مطالعه نقش سیدروفورهای باکتریایی در جذب آهن و روی با ردیابی ایزوتوپ‌های ^{59}Fe و ^{65}Zn

میرحسن رسولی صدقیانی، محمدجعفر ملکوتی و کاظم خاوازی

به ترتیب استادیار گروه علوم خاک دانشگاه ارومیه sadaghianii@yahoo.com، استاد دانشگاه تربیت مدرس و استادیار پژوهش مؤسسه تحقیقات خاک و آب

مقدمه

باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (PGPR) اغلب در نزدیکی یا در فضای بین سلولهای خارجی ریشه گیاهان یافت می‌شوند[۲]. این میکروبها از طریق تولید سیدروفور و هورمون‌های گیاهی نظیر اکسین‌ها و سیتوکینین‌ها و انحلال ترکیبات معدنی فسفات و ایجاد رقابت با عوامل بیماریزای خاکی رشد گیاهان را بهبود می‌بخشند. از مهمترین باکتریهای PGPR جنس *Pseudomanas*ها هستند. سیدروفورها کلاتها یا ترکیبات آلی با وزن مولکولی پایین (کمتر از ۱۰۰۰ دالتون) و با میل ترکیبی شدید و اختصاصی برای کمپلکس شدن با آهن فریک (Fe^{+3}) و سایر کاتیونها از جمله روی (Zn^{+2}) هستند. آهن و روی از عناصری هستند که در خاکهای آهکی کمبود آنها مشهود است[۱].

نتایج تحقیقات در مورد انتقال آهن بواسطه سیدروفورها نشان داده که میکروارگانیسم‌های اشغال‌کننده ریزوسفر ممکن است آهن مورد نیاز گیاهان را تأمین نمایند. بنابراین گیاهانی که قادر به استفاده از سیدروفورهای میکروبی بعنوان حامل آهن III هستند، کارائی بالایی نسبت به آهن نشان می‌دهند. بهرحال، بواسطه حضور سیدروفورها، قابلیت استفاده و تحرک آهن در محیط ریشه افزایش یافته و کمپلکس سیدروفور ـ آهن تشکیل شده می‌تواند در محلول خاک همراه با جریان توده‌ای به سطح ریشه برسد و آهن از طریق مکانیسم عمل آنزیم احیاکنندهٔ کلات آهن III موجود در غشای پلاسمایی (گیاهان استراتژی I) و یا از طریق فرایند تبادل لیگاندی با فیتوسیدروفورها (گیاهان استراتژی II) جذب شود[۲، ۶]. مطالعه تغذیه آهن بوسیله سیدروفور *Pseudomonas putida* در خیار و ذرت نشان داد که کمپلکس ^{59}Fe-pyoverdine منبع آهن نسبتاً ضعیفی برای هر دو گیاه بود و آهن را برای خیار در حدود ۴۰ برابر کمتر از ^{59}Fe-EDTA و در مورد ذرت ۶۶۵ بار کمتر از ^{59}Fe-phytosiderophore تأمین نمود[۵].

مواد و روشها

در این آزمایش از سودوموناسهای فلورسنت که قبلا از ریزوسفر گندم جداسازی شده بودند، جدایه های FP73 از گونه فلورسنس، FP159 از گونه پوتیدا و FP35 از گونه آئروژینوزا که توانایی بالایی در تولید سیدروفور داشتند انتخاب و آزمایش با استفاده از سیدروفور این ۳ جدایه انجام گردید. آزمایش با استفاده از کمپلکس سیدروفور این باکتری‌ها با ^{59}Fe و ^{65}Zn بصورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار و در مقایسه با سیدروفور خالص دسفرواکسامین (DFOB) انجام گرفت. در این آزمایش از دو رقم گندم بنامهای طبسی و یاواروس استفاده گردید. مراحل رشد اولیه بذرهای گندم در شن انجام و سپس به محیط هیدروپونیک با تهویه پیوسته منتقل گردیدند. برای استخراج سیدروفور باکتری‌ها از محیط استاندارد سوکسینات (SSM) استفاده شد. سلولهای باکتری پس از رشد، با سانتریفوژ در ۱۰۰۰۰g به مدت ۲۰ دقیقه برداشت گردیده و محلول روئی با فیلتر غشائی ۰/۲۲ میکرومتر صاف گردید. محلول روئی حاصل به عنوان منبع سیدروفور در آزمایش استفاده شد[۴]. جذب و انتقال ^{59}Fe و ^{65}Zn توسط ریشه‌های گندم، در محلول غذایی بدون عناصر میکرو بررسی گردید. تشکیل کمپلکس ^{59}Fe و ^{65}Zn با سیدروفورها در محلول غذایی و با حضور ۱۰ میلی‌مولار بافر MES (مورفولینواتان سولفونیک اسید) و pH برابر ۵/۸ انجام گرفت. عناصر رادیواکتیو ^{59}Fe و ^{65}Zn به ترتیب از فعالیت ویژه برابر $1/11\times10^{8}$ Bq mol^{-1}Fe و $1/28\times10^{8}$ Bq mol^{-1}Zn برخوردار بودند. منابع آهن و روی در غلظت‌های ۱۰ و ۱ میکرومول به محلول غذایی افزوده شدند. سپس گیاهان گندم به ظروف شیشه‌ای اسید شویی‌شده حاوی محلول غذایی و کمپلکس‌های ^{59}Fe-siderophore و ^{65}Zn-siderophore انتقال یافتند. پس از ۶ ساعت جذب و انتقال، گیاهان به ترتیب با آب مقطر استریل، محلول ۱۰۰ میکرومول

Na_2EDTA چندین بار شسته شدند. مقدار ^{59}Fe و ^{65}Zn در ریشه و اندام‌های هوایی با روش روش اسپکترومتری گاما با آشکارساز ژرمانیوم با توان تفکیک بالا (HRGS) اندازه‌گیری گردیدند[۳].

نتایج و بحث

نتایج حاصل نشان داد که مقدار فعالیت ^{59}Fe در اندامهای هوایی در کمپلکس تشکیل شده با سیدروفور استاندارد بیشتر از کمپلکس تشکیل شده با سه سویه *putida*، *fluorescens* و *aeruginosa* بود، لیکن این اختلاف در مورد سیدروفور *fluorescens* و *aeruginosa* (در سطح ۱ درصد) معنی‌دار بود و جذب ^{59}Fe بواسطه سیدروفور *putida* با سیدروفور استاندارد در یک گروه آماری قرار گرفت. در مورد فعالیت ^{65}Zn نیز وضعیت مشابهی مشاهده گردید. پایین‌ترین فعالیت ^{65}Zn در اندامهای هوایی مربوط به سیدروفور *aeruginosa* (۳۶/۴۱ بکرل در گرم وزن خشک) بود، در حالیکه فعالیت ^{65}Zn در مورد کمپلکس روی با سیدروفور استاندارد و سیدروفور *putida*، به‌ترتیب ۶۶٪ و ۳۹٪ بیشتر از میزان فعالیت سیدروفور *aeruginosa* بود. بنابراین میزان فعالیت ^{59}Fe و ^{65}Zn مربوط به سیدروفورهای مختلف در اندامهای هوایی از روند کاهشی زیر تبعیت نمود:

Sid-DFOB> Sid- *putida*> Sid-*fluorescens* > Sid-*aeruginosa*

اثر رقم گندم در میزان فعالیت ^{59}Fe اندامهای هوائی در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد و در رقم نان طبسی در مقایسه با رقم دوروم یاواروس فعالیت ^{59}Fe در حدود ۴۶٪ بالاتر بود. رقم نان طبسی از کارایی بالایی در فیتوسیدروفورها در شرایط کمبود آهن و روی برخوردار بود و رقم دوروم یاواروس توانایی ترشح فیتوسیدروفور پایینی داشت[۱]. بنابراین رقم طبسی کارا، Fe بیشتری را از منابع سیدروفوری جذب نمود. شاید به دلیل پایین بودن ثابت پایداری سیدروفورها با Zn^{2+} در مقایسه با فیتوسیدروفورها، مقدار ^{65}Zn در ریشه‌ها و اندامهای هوایی گندم نسبت به ^{59}Fe بالا بود و امکان واکنش تبادل لیگاندی را فراهم نموده‌است. فعالیت ^{59}Fe و ^{65}Zn در ریشه‌های گندم اختلاف آماری معنی‌داری را بین کمپلکس‌های سیدروفورهای مورد مطالعه نشان داد. کمپلکس تشکیل‌شده با سیدروفور *putida*، بیشترین فعالیت و کمپلکس سیدروفور *aeruginosa* کمترین فعالیت ^{59}Fe را بخود اختصاص دادند. کمپلکس سیدروفور *putida* با ^{59}Fe فعالیت بیشتری را در اندامهای هوایی هر دو رقم طبسی و یاواروس ایجاد نمود. بنابراین این سیدروفور در مقایسه با سیدروفور سایر گونه‌ها از توانایی بالایی در افزایش جذب و انتقال ^{59}Fe و ^{65}Zn برخوردار بود.

منابع

[۱] رسولی صدقیانی، میرحسن. ۱۳۸۴. بررسی نقش فیتوسیدروفورها و سودوموناسهای تولیدکننده سیدروفور در تامین آهن و روی موردنیاز ارقام گندم. رساله دکتری خاکشناسی، گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس.

[۲] رسولی صدقیانی، م. ح.، خاوازی، ک. و ملکوتی، م. ج. ۱۳۸۴. باکتری‌های تولیدکننده سیدروفور و امکان تامین آهن و روی مورد نیاز گیاهان، نشریه فنی شماره ۴۲۷، موسسه تحقیقات خاک و آب، تهران، ایران.

[3] Johnson. G. A., Lopez A., and Foster N. V. 2002. Reduction and transport of Fe from siderophores. Plant and Soil 241: 27–33.

[4] Meyer J. M. and Abdallah M. A. 1978. The fluorescent pigment of *Pseudomonas fluorescens*: biosynthsis, purification and physicochemical properties J. Gen. Microbiol. 107: 319-328.

[5] Walter A., Romheld V., Marschner H., and Crowley D. E. 1994. Iron nutrition of cucumber and maize: Effect of Pseudomonas putida YC3 and its siderophore. Soil Biol. Biochem. 26: 1023-1031.

[6] Yehuda Z., Shenker M., Romheld V., Marschner H., Hadar Y., and Chen Y. 1996. The role of ligand exchange in the uptake of iron from microbial siderophores by gramineous plants. Plant Physiol. 112: 1273–1280.