Research Article
Nova Biologica Reperta 9(3): 193-199 (2022)
Print ISSN: 2423-6330/Online ISSN: 2476-7115
https://nbr.khu.ac.ir; Kharazmi University Press; DOI: 10.29252/nbr.9.3.193

مقاله پژوهشی
یافته‌های نوین در علوم زیستی
جلد ۹، شماره ۳، صفحات ۱۹۳ الی ۱۹۹ (۱۴۰۱)
انتشارات دانشگاه خوارزمی

تنوع آنزیمی در هالو اکتینومیست‌های جدا شده از ریزوسفر گیاهان در خاک‌های شور حاشیه دشت کویر

انسیه صالح قمری
گروه سلولی و مولکولی، دانشکده زیست شناسی، دانشگاه خوارزمی، کرج، ایران؛ (esaleh@khu.ac.ir)

چکیده. منطقه ریزوسفری شور محیطی بکر برای جداسازی اکتینومیست‌ها با پتانسیل تولید آنزیم‌های مقاوم به نمک ارزشمند است. در این مطالعه در مجموع ۲۶ سویه اکتینومیست از ریزوسفر گیاهی حاشیه دشت کویر جداسازی و ارزیابی شد. اکتینومیست‌های جدا شده آنزیم‌های مختلفی تولید کردند. از این میان ۵۰، ۴۶، ۳۹، ۲۷، ۱۰ و ۷ درصد از جدایه‌ها به ترتیب آمیلاز، لیپاز، پروتئاز، ژلاتیناز، لسیتیناز و اوره آز تولید کردند. بیشترین آنزیم‌های تولید شده در بین جدایه‌ها آمیلاز، لیپاز و پروتئاز بودند. فعالیت هیدرولیتیک ترکیبی نیز در برخی از سویه‌های اکتینومیست مشاهده شد. در بین جدایه‌ها، سویه Q1، Q4 وQ11 با بیشترین میزان تنوع تولید آنزیم، شناسایی شدند و تجزیه و تحلیل 16s rRNA آن‌ها بیشترین شباهت را به ترتیب به گونه‌های *Streptomyces scopiformis*، *Streptomyces argenteolus* و *Streptomyces manipurensis*، نشان دادند. نهایتاً به دلیل تنوع آنزیمی بدست آمده و ارزشمند بودن آنزیم‌های باکتری‌های هالوفیل در صنعت، به نظر می‌رسد که اکتینومیست‌های جدا شده از این زیستگاه شور به طور بالقوه برای کاربردهای بیوتکنولوژیکی مناسب هستند.

واژه‌های کلیدی. آمیلاز، استرپتومایسس، غربالگری، هالوفیل، هیدرولاز

Enzymatic diversity in the haloactinomycetes isolated from rhizosphere of the plants in saline soils at the periphery of Dasht-e-Kavir desert

Ensieh Salehghamari
Department of Cell and Molecular Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Karaj, Iran;
(esaleh@khu.ac.ir)

Abstract. Saline rhizospheric areas are untouched environments for isolating actinomycetes with the potential of valuable salt tolerant enzyme production. In this study, we isolated and evaluated a total number of of 26 actinomycete strains from plant rhizosphere of the periphery of Dasht-e-Kavir desert. Isolated actinomycetes produced different enzymes. Among them 50, 46, 39, 27, 10 and 7 % of the isolates produced amylase, lipase, protease, gelatinase, lecithinase and urease, respectively. The most frequently produced enzymes among the isolates were amylase, lipase and protease. Combined hydrolytic activity was also detected in some actinomycete strains. Among the isolates, strains Q1, Q4 and Q11 with the most diverse enzymes production, were identified and their 16s rRNA analysis showed that they are mostly similar to the *Streptomyces scopiformis*, *Streptomyces argenteolus* and *Streptomyces manipurensis*, respectively. Finally, due to the enzymatic diversity obtained and the valubility of the halophilic bacterial enzymes in industry, it seems that actinomycetes isolated from this saline habitat are potentially suitable for biotechnological applications.

Key words. amylase, halophiles, hydrolase, screening, *Streptomyces*

Received 04.12.2021/ Revised 01.01.2022/ Accepted 12.01.2022/ Published 21.12.2022
دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۲۱/اصلاح: ۱۴۰۰/۰۹/۰۸/پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۲۴/انتشار: ۱۴۰۱/۰۹/۳۰

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2024-05-03]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1401.9.3.4.4]
[DOI: 10.52547/nbr.9.3.193]

مقدمه

آنزیم‌های هیدرولیتیک خارج سلولی، مانند آمیلازها، پروتئازها، لیپازها، پلولانازها، و زایلانازها پتانسیل استفاده در صنایع مختلفی همچون صنایع غذایی، افزودنی‌های غذایی، پزشکی و شیمیایی را دارند (Sánchez-Porro et al., 2003). از آنجایی که فرایندهای صنعتی تحت شرایط شیمیایی و فیزیکی خاصی انجام می‌شوند و همیشه نمی‌توان آنها را برای فعالیت بهینه آنزیمی سازگار کرد، یافتن آنزیم‌هایی که بتوانند در غلظت‌های مختلف نمک، pH و دماهای متفاوت فعالیت داشته باشند از اهمیت زیادی برخوردار است. اکتینومیست‌های هالوفیل منبع خوبی برای چنین آنزیم‌هایی هستند، زیرا آنزیم‌های آنها نه تنها در گستره وسیع نمکی، بلکه در دماهای بالا نیز فعالیت دارند (Yin et al., 2015).

خاک‌های پر شور، محیط‌هایی سخت و در عین حال در تمام نقاط جهان گسترده شده‌اند (Oren, 2006). در این محیط‌ها خاک ریزوسفر گیاهان به دلیل دارا بودن ترشحات گیاهی، منبعی غنی از اکتینومیست‌های هالوفیل به شمار می‌آید. به این معنا که تعداد و تنوع میکروبی در ریزوسفر در مقایسه با خاک اطرافش بسیار بیشتر است. در محیط‌های پرشور بقای اکتینومیست‌های همزیست با گیاه، به نمک‌های مختلف در این اکوسیستم‌ها بستگی دارد که اغلب تراکم سلولی بالایی را حفظ می‌کنند و منابع مهمی برای آنزیم‌ها با ویژگی‌های مناسب برای کاربرد در صنعت هستند (Ma et al., 2010). غربالگری چنین اکتینومیست‌های هالوفیلی برای تحقیق بر روی آنزیم‌های جدید و متابولیت‌های زیست فعال مورد نیاز برای کاربردهای صنعتی ضروری است.

محیط های پرشور متعددی در کشور ایران وجود دارد و تا کنون جداسازی اکتینومیست‌های هالوفیل از آنها به صورت هدفمند انجام نشده است. از جمله این محیط‌ها خاک‌های پرشور حاشیه غربی دشت کویر است. در این مطالعه با انجام تیمار بر نمونه‌های ریزوسفری این محیط، اکتینومیست‌های هالوفیل آن غربال شده و فعالیت آنزیمی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری، تیمار و محیط کشت به منظور غربالگری اکتینومیست‌های هالوفیل

دشت کویر یک اکوسیستم دست نخورده است که در این مطالعه، از ناحیه حاشیه غربی آن که در ۳۴ درجه و ۳۰ دقیقه عرض شمالی و ۵۱ درجه و ۵۲ دقیقه طول شرقی واقع شده است، نمونه برداری انجام شد (شکل ۱). شش نمونه مختلف از خاک‌های ریزوسفری گیاهان شورپسند *Halocnemum strobilaceum* (گتک)، *Halostachys belangeriana* (مارونگ) و *Seidlitzia rosmarinus* (اشنان) از عمق پنج و ده سانتی متری ریشه، جمع‌آوری، روی یخ حمل و قبل از جداسازی در دمای ۴ درجه سانتیگراد در آزمایشگاه نگهداری شدند. محدوده pH برای نمونه ها ۷/۱ تا ۸ بود.

شکل ۱- نقشه مکان نمونه برداری. فلش مکان نمونه برداری را نشان می‌دهد.

Figure 1. Map of the sampling sites. Arrow shows the sampling site.

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2024-05-03]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1401.9.3.4.4]
[DOI: 10.52547/nbr.9.3.193]

به منظور جداسازی تعداد زیادی اکتینومیست قابل کشت از ریزوسفر، نمونه‌های جمع‌آوری‌شده از اکوسیستم تحت پیش تیمارهای مختلف قرار گرفتند. پیش تیمارها شامل چهار تیمار فیزیکی و شیمیایی: T1: حرارت خشک (۱۲۰ درجه سانتیگراد، ۶۰ دقیقه)، T2: SDS (۵ درصد عصاره مخمر بهمراه ۶ درصد به مدت ۳۰ دقیقه)، T3: حرارت مرطوب (۵۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه) و T4: فنول (۱/۵ درصد به مدت ۳۰ دقیقه) بود (Jayashree et al., 1991). نمونه های پیش تیمار شده به نسبت (w/v) ۱:۱۰ با محلول نمکی ۵ درصد رقیق شده و به مدت یک ساعت مخلوط شدند. نمونه‌ها تا سریال رقت 10^{-4} آماده شدند و روی محیط‌های جداسازی انتخابی مختلف قرار گرفتند. محیط‌های کشت و مواد تشکیل دهنده آن‌ها (گرم بر لیتر) به شرح زیر است: M1: محیط کشت ISP2 که شامل عصاره مخمر ۴، عصاره مالت ۱۰، گلوکز ۴ و آگار ۱۵، M2: محیط کشت نشاسته کازئین آگار که شامل نشاسته ۱۰، کازئین ۳ و آگار ۱۵ و M3: محیط کشت عصاره خاک آگار که شامل سوسپانسیون رویی خاک دوبار استریل شده ۴۰۰ و آگار ۱۵ هستند (Hong et al., 2009). pH محیط‌های کشت روی ۸ تنظیم شد و به هر محیط کشتی دی کرومات پتاسیم (۱۰۰ میلی گرم بر لیتر) نیستاتین (۳۰ میلی گرم بر لیتر) و نالیدکسیک اسید (۱۰ میلی گرم بر لیتر) اضافه شد (Salehghamari et al., 2017). محیط‌های کشت شامل ۵ و ۱۰ درصد (w/v) نمک کلرید سدیم بودند. محیط‌های کشت در ۲۸ درجه سانتیگراد به مدت ۱ تا ۸ هفته گرماگذاری شدند. کلنی‌های شبه اکتینومایستی بر روی محیط کشت ISP2 خالص سازی و به مدت ۷ روز گرماگذاری شدند و سپس در محیط کشت حاوی ۳۰ درصد گلیسرول در ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

غربالگری سویه‌ها به منظور فعالیت هیدرولیتیک خارج سلولی

به منظور بررسی مشخصات تنوع آنزیمی جمعیت اکتینومیستی شامل آمیلاز، پروتئاز، لیپاز، پکتیناز، لسیتیناز، ژلاتیناز و اوره آز، pH تمام محیط‌ها روی ۸ تنظیم شد و NaCl به غلظت نهایی ۱۰-۵ درصد اضافه شد. روش سنجش کیفی فعالیت هیدرولیتیک سویه‌ها در زیر توضیح داده شده است:

فعالیت آمیلولیتیک باکتری‌ها، با استفاده از محیط کشت نشاسته آگار و محلول I2-KI غربالگری شد. هاله شفاف در اطراف کلنی به معنای تجزیه نشاسته است (Rohban et al., 2009). وجود فعالیت پروتئولیتیک بر روی پلیت به وسیله محیط کشت اسکیم میلک آگار تشخیص داده شد. یک منطقه شفاف در اطراف کلنی نشان دهنده فعالیت پروتئازی است (Rohban et al., 2009). تولید آنزیم لیپاز بر روی پلیت به وسیله محیط کشت نوترینت آگار حاوی ۱ درصد (v/v) توین ۲۰ تشخیص داده شد. منطقه رسوب در اطراف کلنی فعالیت لیپازی را نشان می‌دهد (Rohban et al., 2009). به منظور تعیین توانایی میکروارگانیسم در تولید لسیتیناز، از محیط کشت زرده تخم مرغ آگار استفاده شد. ناحیه رسوب سفید در اطراف کلنی نشان دهنده فعالیت لسیتینازی بود (Thaler et al., 1998). حضور آنزیم ژلاتیناز با استفاده از محیط کشت نوترینت ژلاتین آگار تشخیص داده شد. هنگامی که آنزیم ژلانیناز تولید می‌شود، آنزیم ژلاتین را مایع می‌کند (Brown & Smith, 2014). برای تعیین فعالیت اوره آزی، اوره براث که شامل عصاره مخمر، اوره و فنل رد است، مورد استفاده قرار گرفت. وقتی اوره آز تولید می‌شود، رنگ فنل رد از زرد به قرمز-صورتی تغییر می‌کند (Brown & Smith, 2014).

شناسایی مولکولی و آنالیز فیلوژنی سویه منتخب

به منظور شناسایی مولکولی سویه‌های Q1، Q4 وQ11، در محیط کشت ISP2 تلقیح شدند و در ۲۸ درجه سانتیگراد، ۲۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۴ روز گرماگذاری شدند. بیومس برداشت شد و به منظور استخراج DNA به کار گرفته شد (Keiser 2000). ژن 16s rDNA با استفاده از PCR، آنزیم pfu DNA و پرایمرهای 9F (5´ AAGAGTTTGATCATGGCTCAG 3´) و 1542R (5´ AGGAGGTGATCCAACCGCA 3´) تکثیر شد. محلول واکنش حاوی ۰/۲ میکرومولار DNA ژنومی، ۱/۲۵ واحد pfu DNA پلیمراز، ۰/۲ میلی مولار dNTP، DMSO ۵ درصد و ۰/۵ میلی مولار از هر آغازگر در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر بود. واکنش با دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۶ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰۰ ثانیه و سپس ۳۰ چرخه شامل دناتوراسیون در دمای ۹۸ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ ثانیه، اتصال در دمای ۵۵ درجه سانتیگراد به مدت ۶۰ ثانیه و گسترش در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۹۰ ثانیه، و در آخر با گسترش نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰۰ ثانیه انجام شد. پس از آنالیز محصولات PCR با الکتروفورز ژل آگارز، آنها برای خالص سازی و تعیین توالی به شرکت Macrogen سئول، کره ارسال شدند. شناسایی رابطه فیلوژنتیکی جدایه‌ها و محاسبه شباهت‌های توالی 16s rDNA با استفاده از سرور Eztaxon (http://www.ezbiocloud.net/eztaxon) انجام شد. توالی‌ها با استفاده از نرم افزار CLUSTAL X همردیف سازی شدند و تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک با روش الحاق همسایگان (Neighbor-joining) با استفاده از نرم افزار MEGA11 انجام شد. *Mycobacterium avium* MG13T به

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2024-05-03]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1401.9.3.4.4]
[DOI: 10.52547/nbr.9.3.193]

عنوان گروه خارجی در ترسیم درخت استفاده شد. تجزیه و تحلیل بوت استرپ برای ارزیابی توپولوژی درختی با انجام ۱۰۰۰ تکرار انجام شد (Salehghamari et al., 2017; Badoei-Dalfard A & Parhamfar M., 2021).

نتایج

جداسازی جدایه‌های هالوفیل خاک‌های ریزوسفری حاشیه دشت کویر

نمونه‌های ریزوسفری جمع آوری شده تحت تاثیر چندین تیمار مختلف قرار گرفتند و در محیط‌های مختلف کشت شدند. در مجموع ۲۶ اکتینومیست نمک دوست از نمونه‌های محیطی جمع آوری شده خالص سازی شدند و تمامی آن‌ها بهترین رشد را در نمک ۵ تا ۱۰ درصد داشتند. ۷۸ درصد سویه‌ها از ریزوسفر در عمق ۵ سانتی متری و ۲۲ درصد از عمق ۱۰ سانتی متری جدا شدند. فراوانی جدایه‌های جدا سازی شده از ریزوسفر هر سه گونه گیاهی تقریبا برابر بود. اکثر آنها دارای سرعت رشد پایین، تنفس هوازی، کلنی‌های گچی یا چرم مانند بودند. تمامی جدایه‌ها قادر به تولید میسلیوم هوایی با رنگ های سفید، زرد، نارنجی و چند سویه قرمز، قهوه‌ای، خاکستری، آبی و سبز بودند.

از چهار تیمار و سه محیط کشت مختلف برای جداسازی جمعیت اکتینومیست‌ها استفاده شد. از چهار تیمار انجام شده بر روی نمونه‌ها برای جداسازی اکتینومیست‌ها، بیشتر ایزوله‌ها (۴۳ درصد) از عملیات حرارتی مرطوب به دست آمد، در حالی که تیمارهای حرارتی خشک و شیمیایی منجر به جداسازی سویه‌های منحصر به فرد از نظر مورفولوژی کلنی و رنگدانه شد. در میان محیط‌های مختلف مورد استفاده برای جداسازی اکتینومیست، بیشترین تعداد سویه‌های اکتینومیست از محیط M1 (۴۲ درصد) و پس از آن محیط‌های M2 و M3 جدا شد (شکل ۲).

فعالیت هیدرولیتیک جدایه‌های هالوفیل

تمام اکتینومیست‌های ریزوسفری جدا شده از نظر کیفی برای تولید شش آنزیم مهم شامل لیپاز، پروتئاز، ژلاتیناز، لسیتیناز، اوره آز و آمیلاز غربالگری شدند. در این مطالعه از بین ۲۶ جدایه، ۵۰، ۴۶، ۳۹، ۲۷، ۱۰ و ۷ درصد از جدایه‌ها به ترتیب آمیلاز، لیپاز، پروتئاز، ژلاتیناز، لسیتیناز و اوره آز تولید کردند. بنابراین، رایج ترین آنزیم‌های ترشحی در بین اکتینومیست‌های جدا شده به ترتیب آمیلاز، لیپاز و پروتئاز بودند. جالب است که فعالیت هیدرولیتیک ترکیبی در بسیاری از سویه‌های اکتینومیست جدا شده نیز مشاهده شد. حدود ۲۸ درصد از سویه‌ها قادر به تولید سه آنزیم بودند در حالی که ۱۱ درصد از آنها که شامل سویه‌های Q1، Q4 و Q11 می‌شود، چهار آنزیم تولید کردند. همچنین بیشترین تولید کنندگان آنزیم پروتئاز از ریشه گیاه اشنان جداسازی شدند و بیشترین تعداد اکتینومیست‌های هالوفیل تولید کننده آنزیم ژلاتیناز از ریزوسفر گیاه مارونگ جدا شدند. فراوانی تولید بقیه آنزیم‌ها تفاوت خاصی در بین سه ریزوسفر نشان نداد. نهایتاً در مجموع ریزوسفر گیاه اشنان و مارونگ غنی‌ترین تنوع آنزیمی را نشان داد (جدول ۱ و شکل ۳).

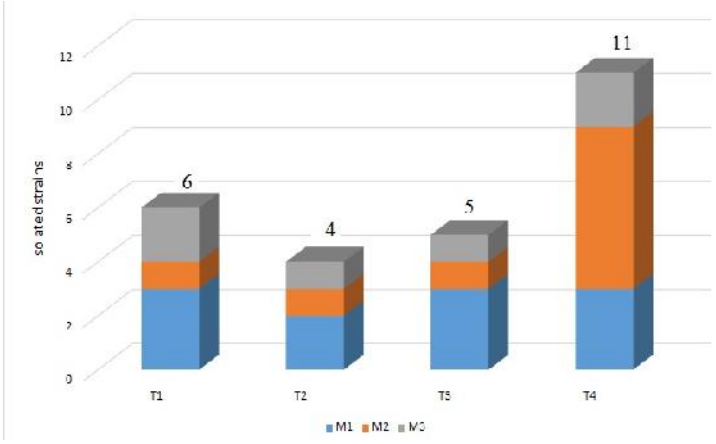
شناسایی مولکولی و آنالیز فیلوژنتیکی جدایه‌های اکتینومیستی هالوفیل

بر اساس ویژگی‌هایی مانند رنگ میسلیوم هوایی و مورفولوژی اسپور، بنظر می‌رسید که جدایه‌ها متعلق به جنس استرپتومایسس باشند. از میان آنها، سه سویه که بیشترین تنوع آنزیمی را نشان داده بودند، برای تعیین توالی ژن 16s rRNA انتخاب شدند (شکل ۴). توالی‌های ژن 16s rRNA سویه‌های Q1 (> 1000 nt)، Q4 و Q11 در پایگاه داده Ez-taxon مورد بررسی قرار گرفتند. تجزیه و تحلیل شباهت توالی ژن 16s rRNA در بین این سویه‌ها نشان داد که سویه‌های Q1 بیشترین مقدار شباهت (۹۸ درصد) را به گونه *Streptomyces scopiformis* دارد. سویه Q4 بیشترین میزان شباهت را به گونه *Streptomyces argenteolus* (۹۷/۸ درصد) نشان داد و در آخر سویه Q11 میزان ۹۹ درصد شباهت به گونه *Streptomyces manipurensis* را نشان داد.

بحث

خاک‌های ریزوسفری شور منابعی غنی از میکروارگانیسم‌های هالوفیل هستند. بیشترین درصد میکروارگانیسم‌های جدا شده در مطالعات تنوع زیستی از خاک‌های مجاور با ریشه گیاهان آن منطقه جداسازی می‌شود (Arani et al, 2021). گرچه مطالعات متعددی برای جداسازی اکتینومیست‌ها از محیط‌های مختلف انجام شده است (Parera-Valadez, et al., 2019; Ramesh & Mathivanan, 2009)، با این حال مطالعات کمی در مورد جداسازی اکتینومیست‌های هالوفیل از خاک‌های ریزوسفری مناطق شور انجام شده است. به ویژه در ایران، به نظر می‌رسد تحقیق مستقیمی در مورد جداسازی و تنوع آنزیمی هالواکتینومیست‌های مجاور با ریشه گیاهان محیط شور انجام نشده است. در این تحقیق با استفاده از محیط‌های کشت و تیمارهای مختلف، تعدادی اکتینومیست هالوفیل از خاک ریزوسفر حاشیه دشت کویر جداسازی شد.

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2024-05-03]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1401.9.3.4.4]
[DOI: 10.52547/nbr.9.3.193]



شکل ۲- تاثیر محیط‌های کشت و تیمارها بر جداسازی سویه‌های اکتینومیستی. محیط کشتهای ۱ تا ۳ به ترتیب به رنگ‌های آبی، نارنجی و طوسی نشان داده شده اند.

Figure 2. The effect of media and pre-treatments on isolation of actinomycetes. Media 1 to 3 are shown in blue, orange, and gray colors, respectively.

جدول ۱- فعالیت هیدرولیتیک ۲۸ جدایه هالوفیل از محیط ریزوسفری پر نمک.

Table 1. Hydrolytic activity of a total of 28 moderately halophilic isolates from saline rhizospheric environments.

	Lipase		Protease		Amylase		Lecithinase		Urease		Gelatinase	
Root depth Cm	5	10	5	10	5	10	5	10	5	10	5	10
Halocnemum	3	-	1	2	4	1	1	-	-	-	1	1
Halostachys	4	1	-	2	3	2	-	-	1	-	2	3
Seidlitzia	2	2	4	2	1	3	-	2	1	-	-	1
Total	12		11		14		3		2		8	

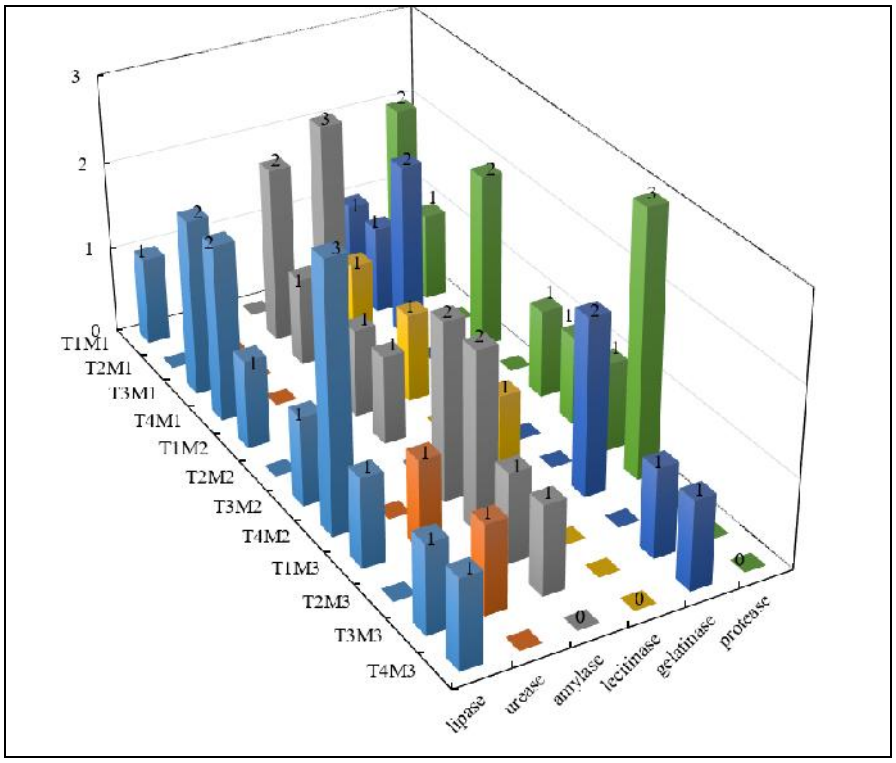
اکتینومیست‌ها آنزیم‌های فعال مختلفی دارند که قادر به کاتالیز کردن بسیاری از واکنش‌های بیوشیمیایی هستند. گونه‌های *Streptomyces* آنزیم‌های مهمی مانند آمیلاز، پروتئاز و لیپاز را با کاربردهای تجاری در صنایع مختلف تولید می‌کنند. در این تحقیق تولید آنزیم توسط سویه‌های جدا شده مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تعداد زیادی از سویه‌ها چندین آنزیم تولید می‌کنند. در این میان، لیپاز و آمیلاز و به دنبال آن پروتئازها سه آنزیم اصلی تولید شده در سویه‌های جمع آوری شده بودند. در یک مطالعه (Rohban et al., 2009) روی سویه‌های هالوفیل غیر اکتینومیستی دریاچه حوض سلطان انجام شد، لیپاز و آمیلاز دو آنزیم اول تولید شده در بیشترین مقدار و پس از آن پروتئازها بودند. جالب توجه است که سه آنزیم اول تولید شده در سویه‌های غیر اکتینومیستی جمع‌آوری‌شده از دریاچه حوض سلطان با سویه‌های اکتینومیستی حاشیه دشت کویر یکسان بودند، که احتمالاً به دلیل منابع کربن و نیتروژن مشترک موجود برای میکروارگانیسم‌ها در این دو منطقه جغرافیایی است. در مطالعه‌ای که توسط Sanchez-Porro و همکاران بر روی باکتری‌های هالوفیل یک دریاچه شور در اسپانیا انجام شد، سه آنزیم غالب در سویه‌های جدا شده، آمیلاز و سپس پروتئاز و لیپاز بودند (Sánchez-Porro et al., 2003). در هر دو مطالعه بالا نیز مشاهده شد که سویه‌های مختلف قادر به تولید چندین نوع آنزیم هستند.

از آنجایی که اکتینومیست‌ها منبع مناسبی از متابولیت‌های زیست فعال جدید هستند، معرفی سویه‌های شناسایی شده در مطالعه حاضر به دلیل قابلیت آنها در تولید آنزیم‌های مختلفی- تواند از ارزش بالایی برخوردار باشد. با این حال، زیستگاه‌های طبیعی دارای انواع اکتینومیست‌های کمیابی هستند که هنوز برای کشف متابولیت‌های جدید بررسی نشده‌اند.

سپاسگزاری

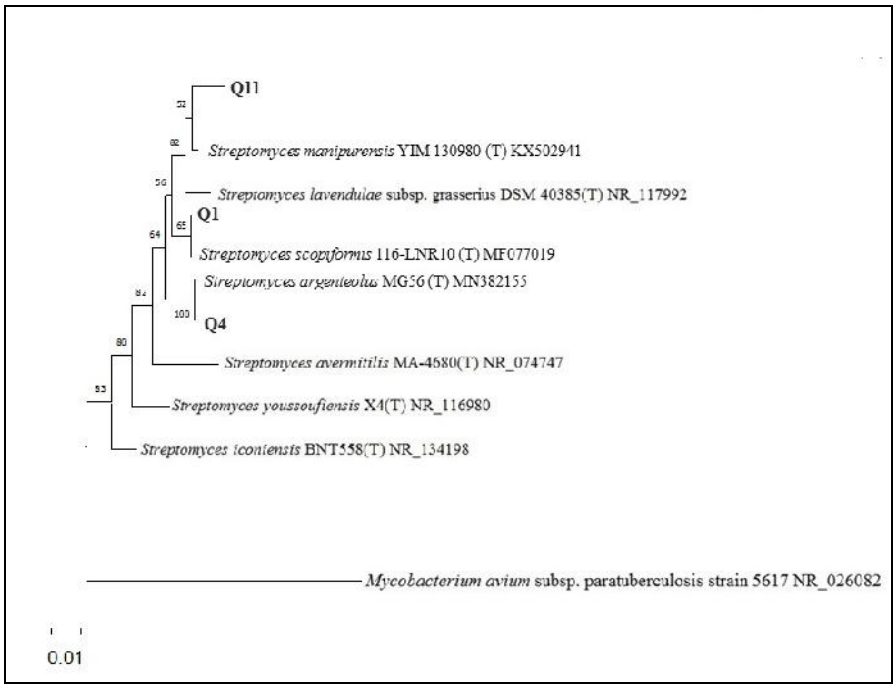
نویسنده مقاله از حمایت دانشگاه خوارزمی در اجرای این تحقیق نهایت تشکر و سپاسگزاری را دارد.

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2024-05-03]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1401.9.3.4.4]
[DOI: 10.52547/nbr.9.3.193]



شکل ۳- فعالیت هیدرولیتیک جدایه‌ها بر اساس تیمارها و محیط‌های جداسازی آن‌ها.

Figure 3. Hydrolytic activity of isolates based on their treatments and isolation media.



شکل ۴- درخت فیلوژنی بر اساس آنالیز سکانس ژن 16s rRNA که با روش الحاق همسایگان ترسیم شده است. *M. avium* به عنوان یک گروه خارجی استفاده شده است. ارزش بوت استرپ در نقاط انشعاب مربوطه نشان داده شده است. تعداد تکرار بوت استرپ برای هر گره ۱۰۰۰ بار است. بار: ۰/۰۱.

Figure 4. Phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequence analysis, reconstructed by using the neighbor-joining method. *M. avium* was used as an out-group. Bootstrap values are indicated at the relevant branching points. Numbers of branch node are bootstrap value based on 1000 resampling. Bar: 0.01

.

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2024-05-03]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1401.9.3.4.4]
[DOI: 10.52547/nbr.9.3.193]

REFERENCES

Arani, M.A., Ghasemi, S., Shabazi, S. & Etesami, H. 2021. The effect of plant growth promoting potentials of rhizosphere bacteria isolated from several halophytic species on vegetative growth and ionic content of wheat. Nova Biologica Reperta 8: 89-101. (In Persian).

Badoei-Dalfard, A. & Parhamfar, M. 2021. Production and biochemical characterization of a thermostable phytase from *Bacillus amyloliquefaciens* LOR10. Nova Biologica Reperta 7: 390-399. (In Persian).

Brown, A. & Smith, H. 2014. Benson's Microbiological Applications, Laboratory Manual in General Microbiology, Short Version. McGraw-Hill Education, 455 pp.

Hong K, Gao, A.H., Xie, Q.Y., Gao, H.G., Zhuang, L., Lin, H.P., Yu, H.P., Li, J., Yao, X.S., Goodfellow, M. & Ruan, J.S. 2009. Actinomycetes for marine drug discovery isolated from mangrove soils and plants in China. Marin Drug 7: 24-44.

Jayashree, S., Vyas, V., Bhatnagar, G.P. & Syed, S. 1991. On selection of methods and media for isolation of freshwater actinomycetes. Environmental Technology 12: 1183-1186.

Keiser T, Bibb MJ, Buttner MJ Charter KF & Hopwood DA. 2000. Practical *Streptomyces* genetics. The John Innes Foundation. Norwich, 616 pp.

Ma, Y., Galinski, E.A., Grant, W.D., Oren, A. & Ventosa, A. 2010. Halophiles 2010: life in saline environments. Applied Environmental Microbiology 76: 6971-6981.

Oren, A. 2006. Halophilic microorganisms and their environments (Vol. 5). Springer Science & Business Media, 575 pp.

Parera-Valadez, Y., Yam-Puc, A., López-Aguiar, L.K., Borges-Argáez, R., Figueroa-Saldivar, M.A., Cáceres-Farfán, M., Márquez-Velázquez, N.A. & Prieto-Davó, A. 2019. Ecological strategies behind the selection of cultivable actinomycete strains from the Yucatan peninsula for the discovery of secondary metabolites with antibiotic activity. Microbial Ecology 77: 839-851.

Ramesh, S. & Mathivanan, N. 2009. Screening of marine actinomycetes isolated from the Bay of Bengal, India for antimicrobial activity and industrial enzymes. World Journal of Microbial Biotechnology 25: 2103-2111.

Rohban, R., Amoozegar, M.A. & Ventosa, A. 2009. Screening and isolation of halophilic bacteria producing extracellular hydrolyses from Howz Soltan Lake, Iran. Journal of Indian Microbiolial Biotechnology 36: 333-340.

Salehghamari, E., Taheri, F., Hosseini, M., Sardabi, M., Etesami, A. & Hasani, G. 2017. Interspecies interactions of halophilic and halotolerant actinomycetes: An example from a salt. Progress in Biological Science 7: 183-189.

Sánchez-Porro, C., Martin, S., Mellado, E. & Ventosa, A. 2003. Diversity of moderately halophilic bacteria producing extracellular hydrolytic enzymes. Journal Applied Microbiology 94: 295-300.

Thaler, J.O., Duvic, B., Givaudan, A. & Boemare, N. 1998. Isolation and entomotoxic properties of the Xenorhabdus nematophilus F1 lecithinase. Applied and Environmental Microbiology 64:2367-73.

Yin, J., Chen, J.C., Wu, Q. & Chen, G.Q. 2015. Halophiles, coming stars for industrial biotechnology. Biotechnology Advances 33: 1433-1442.

*****

How to cite this article:

Salehghamari, E. 2022. Enzymatic diversity in haloactinomycetes isolated from rhizosphere of the plants in saline soils bordering Dasht-e-Kavir desert. Nova Biologica Reperta 9: 193-199. (In Persian).

صالح‌قمری، ا. ۱۴۰۱. تنوع آنزیمی در هالو اکتینومیست‌های جدا شده از ریزوسفر گیاهان در خاک‌های شور حاشیه دشت کویر. یافته‌های نوین در علوم زیستی ۹: ۱۹۹-۱۹۳.

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2024-05-03]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1401.9.3.4.4]
[DOI: 10.52547/nbr.9.3.193]