بررسی توان تولید سیدروفور در تعدادی از سودوموناس‌های فلورسنت بومی خاک‌های ایران

پیمان عباس‌زاده دهجی، ناهید صالح راستین، هادی اسدی رحمانی، کاظم خاوازی، علی اشرف سلطانی طولارود و ویدا همتی

به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد گروه مهندسی علوم خاک دانشگاه تهران، دانشیار گروه مهندسی علوم خاک دانشگاه تهران، استادیار پژوهش موسسه تحقیقات خاک و آب، استادیار پژوهش موسسه تحقیقات خاک و آب، دانشجوی کارشناسی ارشد گروه مهندسی علوم خاک دانشگاه تهران و کارشناس آزمایشگاه میکروبیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب.

abp_1114 @yahoo.com

مقدمه

مطالعات انجام شده نشان داده‌اند که سودوموناس‌های فلورسنت بخش مهمّی ازجمعیت باکتری‌های ریزوسفری را تشکیل می‌دهند [۳]. این باکتری‌ها می‌توانند بطور مستقیم یا غیرمستقیم موجب افزایش یا تحریک رشد گیاه شوند [۴]. در حالت مستقیم انواع PGPR با استفاده از مکانیسم‌های مختلفی مستقیما" در افزایش رشد و عملکرد گیاه ایفای نقش می‌کنند که یکی از این مکانیسم‌ها افزایش فراهمی آهن از طریق تولید سیدروفور می‌باشند [۷]. آهن فریک که فرم غالب آهن در طبیعت است دارای حلالیت ناچیزی است و عملا قابل جذب برای گیاهان و میکروارگانیسم‌ها نمی‌باشد (10^{-18} مول در pH7/4). تعدادی از باکتری‌ها مواد کلات‌کننده‌ای با وزن ملکولی کم (۴۰۰-۱۰۰۰Da) به نام سیدروفور ترشح می‌کنند که تمایل زیاد به جذب آهن دارند($Kd=10^{-20}$ to 10^{-50}). باکتری‌هایی که سیدروفور تولید می‌کنند کمپلکس سید روفور با آهن را توسط گیرنده‌های خاصی که در غشاء خود دارند جذب می‌کنند. برخلاف پاتوژن‌های گیاهی، گیاهان معمولاً از این کلات شدن آهن توسط سیدروفورهای میکروبی شده صدمه نمی‌بینند زیرا مکانیسم‌هایی را برای جذب و انتقال آهن از این سیدروفورهای میکروبی به درون خود دارند [۴].

مواد و روشها

اندازه گیری سیدروفور به روش عمومیCAS :

به منظور بررسی توان تولید سیدروفور توسط جدایه‌ها، ابتدا باکتری‌ها به مدت ۴۸ ساعت در محیط کشت TSB کشت داده شدند. در این روش برای تشخیص نیمه کمی توان تولید سیدروفور، ۱۵ میکرولیتر سوسپانسیون تازه باکتری با روش لکه‌گذاری روی پلیت‌های حاوی محیط جامد CAS کشت داده شد [۲]. پلیت‌های تلقیح شده در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد نگه داری شدند. توانایی تولید سیدروفور از روی تغییر رنگ از آبی به نارنجی و با اندازه‌گیری هاله نارنجی رنگ تشکیل شده در اطراف کلنی باکتری‌ها، در فواصل زمانی ۲۴، ۴۸ و۷۲ ساعت ارزیابی گردید.

نتایج و بحث

در این آزمایش سویه MPFM به عنوان Sid ¯ مورد آزمایش قرار گرفت. این سویه هاله‌ای با ضخامت کم ایجاد کرد و متوسط نسبت قطر هاله به کلونی در این سویه ۰/۳۷ بود. نسبت قطر هاله به کلونی در روز اول از ۰/۴۲ تا ۲/۱۱، در روز دوم از ۰/۴۰ تا ۲/۸۸، در روز سوم از ۰/۳۵تا ۲/۹۰، در روزچهارم از ۰/۳۲ تا ۳/۰۴ و بطور متوسط از ۰/۳۷ تا ۲/۷۳ متغییر بود. بیشترین متوسط نسبت قطر هاله به کلونی مربوط به سویه P23 (۲/۷۳) بود. ۵۵٪ از سویه‌ها نسبت قطر هاله به کلونی بیشتر از حد متوسط (۱/۷۶) داشتند (جدول ۱). مشخصه عمومی سودوموناس‌های فلورسنت تولید پیگمان‌هایی است که در برابر نور فرابنفش با طول موج کوتاه (۲۵۴ نانومتر) بویژه در شرایط کمبود آهن خاصیت فلورسانس دارند. این پیگمان‌های فلورسنس و محلول در آب از جمله انواع مهم سیدروفورها هستند [۵]. توانایی بسیار بالای تولید سیدروفور توسط سویه‌های مختلفی از سودوموناس‌ها گزارش شده است [۶]. آزمایشات رسولی و همکاران

[۱۳۸۴] نشان داد که ۲۰۱ سویه سودوموناس فلورسنت جدا شده از ریزوسفر گندم همگی توان تولید سیدروفور داشتند و نسبت قطر هاله به کلونی در این سویه‌ها بین ۲/۲۱ تا ۳/۹۶ متغیر بود.

جدول ۱- توان تولید سیدروفور توسط سودوموناس‌های فلورسنت در روزهای مختلف

شماره سویه	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
متوسط قطرکل به کلنی روز اول	1/40	1/49	1/56	1/58	1/78	1/42	1/05	1/42	1/38	1/24
متوسط قطرکل به کلنی روز دوم	1/78	1/53	1/87	2/11	1/92	1/92	1/15	1/86	1/87	2/42
متوسط قطرکل به کلنی روزسوم	2/00	1/63	1/82	2/31	2/37	2/09	1/44	2/13	2/23	2/41
متوسط قطرکل به کلنی روزچهارم	1/74	1/59	1/92	2/19	2/50	2/09	1/50	1/97	2/05	2/40
شماره سویه	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
متوسط قطرکل به کلنی روز اول	1/20	1/14	1/49	1/43	1/60	1/02	1/84	1/05	1/50	1/05
متوسط قطرکل به کلنی روز دوم	1/31	2/18	1/57	1/89	1/90	1/52	2/32	1/53	1/72	1/04
متوسط قطرکل به کلنی روزسوم	1/44	1/93	1/64	2/15	1/77	1/59	2/71	1/63	1/63	1/45
متوسط قطرکل به کلنی روزچهارم	1/41	2/20	1/66	2/00	1/77	2/00	2/45	1/47	1/85	1/58
شماره سویه	P21	P22	P23	R1	R26	R30	R36	R41	R69	R93
متوسط قطرکل به کلنی روز اول	1/06	1/09	2/11	1/77	2/00	1/18	2/09	1/49	1/36	1/78
متوسط قطرکل به کلنی روز دوم	1/57	1/28	2/87	1/49	1/88	1/41	2/36	2/18	1/94	2/40
متوسط قطرکل به کلنی روزسوم	2/12	1/47	2/89	1/28	2/23	1/47	2/74	2/12	2/30	2/75
متوسط قطرکل به کلنی روزچهارم	1/86	1/53	3/03	1/31	2/56	1/17	2/94	2/12	1/94	2/76
شماره سویه	R99	R112	R143	R150	R159	R168	R173	R187	GRP3	MPFM
متوسط قطرکل به کلنی روز اول	1/59	1/49	1/39	1/39	1/42	1/84	1/94	1/13	0/82	0/42
متوسط قطرکل به کلنی روز دوم	1/83	1/84	2/14	1/92	2/18	2/51	1/20	1/62	0/68	0/40
متوسط قطرکل به کلنی روزسوم	1/77	2/28	2/46	1/67	2/75	2/47	1/53	1/77	0/68	0/35
متوسط قطرکل به کلنی روزچهارم	1/52	2/19	2/73	1/54	2/53	2/16	1/76	1/71	0/69	0/31

منابع

[۱] رسولی صدقیانی، ح.، ک. خاوازی.، ح. رحیمیان.، م. ج. ملکوتی و هـ اسدی رحمانی. ۱۳۸۴. ارزیابی توان سویه های بومی سودوموناس های فلورسنت ریزوسفر گندم برای تولید سیدروفور. مجله خاک و آب. جلد ۲۰، شماره ۱، مؤسسه تحقیقات خاک و آب، تهران، ایران.

[2] Alexander, D. B., and Zuberer, D. A. 1991. Use of chrome azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. Biol. Fertil. Soils. 12: 39-45.

[3] Benizri, E., Courtade, A., Picard, C., and Guckert, A.1998. Role of maize root exudates in the production of auxin by *pseudomonas flurescense M*.3.1. Soil. Biol. Biochem. 30(10/11): 1481-1484.

[4] Glick, B. R. 1995. The enhacement of plant growth by free-living bacteria. Can. J. Microbiol. 41: 109-117.

[5] Leoni, L., Ambrosi, C., Petrucca, A., and Visca, P. 2002. Transcriptional regulation of pseudobactin synthesis in the plant growth-promoting *Pseudomonas* B10. FEMS Microbiol. Letters. 208: 219-225.

[6] Meyer, J.M. 2000. Pyoverdins: pigments, siderophores and potential taxonomic markers of *fluorescent Pseudomonas* species. Arch. Microbiol. 174: 135-142.

[7] Ping ,L.and Boland, W.2004.Signals from the underground: bacterial volatiles promote growth in Arabidopsis.Trends. plant. Sci.9(6).