مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية
مجلد 42 العدد 3(2026): 153-164

Damascus University Journal for Agricultural Sciences Vol 42-No.3 (2026): 153-164

" تأثير زيت الزعتر على نظام التواصل البكتيري عند بكتيريا التبقع الزاوي على القطن ".Xanthomonas citri subsp. malvacearum

علي محمد يونس[1*]، زكريا عبد الكريم الناصر[2]

1- باحث في مركز الدراسات والمكافحة الحيوية، كلية الهندسة الزراعية، جامعة دمشق.
ali.younes@damascusuniversity.edu.sy
2-أستاذ في قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة دمشق.

الملخص:

في هذه الدراسة والتي أجريت في كلية الهندسة الزراعية – جامعة دمشق – خلال العام 2024-2023 تم دراسة تأثير زيت الزعتر (THY) في خمد الاتصالات البكتيرية Quorum Quenching (QS) عند بكتيريا التبقع الزاوي على القطن Xanthomonas citri subsp. malvacearum (Xcm). أظهرت النتائج انخفاضاً ملحوظاً في كل من حركة وإنتاج البروتياز والسكريات المعقدة الخارجية وتشكل البيوفيلم في البكتيريا الـ Xcm المعاملة بـ 0.25 و 0.5 mg\mL من زيت الزعتر المستخلص ومع ذلك، لم يلاحظ أي تأثير على النمو البكتيري للخلايا البكتيرية، وبالتالي تدل النتائج على قدرة زيت الزعتر المستلخص على العمل كمضاد للتواصل البكتيري Quorum Sensing (QS) من خلال التأثير في عمل إشارات عائلة الـ DSF للبكتيريا Xcm.

تاريخ الإيداع: 2024/04/16
تاريخ القبول: 2024/07/02

حقوق النشر: جامعة دمشق – سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص CC BY-NC-SA 04

الكلمات المفتاحية: Xanthomonas citri subsp. malvacearum (Xcm)، Quorum Sensing (QS)، Quorum Quenching (QQ)، عوامل القدرة الإمراضية، زيت الزعتر المستخلص.

“Effect of Thyme oil on Quorum Sensing system of bacterial angular spot on the cotton "Xanthomonas citri subsp. malvacearum”

Ali Mohamad Younes[1*], Zakaria Abdul-Kareem Al-Nasser[2]
1-Doctor at, Biological control studies and research center, Faculty of Agriculture engineering, Damascus University.
ali.younes@damascusuniversity.edu.sy
2- Professor at Plant Protection department, Faculty of Agriculture engineering, Damascus University.

Received: 16/04/2024
Accepted: 02/07/2024

Copyright: Damascus University- Syria, The authors retain the copyright under a CC BY- NC-SA

Abstract:

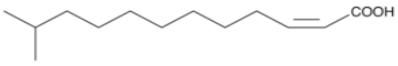
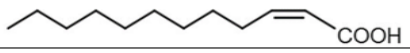
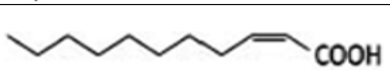
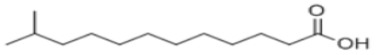
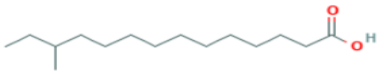
In this study, which was conducted at the Faculty of Agricultural Engineering - Damascus University - during the year 2023- 2024, the effect of thyme oil (THY) in suppressing bacterial communications in Xcm bacteria was studied. The results showed a significant decrease in both motility, production of proteases, Exopolysaccrides, and biofilm formation in bacteria treated with 0.25 and 0.5 mg/mL of extracted thyme oil. However, no effect observed on the bacterial growth of bacterial cells, and thus the results indicate the ability of thyme oil to the extract works as anti-QS by influencing the action of DSF family signals of Xcm bacteria, which led to a decrease in the pathogenicity capabilities of the studied bacteria.

Keywords: Xanthomonas citri subsp. malvacearum (Xcm), Quorum Sensing (QS), Quorum Quenching (QQ), Pathogenicity Factors, Thyme Oil Extract.

المقدمة Introduction:

يُعتمد التحكم في الوظائف الحيوية الأساسية لأنواع مختلفة من البكتيريا كبكتيريا الجنس Xanthomonas مثل تكوين الأغشية الحيوية (Biofim) أو التعبير عن مورثات عوامل القدرة الإمراضية كالأنزيمات المحللة للجدر الخلوية (السيللولاز، والبروتياز، والأميلاز .إلخ)، وإنتاج السكريات المعقدة الخارجية الـ Exopolysaccarides (EPS)، والحركة، و واللبيدات السكرية (LPS) Lipopoylsaccarides على نظام الاستشعار عن النصاب العددي Quorum Sensing (QS) وذلك استجابة لكثافتها العددية في الوسط التي تعيش فيه من خلال استشعارها لتركيز إشارات عائلة عامل الإشارة المنتشر DSF- Factor (Diffusible Signal family) والتي تتوسط الـ QS عندها، (Papenfort و Bassler، 2016؛ Deng وآخرون، 2011، Caicedo وآخرون، 2017). ومن أهم أنواع الجنس Xanthomonas مرض التبقع الزاوي على القطن Xanthomonas citri subsp. malvacearum (Xcm) الذي يعد من أحد أكثر الممرضات النباتية تدميراً لمحصول القطن (Gossypium spp.)؛ حيث يصيب معظم أجزاء النبات من الساق إلى الأفرع والأوراق وإلى الجوزات كما يعد من الأمراض المنقولة عبر البذور ويسبب تدهوراً وتدنياً في الإنتاج كماً ونوعاً (Delannoy وآخرون، 2005)، وأشار يونس وآخرون (2018) إلى إنتاج وإفراز الـ Xcm مجموعة من الإشارات البكتيرية التابعة لعائلة الـ DSF (الجدول 1).

الجدول (1): إشارات عائلة الـ DSF عند البكتيريا Xcm S101 (يونس وآخرون، 2018).

الصيغة الكيميائية	اسم جزيئة الإشارة
	Cis-11-methyl-2-dodecenoic acid (DSF)
	Cis-2-dodecenoic acid (BDSF)
	Cis-11-methyldodeca-2,5-dienoic acid (CDSF)
	Cis-2-undecenoic acid
	11-methyldodecanoic acid
	12-methyltetradecanoic acid
	2-cis-hexadecenoic acid

تعد مكافحة الأمراض البكتيرية بشكل عام وبكتيريا التبقع الزاوي على القطن بشكل خاص صعبة النجاح بسبب غياب المبيدات الكيميائية المتخصصة ماعدا النحاسية والتي تسبب تراكمها في الوسط إلى تلوث المياه الجوفية والتربة بعنصر النحاس الثقيل (Bayles و Verhalen، 2007)، فكان التوجه نحو بدائل المكافحة المحدودة كاستخدام الأصناف المقاومة والاعتماد على بعض المركبات الكيميائية المحفزة للمقاومة النباتية كحمض الصفصاف (Jalloul، وآخرون، 2015)، وفي الأونة الأخيرة توجهت الأنظار نحو البحث عن طرق لاستهداف عوامل القدرة الإمراضية للبكتيريا كتثبيط نظام الـ QS أو التشويش عليه (Fan وآخرون، 2020). إن التدخل بعمل إشارات التواصل البكتيري من خلال خمد الاتصالات البكتيرية (Quorum Quenching)، (QQ) أي تعطيل عمل الإشارات التي تتوسط الـ QS بواسطة أنزيمات مفككة للإشارات البكتيرية أو التأثير على مستقبلات الإشارة الموجودة على سطح الخلية البكتيرية من خلال مركبات كيميائية مشابه للإشارات الكيميائية البكتيرية أو استخدام مركبات كيميائية تؤثر على المورثات المنتجة للإشارات البكتيرية وتفيد هذه الطريقة في تخفيض القدرة الإمراضية بشكل كبير دون أن تؤثر على النمو البكتيري (Alagarasan وآخرون، 2017) أو الإفراط في تركيز إشارات التواصل البكتيري في وسط نمو البكتيريا صناعياً ما يجعلها في حالة

تشوش Pathogen Confusion، ينتج عنها التعبير المسبق لعوامل القدرة الإمراضية دون وصول البكتيريا للكثافة الحقيقية المطلوبة لذلك مما يؤدي إلى انخفاض القدرة الإمراضية للبكتيريا وانخفاض الشدة المرضية ضـــــمن العائل النباتي، والتعرف على الكميات القليلة من البكتيريا بواسطة الدفاعات النباتية (Caicedo وآخرون، 2017).

ومن ناحية أخرى؛ يقدم النظام البيئي الطبيعي ذخيرة غنية من المركبات النشطة بيولوجياً والمتنوعة كيميائياً، أمكن بعضها التدخل في نظام التواصل البكتيري QS والعمل كمثبطات للتواصل البكتيري QQ (Arjmandi وآخرون، 2020)، حيث أشارت الدراسات السابقة إلى أنَ عمل الفوروكومارين والليمونويدات الموجودة في كرمة العنب كمثبطات لإشارة التواصل البكتيري (AI-1) و(AI-2) ومضادات للغشية الحيوية (Biofilm) في Vibrio harveyi و E. coli (Sharchi وآخرون، 2020؛ Hakimi وآخرون، 2020)، كما تلعب المركبات الكيميائية (مثل الزيوت الأســاســية والقلويدات والصــابونين والفلافونويدات والعفص) والمركبات المضــادة للميكروبات (مثل الفينولات والكينونات والفلافانونات والقلويدات) أيضاً دوراً كمثبطات لـ QS (Moradi وآخرون، 2020).

ومن الزيوت النباتية التي تلعب كمضاد للـــ QS كزيت الزعتر، حيث أشارت الدراسات المرجعية السابقة إلى قدرة زيت الزعتر في منع تكوين الأغشـــية الحيوية Biofilm وتحفيض القدرة الإمراضـــية للبكتيريا التي عوملت بها، حيث قلّلت من إنتاج الأنزيمات المحللة للجدر الخلوية والـــ EPS والـــ LPS والحركة في الوسط دون أن تؤثر في نمو البكتيريا Pseudomonas aeruginosa و Staphylococcus aureus و Xanthomonas oryzae pv. oryzae (Xoo) (Kavanaugh و Ribbeck، 2012؛ Singh وآخرون، 2019). وبالتالي؛ هدف البحث إلى دراسة دور زيت الزعتر المستخلص كمضاد للـ QS عند البكتيريا Xcm من خلال تأثيره على إنتاج الـ EPS والحركة وإنتاج الأنزيمات المحللة للجدر الخلوية وتشكل الأغشية الحيوية (Biofilm).

مواد وطرق العمل Methods and Materials:

-العزلة البكتيرية وأوساط النمو ومكان تنفيذ العمل:

أُستخدمت العزلة البكتيرية المحلية Xcm S101 المعزولة من بذور القطن صنف حلب 33 من مخبر ممرضات النبات البكتيرية في كلية الزراعة -جامعة دمشـق. واسـتخدمت الأوسـاط الغذائية لتنمية البكتيريا وتنفيذ التجارب: الآغار المغذي Nutrient Agar (NA): بيبتون 0.5%، خلاصـــة اللحم 0.3%، ســكروز 1%، خلاصـــة الخميرة 0.1 %، آغار 1.5%، pH=7. المرق المغذي Nutrient Broth (NB): بيبتون 0.5%، خلاصة اللحم 0.3%، سكروز 1%، خلاصة الخميرة 0.1%، pH=7، ونفذت التجارب في مخبر المبيدات -كلية الهندسة الزراعية-جامعة دمشق (Jalloul وآخرون،2015).

-استخلاص زيت الزعتر من الأوراق وتحضيره للتجارب:

أُتبعت حسب طريقة الناصـر وآخرون (2020)، فطُحنت الأوراق المجففة باسـتخدام مطحنة مخبرية، وتم اسـتخلاصـها باسـتخدام الجرف بالبخار باستخدام جهاز التقطير Clevenger's apparatus، فوضـع 100 g من العينة النباتية المطحونة في حوجلة سعة 500 mL تحوي ماء مقطر وتمت عملية التقطير لمدة 3 ساعات. وفُصل الزيت المستخلص عن الماء، ومن ثم جُفف الزيت بتمريره على طبقة من كبريتات الصوديوم اللامائية. وحسبت النسبة المئوية للزيت. تم تخزين الزيوت المستخلصة على درجة حرارة 4 مئوية لحين الاسـتخدام. فحُلّت زيت الزعتر المسـتخلص الناتج بواسـطة 10% إيثانول في ماء مقطر لتحضـير تركيز أسـاسـي (10 mg/mL)، ثم مددت بالبيئة NB حتى الحصـول على التراكيز المطلوبة للتجارب المنفذة، ويُضـاف إلى الشـاهد لكل تجربة أيضـاً 1% ميثانول.

- تأثير زيت الزعتر المستخلص في نمو البكتيريا Xcm S101:

اتبعت طريقة (Wiegang وآخرون، 2008)، حُضّرت 4 أنابيب زجاجية ســـــعة 10 mL حاوية على 5 mL من الوسـط المغذي NB، احتوت 3 أنابيب منها على تراكيز مختلفة من زيت الزعتر المسـتخلص mg\mL (0.25، 0.5، 1)، والرابع لم يحتو كشـاهد،

أُضيفت إلى الأنابيب الـ 4 السابقة 10 µL من معلَق بكتيري ذي كثافة ضوئيـــة مســـاوياً لـ 0.1 (OD_{600}=0.1) تقريباً (~$2*10^8$) CFU\mL، ثم حضنت الأنابيب ضمن الحاضنة الرجاجة عند درجة حرارة 28C° وسرعة 200 دورة/ دقيقة لمدة (0، 6، 24، 48، 72) ساعة، دُرست خلال هذه الفترات تأثير زيت الزعتر المستخلص على قدرة البكتيريا على النمو وذلك بإجراء تعداد بكتيري على أطباق NA، حيث لكل معاملة 3 مكررات بالإضافة إلى الشاهد، وحُضَنت الأطباق السابقة ضمن الحاضنة عند درجة حرارة 28°C حتى ظهور المستعمرات البكتيرية.

- تأثير زيت الزعتر المستخلص في حركة البكتيريا Xcm S101:

اتبعت طريقة (An وTang، 2018)، حيث حُضر معلق بكتيري ذو كثافة ضوئية مساوياً لـ 0.3 (OD_{600}=0.3) تقريباً CFU\mL (~$6*10^8$)، أُخذ منها 3 µL تقريباً، ووُضعت في منتصـف أطباق بتري حاوية على وسط (NB + Agar %0.3) مُضافاً إليها مُسبقاً تراكيز مختلفة من زيت الزعتر المستخلص (0.25، 0.5) mg\mL بمعدل 3 مكررات لكل تركيز بالإضافة إلى الشاهد الذي لم يضـف إليه أي تركيز، ثم حُضـنت الأطباق السابقة عند درجة حرارة 28C° لمدة (24، 48، 72، 96) ساعة، وأُخذت القراءات يومياً بقياس قطر انتشار البكتيريا في الوسط مقارنة مع الشاهد.

- تأثير زيت الزعتر المستخلص في إنتاج البكتيريا Xcm S101 للبروتياز:

أُتبعت طريقة (Wang وآخرون، 2004)، حُضَـرت 4 أنابيب زجاجية حاوية على معلق بكتيري بكثافة ضـوئية مساوياً للـــ 0.6 (OD_{600}=0.6) تقريباً CFU (~$9*10^8$) في 5 mL من الوسط NB، 3 من الأنابيب الســـــابقة احتوت على تراكيز مختلفة زيت الزعتر المستخلص mg\mL (0.25، 0.5)، والثالث لم يحتو على أي تركيز كشاهد، حُضَنت الأنابيب السابقة عند الدرجة 28ºC مع الرَج على سرعة 200 دورة/ دقيقة لمدة 4 ساعات، أُخذ 5 µL من المعلقات السابقة، ووُضعت على أطباق NA مزودة بـــ 1% حليب منزوع الدســـم بمعدل 3 مكررات لكل معاملة (3 أطباق) بالإضافة إلى الشاهد، وحُضنت الأطباق السابقة عند درجة حرارة 28 ºC لمدة (24، 48، 72، 96) ســـاعة، وقيســـت الفعالية الأنزيمية بقياس قطر الهالة الشـــفافة المحيطة باللطاخة البكتيرية، بالاعتماد على قدرة هذا الأنزيم على تفكيك بروتين الحليب.

- تأثير زيت الزعتر المستخلص في إنتاج السكريات المعقدة الخارجية للبكتيريا Xcm S101:

أُتبعت طريقة He وآخرون (2010)، فحضرت 3 أنابيب زجاجية حاوية على 5 mL من الوسط NB منها 3 منها حاوية على 5 mL من البيئة السائلة NB احتوت على تراكيز مختلفة من زيت الزعر المستخلص (0.25، 0.5) mg\mL والثالث لم يحتو على أي تركيز كشاهد، ثم أضـيفت إلى الأنابيب السابقة 10 µL من معلق بكتيري كثيف ذو كثافة ضـوئية مساوياً للـــ 1 (OD_{600}=1) تقريباً CFU (~$2*10^8$)، حُضَـــنت الأنابيب الســـابقة عند درجة حرارة 28C° وســـرعة 200 دورة/ دقيقة لمدة 24 ســـاعة، ثم ثُفلت المعلقات البكتيرية السابقة للتخلص من الخلايا البكتيرية، وأُضيف إلى الرشاحات البكتيريـــة الناتجة كلور البوتاسيوم بتركيز نهائي 1% (v/w)، وحجمان من الإيثانول المطلق إلى الرشـــاحة البكتيرية، وحُفظ الخليط الســـابق عند الدرجة 20°C− طول الليل، ثم رسبت السكريات المعقدة الخارجية بالتثفيل عند سرعة 10000 xg لمدة 10 دقائق عند الدرجة 4 C°، وحسبت كمية الـــ EPS المُنتجة بتجفيف العينات السابقة عند الدرجة 55 ºC لمدة 24 ساعة وحُسبت الأوزان.

- تأثير زيت الزعتر المستخلص في تشكل الـ Biofilm للبكتيريا Xcm S101:

اتبعت طريقة (Deng وآخرون 2014)، فحُضَرت 3 أنابيب زجاجية احتوت على معلق بكتيري بكثافة ضوئية مســـــوياً للـ 0.01 (OD_{600}=0.01) في 5 mL من الوسط NB، 2 من الأنابيب السابقة احتوت مسبقاً على تراكيز مختلفة من زيت الزعتر المستلخص mg\mL (0.25، 0.5)، والثالث لم يحتو على أي تركيز كشاهد، حُضَنت الأنابيب السابقة عند الدرجة 28ºC مع الرَج على سرعة 200 دورة/ دقيقة لمدة 24 ساعة حتى وصول الكثافة الضوئية للشاهد لـــ 0.1 (OD_{600}= 0.1)، وُزَعت محتويات الأنابيب السابقة

ضمن لوح (96 خلية) من بولي ستيرين Polystyrene، بمعدل 200 µL في كل خلية، ثم حُضن اللوح (96 خلية) عند درجة حرارة 28C° وسرعة 150 دورة/ دقيقة لمدة 24 ساعة، ثم أُزيلت محتويات اللوح السابق بهدوء، وصُبغت بواسطة 200 µL من الكريستال البنفسجي (1%) لمدة 20 دقيقة، ثم غُسلت خلايا اللوح بالماء المقطر وجُفِّفت، وأُخذت الصور المناسبة، وحُددت كمية الـــ Biofilm بإضافة 200 µL من الإيثانول (95 %) إلى خلايا اللوح السابق لإذابة الـ Biofilm (الذي تحول إلى اللون الأزرق)، أُخذ محتويات 5 خلايا التي تعادل (1 mL) وقيست امتصاصيته على طول الموجة OD_{590}، ولكل معاملة 3 مكررات فضلاً عن الشاهد.

النتائج والمناقشة Results and Discussion:

- تأثير زيت الزعتر المستخلص على نمو البكتيريا Xcm S101:

أظهرت النتائج عدم وجود فروق معنوية عند المستوى $p<0.01$ بين الشاهد والمعاملات طيلة فترة التحضين، وبالتالي لا يوجد لتأثير زيت الزعتر المستخلص بتراكيزها mg/mL (0.25، 0.5، 1) على نمو البكتيريا Xcm S101 مخبرياً.

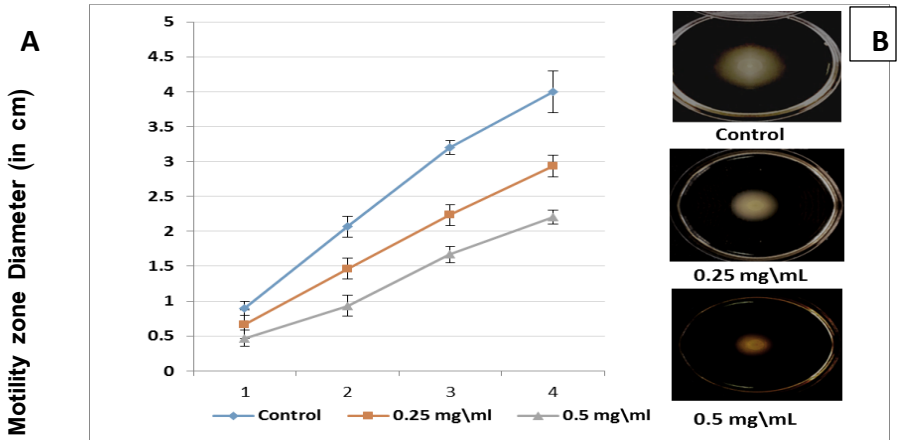
- تأثير زيت الزعتر المستخلص على بعض عوامل القدرة الإمراضية للبكتيريا Xcm S101.

أظهرت النتائج تأثيراً سلبياً لزيت الزعتر المستخلص في عوامل القدرة الإمراضية المدروسة الأخرى كالحركة وإنتاج البروتياز والـ EPS وتشكل البيوفيلم حيث انخفضت عوامل القدرة الإمراضية المذكورة كلما زاد تركيز الزيت.

ففي دراسة التأثير على الحركة: أظهرت النتائج الشكل (A-1) فروقاً معنوية عند مستوى معنوية $p<0.01$ بين الشاهد والمعاملات بعد 24 ساعة من التحضين، حيث انخفضت حركة البكتيريا مع زيادة تركيز زيت الزعتر المستخلص، فعند استخدام التركيز 0.25 mg\mL انخفضت حركة البكتيريا بنسبة (26، 29، 30، 27) % مقارنة مع الشاهد، في حين سبب التركيز 0.5 mg\mL قد انخفاضاً في حركة البكتيريا بنسبة (48، 55، 48، 45)% مقارنة مع الشاهد طيلة فترة التحضين (24، 48، 72، 96) ساعة على التوالي.

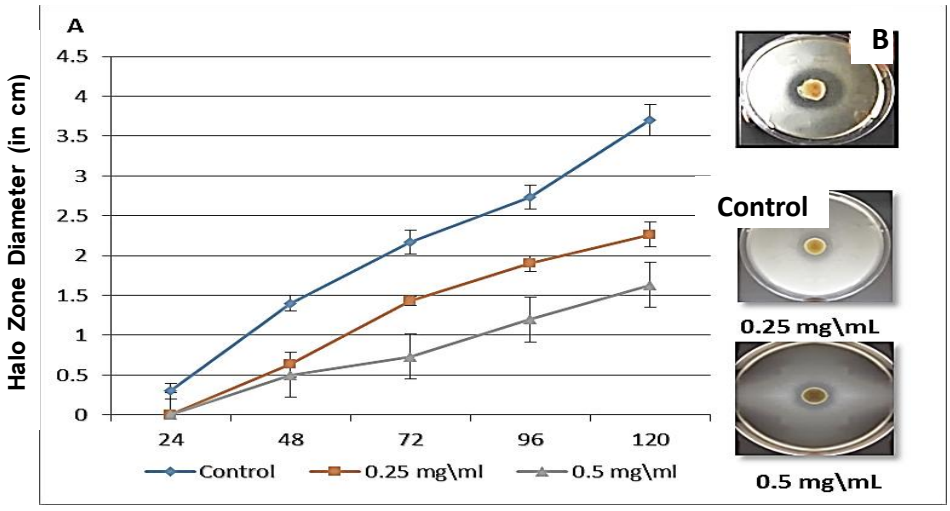
أما التأثير على إنتاج البروتياز، بينت النتائج (A-2) فروقاً معنوية عند مستوى معنوية $p<0.01$ بين الشاهد والمعاملات بعد 48 ساعة من التحضين، حيث لم تفرز البكتيريا في المعاملات أنزيم البروتياز خلال 24 ساعة الأولى من التحضين مقارنة مع الشاهد، ولكن بعد 48 ساعة من التحضين بدأت البكتيريا في المعاملات mg\mL (0.25، 0.5) من زيت الزعتر المستخلص بإفراز أنزيم البروتياز ولكن بنسبة أقل بما يقارب (55، 87)% مقارنة مع الشاهد، وكان إفراز البروتياز في المعاملتين السابقتين أقل مقارنة مع الشاهد طوال فترة التحضين، وبلغت عند زمن التحضين 120 ساعة ما يقارب (39، 56)% على التوالي مقارنة مع الشاهد.

أما دراسة التأثير على إنتاج السكريات المعقدة الخارجية EPS: أظهرت النتائج فروقاً معنوية بين الشاهد والمعاملات عند مستوى معنوية $p<0.01$ بعد 24 ساعة من التحضين، حيث يُظهر (الشكل 3) أن كمية الـ EPS المنتجة في المعاملات mg\mL (0.25، 0.5) قد انخفضت ما يقارب (38، 63) مرة مقارنة مع الشاهد.



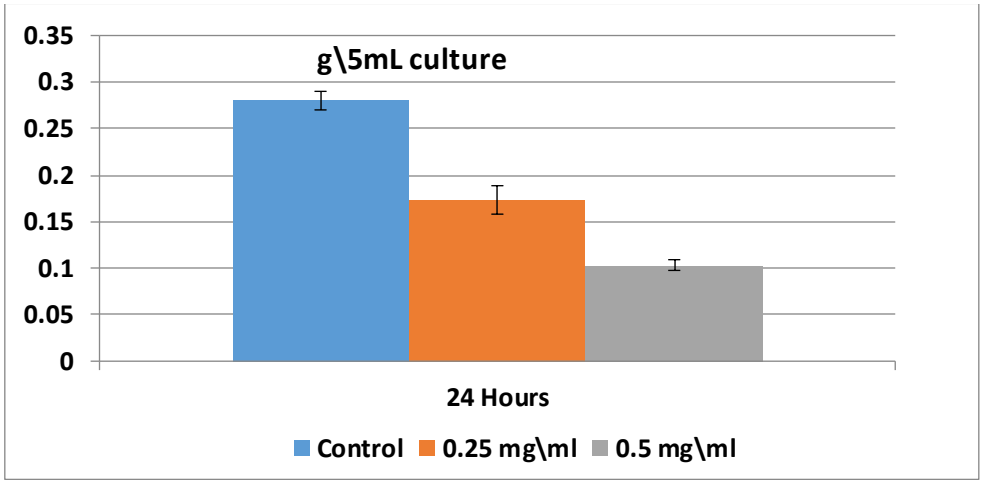
الشكل (1): تأثير إضافة زيت الزعتر المستخلص إلى وسط الحركة شبه الصلب (Agar 0.3% + NB) على حركة البكتيريا Xcm S101؛

(A) تحديد مدى زيت زعتر المستخلص متمثلة بمتوسط قطر الهالة البكتيرية حول اللطاخة البكتيرية (B) صور تمثيلية لهالات الحركة التي شكلتها البكتيريا XcmS101 حول اللطاخة البكتيرية بالنسبة للشاهد والمعاملات بزيت الزعتر المستخلص بعد 96 ساعة من التحضين.



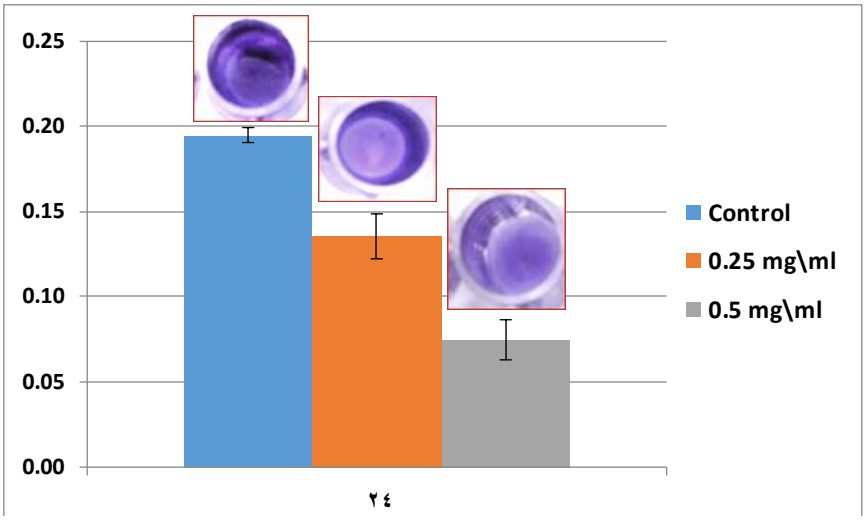
الشكل (2): تأثير زيت الزعتر المستخلص على قدرة البكتيريا Xcm S101 على إفراز أنزيم البروتياز ضمن أطباق تحتوي (NB + 1% حليب منزوع الدسم)؛

(A) تحديد مدى تأثير خلاصة وسط زرع البكتيريا Xcm S101 الحاوية على إشارات عائلة الـ DSFعلى قدرة البكتيريا على إنتاج البروتياز متمثلة بقطر الهالة الشفافة حول اللطاخة البكتيرية (B) صورة تمثيلية للهالات الشفافة حول اللطاخة البكتيرية الناتجة عن إفراط البكتيريا Xcm S101 للبروتياز وذلك للشاهد أو المعاملات بزيت الزعتر المستخلص بعد 120 ساعة من التحضين.



الشكل (3): تأثير زيت الزعتر المستخلص على إنتاج الـ EPS للبكتريا Xcm S101، يدل المخطط على انخفاض إنتاج EPS في المعاملات مقارنة مع الشاهد.

أما بالنسبة للتأثير على تشكل الأغشية الحيوية (Biofilm): أظهرت النتائج (الشكل 4) فروقاً معنوية بين الشاهد والمعاملات عند مستوى معنوية $p<0.01$ بعد 24 ساعة من التحضين، حيث انخفضت كمية إنتاج الـــ Biofilm تدريجياً في المعاملات كلما زاد تركيز زيت الزعتر المستخلص mg\mL (0.25، 0.5) ما يقارب (30، 65) % على التوالي مقارنة مع الشاهد.



الشكل (4): تأثير زيت الزعتر المستخلص على تشكل الـ Biofilm مقارنة مع الشاهد؛ صورة تمثيلية لـ Biofilm المتشكل من قبل البكتيريا Xcm S101 الشاهد أو المعاملة بزيت الزعتر المستخلص.

أظهرت النتائج السابقى على قدرة زيت الزعتر المستخلص على خمد الاتصالات البكتيرية– البكتيرية عند بكتيريا التبقع الزاوي على القطن Xcm S101 من خلال التأثير على عمل الإشارات البكتيرية، فبينت النتائج أنَ زيت الزعتر المستخلص لم يؤثر على النمو البكتيري طيلة فترة التحضين، بينما أثر على عوامل القدرة الإمراضية المدروسة وتمثل ذلك بانخفاض كل من الحركة البكتيرية وقدرتها على إنتاج البروتياز والسكريات المعقدة الخارجية الـ EPS وتشكلها لـ Biofilm كما بين ذلك من خلال التجارب، وتعد هذه الطريقة من أحد استراتيجيات خمد التواصل البكتيري QQ، كشفت الدراسات المرجعية السابقة إلى أن استهداف الحركة عند بكتيريا الجنس Xanthomonas والخاضع لنظام QS/DSF يلعب دوراً هاماً في خفض قدرتها الإمراضية من خلال تقليل انتشارها وحركتها نحو العائل المناسب (He وآخرون، 2011)،كما أنَ خفض قدرة البكتيريا على إنتاج البروتياز والخضع لنظام QS/DSF يخفض من قدرتها الإمراضية للبكتيريا كون الأنزيم من الأزيمات الهاضمة والمسؤولة عن هضم الجدر الخلوية للأنسجة النباتية (Wang وآخرون، 2004)، كما بينت الدراسات المرجعية أنَ EPS من عوامل القدرة الإمراضية الهامة الي تقوم البكتيريا الجنس Xanthomonas بإنتاجها وإفرازها إلى الوسط الخارجي والخاضع لسيطرة QS/DSF وذلك لحمايتها من الظروف الجوية المختلفة ومن العوامل غير المناسبة، ومن المضادات الحيوية، وتساعد البكتيريا على تكوين المستعمرات البكتيرية في الوسط المغذي وغير المغذي وتساهم بشكل رئيسي بتشكيل الـ Biofilm، وبالتالي انخفاض إنتاجها يعرض البكتيريا للظروف غير المناسبة ويؤثر على قدرتها على تكوين المستعمرات البكتيرية وتشكلها لـ Biofilm وبالتالي انخفاض قدرتها الإمراضية على النبات العائل (Deng وآخرون، 2011)، كما كشفت الدراسات السابقة إلى أنَ الـ Biofilm والخاضع لسيطرة نظام QS/DSF عند بكتيريا الجنس Xantomonas يعد مسؤولاً عن حماية البكتيريا داخل النبات وخارجه وتحميه من الظروف غير المناسبة وإن انخفاض تشكله يؤثر سلباً على شراسة البكتيريا (Dow وآخرون، 2003) وبالتالي فإن استهداف عمل الإشارات البكتيرية التي تتوسط الـ QS عند بكتيريا الجنس Xcm S101 من خلال زيت الزعتر المستخلص أدى إلى انخفاض عوامل القدرة الإمراضية للبكتيريا المدروسة دون التأثير على النمو البكتيري وبالتالي تعد ذلك من أحد استراتيجيات QQ (Caicedo وآخرون، 2017)، وتطابقت هذه النتائج مع التجارب التي أجراها (Singh وآخرون 2019؛ وJeong وآخرون، 2008) والتي أشارت إلى دور زيت الزعتر في تخفيض عوامل القدرة الإمراضية للبكتيريا Xanthomonas oryzae pv. oryzae (Xoo) والبكيريا Xanthomonas citri subsp. citri (Xcc) في تخفيض القدرة الإمراضية من خلال منع تشكل الـ Biofilm والتأثير على عمل إشارات عائلة الـ DSF. وفي دراسة أجرها الناصر وآخرون (2020) على تحليل زيت الزعتر بواسطة GC-MS بين أنه يحتوي على عدد من المركبات منها الثيمول Thymol والتي

بينت الدراسات المرجعية (Singh وآخرون، 2019) أنها تلعب دوراً كمثبط للـ QS ولعبه دوراً في خمد الاتصالات البكتيرية. وبالتالي توفر هذه النتائج فرصـــة جذابة لتطوير بديل قوي لتطوير طرق بديلة مضـــادة للقدرة الإمراضـــية لإدارة مســـببات الأمراض النباتية البكتيرية في الحقول الزراعية.

التمويل:

هذا البحث ممول من جامعة دمشق وفق رقم التمويل:(501100020595).

المراجع Referance:

1-الناصـــر، زكريا؛ بشـــير، عبد النبي؛ فندي، جلال. (2020). التركيب الكيميائي للزيت الأســـاســـي لنباتات الزعتر الســـوري Thymus syriacus وفاعلية المستخلص على موت وخصوبة حشرة ذبابة ثمار الزيتون. مقبول للنشر في مجلة العلوم الزراعية في جامعة دمشق.

2-يونس، علي؛ جلول، عايدة؛ أبوغرة، محمود. (2018). الكشف عن إشارات التواصل البكتيري من عائلة الـ DSF عند بكتيريا التبقع الزاوي على القطن Xanthomonas citri subsp.malvacearum. رسالة ماجستير، كلية الزراعة-جامعة دمشق، ص 1-62.

3- Alagarasan, G., K.S, Aswathy., and M, Madhaiyan. (2017). Shoot the message, not the messenger-combating pathogenic virulence in plant by inhibiting Quorum Sensing Mediated Signaling Molecules .frontiers in plant science.VOL.8 556.

4- An, S.Q., and Tang, J.L. (2018). Diffusible signal factor signaling regulates multiple functions in the opportunistic pathogen Stenotrophomonas maltophilia. BMC Res Notes (2018) 11:569.

5- Arjmandi A., Chehri K., Karimi I. (2020). Effects of Citrus limon (L.) essential oil on Pseudomonas aeruginosa: complemented with a computational approach; focus on quorum sensing. Int J Mol Clin Microbiol. 2020;10:1258–1274.

6- Bayles, M.B., and Verhalen, L.M. (2007). Bacterial blight reactions of sixtyone Upland cotton cultivars. The Journal of Cotton Science 11, 40–51.

7- Caicedo, J. C. Villamizar, S., and Ferro, J. A. (2017). Quorum Sensing, It's Role in Virulence and Symptomatology in Bacterial Citrus Canker. Doi /10.5772/66721.

8- Deng, Y., Lim, A., Lee, J., Chen, S., and An, S. (2014). Diffusible signal factor (DSF) quorum sensing signal and structurally related molecules enhance the antimicrobial efficacy of antibiotics against some bacterial pathogens. BMC Microbiol 14:51. https://doi.org/10.1186 /14 71 -2180-14-51.

9- Deng, Y., Wu, J., Tao, F., and Zhang, L.H. (2011). Listening to a new language: DSF-based quorum sensing in Gram-negative bacteria. Chem. Rev.111,160–173.DOI.org /10. 1021/ cr100354f.

10- Dow, J. M., Crossman, L., Findlay, K., He, Y. Q., Feng, J. X., and Tang, J. L. (2003). Biofilm dispersal in Xanthomonas campestris is controlled by cell-cell signaling and is required for full virulence to plants. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. DOI: 10.1073/ pnas.1833360100.

11- Fan, X., Ye, T., Li, Q., Bhatt, P., Zhang, L., and Chen, S. (2020). Potential of a Quorum Quenching Bacteria Isolate Ochrobactrum intermedium D-2 against Soft Rot pathogen Pectob acterium carotovorum subsp. carotovorum. Front. Microbiol.,| https://doi.or g/10.3389 / fmicb. 2020.00898.

12- Fouhy, Y., Scanlon, K., Schouest, K., Spillane, C., Crossman, L., and Avison, M.B. (2007). Diffusible Signal Factor- Dependent Cell-Cell Signaling and Virulence in the Nosocomial Pathogen Stenotrophomonas maltophilia. J Bacteriol 189:4964-8. doi: 10.1128/JB.00310-07.

13- Hakimi Alni R., Ghorban K., Dadmanesh M. (2020). Combined effects of Allium sativum and Cuminum cyminum essential oils on planktonic and biofilm forms of Salmonella typhimurium isolates. 3 Biotech. 2020;10:315.doi: 10.1007/s13205-020-02286-2. [PMCfreearticle] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

14- He, Y.W., Wu, W., Cha, J., and Zhang, L.H. (2010). Rice bacterial blight pathogen Xanthomonas oryzae pv. oryzae produces multiple DSF-family signals in regulation of virulence factor production. BMC Microbiol. 10.187. Doi.147-218/10/187.

15- Jalloul,A., Sayegh, M., Champion., Nicole, M.(2015). Bacterial blight of cotton. in Phytopathology Mediterranean 54(1):3-20.P.233-243.

16- Jeong, K. S., Lee, S. E., Han, J. W., Yang, S. U., Lee, B. M., Noh, T. H. (2008). Virulence reduction and differing regulation of virulence genes in rpf mutants of Xanthomonas oryzae pv. oryzae. Plant Pathol. J. 24, 143–151. doi: 10.5423/PPJ.2008.24.2.143.

17- Kavanaugh, N. L., and Ribbeck, K. (2012). Selected antimicrobial essential oils eradicate Pseudomonas spp. and Staphylococcus aureus biofilms. Appl. Environ. Microbiol. 78, 4057–4061. doi: 10.1128/AEM.07499-11.

18- Moradi F., Hadi N., Bazargani A. (2020). Evaluation of quorum-sensing inhibitory effects of extracts of three traditional medicine plants with known antibacterial properties. New Microbe New Infect. 2020;38: 100769. [PMC free article] [PubMed].

19- Papenfot, K., Bassler, B.L. (2016). Quorum sensing signal- response in Gram-negative bacteria. Nat. Rev. Genet. Doi. 10.1038/nrmicro.2016.89.

20- Sharchi R., Shayegh J., Hosseinzadeh S. (2020). Anti-quorum sensing and antibacterial activities of Satureja sahendica hydroalcoholic extract against avian isolate of Salmon ella Typhimurium. Iran J Vet Sci Technol. 2020;1(22) doi: 10.22067/veterinary.v1 2i1.854.

21- Singh, A., Gupta., Tandon, S., and Pandey, R. (2019). Thyme Oil Reduces Biofilm Formation and Impairs Virulence of Xanthomonas oryzae. frontiersin.10.3389/fmicb.

22- Wang, S., Lian, H.W., Yawen, H., Yunfeng, G., Wu, J-E., Dong, Y.H., He, C., Weng, L., Xu, J.L., Rai, L.T., Fang, X., and Zhang, L.H. (2004). A bacterial cell–cell communication signal with cross-kingdom structural analogues. Molecular Microbiology. Doi :10. 1046./j.1365-2958.2003.03883.x.

23- Wiegang, I., Hilpert, K., and Hancock, R.(2008). Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antibacterial substances. Nature protocols. DOI.10.1038/nprot.2007.521.