt, T., Boon, N., Sorgeloos, P., Verstraete, W.andBossier, P. 2008. Quorum sensing and quorum quenching in Vibrio harveyi: lessons learned from in vivo work. ISME J. Jan; 2(1): 19-26.

Defoirdt, T., Bossier, P., Sorgeloos, P.andVerstraete, W. 2005. The impact of mutations in the quorum sensing systems of *Aeromonashy drophila*, Vibrio anguillarum and Vibrio harveyi on their virulence towards gnotobiotically cultured *Artemia franciscana*. Environ Microbiol. 7(8): 1239-47.

Defoirdt, T., Ruwandeepika, HAD., Karunasagar, I Boon, N. and Bossie, P. 2010. r Quorum sensing negatively regulates chitinase in Vibrio harveyi. Environmental Microbiology Reports. 2, 44–49..,

Dobretsov, S, Teplitski, M. and Pau,l V. 2009. Mini-review: quorum sensing in the marine environment and its relationship to biofouling. Biofouling. 25(5): 413-27.

Fitridge, I.,Dempster, T., Guenther, J. and de Nys, R. 2012. The impact and control of biofouling in marine aquaculture: a review. Biofouling. 28(7):649-69.

González, J. E. and Keshavan, N. D. **2006**. Messing with bacterial quorum sensing. Microbiol MolBiol Rev. 70(4): 859-75.

Koh, C. L., Sam, C. K., Yin, W. F., Tan, L. Y., Krishnan, T., Chong, Y. M. and Chan, K. G. 2013. Plant-derived natural products as sources of anti-quorum sensing compounds. Sensors (Basel). 13(5): 6217-28.

Li, X., Dobretsov, S., Xu, Y., Xiao, X., Shing Hung, O. S. and Qian, P. 2006. Antifouling diketopiperazines produced by a deep-sea bacterium, Streptomyces fungicidicus. Biofouling, 22(3): 187 – 194.

Manefield, M., Welch, M., Givskov, M., Salmond, G. P.andKjelleberg, S. 2001. Halogenated furanones from the red alga, Deliseapulchra, inhibit carbapenem antibiotic synthesis and exoenzyme virulence factor production in the phytopathogen *Erwinia carotovora*. FEMS Microbiol Lett. 205(1): 131-8.

Martínez Cruz, P., Ibáñez, A. L., Monroy Hermosillo, O. A and RamírezSaad, H. C. 2012. Use of probiotics in aquaculture. ISRN Microbiol.

McLean, R. J., Whiteley, M., Stickler, D. J.andFuqua, W. C. 1997. Evidence of autoinducer activity in naturally occurring biofilms. FEMS Microbiol Lett. 154(2): 259-63.

Pierson, L. S., Wood, D. W.andPierson, E. A. 1998. Homoserine lactone-mediated gene regulation in plant-associated bacteria. Annu Rev Phytopathol. 36, 207-25.

Raut, N. 2012.Biosensing systems for the detection of bacterial quorum sensing molecules: a tool for investigating bacteria-related disorders and food spoilage prevention. University of Kentucky UKnowledge. pp. 1-228.

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2022-05-19]
[DOR: 20.1001.1.24234575.1393.1.2.5.2]

Rocio Suarez-Moreno, Z., Kerenyi, A., Pongor, S. and Venturi, V. 2010. Multispecies microbial communities. Part I: quorum sensing signaling in bacterial and mixed bacterial-fungal communities. Mikologia Lekarska. 17 (2): 108-112.

Srey, S, Jahid, I. K. and Ha, S. D. 2013. Biofilm formation in food industries: A food safety concern. Food control. 31:572-585.

Teplitski, M, Robinson, J. B, and Bauer, W. D. 2000. Plants secrete substances that mimic bacterial N-acyl homoserine lactone signal activities and affect population density-dependent behaviors in associated bacteria. Mol Plant Microbe Interact. 13(6):637-48.

Tinh, N. T, Linh, N. D, Wood, T. K, Dierckens, K. Sorgeloos, P. and Bossier, P. 2007. Interference with the quorum sensing systems in a Vibrio harveyi strain alters the growth rate of gnotobiotically cultured rotifer Brachionus *plicatilis*. J Appl Microbiol. 103(1): 194-203.

You, J., Xue, X., Cao, L., Lu, X., Wang, J., Zhang, L. and Zhou, S. 2007. Inhibition of Vibrio biofilm formation by a marine actinomycete strain A66. Appl Microbiol Biotechnol. 76(5): 1137-44.

Zhang, L. H. 2004. Dong, Y. H. Quorum sensing and signal interference: diverse implications. MolMicrobiol. 53(6): 1563-71.

Zhu, J., Beaber, J. W., Moré, M. I,,Fuqua, C., Eberhard, A. and Winans, S. C. 1998. Analogs of the autoinducer 3-oxooctanoyl-homoserine lactone strongly inhibit activity of the TraR protein of Agrobacterium tumefaciens. J Bacteriol. 180(20): 5398-405.

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2022-05-19]

[DOR: 20.1001.1.24234575.1393.1.2.5.2]