پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره هجدهم شماره ۶۸ بهمن و اسفند سال ۱۳۸۷ (۲۶-۱۹)

جداسازی باکتریهای دارای آنزیم ارگانوفسفوروس اسید انهیدراز و شناسایی سویه دارای بیشترین فعالیت هیدرولازی

رحیم سروری زنجانی[۱] سید محسن میر اسماعیلی[۲] علی محمد لطیفی[۳] ابراهیم ولی پور[۴]

چکیده

سابقه و هدف : در ایران آفت‌کش‌هایی از نوع ارگانوفسفوره از قبیل کلروپیریفوز و دیازینون در کشاورزی استفاده وسیعی دارد. این ترکیبات موجب غیر فعال شدن آنزیم کولین استراز شده و مانع انتقال پیام عصبی می‌شود. این مسمومیت در انسان موجب بیماری و حتی مرگ می‌شود. بنابراین در این مطالعه از مناطق مختلف آلوده به ارگانوفسفره سویه‌های مختلف باکتریایی جداسازی شد و سویه‌ای با بیشترین توانایی در هیدرولیز این ترکیبات انتخاب گردید تا با هدف رفع آلودگی‌های محیط ازاین ترکیبات مضر، مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش ها: در این مطالعه از پساب کارخانجات شیمیایی و خاک‌های کشاورزی آلوده نمونه‌برداری شد و نمونه‌ها به وسیله محیط کشت نمکی معدنی غنی شده با کلروپیریفوز و دیازینون، چندین سویه باکتریایی جداسازی شدند. این سویه‌ها دارای آنزیم ارگانوفسفره انهیدراز بوده و می‌توانستند از دیازینون و کلروپیریفوز به عنوان منبع کربن و فسفر استفاده نمایند. یکی از این سویه‌ها انتخاب شد و قدرت تجزیه‌کنندگی آن از طریق کروماتوگرافی مایع با کارای بالا (HPLC) مورد بررسی قرار گرفت. سپس این سویه به روش برگی مورد شناسایی بیشتر قرار گرفت.

یافته ها: ازپساب و خاک کشاورزی، ده سویه باکتریایی جداسازی شدند که این سویه‌ها از دیازینون و کلروپیریفوز به عنوان منبع کربن و فسفر استفاده می‌نمودند. یکی از این سویه‌ها که سریعتر و بهتر از بقیه می‌توانست رشد کند و توانایی تجزیه بالایی داشت IHU_4 (Imam Hossein University 4)نامگذاری گردید و براساس ویژگی‌های بیوشیمیایی و میکروسکوپی این سویه به عنوان سویه‌ای از پسودوموناس‌ها معرفی شد.

استنتاج: با توجه به این یافته‌ها سویه باکتریایی جداسازی شده آفت کش‌های ارگانوفسفوره را به عنوان منبع کربن و فسفر مصرف می‌کند. مصرف این ترکیبات از طریق میکروارگانیسم‌ها پدیده مهمی است زیرا از این طریق، ترکیبات سمی حذف شده وآلودگی محیط برطرف می‌شود. نتیجه این مطالعه نشان می‌دهدکه این سویه می‌تواند جهت رفع آلودگی ناشی از آفت‌کش‌های ارگانوفسفوره مورد استفاده قرار بگیرد.

واژهای کلیدی: دیازینون، کلروپیریفوس، آنزیم ارگانوفسفوروس اسید انهیدراز، رفع آلودگی

مقدمه

ترکیبات ارگانوفسفوره از مواد شیمیایی بسیار سمی است و به عنوان آفت کش‌ها، حشره‌کش‌ها و عوامل شیمیایی جنگی مورد استفاده قرارمی‌گیرند این ترکیبات سبب غیر فعال شدن آنزیم استیل کولین استراز شده و

مولف مسئول: دکتر رحیم سروری زنجانی- زنجان، بلوار آزادی، ستاد مرکزی دانشگاه علوم پزشکی زنجان E-mail : r_sorouri@yahoo.com
۱. دکترای میکروبیولوژی پزشکی استادیار دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...(عج) و دانشگاه علوم پزشکی زنجان ۳. مربی و دانشجو دکتری بیوتکنولوژی دانشگاه امام حسین(ع)
۲. کارشناس ارشد بیوتکنولوژی- مرکز ناباروری شهید صدوقی یزد ۴. کارشناس ارشد بیوتکنولوژی مربی دانشگاه علوم پزشکی زنجان
تاریخ دریافت : ۸۷/۱/۲۵ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۸۷/۲/۹ تاریخ تصویب: ۸۷/۱۱/۹

انتقال پیام عصبی را مختل می‌کنند. ترکیبات ارگانوفسفره (Organophosphorous Pestieides) برای انسان هم‌سمی بوده و موجب ایجادمسمومیت‌های‌عصبی و فلج شدن و یا حتی سبب مرگ می‌شود(۱).

این نوع ترکیبات به‌ویژه‌کلروپیریفوز و دیازینون در ایران بخصوص دراستان‌های شمالی وشمال غرب کشور نیز مانند سایر کشورهای آسیایی به عنوان آفت‌کش کاربرد وسیعی دارد. بیشتر ابزارهای شیمیایی و فیزیکی از قبیل حرارت، سوپراکسیداز، دی‌اکسیدکربن و غیره که برای رفع آلودگی ناشی از ترکیبات ارگانوفسفوره به کار می‌روند، نقایص و مشکلات زیادی دارند، زیرا این روش‌ها اغلب سمی، حساسیت‌زا، خورنده و غیراختصاصی بوده و به محیط اطراف آسیب می‌رساند. بنابراین برای هیدرولیز و شکستن این ترکیبات سمی به یک تکنولوژی سالم و بی خطر نیاز است. یکی از تکنولوژی‌های مفید و بی‌خطر استفاده از روش‌های بیولوژیکی و آنزیم، جهت رفع آلودگی است. آنزیم ارگانوفسفره انهیدراز (OPAA)[1] موجود در باکتری پسودوموناس دیمینوتا یا فلاوباکتریوم یکی ازمهمترین آنزیم‌هایی است که جهت مطالعه فعالیت آنها علیه عوامل عصبی وآفت‌کش‌ها موردتوجه محققین قرار گرفته است(۲تا۶). آنزیم OPAA قابلیت تحمل PH بالا را دارد و نیز توانایی تجزیه طیف وسیعی از آفت‌کش‌های ارگانوفسفاتی را دارد. بر اساس مطالعات تحقیقاتی مختلف، تجزیه و خنثی‌کردن آلودگی‌های مربوط به ترکیبات ارگانو فسفوره توسط باکتری‌ها بسیار مطلوب است(۷،۵). پس از شکست کلروپیریفوزودیازینون، این ترکیبات به دو جزء تبدیل می‌شود که یکی از اجزاء آن بنام ۳ و ۵ و ۶- تری کلروپیریدینول (TCP)، به عنوان بیومارکر استفاده می‌شود زیرا فقط چند مورد از میکروارگانیسم‌های مصرف کننده این ترکیبات گزارش شده است(۸).

علاوه بر پتانسیل بسیار موثر این آنزیم‌ها در رفع آلودگی عوامل عصبی و آفت‌کش‌ها در سطوح خارجی یا مسیرهای آبی، کاربرد این آنزیم‌ها در پزشکی نیز مورد توجه قرار گرفته است. یک گروه اسرائیلی نشان دادند که آنزیم OPAA به دست آمده از سودوموناس توانایی حفاظت از موش در برابر۶ تا ۷ میکروگرم تزریق وریدی پاراکسون و دی‌ایزوپروپیل فروئورفسفات(DFP) (که از ترکیبات بسیار سمی ارگانوفسفوره هستند) را دارد. لازم به ذکر است که این مقدار تزریق چندین برابر مقدار کشنده (به ترتیب ۳/۸ تا ۷/۳ و ۲/۹) این مواد است(۹،۸).

دراین پژوهش با نمونه‌برداری ازمناطق مختلف‌کشور که به این نوع ترکیبات ازجمله کلروپیریفوزودیازینون آلوده بودند، چند سویه از باکتری‌های بومی حاوی آنزیم OPAA جداسازی و هویت یک سویه برتر آن مشخص شد.

هدف از این تحقیق جداسازی و معرفی یک سویه بومی برتر با توانایی تولید آنزیم ارگانوفسفوروس اسید انهیدراز جهت حذف بیولوژیکی[2] ارگانوفسفات‌ها است. به عبارت دیگر این تحقیق در پی یافتن آنزیمی است که بتواند ساختار فعال عوامل ارگانوفسفات‌ها را خنثی نماید و بدین وسیله از تاثیرات مخرب زیست محیطی و مخاطرات مرگبار عوامل شیمیایی مذکور ممانعت کند. کاربرد فرآورده ناشی از این تحقیق می‌تواند بسیار وسیع باشد؛ مثلا در زدودن آلایش ناشی از حشره‌کش‌ها، آفت‌کش‌ها، بقایای عوامل شیمیایی بجا مانده از حمله دشمن و مصارف دیگر. امروزه با استفاده از روش‌های پیشرفته بیوتکنولوژی، نانو بیو و مهندسی آنزیم گام‌هایی در راستای تولید واکسن و آنتی سرم‌های اختصاصی علیه این‌عوامل بسیارخطرناک برداشته شده است. تحقیق حاضر می‌تواند به عنوان یک اقدام پایه‌ای در حصول نتایج مطلوب اشاره شده در کشورمان مفید باشد.

1. Organophosphorous acid anhydrase
2. Bioremedation

مواد و روش ها

ترکیبات ارگانوفسفوره استفاده شده :

آفتکش‌های کلروپیریفوزو دیازینون مورد نیاز با درجه خلوص (۹۵ درصد) بوسیله کارخانه تولید فرآورده‌های شیمیایی ایران، با شماره ثبت ۱۲۷ تهیه شد و مورد استفاده قرار گرفت.

تهیه محیط کشت :

محیط نمکی معدنی (MSM) [1] حاوی کلروپیریفوز و دیازینون برای جداسازی باکتری‌ها مورد استفاده قرار گرفت(۱۰،۱۱).

جداسازی سویه‌های باکتریایی حاوی آنزیم OPAA:

از مناطق مختلف کشور از قبیل مزارع کشاورزی استان آذربایجان شرقی و پساب کارخانجات سم‌سازی در جاده ساوه و شهرک صنعتی قزوین نمونه‌برداری شد و مقدار ۱۰ گرم از نمونه‌های خاکی و ۱۵ میلی‌لیتر از نمونه‌های آبی به ارلن‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی محیط کشت MSM اضافه شد و در شیکرانکوباتور به مدت ۷۲ ساعت در دور rpm ۲۶۰ و دمای ۲۷ درجه سانتی گراد اتووگذاری شد. سپس نمونه‌ها در محیط کشت MSM حاوی ۲۵۰mg کلروپیریفوز و دیازنیون تلقیح شدند و پس از آن هر دو هفته یکبار به ترتیب در غلظت‌های ۴۰، ۶۰، ۱۰۰، ۱۴۰، ۱۸۰و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر زیر کشت شدند که در نهایت چند سویه باکتریایی که می‌توانستند در محیط کشت حاوی این ترکیبات رشد کنند جداسازی شدند. این سویه‌ها در غلظت ۱۴۰ میلی‌گرم بر لیتر رشد بهتری داشتند. سپس سویه برتر از بین این سویه‌های مختلف انتخاب شده و به روش برگی [2] تعیین هویت شدند(۱۲،۱۳).

مطالعه میزان و قدرت تجزیه‌کنندگی سویه انتخاب شده:

ابتدا سویه مورد نظر در محیط MSM که در آن کلروپیریفوز و دیازینون تنها منبع کربن و فسفر بود کشت داده شد و میزان کاهش کلروپیریفوز در زمان‌های مختلف بوسیله کروماتوگرافی مایع با کارای بالا (HPLC) مورد بررسی قرار گرفت(۱۴،۱۵،۶).

مشخصات دستگاه (HPLC مدل Cecil 1100)، شرایط و میزان تزریق و همچنین طول موج مورد مطالعه برای هر یک از ترکیبات در جدول شماره ۱ آمده است.

جدول شماره ۱ : مشخصات دستگاه HPLC برای شناسایی و تعیین مقدار آفت کش ها

شرایط HPLC	دیازینون	کلروپیریفوس	۳و۵و۶-تری کلرو۲-پیریدینول(TCP)
ستون	C18 (۲۵cm × ۴/۶mm)	C18 (۲۵cm × ۴/۶mm)	C18 (۲۵cm × ۴/۶mm)
دمای ستون	۳۰°C	۳۰°C	۳۰°C
سرعت جریان ستون	۱/۵ ml/Min	۱/۵ ml/Min	۱/۵ ml/Min
طول موج	۲۴۶ nm	۲۸۰ nm	۳۲۰ nm
حساسیت دتکتور	۰/۰۵	۰/۰۲	۰/۰۲
حجم تزریق	۵µl	۵µl	۴µl
فاز متحرک	استونیتریل(۸۰٪) و آب(۱۹/۵٪) و استیک اسید(۰/۵٪)	استونیتریل(۸۰٪) و آب(۱۹/۵٪) و استیک اسید(۰/۵٪)	استونیتریل(۸۰٪) و آب(۱۹/۵٪) و استیک اسید(۰/۵٪)

1. Mineral Salts Medium
2. Bergey's manual

نتایج

جداسازی سویه های باکتریایی تجزیه کننده دیازینون و کلروپیریفوز:

۱۰ کلونی مختلف توانستند در محیط MSM حاوی کلروپیریفوز و دیازینون رشد کنند. این کلونی‌ها به صورت $IHU_{۴}$ ، $G19C$ ، $G_{۱۲}B$ ، $G_{۶}A$ ، $G_{۱۳}C$ ، $G_{۱۵}E$ ، $S_{۲}$ ، $S_{۸}D$ ، $Y_{۴}B$ ، $S_{۱۱}C$ نامگذاری شدند سپس رشد این سویه‌ها در محیط MSM با ترکیبات مختلف بررسی شد (جدول شماره ۲). سویه $IHU_{۴}$ که از پساب کارخانه تولید فرآورده‌های بیو شیمیایی در جاده ساوه جداسازی شده بود، بهتر از بقیه می‌توانست از این ترکیبات سمی به عنوان منبع کربن و فسفر استفاده کرده و رشد کند؛ بنابراین این سویه جهت بررسی بیشتر انتخاب شد.

شناسایی سویه جداسازی شده ($IHU_{۴}$):

ریختزایی و خصوصیات بیوشیمیایی ورشد این سویه بررسی شد. مشخص شد که این سویه بر اساس رده بندی به روش برگی مربوط به پسودوموناس‌ها می‌باشد (جدول شماره ۳).

جدول شماره ۳: ویژگی های سویه جداسازی شده

ردیف	تست مورد مطالعه	نتیجه
۱	شکل و رنگ گرم	باسیل گرم منفی
۲	رشد بر روی نوترینت آگار	کلونی کرم رنگ و دارای حاشیه صاف
۳	رشد بر روی مک کانکی	مثبت
۴	تست تحرک	مثبت
۵	تست OF	O+ و F-
۶	تست TSI	مثبت
۷	تست اکسیداز	مثبت
۸	تست کاتالاز	مثبت

بررسی رشد سویه $IHU_{۴}$ در محیط MSM که دارای ترکیبات مختلفی به عنوان منبع کربن و فسفر می باشد:

با مطالعه رشد سویه $IHU_{۴}$ در محیط MSM که در آن گلوکز به عنوان منبع کربن و دیازینون یا کلروپیریفوز به عنوان تنها منبع فسفربود، مشخص کرد که این سویه در محیط کشت حاوی کلروپیریفوز و دیازینون می‌تواند به رشد خود ادامه دهد در حالی که در محیط کشت فاقد کلروپیریفوز و دیازینون ادامه رشد و تکثیر در اوایل منحنی متوقف می‌شود (نمودار شماره۱).

جدول شماره ۲: سویه های جداسازی شده در محیط های MSM با ترکیبات مختلف

نام سویه / نوع منبع*	$IHU_{۴}$	$G19C$	$G_{۱۲}B$	$G_{۶}A$	$G_{۱۳}C$	$G_{۱۵}E$	$S_{۲}$	$S_{۸}D$	$Y_{۴}B$	$S_{۱۱}C$
۱	عدم رشد	عدم رشد	عدم رشد	عدم رشد	عدم رشد	عدم رشد	عدم رشد	عدم رشد	عدم رشد	عدم رشد
۲	رشد بسیار خوب	رشد خوب	رشد خوب	رشد خوب	رشد نسبتا خوب	رشد خوب	رشد نسبتا خوب	رشد نسبتا خوب	رشد خوب	رشد خوب
۳	رشد بسیار خوب	رشد خوب	رشد خوب	رشد خوب	رشد نسبتا خوب	رشد خوب	رشد نسبتا خوب	رشد نسبتا خوب	رشد خوب	رشد خوب
۴	رشد بسیار خوب	رشد ضعیف	رشد ضعیف	رشد ضعیف	رشد نسبتا ضعیف	رشد ضعیف	رشد نسبتا ضعیف	رشد نسبتا ضعیف	رشد ضعیف	رشد ضعیف
۵	رشد بسیار خوب	رشد ضعیف	رشد ضعیف	رشد ضعیف	رشد نسبتا ضعیف	رشد ضعیف	رشد نسبتا ضعیف	رشد نسبتا ضعیف	رشد ضعیف	رشد ضعیف
۶	عدم رشد	عدم رشد	عدم رشد	عدم رشد	عدم رشد	عدم رشد	عدم رشد	عدم رشد	عدم رشد	عدم رشد

*ردیف۱: رشد سویه ها در محیط کشت MSM که در آن گلوکز کربن مورد نیاز را تامین می کند ولی هیچ فسفری در محیط وجود نداشت .

ردیف۲: رشد سویه ها در محیط کشت MSM که در آن گلوکز کربن مورد نیاز و کلروپیریفوز فسفر مورد نیاز برای رشد را تامین می کرد.

ردیف۳: رشد سویه ها در محیط کشت MSM که در ان گلوکز کربن مورد نیاز و دیازینون فسفر مورد نیاز برای رشد را تامین می کرد.

ردیف۴: رشد سویه ها در محیط کشت MSM که در آن کلروپیریفوز به عنوان تنها منبع کربن و فسفربود.

ردیف۵: رشد سویه ها در محیط کشت MSM که در آن دیازینون به عنوان تنها منبع کربن و فسفربود.

ردیف۶: رشد سویه ها در محیط کشت MSM که هیچ کربن و فسفری درآن وجود نداشت .

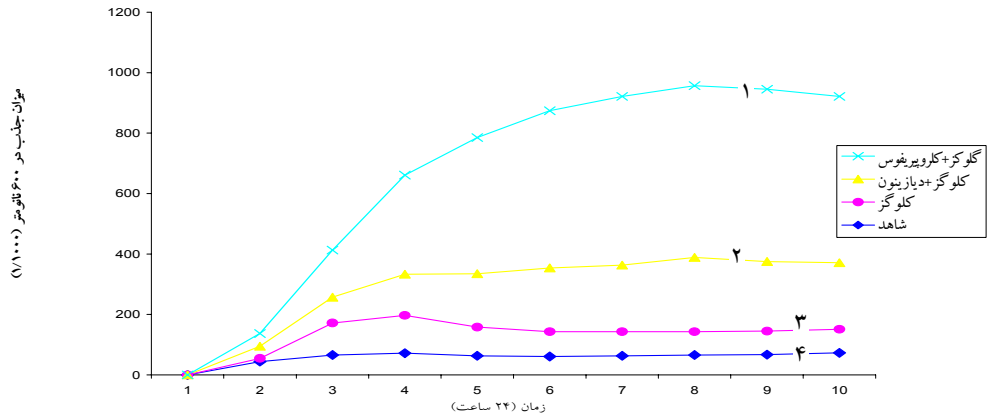
سپس رشد این سویه درمحیط کشت MSM که درآن کلروپیریفوز و دیازینون به‌عنوان تنها منبع کربن و فسفر بود به‌صورت جداگانه مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که باکتری در محیط کشت حاوی کلروپیریفوز و دیازینون می‌تواند رشدکند ولی درمحیط فاقد این ترکیبات بعد ازمدت خیلی کمی رشد متوقف می‌شود(نمودار۲و۳).

بررسی میزان مصرف و کاهش کلروپیریفوز و دیازینون توسط سویه IHU_4:

میزان کلروپیریفوز و دیازینون باقی مانده در محیط کشتی که سویه به مدت ۱۵ روز در آن رشدکرده بود بوسیله کلرفرم استخراج شده و با استفاده از HPLC اندازه‌گیری شد.

همانطوری که در نمودارهای شماره ۴ و ۵ مشخص شده است، میزان کلروپیریفوز و دیازینون در محیط کشتی که در آن باکتری رشد کرده است، نسبت به محیط کشت شاهد که هیچگونه باکتری در این مدت به آن اضافه نشده بود کاهش قابل توجهی دارد.

همزمان باکاهش میزان کلروپیریفوز درطول این ۱۵ روز درمحیط‌های کشت فوق میزان متابولیت TCP حاصل ازتجزیه کلروپیریفوز نیز افزایش می‌یابد(نمودارشماره ۶).



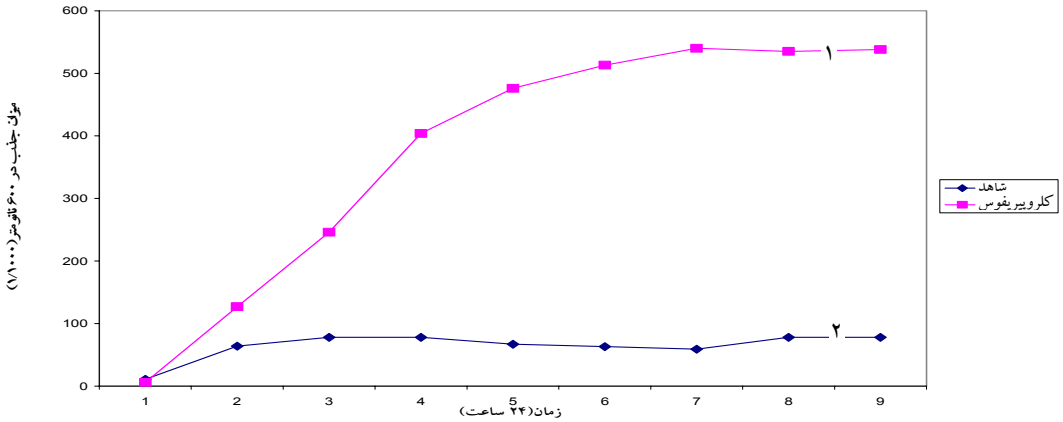
نمودار شماره ۱ : رشد باکتری IHU_4 در محیط MSM که در آن دیازینون یا کلروپیریفوز به عنوان تنها منبع فسفربود.

منحنی شماره ۱ : رشد سویه IHU_4 در محیط کشت MSM که در آن گلوکز کربن مورد نیاز و کلروپیریفوز فسفر مورد نیاز برای رشد را تامین می کرد.

منحنی شماره ۲: رشد سویه IHU_4 در محیط کشت MSM که در آن گلوکز کربن مورد نیاز و دیازینون فسفر مورد نیاز برای رشد را تامین می کرد.

منحنی شماره ۳: رشد سویه IHU_4 در محیط کشت MSM که در آن گلوکز کربن مورد نیاز را تامین می کند ولی در محیط هیچ فسفری وجود نداشت.

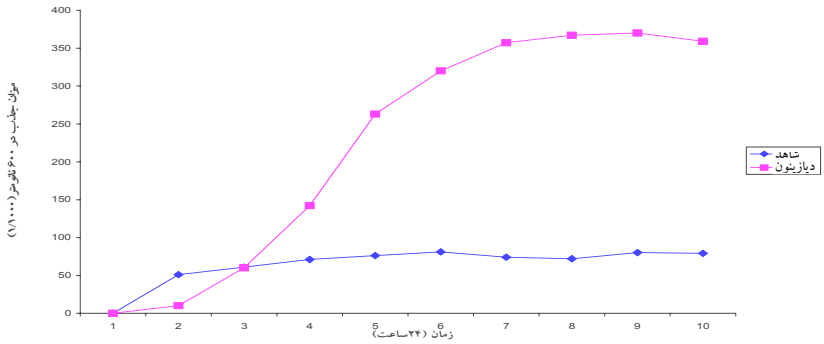
منحنی شماره ۴: رشد سویه IHU_4 در محیط کشت MSM که درآن هیچ کربن و فسفری وجود نداشت.



نمودار شماره ۲ : رشد باکتری IHU_4 در محیط MSM که در آن کلروپیریفوز به عنوان تنها منبع کربن و فسفربود.

منحنی شماره ۱ : رشد سویه IHU_4 در محیط کشت MSM که در آن کلروپیریفوز به عنوان تنها منبع کربن وفسفربود.

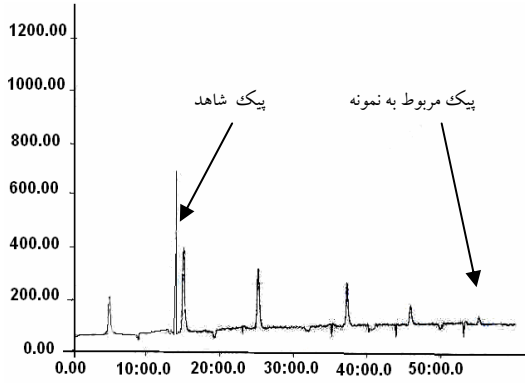
منحنی شماره ۲: رشد سویه IHU_4 در محیط کشت MSM که در آن هیچ کربن و فسفری وجود نداشت.



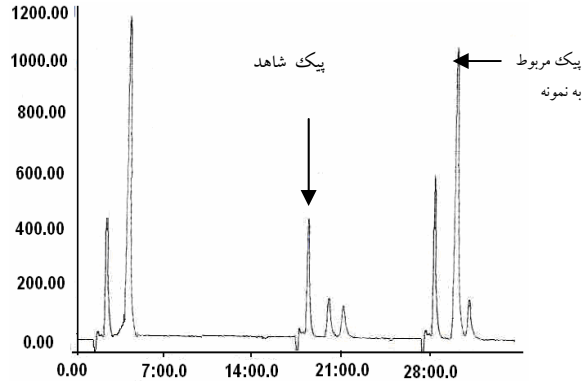
نمودار شماره ۳: رشد باکتری IHU4 در محیط MSM که در آن دیازینون به عنوان تنها منبع کربن و فسفربود.

منحنی شماره ۱ : رشد سویه IHU4 در محیط کشتMSM در که در آن دیازینون به عنوان تنها منبع کربن و فسفربود.

منحنی شماره ۲: رشد سویه IHU4 در محیط کشتMSM که در آن هیچ کربن و فسفری وجود نداشت.



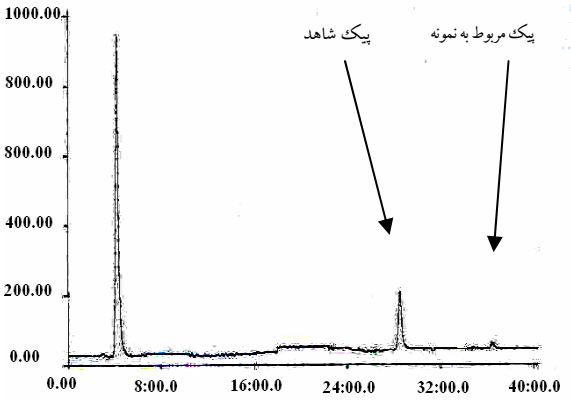
نمودار شماره ۴: انـدازه گـیری میـزان کلروپیریفـوز بـاقی مانـده در محیط هـای کـشت MSM کـه بـه ترتیـب ۵،۲، ۱۰ و ۱۵روز در آن رشد کرده بود.



نمودار شماره ۶: میزان افزایش TCP در محیط کشت MSM حـاوی کلروپیریفوز

بحث

مطالعه سینتیک رشد باکتری خود شـاهدی توانـایی بـاکتری در رفـع آلـودگی اسـت. ایـن مطالعـات توسـط سایرین محققین که موفق به جداسازی میکروارگانیسم‌های دیگر شده‌اند، بـه انجـام رسـیده اسـت(۱۵،۱۳،۸). بنـابراین جهـت مطالعـه رشـد بـاکتری در محـیط دارای ترکیـب ارگانوفـسفوره و مـصرف دیـازینون و کلروپیریفـوز بـه عنوان منبع کربن یا فسفر و یا هردو، نمودار رشد باکتری در هریک از محیط‌هایی طراحی شده قبلی، تهیه شـد. از آنجایی که باکتری در صورتی مـی‌توانـد دیـازینون و یـا کلروپیریفوز را بـه عنـوان منبـع فـسفر اسـتفاده کنـد کـه



نمودار شماره ۵: اندازه گیری میزان دیازینون باقی مانده در محیط کشتMSM که سویه IHU_4 به مدت ۱۵ روز درآن رشدکرده بود.

دارای آنزیم ارگانوفسفوروس اسید انهیدراز باشد تا بتواند پیوندP-O را شکسته و فسفر را آزاد کند و از آن به عنوان منبع انرژی، جهت تکثیر و ادامه فعالیت‌های فیزیولوژیک و کاربردهای دیگر استفاده کند، پس سویه های جداسازی شده دارای آنزیم ارگانوفسفوروس اسید انهیدرازبودند(۵،۱۱،۱۳،۱۶).

بر اثر شکست پیوند P-O در کلروپیرفوز ماده‌ای تولید می‌شود که به جز دو تا سه سویه باکتریایی بقیه توانایی مصرف آن را ندارند.این ماده ۳و۵و۶-تری کلرو۲- پیریدینول(TCP) نام دارد که خاصیت سمی برای انسان ندارد. بنابراین میزان افزایش و تولید این متابولیت وهمچنین کاهش میزان دیازینون و کلروپیریفوز توسط سویه جداسازی شده نشان دهنده وجود آنزیم ارگانوفسفوروس اسید انهیدراز می‌باشد، که سنجش از طریق HPLC این مسئله را ثابت می کند(۶،۸،۱۴،۱۵) .

گزارشات اندکی مبنی بر استفاده قوام باکتری از ترکیبات ارگانوفسفره هم به عنوان منبع کربن و هم به عنوان منبع فسفر منتشر شده است. ولی سویه جداسازی شده دراین تحقیق می‌توانست دیازینون و یا کلروپیریفوس را هم به عنوان منبع کربن و هم به عنوان منبع فسفر استفاده کند. در ایران نیز تا کنون در خصوص سویه‌ای که بتواند آفت‌کش را هم به عنوان منبع کربن و هم منبع فسفر تواما و یا مجزا استفاده کند، گزارشی منتشر نشده است. پسودوموناس‌هاگروه وسیع و هتروژنی ازباکتری‌ها می‌باشند که تعدادی از آنها در خاک زندگی می کنند. این جنس از باکتری‌ها دارای مسیرهای کاتابولیتی فوق‌العاده گسترده هستند؛ مثلا سویه‌ای از این جنس بنام P.cepacia توانایی مصرف بیش از ۱۰۰ سوبسترای مختلف را به عنوان منبع کربن، نیتروژن یا گوگرد دارد (۱۰،۱۵،۱۶). سویه برتر جداسازی شده در این تحقیق نیز از جنس پسودوموناس‌ها می‌باشد.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که باکتری مورد نظر دارای آنزیم ارگانوفسفوروس اسید انهیدراز است که آن را قادر میسازد تا با شکست ترکیبات خطرناکی چون ارگانوفسفوره‌ها (نظیر دیازینون و کلروپیریفوس) از آنها به عنوان منابع کربن و فسفر استفاده نماید. پس از این سویه می‌توان برای رفع آلودگی ناشی از سموم ارگانوفسفات‌ها در محیط استفاده نمود.

References

1. John E, Casida and Gary B, Organophosphate Toxicology:Safety Aspects of Nonacetylcholinesterase Secondary Targets Chem. Res Toxicol 2004; 17: 983-992.
2. Bhadhade B.J, Sarnaik S.S, and Kanekar P.P, Bioremediation of an industrial effluent containing monocrotophos. Curr Microbiol 2002; 45: 346-349.
3. El-Deeb B.A, Soltan S.M, Ali A.M, Ali K.A. Detoxication of herbicide diuron by Pseudomonas sp. Folia Microbiol (Praha) 2000; 45: 211-216.
4. Donarski WJ, Dumas DP, Heitmeyer DP, Lewis VE, Raushe FM. Structure-activity relationships in the hydrolysis of substrates by the phosphotriesterase from Pseudomonas diminuta. Biochemistry 1986; 28:4650-4655.
5. Maria K,Graciela C,Zauscher F.Biodegradation of two commercial herbicides (Gramoxone and Matancha) by the bacteri Pseudomonas putida. J Env Biotech 2002; 5: 0717-3458.
6. Cheng T.C, DeFrank J.J. Enzymatic Detoxification of Organophosphorus Compounds. U.S. Patent 2000; 6: 080-566.
7. Chiang T, Dean MC, McDaniel CS. A fruit fly bioassay with phosphotriesterase for detection of certain organophosphorus insecticide

residues. Bull Environ Contam Toxicol 1985; 34: 809-814.

8. Brajesh K, Singh Allan, Walker J, Alun W, Morgan, Denis J, Biodegradation of Chlorpyrifos by Enterobacter Strain B-14 and Its Use in Bioremediation of Contaminated Soils. APPLIED AND Appl Environ Microbiol 2004; 70: 4855-4863.
9. Raveh L, Segall Y, Leader H, Rothschild N, Levanon D, Henis Y, Ashani Y. Protection against tabun toxicity in mice by prophylaxis with an enzyme hydrolyzing organophosphate esters. Biochem Pharm 1992; 44: 397-400.
10. Dagley S.Biochemistry of aromatic hydrocarbons degradation in Pseudomonads.Bacteria 1986; 10: 527-534.
11. Lee S.G, Yoon B.D, Park Y.H, Oh H.M, Isolation of a novel pentacholorophenol-degrading bacterium, Pseudomonas sp. Bu 34. Applied Microbiol 1998; 85: 1-8.
12. Singh B.K, Walker A, Morgan J.A.W, Wright D.J. Effects of soil pH on the biodegradation of chlorpyrifos and isolation of a chlorpyrifos-degrading bacterium. Appl Environ Microbiol 2003; 69: 5198-5206.
13. Karpouzas D.G, Morgan J.A, Walker A. Isolation and characterization of 23 carbofuran-degrading bactertia from soils from distant geographical areas. Lett Appl Microbiol 2000; 31: 353-358.
14. Douglas M. Munnecke, Enzymatic Hydrolysis of Organophosphate Insecticides, a Possible Pesticide Disposal Method. App Environ Microbiol 1976; 32: 7-13.
15. Liu B, McConnell LL, Torrents A. Hydrolysis of chlorpyrifos in natural waters of the Chesapeake Bay. Chemosphere 2001; 44: 1315-1323.
16. Smith-Greeier L.L, Adkins A, Isolation and Characterization of soil microorganisms capable of utilizing the herbicide dichloro-p-methyl as a sole source of carbon and energy. Can J Microbiol 1996; 42: 221-226.