ارزیابی قابلیت تولید سیدروفور در سویه‌های سیانوباکتری جداسازی شده از مزارع برنج

صاحب سودایی مشایی [۱]، ناصرعلی اصغرزاد [۲]، قربانعلی نعمت‌زاده [۳]
۱- دانشجوی دکتری گرایش بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک دانشگاه تبریز، ۲- دانشجوی دکتری گروه علوم خاک دانشگاه تبریز، ۳- دانشجوی دکتری گروه اصلاح نباتات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی

چکیده
این پژوهش به منظور بررسی پتانسیل تولید سیدروفور سویه‌های بومی سیانوباکترها در سال ۱۳۹۳ در پژوهشکده زیست‌فناوری طبرستان انجام گرفت. برای این منظور ۳۰ جدایه از سیانوباکترهای شالیزارهای استان گیلان جداسازی شدند. توان تولید سیدروفور سویه‌ها با استفاده از محیط کشت جامد و مایع حاوی کرم آزرول اس (CAS-agar) ارزیابی شدند. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که بیشترین میزان تولید سیدروفور در روش CAS- آگار جدایه‌های *Chroococcus* sp. GGuCy-۳۴ و *Anabaena* sp. GGuCy-۴۹ به ترتیب ۱۹/۴ و ۰۸/۴ و در روش اسپکتروفتومتری سویه‌های *Anabaena* sp. GGuCy-۲۱ و *Nostoc* sp. GGuCy-۴۷ به ترتیب ۶۹/۶ و ۷۵/۵ میکرومول بر لیتر در روز بود. در آزمایش گلدانی سویه *Anabaena* sp. GGuCy-۴۲ بیشترین عملکرد دانه و سویه *Chroococcus* sp. GGuCy-۳۴ بیشترین جذب آهن در برنج را نشان داد. نتایج حاصل از ارزیابی تولید سیدروفور سیانوباکترها در روش CAS- آگار با نتایج حاصل از آزمایش گلدانی مطابقت بیشتری داشت.

واژه های کلیدي: کلات کننده‌های آهن، سیانوباکتر، کرم آزرول S، برنج

مقدمه
تقریبا ۴۰ درصد فتوسنتز جهانی توسط فیتوپلانکتون‌ها در محیط‌های آبی صورت می‌گیرد. سیانوباکترها، پروکاریوت‌های فتواتوتروف گرم منفی، بطور قابل توجهی در این کار شرکت دارند و مقادیر زیادی از عنصر ریزمغذی آهن را به منظور ابقا و حفظ دستگاه فتوسنتزی غنی از آهن خود نیاز دارند. نیاز به آهن در سیانوباکترها حدود ۱۰ برابر بیشتر از پروکاریوت‌های غیر فتوسنتز کننده و بطور استثنایی حتی بیشتر از دیگر ارگانیسم‌های فتوسنتز کننده می‌باشد (Kranzler, et al., ۲۰۱۱).
بیشترین و متنوع‌ترین کلات‌های بیوسنتزی، سیدروفورهای میکروبی و به نسبت کمتر فیتوسیدروفورهای تولید شده بوسیله گرامینه‌ها می‌باشند (Crowley et al., ۱۹۹۱). سیدروفورها ترکیباتی با وزن مولکولی کم (کمتر از ۱۰۰۰ دالتون) با میل ترکیبی بالا برای آهن سه ظرفیتی می‌باشند که توسط باکتری‌ها برای حل کردن آهن سه ظرفیتی در محیط خارج سلولی ترشح می‌شوند (Neilands, ۱۹۸۱). سیانوباکترها نیز کلات‌کننده‌های ویژه آهن با وزن مولکولی کم (۴۰۰ تا ۱۲۰۰ دالتون) را تحت شرایط محدودیت آهن تولید می‌کنند. اسچیزوکینن[۷۰] یک سیدروفور مشتق شده از سیترات است که نخستین بار از سیانوباکتری *Anabaena PCC*۷۱۲۰ گزارش شده است (Rastogi and Sinha, ۲۰۰۹; Ito and Butler, ۲۰۰۶). متابولیسم نیتروژن و تولید سیدروفور بطور متقابل فرآیندهای منحصربفردی در سیانوباکتری‌ها هستند. در واقع رشد *Anabaena variabilis* در غیاب منبع نیتروژن نسبت به رشد در محیط حاوی نیترات سبب تولید میزان بیشتری از سیدروفور می‌شود (Sahu et al., ۲۰۱۲).
ویلهم و تریک (۱۹۹۴) نشان دادند که سیدروفور نوع هیدروکسامات[۷۱] و همچنین نوع کاتکول[۷۲] را می‌توان در محلول شفاف رویی محیط کشت سیانوباکتریایی مشاهده نمود. حداقل سه سیستم گوناگون گزارش شده است که در سنتز سیدروفور در سیانوباکترها درگیر هستند. دو تا از این سیستم‌ها متعلق به سنتتازهای پپتیدی بدون ریبوزومال (NRPSs[۷۳]) می‌باشد که پیوندهای پپتیدی بین مونومرهای آمینو اسیدی اسکلت سیدروفور را کاتالیز می‌کنند. مدل هسته NRPS شامل سه پهنه شامل پهنه آدنیله شدن برای فعال‌سازی مونومر آمینواسید انتخاب شده، پهنه ناقل پپتیدیل برای انتقال مونومرها به مکانهای گوناگون کاتالیتیک و پهنه متراکم سازی برای تشکیل پیوندهای پپتیدی بین مونومرها می‌باشد (Du and Shen, ۲۰۰۱). مسیر سوم برای سنتز سیدروفور مستقل از NRPS است، بطوریکه برای سنتز آئروباکتین در *Escherichia Coli* و ریزوباکتین ۱۰۲۱ در *Sinorhizobium meliloti* شناسایی شد (Challis, ۲۰۰۵). از این رو، دو مسیر سنتزی قبلی برای سیدروفور نوع هیروکسامات و کاتکول اهمیت دارند، در حالیکه مسیر سوم تنها برای سیدروفور نوع هیدروکسامات اثبات شده است (Shen, ۲۰۰۳).

---
[۷۰] Schizokinen
[۷۱] Hydroxamate-type
[۷۲] Catecholate-type
[۷۳] Non-ribosomal peptide synthetases

با نگاه به اینکه برنج در غذای روزانه مردم ایران، دارای جایگاهی ویژه‌ای است و از این نظر این گیاه در کشاورزی ایران به نوعی گیاه زراعی استراتژیک محسوب می‌شود و نیز با توجه به مسئله ضرورت استفاده از کودهای بیولوژیک در آینده، مسئله بقا و رشد موجودات در شرایط نسبتا مشابه شالیزار می‌تواند در ابعاد کاربردی بسیار مفید باشد. با توجه به ارزش بیوتکنولوژیک سیانوباکتری‌ها در کشاورزي، نیاز به بررسی‌های همه جانبه این موجودات در کشور احساس می‌شود. از اینرو، هدف از اجرای این پژوهش جداسازی و خالص‌سازی سیانوباکتری‌های بومی شالیزارهای استان گیلان و بررسی توان تولید سیدروفور این جدایه‌ها و تأثیر آن بر رشد و جذب آهن گیاه برنج می‌باشد.

مواد و روش‌ها

الف) جداسازی و شناسایی سیانوباکتری‌ها و شرایط رشد

کشت نمونه‌های خاك مطابق روش کشت سیانوباکتری‌های خاکزي انجام گرفت (Kaushik, ۱۹۸۷). برای ایجاد کلنی‌های اولیه سیانوباکتریایی و جداسازی آن‌ها از خاک، ۳۰ گرم از هر نمونه‌ی خاک به پتری‌های استریل با قطر ۹ سانتیمتر منتقل، سپس مقدار مناسبی از محیط کشت مایع BG۱۱ و BG۱۱. (بدون نیتروژن) در تیمار جداگانه به آن‌ها اضافه شد (Stanier et al. ۱۹۷۱). نمونه‌ها حدود ۳-۴ هفته در اتاق کشت در دمای ۲۷ درجه سلسیوس و شدت نور ۲۵۰۰ لوکس با نور دائمی قرار داده شدند. بعد از پیدایش کلنی‌های سیانوباکتریایی بر روی سطح خاک حاوی محیط کشت، نمونه‌های سیانوباکتری به صورت کلنی به پتری‌های حاوی محیط کشت جامد BG۱۱ و BG۱۱. (با افزودن آگار ۵/۱ درصد) منتقل شدند. سپس طی واکشت‌های مکرر (۶ مرتبه) نمونه‌های سیانوباکتریایی خالص گردیدند. سپس مقداری از کلنی در کشت جامد به ارلن‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری حاوی محیط کشت مایع (BG۱۱ و یا BG۱۱.) منتقل شده و به مدت سه هفته در اتاقک رشد و به همراه تکان خوردن، قرار داده شدند (Johansson and Bergman, ۱۹۹۴). برای شناسایی جدایه‌ها به روش مورفولوژیک، با تهیه لام نیمه دائمی از کلنی‌ها و با استفاده از میکروسکوپ نوری و کلیدهای شناسایی سیانوباکتری‌ها، مشخصات میکروسکوپیک و ماکروسکوپیک نمونه‌های مورد نظر شناسایی و تعیین شدند (John et al., ۲۰۰۳؛ Desikhachary, ۱۹۵۹).

ب) آزمون نیمه کمی تولید سیدروفور

آزمون نیمه‌کمی توان تولید سیدروفور سویه‌های سیانوباکتر خالص شده با استفاده از محیط کشت CAS-Agar[۷۴] انجام گرفت (اسچویان و نیلاندز، ۱۹۸۷). سوسپانسیون سیانوباکتر به روش لکه‌گذاری روی پلت‌ها تلقیح شده و توانایی تولید سیدروفور بر مبنای تغییر رنگ محیط کشت از آبی به نارنجی و با اندازه‌گیری قطر هاله نسبت به قطر کلنی در فواصل زمانی مشخص اندازه‌گیری شد (علی‌اصغرزاد و همکاران، ۲۰۰۹؛ ایتو و بوتلر، ۲۰۰۶).

ج) اندازه‌گیری تولید سیدروفور با استفاده از روش اسپکتروفتومتری

ابتدا ۵۰ میلی‌لیتر از محلول CAS را با ۵۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه مخلوط کرده و ۱۰ میلی‌لیتر از این محلول رقیق شده را به لوله‌های آزمایش اسیدواش اضافه کرده و به آن ۲ میلی‌لیتر مایع شفاف رویی محیط کشت سیانوباکتریایی اضافه گردید. سپس بعد از گذشت یک ساعت در جذب ۶۹۸ نانومتر اندازه‌گیری شد. منحنی استانداردسازی با DTPA حاوی ۰، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، و ۵۰ میکرومول DTPA بر لیتر به نسبت یک به پنج با محلول CAS مخلوط شده و با دستگاه اسپکتروفتومتر میزان جذب نمونه‌ها قرائت گردید (Aliasgharzad et al., ۲۰۰۹).

د) کشت گلدانی و میزان جذب آهن

آزمایش گلدانی برای ارزیابی پیامد کاربرد سویه‌های برتر گزینش شده سیانوباکتری بر رشد و عملکرد گیاه برنج (رقم طارم هاشمی) انجام گردید. تیمار مایه‌زنی سیانوباکتری با ۷ سویه برتر گزینش شده و تیمار شاهد بدون مایه‌زنی با سه تکرار آزمایش شد. بنابراین در قالب طرح پایه بلوک کامل تصادفی در پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان انجام شد. گلدان‌ها هر کدام با ۵ کیلوگرم خاک مزرعه شالیزاری (۰ تا ۲۰ سانتیمتر) پر شده و برای دو هفته غرقاب نگه داشته شدند. از کشت مایع سیانوباکترهای گزینش شده (کشت ۱۵ روزه) همانند زادمایه، به اندازه ۵۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون (با چگالی نوری ۵۵۰/۰ نانومتر) با پرلیت سترون (۲۰ گرم پرلیت با ۵۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون برای هر گلدان) آمیخته شده و در خاک هر گلدان در عمق ۵ سانتی‌متری خاک گلدان جاگذاری شدند. چند روز پیش از نشا تیمار کود پایه بدون مصرف کود نیتروژن، ۷/۰ گرم سوپرفسفات تریپل و ۸/۰ گرم سولفات پتاسیم در گلدانها بکار رفت. سپس بذور برنج رقم طارم هاشمی ضدعفونی شده و با سوسپانسیون سویه‌های سیانوباکتری (با چگالی نوری ۵۵۰/۰ نانومتر) مایه‌زنی شده، درون گلدان‌های مربوط به هر تیمار کاشته شده و آبیاری گلدانها دوبار در هفته انجام شد. در مرحله رسیدگي فیزیولوژیك بعد از گذشت ۱۱۵ روز از کاشت بذر، برداشت کامل گیاه انجام شده و عملکرد دانه و میزان جذب آهن گیاه تعیین گردید (بهمنیار و همکاران ۲۰۱۲). محاسبات آماری به کمک نرم افزار SAS و مقایسه میانگین داده‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام پذیرفت.

[۷۴] Chromazurol S

نتایج و بحث

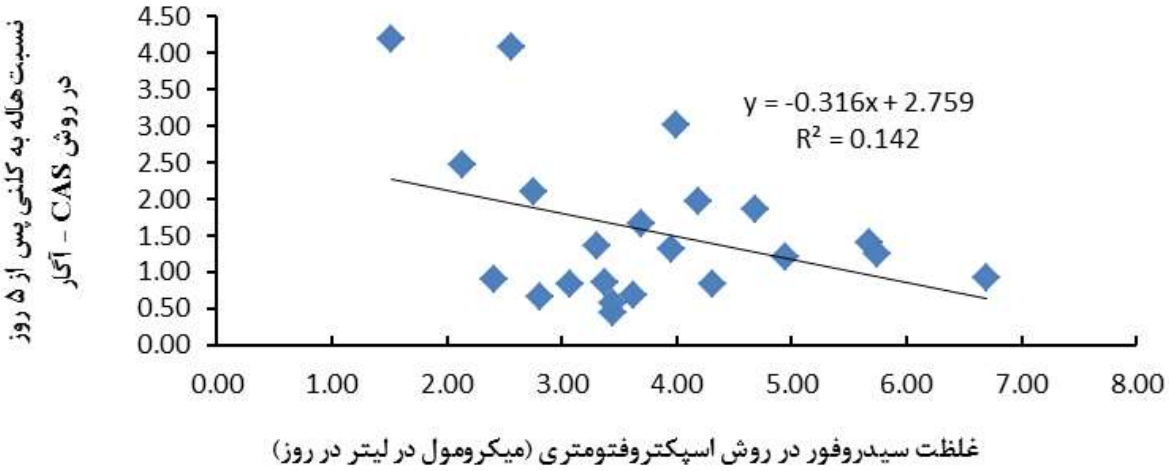
از مجموعه ۳۰ سیانوباکتر جداسازی شده ۲۲ جدایه قادر به تولید سیدروفور بودند (جدول ۱). رنگ هاله تشکیل شده از نارنجی پر رنگ تا زرد متغیر بود. تمایز در تغیر رنگ می‌تواند در ارتباط با تفاوت‌های ساختمانی در انواع سیدروفورهای ترشح شده باشد. دو گروه بزرگ از سیدروفورها شامل هیدروکسامات و کاتکول در pH طبیعی محیط کشت، با آهن سه ظرفیتی تشکیل کمپلکس داده که این امر با تغیر رنگ محیط CAS- آگار قابل مشاهده می‌باشد (Payne, ۱۹۹۴). نسبت قطر هاله به کلنی از روز اول تا روز ۵ ام روند افزایشی داشت. این نسبت در جدایه‌های Anabaena sp. GGuCy-۴۹، Chroococcus sp. GGuCy-۳۴ و Stigonema sp. GGuCy-۳۲ به ترتیب ۱۹/۴، ۰۸/۴ و ۰۲/۳ بود. ۴/۳۶ درصد از جدایه‌ها نسبت قطر هاله به کلنی بیشتر از حد متوسط (۵۷/۱) داشتند (جدول ۱). رقابتی که در محیط CAS برای پیوند با آهن بین کمپلکس فریک معرف رنگی به نام کروم آزرول S، دترجنت هگزا دسیل تری متیل آمونیوم برماید (HDTMA) و یک کلات کننده یا سیدروفور میکروبی بوجود می‌آید اساس ارزیابی تولید سیدروفور در این محیط می‌باشد و تغییر رنگ معرف CAS از آبی به نارنجی در اثر برداشتن آهن از این معرف توسط سیدروفور ایجاد می‌شود.

در اندازه‌گیری توان تولید سیدروفور سیانوباکترها بصورت کمی که هر ۲۲ جدایه بومی قادر به تولید سیدروفور در مقادیر مختلف بودند، با توان کلات کنندگی DTPA برآورد شده است (Aliasgharzad et al., ۲۰۰۹). میزان تولید سیدروفور در سویه‌های *Anabaena* sp. GGuCy-۴۷، *Nostoc* sp. GGuCy-۲۱ و *Anabaena* sp. GGuCy-۴۸ بیشترین مقدار به ترتیب ۶۹/۶، ۷۵/۵ و ۶۹/۵ میکرومول بر لیتر در روز حاصل گردید (جدول ۱). ۴۱ درصد از جدایه‌ها تولید سیدروفور بیش از حد متوسط (۷۴/۳) داشتند.

جدول۱: میزان تولید سیدروفور جدایه‌های سیانوباکتر به روش اسپکتروفتومتر و نسبت قطر هاله به کلنی به روش CAS-آگار

جدایه سیانوباکتری‌ها	سیدروفور با DTPA ($\mu mol/cm^{۳}.day$)	نسبت قطرهاله به کلنی پس از ۵ روز به روش CAS- آگار	جدایه سیانوباکتری‌ها	سیدروفورباDTPA ($\mu mol/cm^{۳}.day$)	نسبت قطرهاله به کلنی پس از ۵ روز به روش CAS- آگار
Chroococcus sp. GGuCy-۳۴	۵۱/۱	۱۹/۴	۰۰/۴	۰۲/۳	
		Stigonema sp. GGuCy-۳۲			
Anabaena sp. GGuCy-۱۷	۹۵/۳	۳۱/۱	*Anabaena* sp. GGuCy-۳۳	۰۷/۳	۸۴/۰
Nostoc sp. GGuCy-۱۹	۸۱/۲	۶۷/۰	*Westillopsis* sp. GGuCy-۳۹	۱۹/۴	۹۶/۱
Nostoc sp. GGuCy-۲۰	۶۹/۳	۶۶/۱	*Anabaena* sp. GGuCy-۴۱	۹۴/۴	۲/۱
Anabaena sp. GGuCy-۲۱	۶۹/۶	۹۳/۰	*Anabaena* sp. GGuCy-۴۲	۳۸/۳	۸۶/۰
Anabaena sp. GGuCy-۲۳	۴۴/۳	۴۵/۰	*Rivularia*sp. GGuCy-۴۳	۳۱/۳	۳۵/۱
Anabaena sp. GGuCy-۲۴	۳۱/۴	۸۳/۰	*Nostoc* sp. GGuCy-۴۶	۷۵/۲	۱/۲
Cylendrospermum sp. GGuCy-۲۵	۶۹/۴	۸۷/۱	*Nostoc* sp. GGuCy-۴۷	۶۹/۵	۴/۱
Calothrix sp. GGuCy-۲۶	۶۳/۳ ۶۸/۰	*Anabaena* sp. GGuCy-۴۸	۷۵/۵	۲۵/۱	
Calothrix sp. GGuCy-۲۷	۴۱/۲	۹۱/۰	*Anabaena* sp. GGuCy-۴۹	۵۶/۲	۰۸/۴
Anabaena sp. GGuCy-۳۱	۱۳/۲	۴۸/۲	*Anabaena* sp. GGuCy-۵۰	۴۴/۳	۵۸/۰

مقایسه نتایج حاصل از روش‌های CAS- آگار و روش اسپکتروفتومتری در شکل ۱ نشان داد که همه جدایه‌های مورد پژوهش غیر منطبق بودن روش CAS- آگار با روش اسپکتروفتومتری را اثبات کردند. به نظر می‌رسد جدایه‌هایی که در محیط CAS- آگار میزان بالایی از تولید سیدروفور را نشان دادند قادر به تولید انواع سیدروفورهای که عامل تغییر رنگ معرف CAS از آبی به نارنجی هستند را می‌باشند (شریفی و همکاران، ۱۳۸۷).



شکل۱: همبستگی بین غلظت سیدروفور اندازه‌گیری شده در روش اسپکتروفتومتری و نسبت قطر هاله به کلنی در روش CAS- آگار

نتایج آزمون گلدانی: نتایج تجزیه واریانس تیمارها نشان داد که جذب آهن در سطح احتمال یک درصد و وزن خشک اندام هوایی، تعداد دانه پر در خوشه، عملکرد دانه و غلظت آهن در برگ در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری داشتند.

مقایسه میانگین تیمارها نشان داد (جدول ۲) که عملکرد دانه در تیمار تلقیح شده با سویه *Anabaena* sp. GGuCy-۴۲ بیشترین (۹۷/۸ گرم در گلدان) و در تیمار شاهد بدون مصرف کود شیمیایی کمترین (۵۱/۵ گرم در گلدان) بود. میزان جذب آهن در تیمار تلقیح شده با سویه *Chroococcus* sp. GGuCy-۳۴، بیشترین مقدار بوده (۱۹/۲ گرم بر کیلوگرم در گلدان) که با بقیه تیمارها اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد دارد و نسبت به تیمار شاهد بدون تلقیح ۳۵ درصد افزایش جذب آهن داشت. و سویه‌های *Anabaena* sp. GGuCy-۲۳ و *Anabaena* sp. GGuCy-۴۲ در گروه‌های بعدی قرار گرفتند.

جدول۲: مقایسه میانگین اثر جدایه‌های مختلف سیانوباکتر روی صفات مورد بررسی در آزمایش گلدانی برنج (سطح احتمال ۵ درصد)

تیمارهای سیانوباکتر	وزن خشک اندام هوایی (gr/pot)	تعداد دانه پر در خوشه	درصد دانه پوک در خوشه	عملکرد دانه (gr/pot)	غلظت آهن برگ (mg/kg)	جذب آهن (gr/kg.pot)
شاهد بدون کود NPK	b۳۶/۶	b۰/۵۸	a۵۱/۵	b۹۲/۵	c۰/۱۰۰	d۶۲/۰
ab۰/۶۶a۴۲/۸ab۵۲ /۷ab۴/۲۰۲bc۵۱/۱ شاهد بدون تلقیح	ab۵۷/۷	ab۰/۶۷	a۶۹/۸	ab۹۶/۶	ab۹/۲۰۸	bc۴۳/۱
Anabaena sp. GGuCy-۴۲ab۸۵/۸ *Cylendrospermum* sp. GGuCy-۲۵	a۳۴/۹	a۲/۷۳	a۹۸/۸	a۲۷/۸	bc۷/۱۹۷	bc۶۲/۱
Rivularia sp. GGuCy-۴۳	a۴۴/۹	ab۹/۶۷	a۹۵/۵	ab۷۶/۶	bc۱/۱۷۲	c۱۵/۱
Anabaena sp. GGuCy-۲۳	ab۱۲/۷	a۱/۷۲	a۱۷/۵	ab۶۵/۶	ab۵/۲۵۹	b۶۹/۱
Chroococcus sp. GGuCy-۳۴	ab۶۴/۷	ab۱/۷۰	a۴۹/۴	ab۴۱/۷	a۳/۳۰۳	a۱۹/۲
Stigonema sp.	ab۰۳/۷	ab۴/۷۰	a۸۰/۵	ab۵۵/۶	ab۳/۲۱۳	bc۴۰/۱

GGuCy-۳۲						
Anabacna sp. GGuCy-۱۷	ab۹۲/۸	ab۴/۶۸	a۲۵/۶	ab۲۱/۷	bc۱/۱۹۴	bc۳۶/۱

نتیجه‌گیری

دو روش برآورد میزان سیدروفور از لحاظ نتایج بدست آمده غیر منطبق هستند که نوع سیدروفورها و یا عملکرد کلات کننده DTPA در این امر دخیل هستند. نتایج آزمایش گلدانی نشان داد که سویه‌های برتر انتخاب شده از نظر تولید سیدروفور در روش CAS- آگار (Chroococcus sp. GGuCy-۳۴) تأثیر معنی‌داری بر میزان جذب آهن در مقایسه با سایر تیمارها در گیاه برنج داشت. افزایش جذب آهن را می‌توان به علت تأثیر سیدروفور سویه‌های مذکور در فراهمی آهن برای گیاه دانست. به نظر می‌رسد نتایج حاصل از ارزیابی تولید سیدروفور سیانوباکترها در روش CAS- آگار با نتایج حاصل از آزمایش گلدانی مطابقت بیشتری دارد.

منابع

شریفي، ر.، احمدزاده، م.، شریفي تهراني، ع. و فلاح زاده، و ۱۳۸۷. نقش رقابت براي جذب آهن توسط سودوموناسهای فلورسنت درکنترل *Rhizoctonia solani* (Kü hn) عامل مرگ گیاهچه لوبیا، مجله حفاظت گیاهان (علوم وصنایع کشاورزي). ۲۲(۲): ۱۸۳-۱۹۵.

Aliasgharzad, N., Shirmohamadi, E., and Oustan, S. ۲۰۰۹. Siderophore production by mycorrhizal sorghum roots under micronutrient deficient condition. Soil Environ. ۲۸: ۲. ۱۱۹-۱۲۳.

Challis, G.L. ۲۰۰۵. A widely distributed bacterial pathway for siderophore biosynthesis independent of nonribosomal peptide synthetases. Chembiochem, ۶: ۶۰۱-۶۱۱.

Crowley, D.E., Wang, Y.C., Reid, C.P.P., and Szaniszlo, P.J. ۱۹۹۱. Mechanism of iron acquisition from siderophores by microorganisms and plants, Plant and Soil. ۱۳۰: ۱۷۹-۱۹۸.

Desikhachary, T. V. ۱۹۵۹. Cyanophyta. Indian Council of Agricultural Research Publishers pp. ۵۶۵.

Du, L., and Shen, B. ۲۰۰۱. Biosynthesis of hybrid peptide-polyketide natural products. Current Opinion in Drug Discovery and Development, ۴: ۲۱۵-۲۲۸.

Ito Y. and Butler A., ۲۰۰۶. Structure of synechobactins, new siderophores of the marine cyanobacterium *Synechococcus sp*. PCC ۷۰۰۲. Limnol. Oceanogr., ۵۰(۶): ۱۹۱۸-۱۹۲۳.

Johansson, C. and Bergman, B. ۱۹۹۴. Reconstitution of the symbiosis of Gunnera manicata Linden: cyanobacterial specificity. New Phytology. ۱۲۶:۶۴۳-۶۵۲.

John, D. M., Whitton, B. A. and Brook, A.J. ۲۰۰۳. The freshwater algal flora of the British Isles, an identification guide to freshwater and terrestrial algae. Cambridge University Press.

Kaushik, B.D. ۱۹۸۷. Laboratory Methods for Blue-green Algae. Associated Publishing Company. Pp. ۱۷۱.

Kranzler, C., Lis, H., Shaked, Y., and Keren, N., ۲۰۱۱. The role of reduction in iron uptake processes in a unicellular, planktonic cyanobacterium. Environmental Microbiology, ۱۳, ۲۹۹۰-۲۹۹۹.

Neilands, J.B. ۱۹۸۱. Microbial iron compounds, Annual Review of Biochemistry. ۵۰: ۷۱۵-۷۳۱.

Payne, S.M. ۱۹۹۴. Detection, isolation, and characterization of siderophores, Methods in Enzymology. ۲۳۵: ۳۲۹-۳۴۴.

Rastogi R.P. and Sinha R.P. ۲۰۰۹. Biotechnological and industrial significance of cyanobacterial secondary metabolites. Biotechnology Advances, ۲۷: ۵۲۱-۵۳۹.

Sahu D., Priyadarshani I. and Rath B. ۲۰۱۲. Cyanobacteria- as potential biofertilizers. CIBTech Journal of Microbiology. ۱(۲-۳): pp.۲۰-۲۶.

Schwyn, B., Neilands, J.B., ۱۹۸۷. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. Anal. Biochem. ۱۶۰, ۴۷-۵۶.

Shen, B. ۲۰۰۳. Polyketide biosynthesis beyond the type I, II and III polyketide synthase paradigms. Current Opinion in Chemical Biology, ۷: ۲۸۵-۲۹۵.

Stanier, R.Y., Kunisawa, R., Mandal, M. and Cohen-Bazire, G. ۱۹۷۱. Purification and properties of unicellular blue green algae (Order: Chroococcales), Bacteriological Reviwe. ۳۵: ۱۷۱-۳۰۵.

Wilhelm, SW, and Trick, CG. ۱۹۹۴. Iron-limited growth of cyanobacteria; multiple siderophore production is a common response. Limnology and Oceanography, ۳۹, ۱۹۷۹-۱۹۸۴.

Abstract

The objective of this investigation was to determine the potentials of some indigenous cyanobacteria for siderophore production in Tabarestan Biotechnology Institute in ۲۰۱۴. For this purpose, ۳۰ strains of cyanobacteria were isolated from Guilan paddy field. Potentials of these strains for siderophore production were evaluated by chrome azorel-S assay (CAS-agar) through color change. The results of this study showed that the highest rate of siderophore production in CAS- agar Chroococcus sp. GGuCy-۳۴ and Anabaena sp. GGuCy-۴۹, ۴.۱۹ and ۴.۰۸ respectively and in spectrophotometer method strains of Anabaena sp. GGuCy-۲۱ and Nostoc sp. GGuCy-۴۷, ۶.۶۹ and ۵.۷۵ (μmol/L.day) respectively. Anabaena sp. GGuCy-۴۲ highest grain yield and Chroococcus sp. GGuCy-۳۴ showed the highest iron uptake in pot experiment in rice plant. The results of the evaluation of siderophore production of cyanobacteria in CAS- agar with the results of the pot experiment were more consistent.

Keywords: Iron chelators, Cyanobacteria, Chromazurol S and Rice