



Ecological stresses and changes in natural microflora of soil samples around Lake Urmia

Fatemeh Ghafarnejad Mogadam^{ID} PhD student, Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran. fatemehghafarneghad@iau.ir
Mahmoud Shavandi^{ID} Ph.D., Ecological and environmental pollution control studies, National Oil Industry Research Institute, Tehran, Iran (**Corresponding author**). shavandim@ripi.ir
Azam Haddadi^{ID} Ph.D., Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran. haddadi.azam@gmail.com
Mohammad Ali Amoozegar^{ID} Ph.D., Faculty of Microbiology, University of Tehran, Tehran, Iran. amoozegar@ut.ac.ir

Abstract

Objective: Lake Urmia, after experiencing rapid volume growth over the past few years, almost dried up in the fall of 2023. Consecutive droughts, agricultural water consumption and dam construction on the rivers feeding Lake Urmia play a significant role in reducing its water volume. In this regard, the aim of the present study is to investigate the microbiological changes created as a result of ecological changes in the highly saline lake of Urmia, which is one of the extreme regions inside Iran.

Materials and methods: The required samples were obtained from Qalgachi area, which is located near Lake Urmia. In this research, by using the usual methods of culture, purification, biochemical and microbiological tests, four microbial species were identified and classified by PCR.

Findings: Among the four microbial species selected in this research, two species (KULC3, KULC4) were salt-loving and the other two (KULC1, KULC5) belonged to different non-salt-loving species, which probably represent changes in the salt-loving microflora of Lake Urmia.

Conclusion: The occurrence of ecological changes in extreme and closed environments such as Lake Urmia, causes the possibility of microbiological changes in line with environmental changes. The results of this research showed that the microorganisms that live as natural flora in a certain area are able to adapt to the new ecological conditions and harmonize with the new environmental conditions.

Keywords: Climate changes, Ecological stresses, Lake Urmia, Natural microflora, Soil.

Received: 2023/08/12 ; Revised: 2023/10/04 ; Accepted: 2023/11/21 ; Published online: 2023/12/26

Cite: Ghafarnejad Mogadam, F., Shavandi, M., Haddadi, A. & Amoozegar, M.A. (2023). Ecological stresses and changes in natural microflora of soil samples around Lake Urmia. *Applied Biology*, 13(4), p. 81-95.

Article type: Research Article

© the authors

Publisher: Qom Islamic Azad University





تنش‌های اکولوژیکی و تغییر در میکروفلور طبیعی نمونه‌های خاک اطراف دریاچه ارومیه

فاطمه غفار نژاد مقدم ^{ID} دانشجوی دکتری، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران. fatemehghafarneghad@iau.ir

محمود شوندی ^{ID} دکتری، مطالعات کنترل آلودگی‌های اکولوژیکی و محیطی، پژوهشگاه ملی صنعت نفت، تهران، ایران (نویسنده مسئول). shavandim@ripi.ir

اعظم حدادی ^{ID} دکتری، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران. haddadi.azam@gmail.com

محمدعلی آموزگار ^{ID} دکتری، دانشکده میکروبیولوژی، دانشگاه تهران، تهران، ایران. amoozegar@ut.ac.ir

چکیده

هدف: دریاچه ارومیه پس از تجربه رشد سریع حجم در طی چند سال اخیر، تقریباً در پاییز ۲۰۲۳ خشک شد. خشکسالی‌های پی‌درپی، مصرف آب کشاورزی و سدسازی بر روی رودخانه‌های تغذیه‌کننده دریاچه ارومیه در کاهش حجم آب آن نقش به‌سزایی دارند. در این راستا، هدف پژوهش حاضر بررسی تغییرات میکروبیولوژیکی ایجاد شده در نتیجه تغییرات اکولوژیکی در دریاچه بسیار شور ارومیه به‌عنوان یکی از مناطق افراطی داخل ایران است. **مواد و روش‌ها:** نمونه‌های مورد نیاز از منطقه قالقاچی که در نزدیکی دریاچه ارومیه قرار دارد، به دست آمدند. در این پژوهش با استفاده از روش‌های معمول کشت، تخلیص، انجام آزمون‌های بیوشیمیایی و میکروبیولوژیکی انجام شده و در نهایت با استفاده از روش‌های شناسایی میکروارگانیسم‌ها به وسیله PCR، شناسایی و طبقه‌بندی چهار گونه میکروبی انجام شد.

یافته‌ها: از میان چهار گونه میکروبی انتخاب شده در این تحقیق، دو مورد از گونه‌ها (KULC3, KULC4) نمک‌دوست و دو مورد دیگر (KULC1, KULC5) به گونه‌های متفاوت غیرنمک دوست تعلق داشتند که احتمالاً نماینده بروز تغییراتی در میکروفلور نمک‌دوست دریاچه ارومیه می‌باشند.

نتیجه‌گیری: بروز تغییرات اکولوژیکی در محیط‌های افراطی و بسته‌ای همچون دریاچه ارومیه، امکان بروز تغییرات میکروبیولوژیکی را هم‌راستا با دگرگونی‌های محیطی باعث می‌شود. نتایج این تحقیق نشان داد که میکروارگانیسم‌هایی که به عنوان فلور طبیعی در منطقه‌ای خاص ساکن می‌شوند، قادر به سازگاری با شرایط جدید اکولوژیکی بوده و با شرایط جدید محیطی هماهنگ می‌گردند.

کلیدواژه‌ها: تغییرات آب و هوایی، تنش‌های اکولوژیکی، دریاچه ارومیه، میکروفلور طبیعی، خاک.

پژوهش حاضر برگرفته از: طرح پژوهشی مصوب فی‌مابین دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم و شرکت بوعلی دارو با عنوان «بررسی اثر کپسول

لیپکسان در کاهش تری‌گلیسرید، کلسترول، LDL و HDL در مدل حیوانی» می‌باشد.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۵/۲۱؛ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۷/۱۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۸/۳۰؛ تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۱۰/۰۵

استاد به این مقاله: غفارنژاد مقدم، فاطمه؛ شوندی، محمود؛ حدادی، اعظم؛ آموزگار، محمدعلی (۱۴۰۲). تنش‌های اکولوژیکی و تغییر در میکروفلور طبیعی نمونه‌های خاک اطراف دریاچه ارومیه. *بیولوژی کاربردی*، ۱۳(۴)، ص ۸۱-۹۵.

نوع مقاله: پژوهشی

© نویسندگان

ناشر: دانشگاه قم



۱. مقدمه

امروزه اکوسیستم‌های جهان بیش از هر زمان دیگری با مشکلات ناشی از دستکاری‌های انسانی و تغییرات محیطی ناشی از آن مواجه هستند (۱). افزایش فعالیت‌های انسانی منجر به افزایش قابل توجه تغییرات محیطی شده و اختلالات قابل توجهی را در اکوسیستم، آن هم در مقیاس‌های مختلف ایجاد کرده است. از سوی دیگر، بزرگی و سرعت تغییرات آب و هوایی، احتمال مشاهده دگرگونی‌های ناگهانی در اکوسیستم‌های زمینی، آبی و دریایی را در سرتاسر جهان افزایش می‌دهد. در عصر تغییرات زیست محیطی بی‌سابقه، توسعه مجموعه‌ای از ابزارها برای پایش اکوسیستم، حیاتی به نظر می‌رسد. این نیاز، به‌ویژه در اکوسیستم‌های دریایی و با توجه به دگرگونی‌های سریع آب و هوا و تاثیر آن در تنوع جمعیت میکروبی اهمیت بیشتری می‌یابد (۲)؛ زیرا این محرک‌های در حال تغییر، ممکن است اکوسیستم‌ها را شکننده‌تر کرده و با روش‌های جدید با تغییرات اقلیمی در تعامل باشند (۳). تغییرات اقلیمی یکی از تهدیدهای فراگیر و رو به رشد جهانی برای تنوع زیستی و اکوسیستم‌ها است، که بر گونه‌های منحصربه‌فرد و نحوه تعامل آنها با سایر موجودات و زیستگاه آنها تأثیر می‌گذارد. درک جهت و بزرگی واکنش‌های اکولوژیکی، به جوامع انسانی اجازه می‌دهد تا بهتر این دگرگونی‌ها را پیش‌بینی کرده و در صورت لزوم سازگار شوند. ارزیابی‌های دوره‌ای از تأثیرات تغییر اقلیم فعلی و آتی بر اکوسیستم‌ها برای توسعه و به‌روزرسانی برنامه‌های مدیریت منابع طبیعی و ارزیابی اقدامات سازگاری، مهم هستند (۴، ۵).

آشفته‌گی‌های اقلیمی منجر به ایجاد تغییرات وسیعی در مقیاس بزرگ در توزیع گونه‌ها، فراوانی و سازمان‌دهی مجدد اکوسیستم‌های خشکی و آبی می‌شود. اگرچه تأثیر تغییرات آب و هوایی گسترده است، ولی پاسخ همه موجودات به آن یکسان نبوده و نتایج مطالعات مختلف نشان می‌دهد که این واکنش‌ها به دلیل تفاوت در مواجهه، حساسیت و ظرفیت سازگاری میکروارگانیسم‌های مختلف، متفاوت است. یکی از روش‌های سازگاری در موجودات زنده در مواجهه با تغییرات محیطی، تغییر در رفتار یا مورفولوژی آنها است. پاسخ‌های مورفولوژیکی می‌توانند بسیار پیچیده و متغیر باشند؛ برای مثال، اگر تغییرات ژنتیکی توسط اثرات محیطی خنثی شوند، ممکن است تغییرات در فوتوتپ میکروارگانیسم مشاهده نشود. علاوه بر این، مزایای مربوط به اینگونه تغییرات کوتاه‌مدت، ممکن است در بلندمدت تطبیق‌پذیر نباشند (۴، ۶).

تغییرات مشاهده شده در سطح اکوسیستم که در پاسخ به شرایط آب و هوایی است، به دلیل تأثیرات مستقیم ناشی از تغییر محرک‌های آب و هوایی و تأثیرات متقابل واکنش‌ها در سطح گونه‌ها و

جمعیت رخ می‌دهد (۴). قرار گرفتن گونه‌های میکروبی در معرض تغییرات اکولوژیکی و واکنش آنها به دگرگونی‌های آب و هوایی، محرک‌های اولیه برای ایجاد تعامل در گونه‌های تعدیل یافته می‌باشد (۷). مشاهده تغییرات ناگهانی در سیستم‌های بوم‌شناختی، از نظر تجربی دشوار است؛ زیرا تغییرات ایجاد شده در فلور طبیعی میکروبی منطقه، طبیعتاً تصادفی و به ندرت قابل پیش‌بینی هستند. با این وجود، نویسندگان از دانشمندان می‌خواهند که تشخیص، توضیح و پیش‌بینی چنین احتمالاتی را در پاسخ به تغییرات آب و هوایی در اولویت قرار دهند. برخی از سیستم‌های اکولوژیکی بیشتر از سایرین مستعد تغییرات ناگهانی هستند. مناطق افراطی ممکن است بیشتر از سایر مناطق تحت تاثیر چنین تغییرات ناگهانی باشند. محرک‌های متعدد اغلب با یکدیگر در تعامل هستند، به عنوان مثال، خشکسالی و کاهش ورود آب‌های سطحی به محیط‌های دریاچه‌ای محدود به خشکی، منجر به بروز تغییراتی در ترکیب املاح و مواد انحلال یافته در آب‌ها شده و مستقیماً بر ترکیب مواد آلی و معدنی موجود در خاک‌ها و مناطق اطراف تاثیر می‌گذارد. اغلب بازخوردهای مثبت قوی در یک اکوسیستم توانایی سازگاری میکروارگانیسم‌های حاضر در آن می‌تواند منجر به تغییرات مداوم در گذارهای بحرانی گردد. علاوه بر این، جوامع میکروبی خاک نقش مهمی در چرخه‌های بیوژئوشیمیایی دارند. ویژگی‌های ذاتی و کلیدی این جوامع عبارتند از: نرخ رشد بالا، توانایی استفاده از منابع مختلف و تنوع شبکه غذایی میکروبی (۸). میکروارگانیسم‌هایی که توانایی تعدیل سریع منابع انرژی را دارند، به سرعت مواد مغذی را بازیافت کرده و اختلالات بوجود آمده در محیط را به سرعت رفع می‌کنند و باعث ایجاد انعطاف‌پذیری در برابر تغییر می‌گردند. از سوی دیگر، میکروارگانیسم‌هایی که منابع انرژی را به کندی مصرف می‌نمایند (مانند قارچ‌ها)، چرخه مواد مغذی را به کندی انجام داده، آشفته‌گی‌های محیطی را کاهش می‌دهند و از این‌رو در برابر تغییرات مقاومت ایجاد می‌کنند (۸). عملکردهای مکمل گروه‌های مختلف تاثیرگذار بر روی منابع انرژی می‌تواند بازیابی سریع و در عین حال پایدار، آشفته‌گی‌ها را تسهیل کرده و برعکس، تغییر تاثیر نسبی این کانال‌ها می‌تواند اکوسیستم را بی‌ثبات کند (۸). از جمله میکروارگانیسم‌هایی که می‌تواند در چنین شرایط زیستی حضور پیدا کند، *Paenibacillus* می‌باشد. *Paenibacillus* باکتری‌های میله‌ای شکل، گرم مثبت، متحرک، بی‌هوازی اختیاری یا کاملاً هوازی هستند که عمدتاً در pH خنثی در محدوده دمایی ۲۸ تا ۴۰ درجه سانتیگراد رشد مطلوبی را نشان می‌دهند. اعضای این جنس باکتریایی قادر به تولید اسپور نیز هستند. *Paenibacillus* در ابتدا تحت عنوان *Bacillus* طبقه‌بندی شده بودند. با این حال، پیشرفت‌های اخیر فناوری و توالی‌یابی 16S rRNA، ابزاری برای قرار دادن موجودیت‌های

مورفولوژیکی مشابه در گروه‌های مختلف فراهم کرده است و بنابراین *Paenibacillus* به عنوان یک جنس جدید شناسایی شده و از جنس *Bacillus* جدا شد. چندین گونه از *Paenibacillus* بلافاصله پس از کشف جنس، به عنوان هم‌ارز طبقه‌بندی شده‌اند. در منطقه ریزوسفر، چندین گونه از *Paenibacillus* گزارش شده که در تثبیت نیتروژن اتمسفر، حل شدن فسفات و پتاسیم، تولید هورمون‌های گیاهی و متابولیت‌های ضد میکروبی و جذب ریزمغذی‌های گیاهی نقش دارند. علاوه بر این، چندین گونه از *Paenibacillus* جدا شده از محیط‌های مختلف نیز گزارش شده که دارای پتانسیل زیست‌پالایی زئوپیوتیک‌ها در شرایط نامطلوب محیطی هستند (۹). بسیاری از گونه‌های *Paenibacillus* ترکیبات ضد میکروبی تولید می‌کنند که به عنوان دارو یا آفت‌کش‌ها یا آنزیم‌هایی مفید هستند که در پاکسازی زیستی یا تولید شیمیایی مفید می‌باشند (۱۰). *Roseomonas* نیز باکتری‌های فوتوستتزی هوازی با کلروفیل a می‌باشند که توانایی بقاء در نمونه‌های محیطی مختلف، مانند هوا، خاک، آب آشامیدنی و سکه آلیاژ مس را دارند (۱۱). اعضای جنس *Roseomonas* به دلیل جداسازی بیشتر سویه‌ها از خون انسان، زخم‌ها، ترشحات و نمونه‌های ادراری تناسلی به عنوان پاتوژن‌های مرتبط با سلامتی شناخته می‌شوند؛ باکتری‌های جنس *Exiguobacterium* بی‌هوازی‌های اختیاری گرم مثبت بوده و اغلب از زیستگاه‌های مختلف از جمله آب دریا، رسوبات دریایی، جلبک‌های دریایی، خاک، آب شیرین، ریزوسفر گیاهی و حتی محیط‌های شدید، مانند دریاچه نمک، یخچال‌های طبیعی، و چشمه‌های آب گرم جدا شده‌اند (۱۲). Zhang و همکاران (۲۰۲۱) در پژوهشی موفق به جداسازی ۲۷ گونه مختلف از جنس *Exiguobacterium* شدند که نمونه‌ها از مناطق دریایی و ساحلی چین و ژاپن جمع‌آوری شده بودند (۱۲). جنس *Exiguobacterium* و گونه *himgiriensis* اولین بار توسط Singh و همکاران (۲۰۰۸) و از نمونه‌های خاک حاصل از بخش هندی کوه هیمالیا جداسازی و نامگذاری شده است (۱۳). این جنس باکتریایی نیز توانایی زیست در دماهای بالا را داشته و می‌تواند محیط‌هایی با شرایط افراطی را تحمل کرده و رشد نماید. در کل، پیش‌بینی‌های زیست محیطی نشان‌دهنده افزایش احتمال پیامدهای منفی تغییرات آب و هوایی بر روی اکوسیستم‌ها و زندگی انسان‌ها می‌باشد.

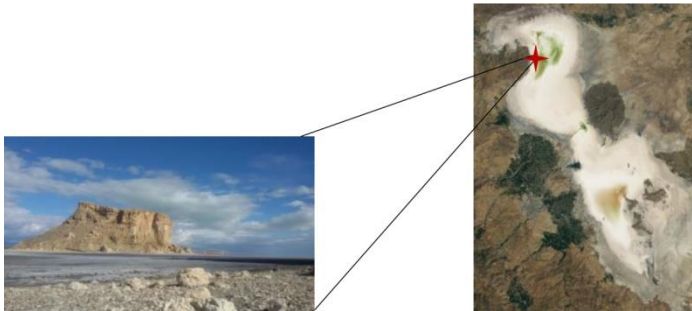
در این پژوهش به بررسی تغییرات احتمالی نرمال فلور میکروبی نمونه‌های خاک جمع‌آوری شده از یکی از مناطق نزدیک به دریاچه ارومیه پرداخته شده است. دریاچه ارومیه یکی از دریاچه‌های بسیار شور جهان بوده و دارای وسعت اولیه‌ای معادل ۵۱/۸۷۶ کیلومتر مربع می‌باشد؛ متأسفانه در سال‌های اخیر به علت خشکسالی، کاهش ورود آب‌های سطحی و بکارگیری غیرمجاز آب‌های

زیرزمینی توسط کشاورزان منطقه، حجم بالایی از آب دریاچه کاهش یافته و در سال ۱۴۰۲ حدود ۵٪ از وسعت آبی دریاچه باقی ماند. با این حال منطقه قالقچی که روستایی در نزدیکی دریاچه ارومیه - بخش شمال غربی دریاچه- در استان آذربایجان غربی قرار دارد، همچنان دارای بخش‌های کم آبی از دریاچه بوده و در بدترین شرایط نیز خشک نمی‌شود. در این پژوهش از خاک تپه کاظم خان که در ساحل دریاچه و در منطقه قالقچی قرار دارد، نمونه‌گیری شد.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. نمونه‌برداری

نمونه‌برداری از سه ارتفاع مختلف ۱۰، ۱۵۰ و ۲۵۰ متری که به صورت تصادفی انتخاب شده بودند، انجام گرفت. نمونه‌های مورد نظر از سطحی به وسعت ۱۰ سانتیمتر مربع و به صورت سطحی (به علت صخره‌ای بودن و نبود عمق خاک) جمع‌آوری شدند. نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سانتیگراد و در کوتاه‌ترین زمان به آزمایشگاه رفرنس ژنتیک دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه انتقال یافته و جهت انجام آزمایشات مختلف نگهداری شدند (تصویر ۱).



تصویر ۱- محل نمونه‌برداری

(تصویر فضایی دریاچه ارومیه از سایت مشاهدات زمینی ناسا برگرفته شده است.)

۲-۲. تهیه پورپلیت و آزمون‌های بیوشیمیایی

هر یک از نمونه‌های خاک پس از اندازه‌گیری pH، دما، درصد شوری و (Electrical Conductivity) EC، مقدار املاح هادی موجود در آب) جهت کشت پورپلیت آماده شدند. ابتدا مقدار ۵ گرم از هر یک از نمونه‌ها پس از الک شدن، در ۵۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی، به مدت ۲ ساعت شیک شدند؛ سپس مخلوط به دست آمده از صافی گذرانده شده و کشت داده شد. برای انجام کشت، ابتدا رقت‌های مورد نیاز با توجه به غنای میکروبی احتمالی موجود در نمونه، تا 10^{-4} تهیه شد، سپس مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر

از هر رقت مربوط به سه نمونه در پلیت شماره ۸ به همراه نوترینت آگار مذاب مخلوط شده و پس از آماده شدن محیط به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت در انکوباتور ۲۷ درجه گرمخانه‌گذاری شدند. از بین گونه‌های رشد کرده در محیط پلیت، ۴ کلنی براساس مورفولوژی باکتری‌ها (رنگ، جلا و اندازه) جداسازی شده و برای بدست آمدن کشت‌های خالص باکتریایی تا ۲۰ کشت در محیط کشت‌های نوترینت آگار و R2A پاساژ داده شدند (تصویر ۲). پس از اطمینان از خلوص کشت‌ها، آزمایشات بیوشیمیایی از جمله تست‌های گرم، کاتالاز، اکسیداز SIM, TSI انجام شد. همچنین میزان تحمل‌پذیری به نمک و دما نیز برای گونه‌های جداسازی شده مورد آزمون قرار گرفت.

۳-۲. تخلیص DNA

گام بعدی برای شناسایی میکروارگانیسم‌های مورد نظر، استخراج ماده ژنتیکی و انجام تست‌های ژنتیکی بود.

کلنی‌های حاصل از هر کشت به میزان یک لوپ در داخل میکروتیوبی حاوی ۲۰ میکرولیتر آب دیونیزه به همراه ۱۰ میکرولیتر آنزیم هضم‌کننده اضافه شد. مخلوط به مدت ۱۵ ثانیه ورتکس شده و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹۸ درجه سلسیوس جوشانده شد. سپس میکروتیوب‌ها به مدت ۲ دقیقه با سرعت ۱۰ هزار rpm سانتریفوژ شدند.

۴-۲. روش انجام واکنش PCR

برای انجام PCR از یک جفت پرایمر اختصاصی برای تکثیر ژن rRNA S ۱۶ استفاده شد. محصول تکثیر یافته با استفاده از این پرایمرها، ۱۵۳۲ جفت باز طول داشت که پس از بررسی بر روی ژل آگارز ۱% مورد تفسیر قرار گرفت.

جدول ۱- مشخصات پرایمرهای استفاده شده

Size	Sequence	Primer
1532 Bp	5'-GAGTTTGATYMTGGCTCAG-3'	F ۹
	5'-AAGGAGGTGWTCARCC-3'	R ۱۵۴۱

محتوی ترکیبات PCR شامل یک میکرولیتر از پرایمرهای پیشرو و پیرو، یک میکرولیتر DNA استخراجی، ۱۲/۵ میکرولیتر مستر میکس و ۹/۵ میکرولیتر آب مقطر بود که به درون میکروتیوب‌های PCR ریخته شده و به مدت یک ساعت و ۴۷ دقیقه با برنامه دمایی زیر چرخه‌ها انجام شد (جدول ۲):

جدول ۲ - چرخه دمایی PCR

چرخه	درجه حرارت (C)	مدت زمان (ثانیه)
یک چرخه	۹۵	۳۰۰
۳۰ چرخه	۹۵	۳۰
یک چرخه	۵۵	۳۰
یک چرخه	۷۲	۹۰
یک چرخه	۷۲	۴۲۰

۲-۵. بررسی محصولات PCR

پس از اطمینان از جداسازی صحیح ژنوم میکروارگانیسم‌های موردنظر، محصولات PCR شده جهت بررسی توالی‌های ژنومی و همچنین شناسایی باکتری‌ها از لحاظ جنس و گونه باکتریایی، به شرکت درمان نگاران آینده ارسال گردید. درختواره ژنوتیپی باکتری‌ها با استفاده از نرم‌افزار MEGA-X و از طریق بررسی شباهت‌های ژنومی به وسیله سایت NCBI رسم گردید.

۳. نتایج

۳-۱. ویژگی‌های فیزیوشیمیایی و تست‌های بیوشیمیایی

در جدول (۳) اطلاعات مربوط به ویژگی‌های فیزیوشیمیایی مربوط به نمونه‌های جمع‌آوری شده، به همراه مقایسه مقادیر آنها با نمونه آب دریاچه ارومیه جمع‌آوری شده از همان منطقه آمده است. همانگونه که مشاهده می‌شود، pH تمامی نمونه‌ها در میزان خنثی قرار گرفته است؛ همچنین مقدار EC اندازه‌گیری شده نیز برای هر سه نمونه خاک تقریباً برابر بوده و فاصله بسیار زیادی با EC آب دریاچه دارد.

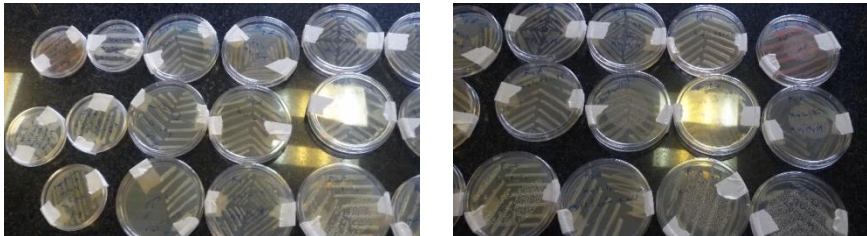
نکته قابل تأمل در این جدول، مقادیر درصد شوری خاک می‌باشد که با افزایش ارتفاع نمونه‌برداری افزایش یافته و در نهایت در ارتفاع ۲۵۰ متری به ۵/۱ درصد رسیده است. علاوه بر این، ویژگی‌های بیوشیمیایی و مورفولوژیکی کلنی‌های انتخابی نیز در جدول (۳) آمده است. برخلاف انتظار، همه باکتری‌های جداسازی شده، توانایی تحمل‌پذیری به مقادیر ۵% نمک را نداشته و فقط دو مورد از جدایه‌های انتخابی قادر به رشد در این میزان از شوری بودند. همچنین نتایج مربوط به رنگ‌آمیزی گرم و مشاهدات میکروسکوپی حاکی از باسیلی و گرم مثبت بودن کشت‌ها می‌باشد.

جدول ۳- مقدار pH اندازه‌گیری شده

کد نمونه	pH	دما	درصد شوری	EC
Kul-10	۷/۴۵	۸	۲/۲	۱/۵۴
Kul-150	۷/۵۹	۸	۳/۸	۱/۶۲
Kul-250	۷/۷۴	۸	۵/۱	۱/۳۲
آب دریا	۷/۳۸	۱۴	۲۴	۲۰۱

جدول ۴- نتایج آزمون‌های بیوشیمیایی

آزمون کلنی	گرم	مورفولوژی سلولی	رنگ کلنی	کاتالاز	اکسیداز	S/I/M	TSI	%۳ NaCl	%۵ NaCl	رشد در ۳۰°C	رشد در ۴۰°C
KULC1	+	باسیل	صدفی	+	+	-/+ / +	+++	+	-	+	-
KULC3	+	کوکوباسیل	زرد	+	-/+	+ / + / +	+++	+	+	+	+
KULC4	+	باسیل	نارنجی	+	-/+	+ / + / +	+++	+	+	+	+
KULC5	-	کوکوباسیل	صورتی تا قرمز	+	-	- / + / -	+ / - / +	-	-	+	+



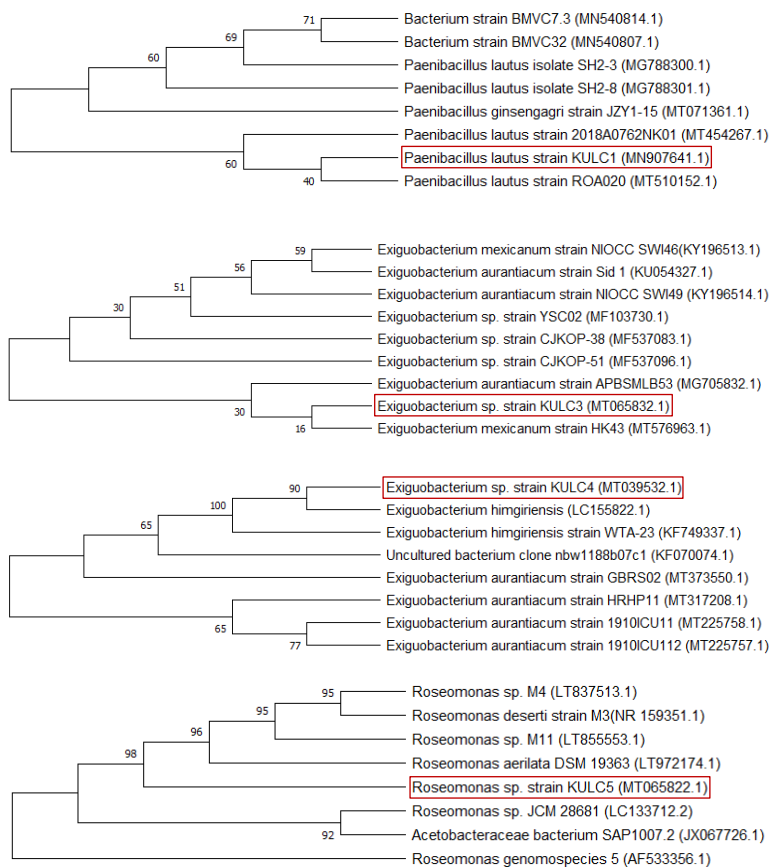
عکس ۱- کشت‌های خالص‌سازی شده و انتخاب براساس رنگ کلنی‌ها

۲-۳. نتایج تست PCR

پس از دستیابی به نتایج اولیه مربوط به ۴ کلنی، باکتری‌های ارسال شده جهت بررسی کدهای ژنتیکی، این نتایج توسط نرم‌افزار MEGA-X و سایت بین‌المللی NCBI قسمت Blast از نظر وجود تشابهات ژنتیکی به سایر گونه‌های شناسایی شده تا به امروز مورد ارزیابی قرار گرفتند و access number مربوط به هر کلنی در بخش GenBank سایت NCBI ثبت گردید (جدول ۵). حاصل این بررسی‌ها به صورت درختواره‌های نشان داده شده در تصویر درختواره ۱ مشخص شده است.

جدول ۵- اطلاعات مربوط به تشابهات کلنی‌های ثبت شده

کلنی	بیشترین تشابه	Access number	درصد تشابه	ارتفاع جداسازی شده (متر)
KULC1 (MN907641.1)	<i>Paenibacillus lautus</i> ROA020	MT510152.1	%۱۰۰	۱۵۰
KULC3 (MT065832.1)	<i>Exiguobacterium mexicanum</i> C4B01	MT576963.1	%۱۰۰	۱۰
KULC4 (MT039532.1)	<i>Exiguobacterium himgiensis</i>	LC155822.1	%۹۸	۲۵۰
KULC5 (MT065822.1)	<i>Roseomonas</i> JCM 28681	LC133712.2	%۹۹	۱۰



تصویر درختواره ۱- درختواره‌ها برای نمونه‌های KULC5 و KULC1, KULC3, KULC4

به صورت neighbor joining tree رسم شده است.

همانگونه که مشاهده می‌شود، از ارتفاع ۱۰ متری دو سویه باکتریایی مختلف و از هر یک از دو

ارتفاع ۱۵۰ و ۲۵۰ متری یک باکتری شناسایی شده است. نمونه ژنومی مربوط به KULC2 به علت شکستگی‌های متعدد پیش آمده در DNA در زمان انتقال به شرکت مذکور، قابل توالی‌یابی نبوده و داده‌های مربوط به این نمونه ثبت نشدند.

۴. نتیجه‌گیری

برخی تغییرات آب و هوایی ناشی از انسان اجتناب‌ناپذیر است. تاثیر تغییرات اقلیمی بر هیدرولوژی و در دسترس بودن منابع آب در جهان شناخته شده است. ارزیابی اثرات تغییر اقلیم بر منابع آب به طور گسترده بر روی بزرگی، فراوانی (دوره بازگشت)، زمان (فصل)، تغییرپذیری (متوسط و افراط) و جهت تغییرات پیش‌بینی شده نیز انجام شده است. تغییرات آب و هوایی همچنین چرخه هیدرولوژیکی جهانی را با افزایش دمای سطح، تغییر در الگوهای بارش و تبخیر و تعرق تسریع می‌کند (۱۴). بررسی‌های فیزیکوشیمیایی مربوط به نمونه‌ها حاکی از قلیایی بودن pH نمونه‌ها در مقایسه با آب دریاچه می‌باشد. افزایش pH خاک‌های مناطق اطراف می‌تواند دلیلی برای تغییر فلور میکروبی این ناحیه از دریاچه در جهت افزایش سکونت باکتری‌های غیرهالوفیل معتدل‌پسند گردد؛ زیرا تغییرات pH به سمت قلیایی شدن، منجر به افزایش کاتیون‌های خاک شده و در نتیجه میکروارگانیزم‌های غیرهالوفیل قادر به جذب ریزمغذی‌های مورد نیاز خود در شرایط کم‌آبی و مقابله با تنش‌های شوری و اسیدیته محیطی خواهند بود.

از سوی دیگر، میزان EC مربوط به نمونه‌های خاک بسیار پایین و معادل EC خاک‌های نرمال و کشاورزی می‌باشد؛ کاهش EC نیز نشان‌دهنده افزایش امکان تبادل ریزمغذی‌ها و ترکیبات موجود در خاک است، در نتیجه با در نظر گرفتن چنین متغیرهایی می‌توان انتظار جداسازی سویه‌های باکتریایی غیرهالوفیل بیشتری را از نمونه‌های خاک حاصل از این منطقه داشت.

براساس نتایج حاصل از آزمون PCR و همچنین آزمون‌های بیوشیمیایی و میکروبیولوژیکی، ۴ جدایه خاص از نظر مورفولوژی و ویژگی‌های میکروبی، بیشتر مورد توجه قرار گرفتند. جدایه‌های مذکور قبلاً نیز در تحقیقات مختلف محققان از سراسر جهان مورد شناسایی قرار گرفته بودند. برای مثال، جدایه KULC1 که از ارتفاع ۱۵۰ متری کوه تپه جداسازی شده است، مشابهت ژنتیکی بسیار بالایی با *Paenibacillus lautus* ROA020 دارد. از آنجایی که با استفاده از روش‌های سنتی جداسازی و انجام آزمون‌های معمول، این سویه میکروبی جداسازی شد، می‌توان نتیجه گرفت که غنای میکروبی *Paenibacillus lautus* KULC1 در ارتفاع ۱۵۰ متری کوه تپه کاظم خان بالا بوده و در نتیجه امکان بهره‌برداری و استخراج باکتری مورد نظر جهت فرایندهای بیوتکنولوژیکی فراهم می‌باشد.

باکتری‌هایی که از ارتفاع ۱۰ متری جداسازی شده‌اند، سویه‌های KULC3 و KULC5 می‌باشند که به ترتیب مشابهت بالایی با *Exiguobacterium mexicanum* C4B01 و *Roseomonas JCM 28681* دارند. Li و همکاران (۲۰۲۱) نیز در پژوهشی موفق به جداسازی سویه‌ای از این باکتری از سطح مرجانی جزیره Xieyang شدند (۱۵). همچنین در مطالعه‌ای دیگر Dang و همکاران توانستند سویه‌ای دیگر از این باکتری را از نمونه‌های شن مربوط به صحرای Badain Jara جداسازی نمایند (۱۱). در تحقیق حاضر نیز KULC5 با کلنی‌هایی به رنگ صورتی تا قرمز از نمونه‌های خاک جداسازی شد. با توجه به اینکه این کلنی‌ها از نمونه‌های مربوط به ارتفاع ۱۰ متری جداسازی شده‌اند، احتمال انتقال آنها از آب دریاچه در فصل‌های پربارش و بوجود آمدن تغییرات ژنتیکی برای ادامه حیات زیستی باکتری محتمل می‌باشد. همچنین KULC3 که دارای مشابهت ژنتیکی با *Exiguobacterium mexicanum* است، کلنی‌هایی به رنگ زرد تولید می‌کند. این سویه از باکتری‌ها ظرفیت زنده ماندن در محدوده وسیعی از دما، شوری و pH را دارند. تحقیقات Zhang و همکاران (۲۰۲۱) نشان می‌دهد که این جنس باکتریایی قادر به زندگی در اغلب محیط‌های موجود بر روی کره زمین بوده و توانایی تحمل تغییرات شدید احتمالی مانند تغییرات pH، دما، رطوبت و میزان اکسیژن را نیز دارند (۱۲). با توجه به اینکه دریاچه ارومیه در زمان نمونه‌برداری با پدیده خشکسالی و کمبود ورود آب‌های سطحی مواجه بود، توانایی زیست‌پذیری این جنس باکتریایی و وجود ویژگی‌های خاص فیزیولوژیکی آن می‌تواند تا حدودی منجر به حفظ حیات میکروبی منطقه گردد. در نهایت نمونه KULC4، این کلنی میکروبی نیز همانند کشت KULC3 مشابهت بالایی (۹۸٪) را با جنس *Exiguobacterium* و گونه *himgiriensis* نشان می‌دهد. کلنی‌های خالص‌سازی شده نارنجی رنگ بوده و از ارتفاع ۲۵۰ متری کوه‌تپه جداسازی شده‌اند. همانگونه که در کشت‌های مربوط به این پژوهش مشاهده شد، این جنس باکتریایی دارای کلنی‌هایی به رنگ نارنجی می‌باشد که برخلاف کلنی‌های گونه *mexicanum* (KULC3) است که به رنگ زرد بود. این جنس باکتریایی نیز توانایی زیست در دماهای بالا را داشته و می‌تواند محیط‌هایی با شرایط افراطی را تحمل کرده و رشد نماید. در کل، پیش‌بینی‌های زیست محیطی نشان‌دهنده افزایش احتمال پیامدهای منفی تغییرات آب و هوایی بر روی اکوسیستم‌ها و زندگی انسان‌ها می‌باشد. در واقع، به نظر می‌رسد که شدت و فراوانی اثرات مخرب مرتبط با تغییرات اقلیمی، در حال افزایش است (۸). از آنجا که دریاچه ارومیه با پدیده خشکی کامل و تبدیل شدن به صحرای نمک مواجه است، توجه به حیات میکروبی خاص و بکر این اکوسیستم منحصر به فرد، جهت جداسازی باکتری‌هایی با توانایی زیست‌پذیری بالا و تحمل‌پذیر به

شرایط افراطی برای حفظ گونه‌های در حال انقراض، ضروری به نظر می‌رسد. طبیعت همچنان در حال بازیابی خود در مواجهه با تغییرات اکولوژیکی می‌باشد، تغییر در میکروفلور طبیعی موجود در برخی مناطق، شاید راهی برای مبارزه با پیامدهای دشوار ایجاد شده به دست انسان باشد.

۵. سپاسگزاری

از همه اساتید و همکارانی که در تهیه و به ثمر رسیدن این پژوهش همکاری کردند، تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Xu H, Wang Y, Guan H, Shi T & Hu X. Detecting ecological changes with a remote sensing based ecological index (RSEI) produced time series and change vector analysis. *Remote Sensing*. 2019; 11(20): 2345.
2. Hazen EL, Abrahms B, Brodie S, Carroll G, Jacox MG, Savoca MS & et al. Marine top predators as climate and ecosystem sentinels. *Frontiers in Ecology and the Environment*. 2019; 17(10): 565-74.
3. Turner MG, Calder WJ, Cumming GS, Hughes TP, Jentsch A, LaDeau SL & Carpenter SR. Climate change, ecosystems and abrupt change: science priorities. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. 2020; 375(1794).
4. Weiskopf SR, Rubenstein MA, Crozier LG, Gaichas S, Griffis R, Halofsky JE & et al. Climate change effects on biodiversity, ecosystems, ecosystem services, and natural resource management in the United States. *Science of the Total Environment*. 2020; 733: 137782.
5. Díaz S, Settele J, Brondízio E, Ngo H, Guèze M, Agard J & Zayas C. *Summary for policymakers of the global assessment report on biodiversity and ecosystem services of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services*. Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services. 2020.
6. Beever EA, Hall LE, Varner J, Loosen AE, Dunham JB, Gahl MK & et al. Behavioral flexibility as a mechanism for coping with climate change. *Frontiers in Ecology and the Environment*. 2017; 15(6): 299-308.
7. Breeggemann JJ, Kaemingk MA, DeBates TJ, Paukert CP, Krause JR, Letvin AP & et al. Potential direct and indirect effects of climate change on a shallow natural lake fish assemblage. *Ecology of Freshwater Fish*. 2016; 25(3): 487-99.
8. Malhi Y, Franklin J, Seddon N, Solan M, Turner MG, Field CB & Knowlton N. Climate change and ecosystems: threats, opportunities and solutions. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. 2020; 375(1794).
9. Patowary R & Deka H. *Paenibacillus*. In: *Beneficial Microbes in Agro-Ecology* (pp. 339-361). Academic Press; 2020.
10. Guan Y, Li Z, Kang Y-H & Lee M-K. Isolation, Characterization and Whole-Genome Analysis of *Paenibacillus andongensis* sp. nov. from Korean Soil. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2023; 33(6): 753.
11. Deng Y, Sun Y, Wang H, Yu L-Y & Zhang Y-Q. *Roseomonas harenae* sp. nov., from desert gravel soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2020; 70(11): 5711-6.
12. Zhang D, Zhu Z, Li Y, Li X, Guan Z & Zheng J. Comparative genomics of *Exiguobacterium* reveals what makes a cosmopolitan bacterium. *Msystems*. 2021; 6(4): 10-1128.
13. Singh NK, Raichand R, Kaur I, Kaur C, Pareek S & Mayilraj S. *Exiguobacterium himgiriensis* sp. nov. a novel member of the genus *Exiguobacterium*, isolated from the Indian Himalayas. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2013; 103: 789-96.

14. Mujere N & Moyce W. *Climate change impacts on surface water quality*. In: Hydrology and water resource management: Breakthroughs in research and practice (pp. 97-115). IGI Global; 2018.
15. Li F, Huang Y, Hu W, Li Z, Wang Q, Huang S & et al. *Roseomonas coralli* sp. nov., a heavy metal resistant bacterium isolated from coral. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2021; 71(2): 004624.