مقاله کوتاه

بررسی تأثیر ریزمغذی‌ها روی میزان تولید و فعالیت آنزیم کیتیناز گونه‌هایی از تریکودرما *

EVALUATION OF MICRONUTRIENTS EFFECTS ON PRODUCTION AND ACTIVITY OF CHITINASE ENZYME OF SOME *Trichoderma* SPECIES

مائده مرید[۱] و دوستمراد ظفری[۲]**

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۵/۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۴/۳)

چکیده

گونه‌های تریکودرما، به‌دلیل ترشح بعضی آنزیم‌های کیتینازی، به‌عنوان عاملی مهم در کنترل بیولوژیک بیماری‌های گیاهی مورد استفاده قرار می‌گیرند. در سال های اخیر تولید و مصرف کودهایی تحت عنوان میکروالمنت‌های غذایی متداول شده است که کنترل بیولوژیک را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهند. در این تحقیق میزان فعالیت ویژه آنزیم کیتیناز چهار جدایه تریکودرما (هر جدایه از یک گونه) در محیط کشت مایع SM حاوی غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام ریزمغذی‌های منگنز و مس و غلظت‌های ۱۰۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام ریزمغذی آهن مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد در میزان فعالیت آنزیم کیتیناز جدایه‌های مربوط به گونه‌های مختلف در ریزمغذی مصرفی تفاوت معنی‌دار وجود دارد. بیشترین میزان فعالیت ویژه آنزیم در جدایه‌های fn3، fn4، fn1 و Fn2 به ترتیب مربوط به گونه‌های *T. brevicompactum*، *T. koningiopsis*، *T. arundinaceum* و *T. atroviride* در محیط رشد یافته حاوی ریزمغذی منگنز، به ترتیب معادل ۰/۰۰۴۸، ۰/۰۰۴۵، ۰/۰۰۴۳ و ۰/۰۰۴۱ U/mg protein بود. در تمام جدایه‌های مورد بررسی میزان فعالیت ویژه این آنزیم در محیط حاوی سایر ریزمغذی‌ها نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد. در جدایه‌های مربوط به گونه‌های *T. koningiopsis*، *T. arundinaceum* و *T. atroviride* کمترین میزان فعالیت مربوط به محیط حاوی غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام ریزمغذی آهن به ترتیب معادل ۰/۰۰۲۴، ۰/۰۰۱۸ و ۰/۰۰۱۹ U/mg protein و در جدایه *T. brevicompactum* حداقل فعالیت، در محیط حاوی ریزمغذی مس با میزان ۰/۰۰۲ U/mg protein دیده شد. با توجه به نتایج این تحقیق، باید هنگام مصرف این ریزمغذی‌ها، تأثیر آنها روی صفات آنتاگونیستی جدایه‌های تریکودرما مورد ارزیابی قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: ***Trichoderma***، **بیوکنترل، کودها، میکروالمنت**

---

*: بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول، ارایه شده به دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

**: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: zafari_d@yahoo.com

۱. به ترتیب کارشناس ارشد و دانشیار بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

مقدمه

کیتینازها آنزیم‌های تجزیه کننده کیتین هستند. کیتین دومین پلیمر فراوان در طبیعت بعد از سلولز است و بیش از همه در محیط دریایی یافت می‌شوند (Bansode & Bajekal 2006). کیتینازها پلیمر کیتین را می‌شکنند و به انواعی از تولیدات شامل الیگومرکیتوزان، دی‌ساکاریدهای کیتوبیوز و مونومرهای N- استیل‌گلوکزامین تبدیل می‌کنند (Bansode& Bajekal 2006). جدایه‌های تریکودرما آنزیم‌های هیدرولیتیک همچون کیتیناز، اندوگلوکاناز، پروتئاز و آمیلاز را به فراوانی تولید می‌کنند(Aline *et al.* 2000). تولید کیتیناز به‌وسیله گونه‌های تریکودرما در ارتباط با کاربردشان در کنترل زیستی قابل توجه است و از میان استرین‌های مورد بررسی *T. harzianum* 39.1 به عنوان بهترین استرین در تولید کیتیناز شناخته شده است (Aline *et al.* 2000). اندوکیتینازهای تولیدشده توسط تریکودرما نسبت به کیتینازهای سایر قارچ‌ها و گیاهان به عنوان عامل بازدارنده جوانه‌زنی اسپور و طویل شدن هیف قارچ‌های پاتوژن‌ها بیشتر موثرند (Ali *et al.* 2003). کیتینازها به ۱و۴- بتا- استیل‌گلوکزامینیدازها (1,4-beta- acetylglucosaminidases (GlcNAcases))، اندوکیتینازها (Endochitinases) و اگزوکیتینازها (Exochitinases) تقسیم می‌شوند که گونه‌های *Trichoderma* دامنه وسیعی از اندو-اگزو کیتینازها را تولید می‌کنند (Zeilinger *et al.* 1999). آنزیم-های تجزیه‌کننده کیتین هم‌چنین براساس فعالیت آنزیم روی سوبسترا (کیتین) طبقه‌بندی شده‌اند. چهار آنزیم کیتوبیاز از جدایه‌های مختلف گونه‌های *T. atroviride* و *T. harzianum* خالص شده و مشخص شده‌اند که سه ژن مسئول تولید این آنزیم exc2، exc1 و nag1 هستند. پروتئین nag1 از *T. atroviride* P1 خالص شده است که دارای فعالیت سینرژیست با یک‌بتاگلوکوسیداز در بازدارندگی از جوانه‌زنی اسپور *Botrytis cinerea* می‌باشد (Viterbo *et al.* 2002). اندوکیتیناز در طول فیبریل کیتینی به صورت تصادفی در مکان‌های داخلی پلیمر کیتین شکاف ایجاد می‌کنند (Viterbo *et al.* 2002). اگزوکیتیناز یا کیتوبیوسیداز، تنها واحدهای دی‌استیل‌کیتوبیوز تولید می‌کند در چنین روشی هیچ مونوساکارید یا اولیگوساکاریدی تولید نمی‌شود (Chim *et al.* 2002).

یون‌های فلزی می‌توانند فعالیت‌های آنزیمی *Trichoderma* spp. را تحت تأثیر قرار دهند و منجر به تغییراتی در توان آنتاگونیستی این قارچ علیه پاتوژن‌های گیاهی شوند (Kredics *et al.* 2001). یون‌های فلزی هم‌چنین مقدار آنزیم‌های خارج سلولی تولید شده به‌وسیله تریکودرما را تحت تأثیر قرار می‌دهند. چنانچه حضور یون‌های منگنز فعالیت اندوزیلاناز (Endoxylanase) را کاهش یافت، در حالی که فعالیت سلوبیوهیدرولاز (Cellobiohydrolase) را افزایش می‌دهد (Kredics *et al.* 2001). طی بررسی‌های *آلین و همکاران* (۲۰۰۰) مشخص شد Fe^{3+}، Al^{3+}، Zn^{2+} و Cu^{2+} در غلظت یک میلی‌مولار موجب کاهش فعالیت آمیلاز *T. harzianum* شدند و Mn^{2+} در همان غلظت فعالیت آمیلاز را تا ۷۰% افزایش داد ولی یون‌های Ca^{2+}، Mg^{2+} و Co^{2+} اثر قابل توجهی روی فعالیت این آنزیم نشان ندادند (Aline *et al.* 2000). از بین یون‌های Fe^{3+}، Mg^{2+}، Al^{3+}، Zn^{2+} و Ca^{2+} فقط یون‌های Fe^{3+} در غلظت یک میلی‌مولار برای آنزیم بتا۱و۳-گلوکاناز *T. harzianum* ۱۰۰ درصد بازدارنده بود، سایر یون‌ها اثر معنی‌داری روی فعالیت این آنزیم نشان ندادند (Felix & Marco 2007). فعالیت بتا۱و۳-گلوکاناز از *T. hamatum* در حضور Ca^{2+} و Mg^{2+} حدود ۲۰% افزایش می‌یابد و در حضور یون‌های Zn^{2+} و Cu^{2+} نیز مقداری

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

افزایش فعالیت نشان می‌دهد، ولی حضور $HgCl_2$ موجب کاهش فعالیت آنزیم ذکر شده می گردد(Maj *et al.* 2002). وجود ۴۰ پی‌پی‌ام جیبریک‌اسید و ایندول‌استیک-اسید در محیط کشت قارچ، توانایی *T. harzianum* را در ترشح اندوکیتینازها تحت تأثیر قرار نمی‌دهد (Roco & Perez 2001). هم‌چنین یون‌های مس و جیوه فعالیت آنزیم آمیلاز را در قارچ *T. harzianum* به طور کامل از بین می‌برند (Mohamed *et al.* 2011).

مواد و روش‌ها

چهار جدایه fn1، fn2، Fn3 و fn4 به ترتیب متعلق به یک گونه از گونه‌های تریکودرما شامل *T. arundinaceum*، *T. atroviride*، *T. brevicompactum* و *T. koningiopsis* از آزمایشگاه بیماری‌شناسی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا تهیه گردید. این جدایه‌ها قبلاً به کمک روش‌های مورفولوژیکی و ملکولی مورد شناسایی قرار گرفته بودند (نظمی، ۱۳۸۵؛ ظفری، ۱۳۸۲). این جدایه‌ها روی محیط PDA تجدید کشت شدند و سپس مورد استفاده قرار گرفتند.

برای القای آنزیم کیتیناز در محیط کشت جدایه‌های تریکودرما از محلول کیتین نیم درصد به عنوان سوبسترا استفاده شد. تهیه عصاره آنزیم و سنجش فعالیت آنزیمی، به روش *بدری و همکاران* (Badri *et al.* 2007) با اندکی تغییر به شرح زیر انجام شد. ابتدا جدایه‌های تریکودرما در محیط کشت مایع SM حاوی ۲/۸ گرم $(NH_4)_2SO_4$، ۰/۶ گرم Urea، ۴ گرم KH_2PO_4، ۰/۶ گرم $CaCl_2.2H_2O$، ۰/۲ گرم $MgSO_4$، ۰/۰۱ گرم $FeSO_4.7H_2O$، ۰/۰۰۲۸ گرم $ZnSO_4.H_2O$، ۰/۰۰۳۲ گرم $CoCl_2.6H_2O$ همراه با ۵ گرم پودر کیتین (Sigma) در یک لیتر آب مقطر کشت داده شدند. به این صورت که ۳۰ میلی‌لیتر از محیط کشت مذکور در ارلن‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد. سپس برای بررسی میزان تولید آنزیم، به هر ارلن به طور جداگانه میزان‌های ۱۰۰ پی‌پی‌ام ریزمغذی حاوی منگنز، ریزمغذی حاوی مس و ۱۰۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام ریزمغذی حاوی آهن اضافه گردید و هر ارلن به خوبی هم زده شد و در نهایت میزان یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون 5×10^7 اسپور در میلی‌لیتر هر جدایه تریکودرما داخل ارلن‌ها ریخته شد و به مدت چهار روز با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد روی شیکر با سرعت ۱۲۰ تکان در دقیقه نگهداری شدند. بعد از این مدت محیط‌ها با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف گردیدند و در میکروتیوپ‌های دو میلی‌لیتری در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد جهت بررسی‌های بعدی نگهداری شدند.

بررسی فعالیت آنزیم کیتیناز (Chitinase) به روش *روخاس-آولیزاپا و همکاران* (Rojas-Avelizapa *et al.* 1999) با اندکی تغییر به شرح زیر صورت گرفت. مخلوط واکنش شامل ۲۰۰ میکرولیتر محلول ۰/۵ درصد کیتین خالص (Sigma) تهیه شده در بافر استات سدیم ۰/۰۵ مولار (pH ۵) و ۲۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیم بود. مخلوط حاصل برای مدت ۶۰ دقیقه در حمام آب ۴۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس واکنش با اضافه کردن یک میلی‌لیتر معرف دی‌نیتروسالیسیلیک اسید (DNS) متوقف شد و برای مدت پنج دقیقه در آب در حال جوشیدن قرار گرفت.

سپس میکروتیوپ‌ها برای پنج دقیقه با دور ۶۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شدند و بخش رویی (محلول رویی شناور) برداشته شد و جذب نوری آنها با استفاده از اسپکتروفوتومتر (Varian Cary 100 Conc.) در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. دستگاه اسپکتروفوتومتر برای هر نمونه به‌وسیله مخلوط واکنش که فعالیت عصاره آن در حمام آب ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد متوقف شده بود، صفر

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

شد. فعالیت اختصاصی آنزیم به صورت میلی‌گرم گلوکز آزادشده در دقیقه به ازای یک میلی‌گرم پروتئین تام موجود در عصاره تعیین شد. اندازه‌گیری مقدار پروتئین با روش *برادفورد* (Bradford 1976) انجام شد و از پروتئین Bovine serum albomin (BSA) برای تهیه منحنی استاندارد استفاده گردید. داده‌های به‌دست آمده به صورت آزمایش فاکتوریل تجزیه شدند. در رابطه با فاکتورهای دارای اثر معنی‌دار (P<۰/۰۵) یا متمایل به معنی‌دار (P<۰/۰۱) مقایسه میانگین‌ها با روش دانکن و فرض خطای ۵% انجام شد. هر تیمار دارای سه تکرار بود. برای این طرح نرم افزار SAS 9.1 (SAS 2004) مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج و بحث

این آزمون به دنبال بررسی تأثیر ریزمغذی‌ها روی رشد جدایه‌هایی از گونه‌های تریکودرما صورت گرفت. به دلیل اینکه رشد پرگنه چهار جدایه مورد استفاده در این تحقیق در تمام غلظت‌های ریزمغذی‌های محتوی منگنز و مس به ترتیب افزایش و کاهش یافت، لذا در بررسی تأثیر ریزمغذی‌ها بر فعالیت آنزیمی آنها از این دو ریزمغذی فقط یک غلظت استفاده شد. اما در ریزمغذی محتوی آهن غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام موجب افزایش و غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام سبب کاهش رشد پرگنه شد (مرید ۱۳۹۰). به همین دلیل این دو غلظت جهت آزمایش آنزیمی به کار گرفته شدند تا مشخص گردد آیا افزایش و کاهش رشد پرگنه با افزایش و کاهش فعالیت آنزیمی همبستگی دارد یا خیر.

در بررسی‌های انجام گرفته‌شده روی میزان فعالیت آنزیم کیتیناز در جدایه‌های تریکودرما مورد استفاده در این تحقیق، بین جدایه‌های گونه‌های مختلف تریکودرما، ریزمغذی‌ها و هم‌چنین اثر متقابل بین آنها تفاوت معنی‌داری وجود داشت (جدول ۱). بنابراین، تأثیر هر ریزمغذی بر فعالیت آنزیمی جدایه هر گونه به طور جداگانه مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۲).

نتایج نشان داد بین تیمارهای مختلف در میزان فعالیت آنزیم تفاوت معنی‌دار وجود دارد و تمام جدایه‌های تریکودرمای رشد یافته در محیط مایع SM قادر به تولید آنزیم کیتیناز هستند (جدول ۲). بیشترین میزان فعالیت ویژه‌ی آنزیم کیتیناز توسط جدایه مربوط به *T. brevicompactum* و سپس جدایه مربوط به *T. koningiopsis* در محیط حاوی ریزمغذی منگنز به ترتیب معادل ۰/۰۰۴۸ U/mg protein و ۰/۰۰۴۵ U/mg protein بود. کمترین میزان فعالیت توسط جدایه مربوط به *T. arundinaceum* در محیط حاوی غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام ریزمغذی آهن با میزان ۰/۰۰۱۸ U/mg protein و سپس جدایه‌های مربوط به *T. atroviride* در محیط حاوی غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام ریزمغذی آهن و *T. brevicompactum* در محیط حاوی ریزمغذی مس به ترتیب با میزان‌های ۰/۰۰۱۹ U/mg protein و ۰/۰۰۲ U/mg protein بود و هر سه در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول ۲). در هر چهار جدایه تریکودرمای مورد بررسی میزان فعالیت ویژه آنزیم زمانی که در محیط حاوی ریزمغذی منگنز رشد یافتند نسبت به شاهد بیشتر بود ولی میزان فعالیت در سایر ریزمغذی‌ها نسبت به شاهد کاهش یافت (جدول ۲). میزان فعالیت ویژه آنزیم جدایه مربوط به *T. atroviride* در محیط حاوی غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام ریزمغذی آهن با ریزمغذی مس تفاوتی نشان نداد ولی به طور معنی‌داری از غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام ریزمغذی آهن بیشتر بود. در جدایه مربوط به *T. brevicompactum* نیز میزان فعالیت ویژه آنزیم در تمام ریزمغذی‌ها نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری نشان داد، به طوری‌که بیشترین میزان فعالیت مربوط به محیط حاوی ریزمغذی منگنز و

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

جدول ۱. تأثیر ریزمغذی‌های مختلف بر فعالیت آنزیم کیتیناز گونه‌های تریکودرما

Table 1. Effect of different micronutrients on chitinase enzyme activity of *Trichoderma* spp.

گونه‌های تریکودرما	*فعالیت ویژه آنزیم کیتیناز (U/mg protein)
T. koningiopsis	0.0034
T. brevicompactum	0.0032
T. arundinaceum	0.0029
T. atroviride	0.0028
SEM	0.36
ریزمغذی‌های حاوی عناصر زیر:	
Mn100	0.0044
Fe 100	0.0026
Fe 500	0.0021
Cu 100	0.0024
Control	0.0037
SEM	0.4
P قارچ	<0.0001
P ریزمغذی	<0.0001
P قارچ× ریزمغذی	<0.0001
CV	4.5

*:میلی‌گرم گلوکز آزاد شده در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین یا U/mg protein.

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

*:(Mg glucose released per minute at mg protein or U/mg protein)

SEM: Standard Error of Mean.

کمترین میزان مربوط به غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام ریزمغذی مس بود (جدول ۲).

تحقیقات *شبانا و همکاران* (Shabana *et al.* 2006) نشان داد کلسیم و کبالت موجب افزایش فعالیت آنزیم گلوکاناز در *T. harzianum* می‌شود، در حالی که آهن، جیوه، مس و منیزیم موجب کاهش فعالیت این آنزیم می‌شود است. مس در غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار به ترتیب موجب کاهش ۳۳، ۳۸ و ۴۶ درصدی فعالیت آنزیم شده و یون‌های آهن نیز در همین غلظت‌ها به ترتیب موجب کاهش ۹/۱۹، ۱۷/۲۴ و ۲۲/۹۹ درصدی این آنزیم شده‌اند (Shabana *et al.* 2006). یون‌های Mg^{2+}، K^{+} و Ca^{2+} در غلظت یک میلی‌مولار به ترتیب ۱۳، ۱۶ و ۱۸ درصد فعالیت آنزیم کیتیناز *Enterobacter* sp. را افزایش داده اند (Dahiya *et al.* 2005). براساس تحقیقات *بانسود و باجیکال* (۲۰۰۶) نیز یون‌های آهن برای آنزیم کیتیناز برخی میکروارگانیسم‌ها مقداری کاهش فعالیت موجب شده و برای برخی دیگر بی اثر بوده است که با نتایج این تحقیق انطباق دارد، آنها هم‌چنین نشان دادند منگنز و سدیم از جمله

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

جدول ۲. مقایسه فعالیت آنزیم کیتیناز جدایه‌های تریکودرما در ریزمغذی‌های مختلف و شاهد (بدون ریزمغذی)

Table 2. Comparison of chitinase enzyme activity of *Trichoderma* isolates on media containing different micronutrients and control (no micronutrients).

فعالیت ویژه آنزیم کیتیناز* (U/mg protein)	تیمار
0.0048 a**	*T. brevicompactum*+100Mn
0.002 jk	*T. brevicompactum*+100Cu
0.0029 fg	*T. brevicompactum*+100Fe
0.0023 i	*T. brevicompactum*+500Fe
0.0040 d	*T. brevicompactum*-control
0.0045 b	*T. koningiopsis*+100Mn
0.0025 hi	*T. koningiopsis*+100Cu
0.0030 f	*T. koningiopsis*+100Fe
0.0024 i	*T. koningiopsis*+500Fe
0.0043 bc	*T. koningiopsis*-control
0.0043 bc	*T. arundinaceum*+100Mn
0.0027 gh	*T. arundinaceum*+100Cu
0.0021 j	*T. arundinaceum*+100Fe
0.0018 k	*T. arundinaceum*+500Fe
0.0035 e	*T. arundinaceum*-control
0.0041 cd	*T. atroviride*+100Mn
0.0024 i	*T. atroviride*+100Cu
0.0025 i	*T. atroviride*+100Fe
0.0019 jk	*T. atroviride*+500Fe
0.0031 f	*T. atroviride*-control
0.8	SEM
<0.0001	تیمار
4.5	CV

*: مقایسه میانگین فعالیت آنزیمی جدایه‌های گونه‌هایی از تریکودرما (میلی‌گرم گلوکز آزاد شده در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین یا U/mg protein) در ریزمغذی‌های مختلف. **:حروف مشترک نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار میانگین‌ها در سطح خطای ۵% می‌باشند. اعداد به کار رفته در جدول مربوط به میانگین سه تکرار هستند. SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

*: Mean comparisons of enzyme activity, *Trichoderma* isolates. (mg glucose released per minute at mg protein or U/mg protein) in different micronutrients. **:Similar letters indicate not significantly different at the 5% error. The numbers used in Table are the mean of three replications. SEM: Standard Error of Mean.

یون‌هایی هستند که فعالیت بسیاری از آنزیم‌ها را افزایش می‌دهند.

در جدایه مربوط به *T. arundinaceum* میزان فعالیت ویژه آنزیم کیتیناز در محیط حاوی ریزمغذی‌ها با شاهد تفاوت معنی‌داری نشان داد، بیشترین میزان فعالیت مربوط به ریزمغذی منگنز و کمترین میزان مربوط به غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام ریزمغذی آهن بود (جدول ۲). تحقیقات *فراکوسکی و همکاران* (frankowski *et al.* 2001) نشان داد که غلظت ده میلی‌مولار از یون‌های Ca^{2+}، Co^{2+} و Mn^{2+} فعالیت کیتیناز در *Serratia plymuthica* را افزایش ولی Cu^{2+} تا ۸۰% فعالیت آنزیم را کاهش می‌دهد که این نتایج با نتایج به‌دست آمده از این تحقیق مطابقت دارد. بر

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

این اساس *واسلی و همکاران* (Wasli *et al*. 2006) بیان داشتند برخی یون‌های فلزی سنگین همچون Cu^{2+} و Co^{2+} با باند شدن روی محل‌های فعال آنزیم مانع از اتصال سوبسترا به آنزیم شده و در این واکنش اختلال ایجاد می‌کنند که در این تحقیق می‌توان دلیل کاهش فعالیت آنزیم کیتیناز را در حضور ریزمغذی‌های حاوی مس و آهن به این مسئله نسبت داد. فعالیت ویژه آنزیم کیتیناز در جدایه مربوط به *T. koningiopsis* در محیط حاوی ریزمغذی منگنز با شاهد از نظر آماری در یک گروه قرار گرفت. ولی این میزان در سایر ریزمغذی‌ها نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد، حداقل آن در غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام ریزمغذی آهن دیده شد که با محیط حاوی ریزمغذی مس تفاوت معنی‌داری نشان نداد (جدول ۲). یون‌های Cu^{2+}، Ag^{+} و Hg^{2+} در غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار برای کیتیناز *Enterobacter* sp. کاملاً بازدارنده بوده اند. هم‌چنین Zn^{2+}، Fe^{2+} و Co^{2+} در همان غلظت به ترتیب ۹۸/۳، ۸۳/۷ و ۸۹/۵ درصد فعالیت این آنزیم را کاهش داده‌اند (Dahiya *et al*. 2005). (یون‌های Cu^{2+} و Na^{+} نیز در غلظت پنج میلی‌مولار موجب کاهش ۲۵ درصدی فعالیت آنزیم کتیناز *Alcaligenes xylosoxydans* شده اند در صورتی‌که Ca^{2+}، Ba^{2+} و Mg^{2+} در همین غلظت تأثیر قابل توجهی روی فعالیت این آنزیم نشان نداده اند (Vaidya *et al*. 2003).

براساس نتایج به دست آمده، جدایه‌های گونه‌های *T. koningiopsis* و *T. brevicompactum* از نظر تولید آنزیم کیتیناز نسبت به سایر گونه‌ها موفق‌تر ظاهر شدند. تحقیقات *بروس و همکاران* (Bruce *et al*. 1995) در خصوص فعالیت کلی کیتیناز نیز نشان می‌دهد که تولید آنزیم به طور ویژه‌ای با نوع محیط و گونه تریکودرما تحت تأثیر قرار می‌گیرد و در میان چندین گونه از تریکودرما، فعالیت کل و ویژه کیتیناز *T. harzianum* بیشتر بود. هم‌چنین ریزمغذی حاوی منگنز فعالیت آنزیم کیتیناز را افزایش داد در حالی‌که ریزمغذی‌های حاوی آهن و مس در تمام گونه‌های مورد بررسی تأثیر منفی روی میزان فعالیت این آنزیم نشان دادند. لذا انتظار می‌رود بتوان جدایه مربوط به این گونه‌ها را همراه با ریزمغذی حاوی منگنز جهت کنترل بهتر برخی پاتوژن‌ها استفاده نمود و در مصرف این ریزمغذی‌ها دقت بیشتری صورت گیرد.

سپاسگزاری

نگارندگان لازم می‌دانند از جناب آقای دکتر پویا زمانی عضو هیئت علمی دانشگاه بوعلی سینا همدان به خاطر کمک‌های بی‌دریغ در تجزیه و تحلیل‌های آماری صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

منابع

جهت ملاحظه به صفحات (107-105) متن انگلیسی مراجعه شود.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com