

"فایقه اطمینانی و ادیبه اطمینانی، مزایا و مشکلات کاربرد باکتری..."

مجله ایمنی زیستی
دوره ۱۰، شماره ۱، بهار ۹۶

مزایا و مشکلات کاربرد باکتری *Burkholderia cepacia* در مزارع

فایقه اطمینانی*، ادیبه اطمینانی

دانشگاه آزاد سنندج، سنندج، ایران
agriculture.student@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۲۳

چکیده

باکتری *Burkholderia* یک گونه کمپلکس است که خود چندین ژنوموار را در برمی گیرد که برای هر یک نقش‌های متنوعی ذکر شده است. ژنوم توسعه یافته این گونه کمپلکس، امکان سازگاری در نیچ‌های مختلف اکولوژیکی از آب، خاک، ترکیبات شیمیایی و غیره تا حضور در بدن انسان را در طی زمان برای آن‌ها ممکن نموده است، اگرچه گونه‌هایی از باکتری *Burkholderia* با توانایی تثبیت ازت، تولید سیدروفور و تجزیه آلاینده‌های محیطی پتانسیل با ارزشی در افزایش رشد گیاهان، کنترل بیمارگرهای گیاهی و حفظ سلامت محیط زیست به شمار می‌آید، اما به دلیل بروز مشکلات متعدد در انسان علی‌الخصوص در بیماران مبتلا به فیروز کیستی، تهدیدی جدی برای سلامتی انسان محسوب می‌گردد. بنابراین کاربرد آن به عنوان یک عامل بیوکنترل بدون مطالعات تکمیلی توصیه نمی‌گردد.

کلمات کلیدی: بورخولدریا، تثبیت ازت، سیدروفور، فیروز کیستی

مقدمه

رشد می‌نماید که گلوکز و آسپارژین موجود در این محیط کشت به ترتیب به عنوان منبع کربن و منبع ازت مورد استفاده باکتری قرار می‌گیرد (۶).

جایگاه تاکسونومیکی باکتری

باکتری *Burkholderia cepacia* در ابتدا به عنوان *Pseudomonas cepacia* معرفی گردید (۱). امروزه این باکتری به جنس *Burkholderia* انتقال یافته و از

مشخصات عمومی باکتری

باکتری *Burkholderia* متعلق به زیر شاخه‌ی بتا پروتوباکتیریا، گرم منفی و اکسیداز مثبت است. این باکتری قادر به تولید رنگدانه‌ی غیر فلورسنت آبی رنگ بر روی محیط اختصاصی است. بر روی محیط کشت‌های اختصاصی *TB-T* در اسیدیته ۵/۵ به خوبی

"فایقه اطمینانی و ادیبه اطمینانی، مزایا و مشکلات کاربرد باکتری..."

جدول ۱ قابل ملاحظه است. از طریق چندین آزمون بیوشیمیائی و فنوتیپی به سادگی می‌توان برخی از ژنوموارها را از هم تفکیک نمود که به تعدادی از آنها در جدول ۲ اشاره شده است (۳).

سودوموناس‌ها جدا شده است. این باکتری یک گونه کمپلکس می‌باشد که تاکنون نه ژنوموار برای آن پیشنهاد شده است که بر پایه مطالعات ژنومیکی ژن *16SrDNA* بین آنها در حدود ۹۸-۱۰۰ درصد شباهت وجود دارد (۳). ژنوموارهای تعیین شده در

جدول ۱- ژنوموارهای گونه کمپلکس *Burkholderia cepacia* (۱۵)

ژنوموار	گونه باکتری
<i>B. cepacia</i> genomovar I	<i>B. cepacia</i>
<i>B. cepacia</i> genomovar II	<i>B. multivorans</i>
<i>B. cepacia</i> genomovar III	<i>B. cenocepacia</i>
<i>B. cepacia</i> genomovar IV	<i>B. stabilis</i>
<i>B. cepacia</i> genomovar V	<i>B. vietnamiensis</i>
<i>B. cepacia</i> genomovar VI	<i>B. dolosa</i>
<i>B. cepacia</i> genomovar VII	<i>B. ambifaria</i>
<i>B. cepacia</i> genomovar VIII	<i>B. anthina</i>
<i>B. cepacia</i> genomovar IX	<i>B. pyrrocinia</i>
	<i>B. ubonensis</i> *

*موقعیت تاکسونومیکی *B. ubonensis* تاکنون به طور کامل تعیین نشده است

جدول ۲- آزمون‌های افتراقی جهت شناسائی برخی از ژنوموارهای *Burkholderia cepacia*

ژنوموار	ژنوموار I	ژنوموار II	ژنوموار III	ژنوموار IV	ژنوموار V	ژنوموار VI	ژنوموار VIII
آزمون اکسیداز	+	+	+	+	+	+	+
اکسیداسیون ساکارز	V	-	V	-	+	-	+
اکسیداسیون آدونیتول	V	+	V	V	-	+	+
اکسیداسیون لاکتوز	V	+	V	+	+	+	+
لیزین دکربوکسیلاز	+	V	+	+	+	-	+
ارنیتین دکربوکسیلاز	V	-	V	+	-	-	-
ژلاتین	V	-	V	+	-	-	+
هیدرولیز اسکولین	V	-	V	-	-	-	V
بتا گلاکتوزیداز	+	+	+	-	+	+	+
رشد در دمای ۴۲ درجه	V	+	V	-	+	+	V
بتا-همولیز	-	-	-	-	V	-	V

ارثی است که ارگان‌های متعددی از جمله سیستم گوارش، غدد عرق و سیستم تولید مثل را درگیر می‌کند و در سیستم تنفسی موجب بیماری پیشرونده شده و در نهایت یکی از دلایل اصلی مرگ در این بیماران خواهد بود. الگوی وراثتی این بیماری به صورت اتوزوم مغلوب بوده که شیوع آن از حدود ۱ در ۲۵۰۰ تا ۱ در ۳۲۰۰ تولد زنده در نژادهای مختلف متفاوت است و فراوانی ناقلین حدود ۱ در ۲۵ نفر (۴ درصد) گزارش شده است. بیماری فیروز کیستیک به علت موتاسیون در ژن منفرد بزرگ *CFTR* روی کروموزوم هفت که ژن را کد می‌کند ایجاد می‌شود که اکثر جهش‌ها مربوط به آگزون ۱۰ این ژن است، در مبتلایان به فیروز کیستی اختلال در حمل کلرید و سدیم از اپیتلیوم تنفسی باعث ترشحات غلیظ و چسبنده در راه‌های هوایی می‌شود که منجر به عفونت مزمن تنفسی و نهایتاً نارسائی سیستم تنفسی می‌گردد. از بین رفتن عملکرد ریه در بیماران فیروز کیستی شایع‌ترین علت مرگ در این بیماران است (۷، ۸) تعدادی از بیوتیپ‌های باکتری *BCC* از جمله *B. dolosa*، *B. multivorans*، *B. cenocepacia* نزدیک به ۸۵ درصد از عفونت‌های ششی را در بیماران فیروز کیستی، *CF* به خود اختصاص داده‌اند و موجب افزایش مرگ و میر می‌شوند، بیوتیپ‌های *B. multivorans*، *B. stabilis*، *B. cenocepacia* و *B. dolosa* در دیگر بیماری‌های انسانی به عنوان بیمارگر فرصت طلب دخالت دارند و از نمونه‌های کلینیکی و بیمارستانی به وفور جداسازی شده‌اند و از این نظر تهدیدی جدی برای سلامت انسان به شمار می‌رود. نکته قابل توجه این است که با وجود مطالعه

حضور باکتری *Burkholderia cepacia* در محیط‌های اکولوژیکی مختلف:

باکتری *BCC* با تولید ترکیبات متابولیکی مختلف و توانائی استفاده از منابع کربنی مختلف قادر به کلنیزاسیون موفق در آشیان‌های مختلف اکولوژیکی گشته است. البته این سازگاری ناشی از ژنوم توسعه یافته‌ی آن با اندازه بین ۶ تا ۹ *MP* است که این ژنوم طویل به تطابق آن و توانائی باکتری مذکور در استفاده از ترکیبات متابولیکی زیستگاه‌های مختلف کمک شایانی نموده است. باکتری *BCC* در محیط‌های بیمارستانی، صنعتی و طبیعی گزارش شده است که این هم‌پوشانی به خوبی در شکل ۱ مشهود است (۴).

حضور باکتری *BCC* در محیط‌های صنعتی:

باکتری‌های *B. stabilis*، *B. multivorans*، *B. cepacia*، *B. ambifera*، *B. vietnamiensis*، *B. cenocepacia* و *B. ubonensis* به عنوان باکتری‌های مولد آلودگی میکروبی در وسایل و ترکیبات آرایشی، بهداشتی و دیگر صنایع شیمیائی داروئی و نگه‌دارنده‌های شیمیائی گزارش شده‌اند. که متأسفانه سالانه خسارات اقتصادی و جانی هنگفتی بوجود می‌آورند (۱۵).

حضور باکتری *BCC* در محیط‌های بیمارستانی:

در ایران برای سالیان متمادی عفونت‌های بورخولدريائی به صورت محدود و صرفاً در جمعیت‌های حیوانی گزارش می‌شدند تا اینکه از ۴۰ سال پیش در بیماری‌های انسانی علی‌الخصوص در بیماران مبتلا به فیروز کیستی از برخی بیمارستان‌های کشور گزارش گردید. فیروز کیستی یک بیماری

پایوچلین و سپاباکتین، آهن را از فرم غیر قابل دسترس به فرم قابل دسترس برای گیاه تبدیل می‌کنند و آهن مورد نیاز گیاه را تامین می‌نمایند. توانائی تولید سیدروفور در کنار اهمیت آن در افزایش رشد گیاه میزبان، با خارج نمودن آهن از دسترس بیمارگرهای مضر به صورت غیر مستقیم در حفظ گیاه میزبان از حمله بیمارگرها موثر عمل می‌کند. استرین‌هائی از این باکتری‌ها با توانائی تولید ترکیبات ضد میکروبی مانند پیروول نیترین، پایولوتورین، آمینو پیروول نیترین، کلروپیروول نیترین و الترسیدین در کنترل بیمارگرها و افزایش رشد گیاه میزبان مفید تشخیص داده شده‌اند. در مطالعه‌ای با تلقیح باکتری *B. ambifaria* در حضور و عدم حضور بیمارگر *Fusarium verticillioides* در بذور ذرت میزان توانائی باکتری مذکور در کنترل بیمارگر و افزایش رشد گیاه میزبان مورد ارزیابی قرار گرفت، نتایج نشان داد که در حضور بیمارگر، باکتری قادر به کنترل بیماری گردید و از طرفی زمانی که حتی بیمارگر هم حضور نداشت، با تولید متابولیت‌های مفید و توانائی تثبیت ازت منجر به افزایش رشد گیاه میزبان گشت (۲). رشد گیاهان در هر چهار حالت حضور و یا عدم حضور بیمارگر و باکتری در شکل ۱ قابل ملاحظه است. علاوه بر آن باکتری *B. cepacia* یکی از موفق‌ترین عوامل بیوکنترل در کنترل قارچ *Rhizoctonia solani* است که با توانائی تولید ترکیبات متابولیکی ضد قارچی، در مهار بیمارگر قارچی موثر عمل می‌کند.

نقش باکتری *BCC* در پالایش زیستی:

باکتری *BCC* دارای ژن یا ژن‌های تجزیه کننده ترکیبات آروماتیکی و هیدروکربنی است به همین

بر روی سویه‌های مختلفی، از بیوتیپ *B. ambifaria* تاکنون به عنوان بیمارگر انسانی گزارشی در دسترس نیست. که شاید به توانائی محدود آن در ویرولانسی به عنوان بیمارگر فرصت طلب مرتبط باشد (۹).

حضور باکتری *BCC* در محیط‌های طبیعی:

باکتری *BCC* از حدود ۲۰۰ ترکیب آلی به عنوان منبع کربن استفاده می‌کند. از نظر کشاورزی، باکتری *B. cepacia* سازگاری زیادی با ریشه‌ی بسیاری از گیاهان دارد و در دامنه‌ی وسیعی از شرایط محیطی قادر به فعالیت می‌باشد (۹).

نقش باکتری *BCC* در ایجاد بیماری‌های گیاهی:

این باکتری اولین بار در سال ۱۹۵۰ توسط برک هلدر به عنوان عامل پوسیدگی غده پیاز معرفی شده است (۱). خسارت‌ها اگرچه در پیازهای انبارشده به وضوح دیده می‌شود اما سهم آلودگی از مزارع شروع می‌شود. میزان خسارت در حدود ۵ تا ۵۰ درصد گزارش گردیده است. این بیماری علاوه بر پیاز خوراکی در انواع پیازها ملاحظه گردیده است. علائم اولیه به صورت حالت لزج مانند در پیاز، به رنگ زرد کم رنگ تا قهوه‌ای روشن دیده می‌شود و موجب زوال فلس‌های بیرونی پیاز می‌گردد، نواحی گردن پیاز معمولاً بعد از ریزش برگ‌ها نرم و لزج می‌شوند در حالی که نواحی داخلی سفت باقی می‌ماند.

نقش باکتری *BCC* در افزایش رشد گیاهان و کنترل بیمارگرها:

تمام گونه‌های جنس *Burkholderia* قادر به تثبیت ازت هستند، از طرفی با تولید سیدروفورهای

عامل اصلی در فرایند پالایش زیستی *Bioremediation* مطرح است لیست برخی از ترکیبات تجزیه شده توسط سویه‌های باکتری در جدول ۳ آورده شده است.

دلیل به عنوان یکی از عوامل موثر در فرایند پالایش زیستی خاک‌های آلوده به ترکیبات هیدروکربنی، یا سایر ترکیبات شیمیایی از جمله علف کش‌ها و حشره کش‌های باقی مانده در محیط هستند که به عنوان



شکل ۱- اثر تلقیح باکتری در کنترل بیمارگر فوزاریومی و افزایش رشد گیاه میزبان (۲) تلقیح با علامت + و عدم تلقیح با علامت - نشان داده شده است

<i>B.ambifaria</i> MC17	+	-	+	-
<i>F.verticillioides</i>	+	+	-	-

جدول ۳- برخی از ترکیبات تجزیه شده توسط سویه‌های باکتری

عامل آلودگی	استرین باکتری
بنزن، نفتالن، کلروفرم، فنول	<i>B. vietnamiensis</i>
بنزوات، ۴- فلوروبنزوات، ۴- هیدروکسی بنزوات	<i>B. cepacia</i>

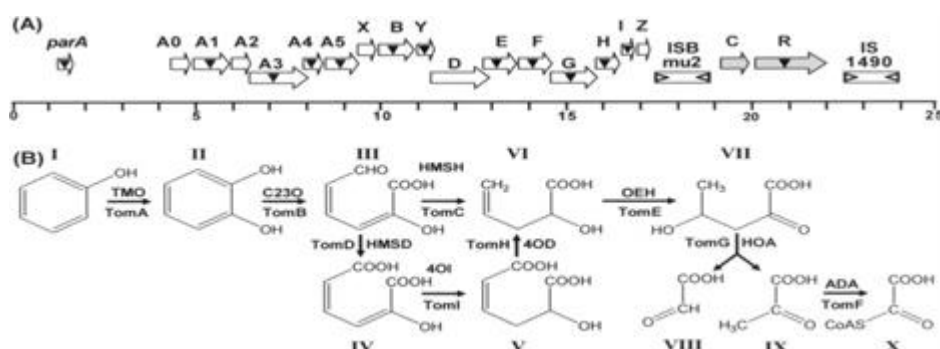
TOM کد می‌شود (۱۴). تجزیه این ترکیب به کمک *B.vietnamiensis* مورد بررسی قرار گرفته و اثبات شده است. در محیط‌های غنی و رشد یافته این باکتری، غلظت‌های کمی از تری کلرواتیلن مورد تجزیه قرار گرفته است که احتمالاً به دلیل رقابت بازدارنده بین ترکیبات رشدی آروماتیکی محیط و این آلاینده می‌باشد. در حالی که در محیط کشت های *fed-*

B. vietnamiensis یکی از ژنوموارهای *B.cepacia* است که به دلیل توانایی تجزیه تری کلرواتیلن بسیار مورد توجه است. تری کلرواتیلن یکی از آلاینده‌های آلی شناخته شده است که در آب‌های زیرزمینی وجود دارد و در حضور ترکیبات آروماتیکی سنتز تولوئن و فنول را القا می‌کند (۱۱). آنزیم کلیدی در این مسیر تولوئن- مونواکسیژناز است که توسط مجموعه ژنی

"فایقه اطمینانی و ادیبه اطمینانی، مزایا و مشکلات کاربرد باکتری..."

این گونه کمپلکس قادر به تجزیه ترکیبات فنولی، کلروفرم، بنزنی و... هم می باشد که در شکل ۲ اپران ژنی *TOM* و مسیر بیوشیمیایی آن قابل ملاحظه است.

batch به دلیل اضافه شدن محیط کشت به صورت تدریجی، این بازدارندگی تا حدود قابل توجهی کاهش یافته و باکتری در مدت ۳ هفته قادر به معدنی نمودن ۶۵ درصد از تری کلرواتیلن خواهد بود (۱۰).



شکل ۲- مجموعه ژنی اپران *TOM* (A) و مسیر تجزیه ترکیبات فنولی و بنزنی (B) (۱۲)

و آلاینده‌ها انکار ناپذیر است و نباید نادیده گرفته شود. اما از آنجا که مطالعات صورت پذیرفته نشان می‌دهد که اغلب ژنوموارهای شناسایی شده از نمونه های کلینیکی و بیماران مختلف اعم از مبتلایان فیروز کیستی و دیگر عفونت‌های پزشکی گزارش شده اند بنابراین کاربرد آن را در طبیعت با چالش مواجه می‌کند. بنابراین بدون شک پژوهش‌ها تکمیلی در تمام جوانب از جمله درک صحیح و مطالعه‌ی کامل ژنوم، شناخت بهتر از ژنوموارهای بیماری‌زا، و شناخت مکانیسم‌های متنوع این باکتری‌ها در کلینیزاسیون و تطابق در نیچ‌های مختلف اکولوژیکی، امری ضروری است تا بتوان از آن‌ها ایمن در زمینه‌های مختلف بهره جست.

چالش‌ها و چشم اندازهای پیش رو:

کاربرد سویه های بومی باکتریایی در کنترل بیمارگرها، افزایش رشد گیاهان و استفاده در پالایش زیستی همواره مورد توجه دانشمندان بوده است. چراکه توجه به پتانسیل‌های بومی، ایمنی مناسب‌تری در قیاس با ترکیبات شیمیایی پرخطر خواهد داشت. اما در این میان، انتخاب سویه های برتر یکی از اصلی ترین چالش‌ها محسوب می‌گردد، چرا که انتخاب سویه نامناسب در کنار اتلاف وقت و هزینه، خطراتی به مراتب بیش‌تر از ترکیبات شیمیایی به جای خواهد گذاشت. نگرش یک جانبه، بدون در نظر گرفتن تمام جوانب یکی از مشکلات اصلی در زمینه کنترل زیستی است. توانایی موثر سویه *Burkholderia* در افزایش رشد گیاهان و کنترل برخی بیمارگرهای گیاهی و یا قدرت بالای آن در پالایش ترکیبات نفتی

References

منابع

1. **Burkholder WH. 1950.** Sour skin, a bacterial rot of onion bulbs. *Phytopathology* 40:115–117.
2. **Chiarini L, Bevivino A, Dalmastrri C, Tabacchioni S, Visca P. 2006.** Burkholderia cepacia complex species: health hazards and biotechnological potential. *Trends in Microbiology* 14(6):277-86. Epub 2006 May 8.
3. **Coenye T, Mahenthiralingam E, Henry D, LiPuma JJ, Laevens S, Gillis M. Speert DP, Vandamme P. 2001.** Burkholderia ambifaria sp. nov., a novel member of the Burkholderia cepacia complex including biocontrol and cystic fibrosis-related isolates. *International Journal Systematic and Evolutionary Microbiology* 51: 1481–1490.
4. **Gautam V, Singhal L, Ray P. 2011.** *Burkholderia cepacia* complex: Beyond pseudomonas and acinetobacter. 29 (1):4-12.
5. **Govan JR Hughes JE, Vandamme P. 1996.** *Burkholderia cepacia*: medical, taxonomic and ecological issues. *Journal of Medical Microbiology* Dec 45(6):395-407.
6. **Hagedorn C, Gould WD, Bardinelli TR, Gustavson DR. 1987.** A selective medium for enumeration and recovery of Pseudomonas cepacia biotypes from soil. *Applied and Environmental Microbiology* 53:2265–2268.
7. **Kliegman N. 2007.** textbook of pediatrics. 18th ed. Philadelphia: Saunders;
8. **Lyczak JB, Cannon CL, Pier GB. 2002.** Lung infections associated with cystic fibrosis *Clinical Microbiology Reviews* 15(2): 194-222.
9. **Mahenthiralingam E, Urban TA, Goldberg JB. 2005.** The multifarious, multireplicon *Burkholderia cepacia* complex. *Nature Reviews Microbiology* 3:144-156.
10. **Mars AE, Houwing J, Dolfing J, Janssen DB. 1996.** Degradation of toluene and trichloroethylene by Burkholderia cepacia G4 in growth-limited fed-batch culture. *Applied and Environmental Microbiology* 62:886–891.
11. **Nelson MJK, Montgomery SO, O'Neill EJ, Pritchard PH. 1986.** Aerobic metabolism of trichloroethylene by a bacterial isolate. *Applied and Environmental Microbiology* 52:383–384.
12. **O'Sullivan LA, Weightman AJ, Jones TH, Marchbank AM, Tiedje JM, Mahenthiralingam E. 2007.** Identifying the genetic basis of ecologically and biotechnologically useful functions of the bacterium Burkholderia vietnamiensis. *Environmental Microbiology* 9(4):1017-1034.
13. **Parke JL. 2000.** *Burkholderia cepacia*: Friend or Foe? *The Plant Health Instructor*. DOI: 10.1094/PHI-I-2000-0926-01.
14. **Shields MS, Reagin MJ, Gerger RR, Campbell R, d Somerville C. 1995.** TOM, a new aromatic degradative plasmid from Burkholderia (*Pseudomonas*) cepacia G4. *Applied and Environmental Microbiology* 61, 1352–1356.
15. **Vandamme P, Holmes B, Vancanneyt M, Coenye T, Hoste B, Coopman R, Revets H, Lauwers S, Gillis M, Kersters K, Govan JRW. 1997.** Occurrence of multiple genomovars of *Burkholderia cepacia*. cystic fibrosis patients and proposal of *Burkholderia multivorans* sp. nov. *International Journal of Systematical Bacteriology* 47: 1188–1200.

"فایقه اطمینانی و ادیبه اطمینانی، مزایا و مشکلات کاربرد باکتری..."

Advantage and Problems of application of *Burkholderia cepacia* in farms

Faegheh Etminani* and Adibeh Etminani
Islamic Free university of Sanandaj, Iran
agriculture.student@yahoo.com

Abstract

Burkholderia cepacia is a complex species which have some different genomovars with various functions. All *Burkholderia* species possess very large genomes which underpins their versatility through time in diverse ecologically niche such as water, soil, chemical compounds. Even in human body. Although facilitate highly beneficial function like nitrogen fixation, siderophore production and processes such as pollutants degrading, they are also capable of causing opportunistic infections in vulnerable individuals, especially people with cystic fibrosis (CF) and makes a serious threat. Therefore, it should not be advised as biological control without supplementary research.

Key words: *Burkholderia*, nitrogen fixation, siderophore, cystic fibrosis