Archive of SID

بیماریهای گیاهی، جلد ۴۲، ۱۳۸۵

تاثیر محیط کشت و زمان انکوباسیون در میزان آنتی‌بیوتیک‌های تولید شده از سودوموناده‌ای فلورسنت*

Effects of media and incubation time on antibiotic production of fluorescent pseudomonads

کیوان بهبودی، عباس شریفی‌تهرانی، قربانعلی حجارود، جواد زاد، مجتبی محمدی و حشمت‌اله رحیمیان**

دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران و دانشکده کشاورزی دانشگاه مازندران

دریافت ۱۳۸٤/۳/۸ پذیرش ۱۳۸۵/۱/۳۰

چکیده

بررسی ۲۵ جدایه سودوموناد فلورسنت بکار رفته در جلوگیری از رشد قارچ *Sclerotinia sclerotiorum*، عامل بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه آفتابگردان با استفاده از روش HPLC نشان داد که جدایه‌های B119، B112 و B111 تولید آنتی‌بیوتیک کردند. جدایه‌های B112 و B119 آنتی‌بیوتیک دی استیل فلوروگلوسینول (DAPG)، مونواستیل فلوروگلوسینول (MAPG) و

** بخشی از رساله دکتری نگارنده اول ارائه شده به دانشگاه تهران

* مسئول مکاتبه

www.SID.ir

Archive of SID

پیولوتئورین (Plt) تولید کردند. جدایه B111 آنتی‌بیوتیک فنازین (PCN) تولید کرد. همچنین جدایه B112 و B119 ماده سالیسیلیک اسید تولید کردند. بررسی تاثیر محیط کشت و زمان در تولید آنتی‌بیوتیک دی استیل فلوروگلوسینول نشان داد که جدایه های B112 و B119 تنها در محیط کشت YMP تولید آنتی‌بیوتیک فوق را کردند که میزان تولید با گذشت زمان افزایش یافت. جدایه‌های B112 و B119 آنتی بیوتیک مونواستیل فلوروگلوسینول را تنها در محیط YMP تولید کردند که میزان تولید با گذشت زمان کاهش یافت. همچنین جدایه‌های B112 و B119 تنها در محیط KB تولید آنتی‌بیوتیک پیولوتئورین کردند و بطورکلی میزان تولید در هر دو جدایه تا ۷۲ ساعت افزایش و سپس کاهش یافت. بررسی شرایط محیطی روی تولید آنتی‌بیوتیک فنازین نشان داد که جدایه B111 در دو محیط کشت KB وYMP تولید فنازین کرد. میزان تولید فنازین در محیط کشت YMP بیشتر از KB بود. میزان تولید فنازین در محیط YMP توسط جدایه B111 با گذشت زمان افزایش یافت بطوریکه بیشترین میزان تولید در ۹۶ ساعت بود.

واژه‌های کلیدی: آفتابگردان، اسکلروتینیا، کنترل بیولوژیکی، fluorescent pseudomonads**، آنتی‌بیوتیک**

مقدمه

باکتری سودوموناس (*Pseudomonas*) در همه جای طبیعت وجود دارد و می‌توان آن را به سهولت در قلمروهای اکولوژیکی متفاوت پیدا کرد (Bossis *et al.* 2000). فراریشه (ریزوسفر) غنی از عوامل میکروبی است و این باکتری‌های کلنیزه کننده ریشه، نقش برجسته‌ای در این مکان دارند (Bakker & Schippers 1987; Dowling & O'Gara 1994; Bossis *et al.* 2000). علاوه بر این تعداد زیادی از سودوموناد‌های فلورسنت (fluorescent pseudomonads) مقیم فراریشه، خصوصیات آنتاگونیستی علیه قارچ‌های بیمارگر ریشه دارند و در نتیجه می‌توانند در سالم ماندن گیاه تاثیر داشته باشند (Vinecent *et al.* 1991; Keel & Defago 1997; Schisler *et al.* 1997).

تولید مواد آنتی‌بیوتیک به عنوان یک عامل مهم در کاهش بسیاری از بیماری‌های ریشه می‌باشد. تاکنون تعدادی از ترکیبات آنتی‌بیوتیک که به وسیله سودوموناد‌های فلورسنت تولید

www.SID.ir

Archive of SID

می‌شوند از نظر ساختمان شیمیایی شناسایی شده‌اند که اغلب آنها از گروه فنازین‌ها، پیرول‌ها و برخی مشتقات اندول می‌باشند (فنازین ـ۱ـ کربوکسیلیک اسید، پیولوتئورین و پیرول نیترین). تعدادی آنتی‌بیوتیک دیگر که حاوی ازت نیستند نیز شناخته شده که ترکیب ۲،۴– دی استیل فلوروگلوسینول (2,4-diacetylphloroglucinol) از مهمترین آنها می‌باشد(Delany *et al.* 2000). بطور کلی سودوموناده‌ای مولد دی استیل فلوروگلوسینول، نقش برجسته‌ای در کشاورزی پایدار دارند (Picard *et al.* 2000). *شاناهان* و همکاران (Shanahan *et al.* 1992) موفق به استخراج و شناسایی آنتی‌بیوتیک دی استیل فلوروگلوسینول از باکتری *P. fluorescens* F113 شدند. آنان همچنین دریافتند که دما و منبع کربن روی تولید آنتی‌بیوتیک تأثیر قابل ملاحظه‌ای دارد ولی اسیدتیه محیط و غلظت‌های مختلف آهن تأثیر محسوسی در تولید آن ندارد. براساس نتایج کارهای *مارهوفر* و همکاران (Maurhofer *et al.* 1992) افزایش توانایی تولید آنتی‌بیوتیک در باکتری همیشه نمی‌تواند باعث کاهش بیماری بشود. *هاول و استیپانوویچ* خواص آنتاگونیستی *P. fluorescens* علیه قارچ *Rhizoctonia solani* روی پنبه و در سال بعد علیه گونه *Pythium ultimum* را روی همین گیاه به اثبات رساندند. آنان همچنین موفق شدند تأثیر آنتی‌بیوتیک پیولوتئورین(Pyoluteorin) را در این بازدارندگی به اثبات برسانند (Howell & Stipanovic 1980). استرین 2-79 *P. fluorescens* آنتاگونیست مؤثری علیه قارچ عامل بیماری پاخوره گندم می‌باشد. نقش آنتی‌بیوتیک فنازین در این عمل مشخص و به اثبات رسیده است. موتانهایی از این باکتری که تولید آنتی‌بیوتیک نمی‌کردند بازدارندگی کمتری علیه این قارچ داشتند (Fravel 1988). موتانهایی از باکتری CHA0 *P. fluorescens* که قدرت تولید آنتی‌بیوتیک دی استیل فلوروگلوسینول را نداشتند، بازدارندگی کمتری علیه بیماری پوسیدگی سیاه ریشه توتون داشت (Thomashow & Weller 1990). *شریفی تهرانی* و همکاران ۲۲ جدایه سودوموناس فلورسنت را برای کنترل *P. ultimum* بکار بردند. از این تعداد هشت استرین تولید دی استیل فلوروگلوسینول و پیولوتئورین و هفت استرین فقط تولید دی استیل فلوروگلوسینول کردند و هشت استرین باقیمانده تولید هیچگونه آنتی‌بیوتیکی نکردند. اغلب استرین‌ها از رشد گونه *P. ultimum* ممانعت کردند. استرین‌هایی که تولید فلوروگلوسینول بیشتری

www.SID.ir

Archive of SID

کردند مجموعه بهتری از نظر حفاظت خیار در مقابل قارچ عامل بیماری تشکیل دادند (Sharifi–Tehrani *et al.* 1998). نقش دی استیل فلوروگلوسینول در کنترل قارچ‌های *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* عامل بیماری پاخوره گندم، *Thielaviopsis basicola* بیمارگر پوسیدگی سیاه ریشه توتون، *Fusarium oxysporum* بیمارگر پژمردگی گوجه‌فرنگی و *Pythium ultimum* روی خیار و *Rhizoctonia solani* روی پنبه اثبات شده است (Sharifi-Tehrani *et al.* 1998; Weller 1988; Howell & Stipanovic 1979). کاربرد *Pseudomonas cepacia* در مزرعه آفتابگردان سبب کنترل بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه آفتابگردان ناشی از *S. sclerotiorum* گردید (McLoughlin *et al.* 1992) و تولید آنتی‌بیوتیکهای pyrrolnitrin، aminopyrrolnitrin و monochloroaminopyrrolnitrin در جدایه J82 ردیابی شد. *ویلر و کوک* (Weller & Cook 1983) موفق شدند از مزرعه‌ای که در آن کاهش طبیعی بیماری پاخوره گندم (take-all) رخ داده بود، سودوموناده‌ای فلورسنت را جداسازی نموده و تأثیر بازدارندگی آنها را علیه قارچ *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* به اثبات برسانند. نقش آنتی‌بیوتیک فنازین-۱-کربوکسیلیک اسید (از گروه فنازین‌ها) به عنوان یکی از مکانیسم‌های مهم بازدارندگی از رشد قارچ عامل بیماری به اثبات رسید (Weller 1988). کاربرد استرین‌های تولید کننده دی استیل فلوروگلوسینول (Phl یا DAPG مثبت) در مقایسه با استرین‌های Phl منفی آنها، اهمیت استرین‌های Phl مثبت را در کنترل بیماری‌ها نشان داده است (Fenton *et al.* 1992; Keel *et al.* 1992; Harrison *et al.* 1993). علاوه بر این Phl در ریزوسفر گیاهان کلنیزه شده به وسیله استرین CHAO تحت شرایط نوتوبیوتیک (Keel *et al.* 1992) و استرین Q2-87 در خاک غیر استریل (Bonsall *et al.* 1997) و سودوموناده‌ای خاک‌های ممانعت کننده بیماری (Raiijmakers *et al.* 1999) ردیابی شده است.

/شتوتز و همکاران (Stutz *et al*. 1986) موفق شدند با جداسازی باکتری *P. fluorescens* از ناحیه ریزوسفر توتون نقش آن را در کنترل بیماری پوسیدگی سیاه ریشه توتون به اثبات برساند. متابولیتهایی که تولید آنها به وسیله این استرین(CHA0) به اثبات رسیده عبارت از: آنتی‌بیوتیکهای

www.SID.ir

Archive of SID

دی استیل فلوروگلوسینول (Maurhofer *et al.* 1992)، مونو استیل فلوروگلوسینول (Defago *et al.* 1990)، پیولوتئورین (Defago *et al.* 1990) ، پیرول نیترین (Keel & Defago 1997)، سیدروفور پایووردین (Keel *et al.* 1989) ، سالیسیلات به عنوان یک عامل القا کننده مقاومت در گیاهان (Meyer *et al.* 1992)، هورمون رشد اندول استیک اسید (Oberhansli *et al.* 1991)، سیانید هیدروژن (Keel *et al.* 1989) و آنزیم‌های لیپاز و پروتئاز (Keel & Defago 1997) بودند.

هدف از این تحقیق بررسی بعضی شرایط محیطی در تولید برخی آنتی‌بیوتیک‌ها توسط سودوموناد‌های فلورسنت با استفاده از روش HPLC بود.

روش بررسی

استخراج آنتی‌بیوتیک‌ها

بیست و پنج جدایه سودوموناد فلورسنت بکار برده شده در جلوگیری از رشد قارچ *S. sclerotiorum* (Lib.) de Bary عامل بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه آفتابگردان (Behboudi *et al*. 2005) از نظر تولید آنتی‌بیوتیک با استفاده از روش HPLC مورد بررسی قرار گرفتند. برای استخراج آنتی بیوتیک از روش *نوتز* و همکاران (Notz *et al.* 2001) و *مارهوفر* و همکاران (Maurhofer *et al.* 1992) استفاده گردید. در مرحله اول ۲۵ جدایه در دو محیط مختلف شامل عصاره مالت (MA) و کینگ بی (King B broth) در دمای ۲۷ درجه سانتی گراد روی شیکر با ۱۶۰ دور در دقیقه کشت شدند. سپس در مرحله بعد باکتریهایی که متابولیت ثانویه تولید کردند (جدایه های B111، B112 و B119) در دو محیط KB و YMP تحت همان شرایط کشت شدند که این بررسی در قالب آزمایش فاکتوریل سه فاکتوره (جدایه، محیط کشت و زمان) با طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. داده‌های بدست آمده از آزمایش (مقدار آنتی‌بیوتیک) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. گروه‌بندی با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن ($P \leq ۰/۰۵$) انجام شد. محیط MA دارای ۱۵ گرم عصاره مالت و ۱۲ گرم آگار در یک لیتر آب مقطر می‌باشد. محیط YMP دارای عصاره مخمر (۳ گرم)، عصاره مالت (۳ گرم)، پپتون (۵ گرم) و گلوکز (۱۰ گرم) در یک لیتر آب

www.SID.ir

Archive of SID

مقطر می‌باشد. از ۳۰ میلی‌لیتر از محیط‌های فوق پس از۲۴، ۴۸، ۷۹ و ۹۶ ساعت جهت استخراج آنتی‌بیوتیک استفاده گردید. اسیدکلریدریک ۲ مولار به محیط کشت اضافه گردید تا اسیدیته محیط کشت به ۲ الی ۳ رسانده شد. سپس اتیل استات (ethyl acetate) به نسبت ۱ به ۱ (حجم به حجم) اضافه گردید و برای ۳۰ ثانیه بشدت تکان داده شدند. فاز آلی که حاوی آنتی‌بیوتیک است از فاز مایع که شامل باکتری و مواد معدنی است بوسیله فیلتر پوشش داده شده با سیلیکیون (Macherey-Nagel 5160 Duren, Germany) جدا شد و در روتووپ (rotary evaporator =Rotovap) تبخیر و خشک گردید. سپس باقیمانده در یک میلی‌لیتر متانل (مخصوص HPLC) حل ، ۳۰ دقیقه در۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری و به مدت۱۰ دقیقه در ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. سپس ۸۰۰ میکرولیتر از محلول رویی (supernatant) داخل فلاکس HPLC منتقل شد.

ردیابی و اندازه‌گیری کمی آنتی‌بیوتیک‌ها

ردیابی و اندازه‌گیری آنتی‌بیوتیک‌ها با استفاده از روش HPLC و دستگاه Hewlett Packard 1090 انجام شد. برای تهیه پیک استاندارد ۱۰۰ میکرولیتر از هر آنتی بیوتیک در۵۰۰ میکرولیتر متانل مخصوص HPLC حل گردید. ستون با ابعاد ۱۰۰×۴ میلی متر از نوع Nucleosil 120-5-c18 ساخت شرکت Macherey-Nagel,Densingen,Switzerland با روش فاز معکوس در دمای ٤٥ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. نمونه‌ها (۱۰ میکرولیتر) با سه شیب خطی اتانل از۱۸ تا ۲۳ درصد (۵-۰ دقیقه)، از۲۳ تا ۵۳ درصد (۶-۵ دقیقه) و۵۳ تا ۶۸ درصد (۱۵-۶ دقیقه) در۰/٤۳ درصد (حجم به حجم) ارتوفسفریک اسید استخراج شدند و سرعت جریان یک میلی‌لیتر در دقیقه بود.

نتیجه

پیک استاندارد برای آنتی‌بیوتیک‌های دی استیل فلوروگلوسینول(DAPG)، مونواستیل فلوروگلوسینول (MAPG)، پیولوتئورین (PIt)، فنازین (PCN) و ماده سالیسیلیک اسید (SA) بوسیله اشعه UV به ترتیب ۲۷۰، ۲۹۰، ۳۱۳، ۲٥٤ و ۳۰۰ نانومتر و زمان تاخیر (retention time) به ترتیب

www.SID.ir

Archive of SID

۷/۲، ۱/۸، ۴/۹، ۶/۵ و ۲/۶ دقیقه بودند و بر مبنای آنها مقدار آنتی‌بیوتیک تولید شده توسط ریزوباکتریها بر حسب نانو مول در میلی‌لیتر محیط کشت محاسبه گردید.

از بین ۲۵ جدایه تنها سه جدایه B111، B112 و B119 تولید آنتی‌بیوتیک و سالیسیلیک اسید کردند. جدایه B111 آنتی‌بیوتیک فنازین را در محیط کشت KB تولید کرد ولی در MA تولید نکرد. بیشترین میزان فنازین در زمان ۷۲ ساعت تولید شد. جدایه‌های B119 و B112 سالیسیلیک اسید (SA) را در دو محیط کشت KB و MA تولید کردند. حداکثر میزان تولید سالیسیلیک اسید توسط جدایه B112 در محیط کشت KB و در۷۲ ساعت و در محیط MA در۹۶ ساعت بود. بیشترین میزان سالیسیلیک اسید توسط جدایه B119 در محیط کشت KB بعد از ۷۲ ساعت و در محیط MA بعد از ۲۴ ساعت تولید شد (شکل ۱).

بررسی تاثیر محیط کشت و زمان روی تولید آنتی بیوتیک دی استیل فلوروگلوسینول(DAPG)

جدایه‌های B112 و B119 تولید آنتی بیوتیک دی استیل فلوروگلوسینول کردند. این دو جدایه تنها در محیط کشت YMP تولید آنتی بیوتیک دی استیل فلوروگلوسنیول کردند. جدایهB112 آنتی‌بیوتیک بیشتری را در زمانهای ۷۲ و ۹٦ ساعت نسبت به ٢٤ و ٤٨ ساعت تولید کرد. جدایهB119 در زمان ۹٦ ساعت آنتی‌بیوتیک بیشتری تولید کرد. میزان تولید آنتی‌بیوتیک با گذشت زمان افزایش داشت (شکل ۲).

بررسی تاثیر محیط کشت و زمان روی تولید آنتی‌بیوتیک مونو استیل فلوروگلوسینول(MAPG)

جدایه‌های B112 وB119 تولید آنتی‌بیوتیک مونو استیل فلوروگلوسینول کردند. این جدایه‌ها تنها در محیط کشت YMP تولید مونو استیل فلوروگلوسینول کردند. جدایه B112 بیشترین میزان تولید آنتی‌بیوتیک را در زمان‌های ٢٤ و ٤٨ ساعت داشت. میزان تولید جدایه B119 در زمانهای ٢٤ ، ٤٨ و ۷۲ ساعت در یک گروه بودند. سطح تولید آنتی‌بیوتیک با گذشت زمان کاهش یافت (شکل ۲).

بررسی تاثیر محیط کشت و زمان روی تولید آنتی بیوتیک پیولوتئورین (Plt)

www.SID.ir

Archive of SID

جدایه‌های B112 و B119 تولید آنتی‌بیوتیک پیولوتئورین کردند. این دو جدایه تنها در محیط کشت KB آنتی‌بیوتیک فوق را تولید کردند. بیشترین میزان تولید برای هر دو جدایه در زمان ۷۲ ساعت بود. جدایه B119 مقدار بیشتری پیولوتئورین تولید کرد (شکل۲). بطور کلی میزان تولید آنتی‌بیوتیک در هر دو جدایه تا ۷۲ ساعت افزایش و سپس کاهش یافت (شکل ۲).

بررسی تاثیر محیط کشت و زمان روی تولید آنتی بیوتیک فنازین (PCN)

تنها جدایه B111 فنازین تولید کرد. این جدایه در هر دو محیط کشت KB و YMP تولید فنازین کرد. میزان تولید در محیط YMP بیشتر از KB بود. بیشترین میزان تولید در محیط کشت YMPمربوط به زمانهای ۷۲ و ۹٦ ساعت بود. بیشترین میزان تولید در محیط کشت KB مربوط به ۷۲ ساعت بود. میزان تولید فنازین در محیط کشت YMP با گذشت زمان افزایش یافت بطوریکه بیشترین میزان تولید در ۹٦ ساعت بود. سطح تولید فنازین در محیط کشت KB تا ۷۲ ساعت افزایش و سپس کاهش یافت (شکل۲).

بحث

متابولیت‌هایی که توسط باکتریها و قارچهای ناحیه ریزوسفر تولید می‌شوند، روی بیوسنتز دی استیل فلوروگلوسینول تأثیر می‌گذارند، برای مثال تولید این آنتی بیوتیک در جدایه CHA0 تا حد زیادی توسط متابولیت‌های خارج سلولی نظیر پیولوتئورین، سالیسیلیک اسید و همچنین فوزاریک اسید(که توسط قارچ *فوزاریوم* تولید می‌شود) ممانعت می‌شود(Schnider-Keel *et al.* 2000). به عقیده *شنیدر- کیل* و همکاران ژن *phlF* مسئول تنظیم کردن تولید Phl در باکتری است.

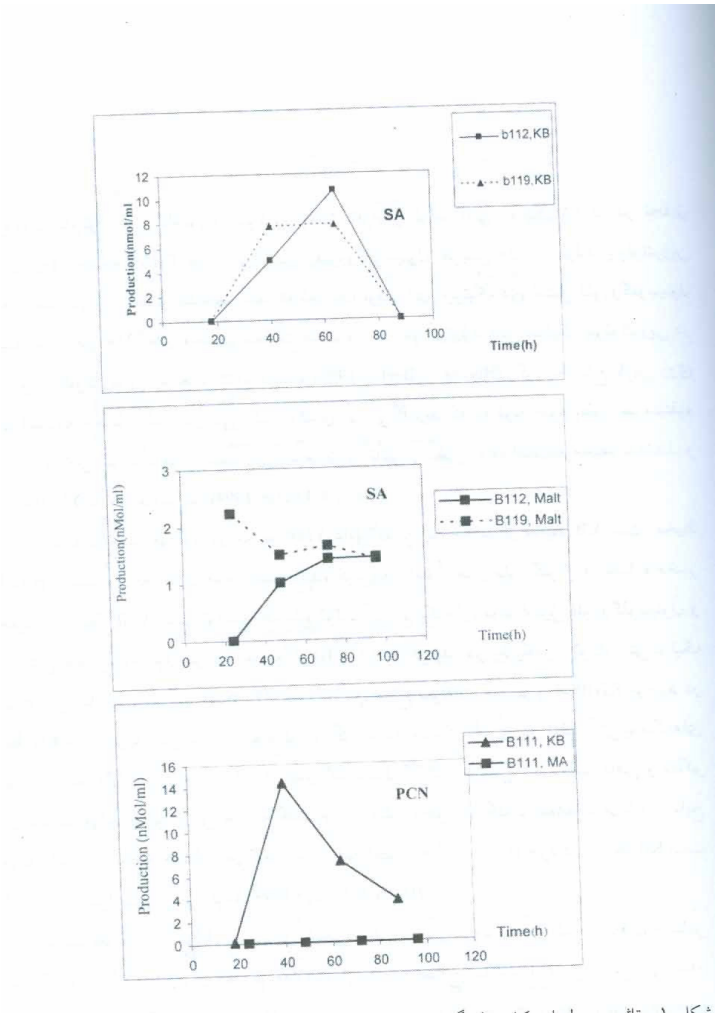
تحقیقات مستند نشان داده است که گلوکز تولید برخی آنتی‌بیوتیک‌ها را بوسیله سودوموناد‌های فلورسنت تحریک ولی از تولید برخی دیگر ممانعت می‌کند(Weller 1988). در آزمایشهای ما قند گلوکز موجود در محیط کشت YMP سبب افزایش تولید آنتی بیوتیک‌های دی استیل فلوروگلوسینول و مونو استیل فلوروگلوسینول شد ولی از تولید آنتی بیوتیک پیولوتئورین ممانعت کرد. در آزمایش‌های *شاناهان* و همکاران(Shanahan *et al.* 1992) روی جدایه F113، میزان ۸۰

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱- تاثیر محیط‌های کشت کینگ بی(KB) و مالت (MA) روی میزان تولید سالیسیلیک اسید(SA) و آنتی‌بیوتیک فنازین (PCN) توسط جدایه‌های B111، B112 و B119 در زمانهای مختلف انکوباسیون.

Fig 1. Effect of KB and Malt media on production of salicylic acid and phenazine (PCN) by fluorescent pseudomonad isolates B111, B112 and B119 at different incubation times.

www.SID.ir

Archive of SID

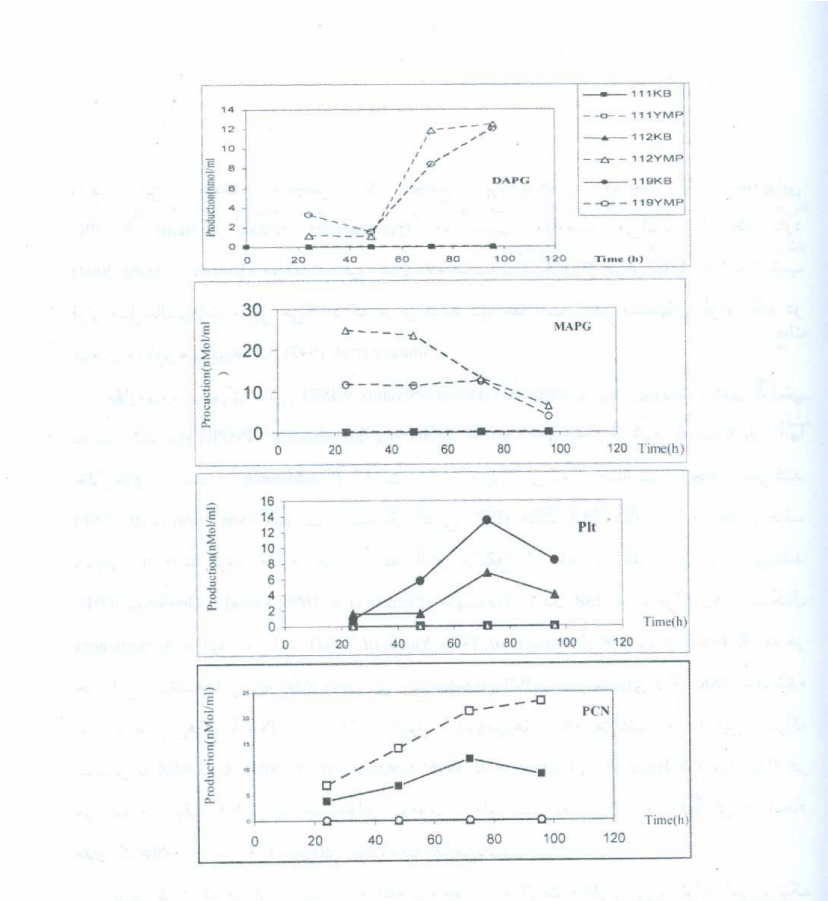
میکرومول گلوکز باعث کاهش و سوکروز باعث افزایش تولید آنتی بیوتیک شدند. در تحقیق دیگری روی جدایه CHA0 تولید دی استیل فلوروگلوسینول افزایش ولی از تولید پیولوتئورین ممانعت شد. در این تحقیق مشخص شد که تحریک تولید آنتی بیوتیک دی استیل فلوروگلوسینول بوسیله گلوکز در جدایه‌های مختلف متفاوت است ولی در مورد تولید آنتی بیوتیک پیولوتئورین در تمام موارد گلوکز نقش ممانعت کننده داشت (Hoitink & Boehm 1999). اگر چه منابع کربن روی میزان اسیدیته محیط کشت در طی رشد باکتری اثر می‌گذارند که به نوبه خود بطور غیرمستقیم روی تولید آنتی بیوتیک مؤثر است ولی منابع کربن تأثیر چندانی روی اسیدیته محیط نداشتند و اسیدیته از ۵/۷ تا ۸/۷ متغییر بود(Duffy & Defago 1999).

گلوکز و عصاره مخمر موجود در محیط YMP عامل تمایز این محیط از محیط KB است. محیط KB دارای گلیسرول به عنوان منبع تامین کننده کربن می‌باشد. بطور کلی گلوکز و عصاره مخمر موجود در محیط YMP سبب تولید و افزایش تولید آنتی‌بیوتیک‌های مونو استیل فلوروگلوسینول و دی استیل فلوروگلوسینول در دو جدایه B112 و B119 گردید، در حالیکه از تولید آنتی‌بیوتیک پیولوتئورین جلوگیری کردند (شکل ۲). گلیسرول و املاح سولفات منیزیم و K2HPO4 موجود در محیط KB سبب تولید آنتی‌بیوتیک پیولوتئورین گردید در حالیکه تأثیری در تولید آنتی‌بیوتیک‌های مونواستیل فلوروگلوسینول و دی استیل فلوروگلوسینول نداشتند (شکل ۱). تحقیق *دافی* و *دفاگو* نشان داد که تولید پیولوتئورین بوسیله گلیسرول افزایش و بوسیله گلوکز ممانعت می‌شود. نتایج فوق با نتایج این تحقیق مطابقت می‌کند و موید این است که گلیسرول موجود در محیط KB سبب افزایش تولید پیولوتئورین می گردد (Duffy & Defago 1999).

در بحث مقاومت به عوامل بیماریزای گیاهی، یکی از موارد مهم متحمل شدن گیاهان حساس به بیمارگر ویرولانت بدون ورود ژن مقاومت از طریق اصلاح نباتات و یا تراریزش می‌باشد (Staskawicz *et al*. 1995). مقاومت اکتسابی سیستمیک (systemic aquired resistance = SAR) مکانیسمی دفاعی است که محافظت طولانی مدت را در مقابل طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها ایجاد می کند. SAR برای فعال شدن به مولکول سیگنال سالیسیلیک اسید (salicylic acid = SA) نیاز

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲- تاثیر محیط‌های کشت کینگ بی(KB) و YMP روی میزان تولید آنتی‌بیوتیکهای دی استیل فلوروگلوسینول (DAPG)، مونو استیل فلوروگلوسینول (MAPG)، پیولوتئورین (Plt) و فنازین (PCN) توسط جدایه‌های سودوموناد فلورسنتB111، B112 و B119 در زمانهای مختلف انکوباسیون.

Fig. 2. Effect of KB and YMP media on production of diacetylphloroglucinol (DAPG), monoacetylphloroglucinol (MAPG), pyoluteorin (Plt) and phenazine (PCN) by fluorescent pseudomonad isolates B111, B112 and B119 at different incubation times.

www.SID.ir

Archive of SID

دارد. این پدیده همچنین با تجمع پروتئین‌های مرتبط با بیماریزایی (pathogenesis related proteins = PR) که سبب مقاومت می‌شوند ارتباط دارد (Durrant & Dong 2004). مطالعات اخیر نشان داده است که سیگنال از طریق تبدیل SA به ترکیب فرار متیل‌سالیسیلات منتقل می‌گردد که می‌تواند نه تنها مقاومت را در قسمتهای آلوده بلکه در گیاهان مجاور هم ایجاد کند (Shulaev *et al*. 1997).

مقاومت سیستمیک القایی (induced systemic resistance = ISR) بوسیله ریزوباکتری‌های افزایش دهنده رشد گیاه (plant growth promoting rhizobacteria = PGPR) ایجاد می‌شود که نمونه بارز آنها جدایه‌های جنس *Pseudomonas* است که روی ریشه خسارت ایجاد نمی‌کنند (van Loon *et al*. 1998). مقاومت سیستمیک القایی (ISR)، مانند SAR گیاهان را در مقابل طیف وسیعی از بیمارگرها مقاوم می‌کند که البته مستقل از SA و القاء ژن PR می‌باشد (Pieterse *et al*. 1996; Vallad & Goodman 2004). جهت فعال شدن ISR نیاز به مولکول‌های سیگنال Jasmonic acid و اتیلن می‌باشد (Knoester *et al*. 1999; Pieterse *et al*. 1996; Yan *et al*. 2002). به هر حال این مشخصه‌ها بر پایه تعداد محدودی از سیستمهای ISR است و مثالهای دیگر ISR ایجاد شده بوسیله استرین‌های PGPR در ارتباط با تولید سیدروفورها و SA می‌باشند و بنابراین اشتراک بیشتری با SAR دارند (De Meyer & Höfte 1997; Leeman *et al*. 1996; Maurhofer *et al*. 1994). در هر صورت تولید SA توسط جدایه‌های سودوموناد فلورسنت به عنوان مزیت دیگری در ایجاد مقاومت علاوه بر سایر مکانیسم‌های بیولوژیک آنها می‌باشد.

منابع کربن که در ترشحات ریشه گیاهان وجود دارد اثرات متفاوتی روی تولید آنتی‌بیوتیک تولید شده به وسیله جدایه‌های مختلف *P. fluorescens* دارد (Delany *et al*. 2000). برخی از محققین معتقدند هر میکروارگانیسمی برای تولید متابولیت‌های ثانویه (از جمله دی استیل فلوروگلوسینول) خود احتیاج به منابع خاصی از کربن دارد که می‌تواند از ریشه گیاهان تأمین شود (Weller *et al*. 2002). همچنین کمبود مواد غذایی در اغلب خاکها تولید آنتی‌بیوتیک را محدود می‌کند (Hoitink & Boehm 1999). این نتایج نشان می‌دهند که آگاهی از ترشحات ریشه گیاهان

www.SID.ir

Archive of SID

می‌تواند در توسعه سیستم‌های مدیریت بیماریهای ریشه گیاهان نقشی مهم و تعیین کننده‌ای داشته باشد (Whips 2001; Hoitink & Boehm 1999).

منابع

جهت ملاحظه به صفحات (34-29) متن انگلیسی مراجعه شود.

نشانی نویسندگان: کیوان بهبودی، موسسه تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی، کد پستی ۱۹۳۹۵-۱۴۵۴، دکتر عباس شریفی‌تهرانی، دکتر قربانعلی حجارود، دکتر جواد زاد و مجتبی محمدی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران- کرج و دکتر حشمت اله رحیمیان دانشکده کشاورزی دانشگاه مازندران- ساری

www.SID.ir