Archive of SID

مجله علوم دانشگاه تهران
جلد سی‌ام (۱۳۸۳) شماره ۳ (۵۲۷-۵۱۷)

ارزیابی مقاومت به اکسی آنیون های سمی در باسیل های اسپور دار نمک دوست نسبی بومی ایران و اثر شوری بر روی این مقاومت

محمدعلی آموزگار[۱]*، جواد حامدی[۱]، فریدون ملکزاده[۱]، محمد داداشی‌پور[۲]، شقایق شریعت‌پناهی[۱]
۱ دانشگاه تهران، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی، بخش میکروبیولوژی
alamoze@yahoo.com
۲ انستیتو پاستور، بخش بیوشیمی
(دریافت: ۸۳/۴/۹ ؛ پذیرش:۸۳/۹/۲۵)

چکیده

میکروارگانیسم‌های نمک دوست نقش مهمی را در پاکسازی زیستی ترکیبات سمی فلزی در محیط ایفا می‌کنند و شناسایی سویه‌های تحمل پذیر به این ترکیبات، مرحله نخست دراستفاده از این میکروارگانیسم‌ها در فرایندهای پاکسازی زیستی است. دراین راستا ۱۰ سویه باکتری تشکیل دهنده اسپور از خاک‌های شور درایران جداگشت و مقاومت ذاتی بسیار بالا نسبت به اکسی‌آنیون‌های سمی، کرومات، ارسنات، سلنیت، سلنات و بی‌سلنیت دربعضی از سویه‌ها نشان داده شد. روش رقت درآگار برای تعیین تحمل پذیری باکتری‌ها نسبت به این ترکیبات سمی مورد استفاده قرار گرفت و حداقل غلظت مهار کننده رشد (MIC) برای هر اکسی آنیون در دمای ۳٤ درجه سانتی‌گراد و در زمان گرماگذاری ۷۲ ساعت تعیین گشت. براساس تعیین MIC، همه باکتری‌های مورد آزمایش بالاترین مقاومت را نسبت به اکسی‌آنیون سمی ارسنات نشان دادند. سویه‌های B2 و C2 می‌توانستند تا غلظت ۲۵۰ میلی‌مول ارسنات را تحمل کنند. یک مقاومت غیر معمول نسبت به اکسی آنیون‌های کرومات در بعضی سویه‌ها مشاهده گشت. سویه‌های A2، B1 و C2 سدیم کرومات را تا ۷۵ میلی مول تحمل می‌کردند درحالیکه سویه C2 تحمل به پتاسیم کرومات را تا ۷۰ میلی‌مول نشان داد و سایر سویه‌ها (A1، A2، B1، C1 و C4) مقاومت را نسبت به پتاسیم کرومات را تا حداکثر ۶۰ میلی‌مول نشان دادند. سطح مقاومت سویه‌ها به سلنواکسی آنیونها بین ۱۰ تا ٤۰ میلی‌مول بود. بالاترین مقاومت به سلنات و پایین‌ترین مقاومت به بی سلنیت نشان داده شد. بالاترین سمیت را در میان اکسی آنیون‌های مورد آزمایش را تلوریت نشان داد (حداکثر تحمل پذیری ۳ میلی مول). اثر شوری بر روی سمیت اکسی آنیون‌ها مورد مطالعه قرار گرفت. افزایش شوری از ۵٪ (w/v) به ۱۵٪ (w/v) بطورکلی سبب افزایش مقاومت به اکسی آنیونها در سویه‌ها می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: *اکسی آنیون، باکتری نمک دوست، تحمل پذیری، کرومات، سلنواکسی آنیون.*

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

اکسی آنیون‌های فلزی و شبه فلزی، هنگامی‌که درغلظت‌های بالا درخاکهای کشاورزی، آب‌های سطحی و آبهای زیرزمینی یافت می‌شوند به عنوان آلاینده زیستی مطرح شده و پاکسازی آن از محیط‌زیست یک امرمهم و یک اولویت محسوب می‌شود. میکروارگانیسم‌ها با واکنش‌های بیوترانسفرماسیون و یا پاکسازی زیستی نقش مهمی را درحذف این عناصرسمی و یا تبدیل آنها به عناصرکمترسمی و یا غیرسمی ایفا می‌کنند (Kinkle *et al.,* 1994). سویه‌های از *Pseudomonas*، *Thiobacillus*، *Bacillus*، *Acinetobacter* و *Rhodospirillum* از بیوترانس فرمهای فعال درایـن زمینه هستند (McLean & Beveridge, 2001 Kessi *et al.,* 1999). تشخیص میکروارگانیسم‌ها و تحمل آنها به غلظت‌های بالاتر اکسی آنیونهای سمی قدم اول درجهت شناسایی توان میکروارگانیسم‌های است که قادر به پاکسازی محیط زیست می‌باشند و می‌توانند ما را به انتخاب سویه برتر جهت حذف این ترکیبات سمی کمک کنند (Burton *et al.,* 1987؛ Trevors *et al.,* 1985). دراین میان میکروارگانیسم‌های هالوفیل یا هالوتولرنت یک گزینه مناسب می‌باشد چون به طور طبیعی این میکروارگانیسم‌ها خود به غلظت‌های بالای آنیونی و کاتیونی برای رشد نیاز دارند درحالیکه میکروارگانیسم‌های معمول این توانایی وجود ندارد و نه تنها اثر سمی این ترکیبات در این میکروارگانیسم‌ها لحاظ می‌باشد بلکه بالا رفتن غلظت نمک این ترکیبات سمی نیز اثر مهاری بر رشد دارد ولی این مورد را در باکتریهای نمک دوست مشاهده نمی‌کنیم. درسالهای گذشته مقاومت به فلزات سنگین در میکروارگانیسم‌های نمک دوست بویژه درجنس *Halmonas* مورد مطالعه قرار گرفته است (Ventosa, 1998; Nieto *et al.,* 1989). اما مطالعات نسبتاً کمی در زمینه مقاومت به اکسی آنیونهای فلزی و شبه فلزی در این باکتریها صورت گرفته که می‌توان از مطالعه Souza و همکاران (۲۰۰۱) در رابطه با شناسایی سویه‌های متعلق به جنس *Halmonas* دارای مقاومت بالا نسبت به اکسی آنیون سلنات، مطالعه Chad و همکاران (۱۹۹۹) در رابطه با مقاومت بالا نسبت به تلوریت پتاسیم در باکتری *Natronococcus acealutus* (آرکی) و مطالعه Rathgeber و همکاران (۲۰۰۲) در رابطه با سویه‌های هالوتولرنت مقاوم به تلوریت و سلنیت نام برد. در این مطالعه ما تحمل پذیری نسبت به کسی آنیون های سمی کرومات، ارسنات، سلنیت، بی سلنیت، سلنات و تلوریت را در ۱۰ سویه باسیل اسپوردار گرم مثبت نمک دوست نسبی مورد ارزیابی قرار داده و اثر غلظت های مختلف نمک را بر روی مقاومت این سویه ها به ترکیبات سمی را نیز مورد بررسی قرار دادیم.

www.SID.ir

Archive of SID

هدف از این مطالعه: ۱- ارزیابی باکتریهای اسپوردار نمک دوست نسبی نسبت به ترکیبات سمی فلزی ۲- شناسایی سویه های با مقاومت های بالا نسبت به اکسی آنیون های سمی ۳- بررسی اثر شوری بر روی افزایش یا کاهش مقاومت. بعلاوه در این بررسی مقاومت این باکتریها نسبت به آنتی بیوتیک ها نیز مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

میکروارگانیسم‌ها و شرایط رشد

۱۰ سویه باسیل گرم مثبت اسپور دار هوازی نمک دوست نسبی از خاک های شور و بسیار شور مناطق مختلف در ایران ، قشم، گرمسار، کرج، تهران و قم جدا گشت. مقادیر کمی از نمونه‌های خاک به محیط نوترینت برات با غلظت حداکثر ۱۰۰ گرم نمک کل درلیتر اضافه گشت (Amoozegar *et al.,* 2003). محیطها در شیکر گردشی در دمای ۳۴ درجه سانتیگراد و در دور ۱۵۰ rpm گرما گذاری گشتند. درمرحله بعد باکتریها درمحیط نوترینت آگار دارای ۱۰٪ سدیم کلراید رشد کرده و خالص گشتند. مقاومت سویه‌های جدا شده نسبت به فلزات سمی نیز در روی محیط نوترینت آگار به همراه ۱۰(w/v)٪ سدیم کلراید صورت گرفت و در صورت لزوم سایر غلظت‌های نمک NaCl برای آزمایش اثر درصدهای مختلف نمک درمحیط بر مقاومت باکتری نسبت به فلزات سمی مورد استفاده قرار گرفت. pH تمام محیطها قبل از اتوکلاو با KOH ۱ مولار بین ۷/۴ - ۷/۲ تنظیم گشت.

ویژگیهای فنوتیپی سویه‌ها

سویه‌های تازه جداشده با استفاده از ترکیبی از روش‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژی، از نظر فنوتیپی تعیین ویژگی شدند: تست گرم با استفاده از روش Burk انجام گرفت و نتایج با تست KOH تایید گشت (Baron & Finegolod, 1990). حرکت با روش لام مرطوب مورد بررسی قرار گرفت (Murray *et al.,* 1994). کاتالاز، اکسیداز، احیاء نیترات، متیل رد و VP و تولید اندول براساس روش‌های توصیه شده Smibert & Krieg انجام گرفت (1994). فعالیت‌های هیدرولیتیکی براساس روش‌های توصیف شده بوسیله Ventosa انجام گرفت (Ventosa *et al.,* 1982). تولید اسید از کربوهیدرات ها درمحیط ارائه شده و روش توصیه شده بوسیله Parry *et al*. (1988) مورد بررسی قرارگرفت. تست حساسیت به آنتی بیوتیک‌ها درروی محیط مولر هینتون آگار به اضافه ۱۰٪ سدیم کلراید که دارای تلقیحی از cfu/ml ۱/۵×۱۰۶ سوسپانسیون باکتریایی بود و با استفاده از دیسک‌های آنتی بیوتیکی (bioMérieux) و با روش انتشار درآگار انجام گرفت. پلیت‌ها دردمای۳۴ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۴۸ ساعت

www.SID.ir

Archive of SID

گرماگذاری شده و هاله عدم رشد بر اساس دست نوشته‌های علمی شرکت‌های سازنده دیسک مورد تفسیر قرارگرفت.

مواد شیمیایی

اکسی آنیونهای سمی آزمایش شده عمدتاً از شرکت مرک تهیه گشت. کرومات سدیم ، کرومات پتاسیم، سلنیت سدیم ، بی سلنیت سدیم از شرکت مرک و ارسنات سدیم ، سلنات سدیم و تلوریت پتاسیم از شرکت سیگما تهیه گشت. محلولهای استوک در آب مقطر تهیه گشته وبا فیلتراسیون از طریق فیلترهای غشایی با قطر سوراخ μ m ۰/۲۲ استریل گشت(میلی پور). محلولهای فلزی حداکثر برای ۵ روز در یخچال ۴ درجه سانتی گراد قرار داده شد.

آزمایش مقاومت به فلزات سنگین

برای تعیین مقاومت به فلزات سمی، از روش رقت در آگار(Washington *et al.,* 1980) استفاده شد. به ارلنهای ۱۰۰ میلی لیتری حاوی ۲۰ میلی لیتر از محیط نوترینت آگار ذوب شده دارای نمک، غلظت خاصی از فلز اضافه گشته و سپس داخل پلیتهای شیشه ای به قطر ۸ سانت ریخته شد. میزان غلظت برای تمامی اکسی آنیونها مورد آزمایش بر حسب میلی مولار بصورت زیر بود:

۰/۰۵، ۰/۱،، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲، ۳،۴، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵، ۴۰، ۴۵، ۵۰، ۵۵، ۶۰، ۶۵، ۷۰، ۷۵ و۸۰

به استثنا نمک ارسنات سدیم که در موارد لزوم تا غلظت ۳۰۰ میلی‌مولار نیز مورد آزمایش قرار گرفت. غلظت یک مولار برای . کرومات سدیم، کرومات پتاسیم، سلنیت سدیم، بی سلنیت سدیم ، ارسنات سدیم ، سلنات سدیم و تلوریت پتاسیم به ترتیب۱۷۳/۱، ۱۸۶، ۱۸۸/۹ و ۲۳۵ گرم درلیتر می‌باشد. پلیتهای آگار دار در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد بمدت۳۰ دقیقه قرارگرفت تا سطح مرطوبشان خشک شود و سپس بوسیله سمپلر۱۰ میکرولیتر از محیط مایع که میکروب مورد نظر درآن رشد کرده (رشد لگاریتمی) بود و غلظت آن برابر ۰/۵ لوله مک فارلند بود بر روی محیط آگار دار قرارگرفت (میکروب تلقیح شده $۱۰^{۵}$ تا $۱۰^{۶}$ باکتری درمیلی لیتر). آزمایشات مشابه برای غلظت های ۵ و ۱۵٪ سدیم کلراید نیز انجام گرفت. کنترلها شامل محیطهای بدون فلز بود که میکروارگانیسمهای کشت شده روی آن رشد می کرد.

پلیتها پس از گرماگذاری در ۳۴ درجه سانتی گراد در ساعت های ۴۸ و ۷۲ مورد مطالعه قرار گرفت. پایین ترین غلظتی از فلز که کاملاً مانع رشد باکتری می‌گشت MIC نامیده شد(حداقل غلظت مهار کننده رشد). MIC برای تمام سویه‌ها در سه بار متوالی مورد بررسی قرار گرفت. باید توجه داشت که نمکهای فلزی و ترکیبات محیط میکروبیولوژی می‌توانند با هم

www.SID.ir

Archive of SID

واکنشهایی داشته باشند و در نتیجه تفسیر را مشکل می‌کنند به همین دلیل ما غلظتهای را استفاده کردیم که قبلاً بوسیله سایر محققین برای انجام مطالعات روی یو باکتریها استفاده شده بود (McLean, & Beveridge, 2001،Rathgeber *et al.*, 2002 ، Neito *et al.,* 1989). با توجه به اینکه استاندارد مشخصی برای مقاوم بودن به غلظتهای فلزی برای محققین وجود ندارد، ما سویه‌های از باسیلوسهای نمک دوست نسبی خود را که رشدشان بوسیله ۵ میلی‌مولار کرومات و بی سلنیت و۱۰ میلی‌مولار ارسنات، سلنات و سلنیت و ۰/۱ میلی‌مولار تلوریت پتاسیم متوقف نمی‌شود. سویه‌های مقاوم نامیدیم.

نتایج

شناسایی فنوتیپی سویه های باکتریایی

تمام سویه‌های جدا شده باکتریهای میله‌ای شکل بوده و براساس واکنش گرم جزء باکتری‌های گرم مثبت محسوب شده و همگی دارای اسپور بودند و بر اساس رشد بهینه در درصدهای مختلف نمک سدیم کلراید به سه گروه تقسیم شدند: ۱- گروه A دارای بهینه رشد در نمک (w/v)۱۵٪ بوده و شامل سویه‌های A_1، A_2 و A_3 می‌باشد. ۲- گروه B که بهینه رشد آن محیط نمک(w/v) ۱۰٪ بوده و دو سویه B_1 و B_2 را شامل می‌شود. و

۳- گروه C بهینه رشد این گروه نمک (w/v) ۵٪ بوده و شامل ۵ سویه C_1، C_2، C_3، C_4 و C_5 است. تمام این باکتریها در محیط فاقد نمک قادر به رشد نبوده و بنابراین جزء باکتریهای هالوفیل هستند. ویژگی‌های فنوتیپی این باکتریها در جدول۱ آورده شده است.

حداقل غلظت مهار کننده نسبت به فلزات سنگین (MIC)

مقاومت۱۰ سویه باسیل گرم مثبت اسپور دار نمک دوست نسبی بومی ایران نسبت به اکسی آنیون‌های سمی وMIC آن درغلظت نمک(w/v) ۱۰٪ درمحیط مورد بررسی قرار گرفت (نمودار ۱). تمام سویه‌ها به سلنیت، سلنات، تلوریت و ارسنات مقاومت نشان می‌دهند و بالاترین مقاومت ها نیز به ارسنات دیده می‌شود (۲۵۰ میلی مول). ۹۰٪ سویه‌ها به بی‌سلنیت سدیم و، کرومات سدیم و کرومات پتاسیم مقاوم بودندبه استثناء سویه C_5 که به این ترکیبات حساس بوده و پایین ترین مقاومت را با مقاومت ۲/۵ میلی مولار نسبت به این اکسی آنیونها نشان می‌دهد.

جدول۱- ویژگی‌های اصلی باکتریهای میله ای گرم مثبت نمک دوست نسبی بومی ایران

www.SID.ir

Archive of SID

ویژگی	سویهٔ A_1	سویهٔ A_2	سویهٔ A_3	سویهٔ B_1	سویهٔ B_2	سویهٔ C_1	سویهٔ C_2	سویهٔ C_3	سویهٔ C_4	سویهٔ C_5
تولید رنگدانه	سفید	کرم	ندارد	سفید	ندارد	ندارد	ندارد	ندارد	ندارد	کرم
موقعیت اسپور	مرکزی	مرکزی	مرکزی	مرکزی	مرکزی	مرکزی	مرکزی	مرکزی	مرکزی	مرکزی
حرکت	−	+	+	−	−	+	−	−	−	−
اکسیداز	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−
رشد در ۰٪ نمک	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
رشد در ۱٪ نمک	−	−	−	+	−	+	−	+	−	−
رشد در ۲۵٪ نمک	+	+	+	−	+	+	+	+	+	+
بهینهٔ رشد در نمک٪	٪۱۵	٪۱۵	٪۱۵	٪۱۰	٪۱۰	٪۵	٪۵	٪۵	٪۵	٪۵
تولید اسید از:										
گلوکز	+	+	+	+	−	+	+	+	+	−
گالاکتوز	−	+	−	−	−	+	−	+	-	−
فروکتوز	+	+	+	+	+	+	−	+	+	−
سوکروز	+	+	−	−	+	+	+	+	+	+
هیدرولیز:										
ژلاتین	+	−	+	+	+	+	−	+	+	−
کازئین	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
نشاسته	−	+	−	+	−	+	−	−	−	−
توئین ۸۰	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
DNA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
احیاء نیترات	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−

الگوی حساسیت به آنتی بیوتیک ها

ما حساسیت به آنتی بیوتیک‌ها را نیز درسویه های مقاوم خود با ۱۰ آنتی بیوتیک مورد بررسی قرار دادیم (جدول۲). تمام سویه‌ها به سفالوتین حساس بوده ، نسبت به پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین بجز سویه مقاوم C_2 بقیه سویه‌ها حساس بوده و نسبت به نووبیوسین۳۰٪ سویه‌ها مقاوم بودند درحالیکه مقاومت به نالیدکسیک اسید در۵۰٪ سویه‌ها مشاهده شد. بیشترین مقاومت دراین سویه‌ها نسبت به استرپتومایسین مشاهده گشت که حدود۷۰٪ سویه‌ها مقاومت را نشان می‌دادند.

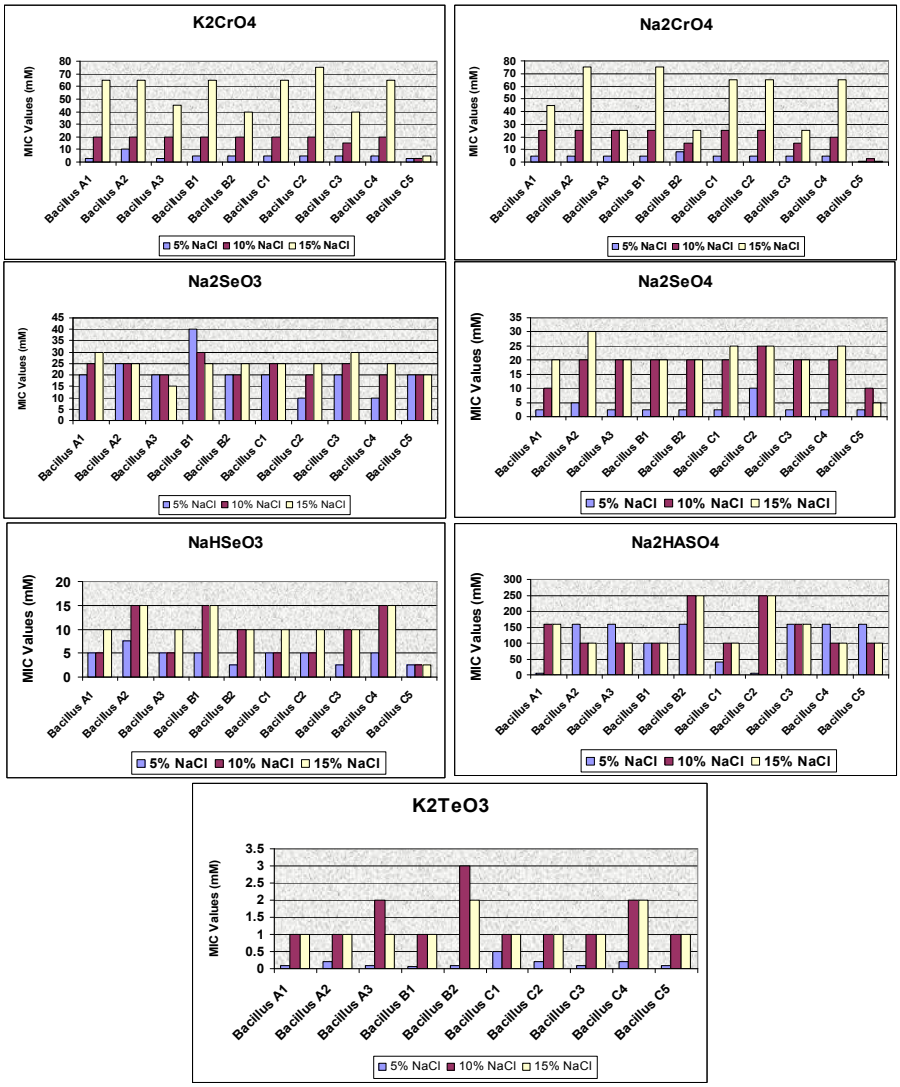
اثر شوری برمقاومت به اکسی آنیون های سمی در نمک دوستهای نسبی

اثر غلظت سدیم کلراید روی مقاومت به اکسی آنیون‌های سمی مورد بررسی قرار گرفت. تحمل‌پذیری باکتری‌ها در غلظت‌های مختلف نمک نسبت به اکسی انیونهای سمی درنمودار۱ نشان داده شده است. . بطورکلی با افزایش غلظت نمک تحمل پذیری سویه‌ها به اکسی آنیون-های سمی کرومات، سلنات، سلنیت و بی سلنیت افزایش یافته و بالاترین افزایش در رابطه با

www.SID.ir

Archive of SID

آنیون کرومات دیده شده که با افزایش غلظت نمک از (w/v) ۵٪ بـه (w/v) ۱۵ ٪ در بعضـی سویه‌ها (نمودار۱) تحمل پذیری ۱۵ برابر افزایش یافته است درحالیکه در مـورد اکسـی انیـون-های ارسنات و تلوریت ئر میان سویه‌ها تنوع وجود دارد.



شـکل۱- الگـوی مقاومـت باکتریهـای میلـه‌ای، اسـپوردار نمـک دوسـت نسـبی بـومی ایـران بـه اکسی‌آنیونهای سمی (برحسب MIC) درغلظت نمکهای ۵٪ ، ۱۰٪ و ۱۵٪.

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

باکتریهای میله‌ای شکل اسپوردار گرم مثبت نمک دوست نسبی و تحمل‌کننده‌های نمک گروه متنوعی را متشکل از جنس‌های مختلف تشکیل داده‌اند که در محدوده وسیعی از غلظتهای نمک می‌توانند رشد کنند (Ventosa *et al.*, 1998) و در مناطق بسیار شور یا شور در خاک و آب یافت می‌شوند. امروزه اطلاعات در زمینه اکولوژی و فیزیولوژی نمک دوستهای نسبی تا حدی در دسترس می‌باشد. به منظور بررسی نقش اکولوژیکی این گروه از باکتریها در پاکسازی زیستی فلزات سمی از محیط، برای اولین بار مطالعه روی مقاومت به اکسی آنیون‌های سمی در این گروه از میکروارگانیسم‌ها صورت گرفت. سویه‌های مورد بررسی مقاومت‌های بسیار بالایی را نسبت به اکسی آنیونهای سمی نشان می‌دادند (جدول۲) و نکته بسیار جالب در این بررسی وجود مقاومت بسیار بالا به آنیون کرومات در بعضی سویه‌ها بود که تا بحال چنین مقاومتی در میان باکتری‌ها گزارش نشده است. به نظر می‌رسد یکی از دلایل مقاومت بالا نسبت به اکسی آنیونها در این گروه از میکروارگانیسم‌ها وجود کاتیون سدیم یا پتاسیم در ترکیب این اکسی آنیونها است که برای رشد و بقاء این باکتریها در محیط شور و فعالیت آنزیم‌ها و یا پمپ‌های که در تحمل پذیری نسبت به این ترکیبات در باکتریها نقش دارند، لازم می‌باشد. اثر نمک بر روی پاسخ باکتریهای نمک دوست نسبی به اکسی آنیون‌های سمی مورد بررسی قرارگرفت. نتایج نشان داد که افزایش نمک از ۵٪ به ۱۵٪ بطور کلی سبب افزایش مقاومت به این ترکیبات سمی می‌شود.

جدول-۲ الگوی حساسیت به آنتی‌بیوتیک درباکتریهای میله‌ای گرم مثبت نمک‌دوست نسبی بومی ایران

ویژگی	سویهٔ A_1	سویهٔ A_2	سویهٔ A_3	سویهٔ B_1	سویهٔ B_2	سویهٔ C_1	سویهٔ C_2	سویهٔ C_3	سویهٔ C_4	سویهٔ C_5
حساسیت به:										
پني سيلين G	حساس	حساس	حساس	حساس	حساس	حساس	مقاوم	حساس	مقاوم	حساس
آمپي‌سيلين	حساس	حساس	حساس	حساس	حساس	حساس	مقاوم	حساس	مقاوم	حساس
نوو بيوسين	مقاوم	حساس	نيمه حساس	حساس	نيمه حساس	حساس	مقاوم	حساس	مقاوم	حساس
استرپتومايسين	مقاوم	نيمه حساس	مقاوم	مقاوم	مقاوم	مقاوم	مقاوم	مقاوم	حساس	مقاوم
كلرامفنيكل	حساس	حساس	حساس	حساس	حساس	حساس	حساس	مقاوم	حساس	حساس
اريتروماپسين	نيمه حساس	مقاوم	نيمه حساس	مقاوم	مقاوم	مقاوم	مقاوم	حساس	حساس	مقاوم
تتراسيكلين	حساس	حساس	حساس	حساس	حساس	حساس	حساس	حساس	حساس	حساس
سفالوتين	حساس	حساس	حساس	حساس	حساس	حساس	حساس	مقاوم	حساس	حساس
جنتامپسين	حساس	نيمه حساس	مقاوم	مقاوم	نيمه حساس	مقاوم	مقاوم	حساس	حساس	نيمه حساس
نالیدکسیك‌اسید	نيمه حساس	نيمه حساس	مقاوم	حساس	مقاوم	حساس	مقاوم	مقاوم	مقاوم	نيمه حساس

www.SID.ir

Archive of SID

مقاومت به آنیون کرومات در بعضی از سویه‌های مورد آزمایش بطور غیر معمول بالا است. McLean و Beveridge درسال ۲۰۰۱ مقاومت ۱۰ میلی‌مولی را نسبت به کرومات درسویه باکتری Pseudomonas CRB5 گزارش کرده‌اند. Ventosa و همکاران (۲۰۰۱) در یک مطالعه دیگر مقاومت حداکثر ۲۰ میلی‌مول را در یک باکتری نمک دوست نسبی گرم منفی بنام *Salivibrio* گزارش کرده‌اند و در یک مطالعه دیگر Viti و همکاران (۲۰۰۳) مقاومت۲۲ میلی‌مولی را در باکتری *Corynebacterium hoagie* گزارش کردند در حالیکه مقاومت به این اکسی آنیون در بعضی از سویه‌های مورد آزمایش در این مطالعه به ۷۵ میلی‌مول می‌رسد. مقاومت به سدیم کرومات و پتاسیم کرومات با افزایش غلظت نمک افزایش یافته و بیشترین مقاومت در نمک ۱۵٪ مشاهده شد و این میزان افزایش بسیار شدید بود. بالاترین مقاومت به سدیم کرومات در باکتریهای A_2 و B_1 و نسبت به پتاسیم کرومات در سویه C_2 و در نمک سدیم کلراید (w/v) ۱۵٪ دیده شد (۷۵ میلی مول). میزان افزایش تحمل پذیری آن دو سویه باکتریایی در نمک (w/v) ۱۵٪ نسبت به نمک (w/v) ۵٪ بیش از ۱۵ برابر می‌باشد.

همه سویه‌ها نسبت به اکسی آنیون ارسنات تحمل نسبتاً بالایی را نشان می‌دهند و در این میان دو سویه B_2 و C_2 با تحمل ۲۵۰ میلی‌مول سدیم ارسنات بالاترین مقاومت را نشان دادند. درحالیکه دریک باکتری جدید از جنس باسیلوس بنام *Bacillus indicus* که مقاوم به ارسنیک درنظر گرفته شده است حداکثر مقاومت به آنیون ارسنات۲۰ میلی‌مول گزارش شده است (Suresh *et al.,* 2004). افزایش غلظت نمک سدیم کلراید از (w/v) ۵٪ به (w/v) ۱۵٪ پاسخ متنوعی را درمیان سویه‌ها ایجاد می‌کند. درحالیکه درسویه‌های A_1، B_2، C_1 و C_2 با افزایش شوری درمحیط تحمل پذیری سویه نسبت به اکسی آنیون بالا می‌رود، درسویه‌های A_2 ، A_3 ، C_4 و C_5 با افزایش شوری حساسیت باکتری نسبت به ارسنات افزایش می‌یابد. اما درسویه C_3 با افزایش غلظت نمک در محیط تفاوتی در مقاومت به اکسی آنیون ارسنات دیده نمی‌شود.

تحمل‌پذیری نسبت به اکسی آنیون‌های سلنیت، بی‌سلنیت و تلوریت نیز درسویه‌های مورد بررسی نسبتاً بالا بوده و قابل مقایسه با سویه‌های است که قبلاً بوسیله افراد دیگر درمقالات علمی ارائه شده‌است (Kinkle *et al.,* 1994 ، De Souza *et al.,* 2001 و Rathgeber *et al.,* 2002). لازم به ذکر است مقاومت به اکسی آنیونهای سلنیت، بی‌سلنیت و تلوریت در سویه‌های مورد بررسی همراه با احیاء این ترکیبات بوده است.

افزایش فعالیت‌های صنعتی بطور روز افزون سبب افزایش فلزات و اکسی آنیون‌های سمی در محیطهای آبی، خاکی و اتمسفر شده است که سبب آلایندگی شدید در محیط زیست شده است. بر این اساس مطالعه بر روی میکروارگانیسم‌های که درپاکسازی زیستی این ترکیبات

www.SID.ir

Archive of SID

نقش دارند و توسعه متدهای سیستم‌های پاکسازی محیطی اهمیت فراوانی پیدا کـرده اسـت و در این میان گزینه اول درپاکسازی زیستی انتخاب میکروارگانیسم‌های مقاوم به ایـن ترکیبـات سمی است. باکتریهای میله‌ای اسپوردار با توجـه بـه پراکنـدگی فراوانـی کـه درخـاک دارنـد و همچنین پایداری بیشتری که درشرایط سخت محیطی دارند با توجـه بـه مقاومـت بـالای کـه نسبت به بعضی اکسی آنیون‌ها مانندکرومات، ارسنات، سلنات و تلوریت در ایـن مطالعـه نشـان دادند که در مورد اکسی آنیون سلنات و تلوریت همراه با احیاء بوده است، میکروارگانیسـم‌هـای مناسب برای مطالعه بیشتر در زمینه پاکسازی زیستی هستند.

References

Amoozegar, M.A., Malekzadeh, F., Malik, K. A., Schumann, P. and Spröer, C. (2003) *Halobacillus karajensis* sp. nov., a novel moderate halophile. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **53,** 1059-1063.

Baron, E.J., and Finegold, S.M. (1990) *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology.*8th ed., St. Louis: Mosby. pp. 43-85.

Burton, G.A., Gidding, T.H., $D_E$brine, P., and Fall, R. (1987) *High incidence of selenite-resistant bacteria from a site polluted with selenium*. Applied and Environmental Microbiology*,* **53,** 185-188.

Chad, T.P., and Jablonski, P.E. (1999) *High level, intrinsic resistance of Natronococcus occultus to potassium tellurite*. FEMS Microbiol. Lett. **174,** 19-23.

Kessi, J., Ramuz, M., Wehrli, E., Spycher, M., and Bachofen, R. (1999) *Reduction of selenite and detoxification of elemental selenium by the phototrophic bacterium Rhodospirillum rubrum.* Applied and Environmental Microbiology, **65,** 4734-4740.

Kinkle, B.K., Sadowsky, M.J., Johnstone, K. and Koskinen, W.C. (1994) *Tellurium and selenium resistance in Rhizobia and its potential use for direct isolation of Rhizobium meliloti from soil*. Appl. Environ. Microbiol*.,* **60,** 1674-1677.

McLean, J., and Beveridge, T.J. (2001) *Chromate reduction by a Pseudomonad isolated from site contaminated with chromated copper arsenate*. Appl. Environ. Microbiol., **67,** 1076-1084.

Murray, R.G.E., Doetsch, R.N. and Robinow, C.F. (1994) *Determinative and cytological light microscopy*. In *Methods for General and Molecular Bacteriology,* pp. 21-41. Edited by P. Gerhardt, R. G. E. Murray, W. A. Wood & N. R. Krieg. Washington, DC: American Society for Microbiology.

Nieto, J. J., Fernandez-Castillo, R.,Marquez, M. C., Ventosa, A., Quesada, E. and Ruiz-Berraquero, F. (1989) *Survey of metal tolerance in moderately halophilic eubacteria*. Appl. Environ. Microbiol*.* **55,** 2385-2390.

Parry, J.M., Turnbull, P.C.B. and Gibson, J.R. (1988) *A colour atlas of Bacillus species*. London: Wolfe Medical publications.

www.SID.ir

Archive of SID

Rathgeber, C., Yurkova, N., Stackebrandt, E., Beatty, J.T. and Yurkov, V. (2002) *Isolation of tellurite- and selenite-resistant bacteria from hydrotermal vents of the Juan de Fuca Ridge in the pacific ocean*. Appl. Environ. Microbiol. **68,** 4613-4622.

Ríos, M., García, M.T., Arahal, D.R., and Ventosa, A. (2001) *Salinivibrio kushnerii sp. nov., a new moderately halophilic species tolerant to chromium*. Halophiles 2001, International Conference on Halophilic Microorganisms. Sevilla, Spain. P.9.

Smibert, R.M. and Krieg, N.R. (1994) *Phenotypic characterization*. In Methods for general and Molecular Bacteriology, pp. 607-654. Edited by P. Gerhardt, R.G.E., Murray, W.A., Wood and N.R., Krieg. Washington, DC: American Society for Microbiology.

Souza, M.P., Amini, A., Dojka, M.A., Pickering, I.J., Dawson, S.C., Pace, N.R. and Terry, N. (2001) *Identification and characterization of bacteria in a selenium contaminated hypersaline evaporation pond. Appl. Environ. Microbiol.* **67,** 3785-3794.

Suresh, K.S.R., Prabagaran, S., Senqupta, and Shivaji, S. (2004) *Bacillus indicus sp. Nov. an arsenic resistant bacterium isolated from an aquifer in West Bengal, India.* Int. J. Syst. Evol. Microbiol. In press.

Trevors, J.T., Oddie, K.M., and Belliveau, B.H. (1985) *Metal resistance in bacteria*. FEMS Microbiology Review, **32,** 39-54.

Ventosa, A., Nieto, J.J. and Oren, A. (1998) *Biology of moderately halophilic aerobic bacteria*. Microbiol. Mol. Biol. Rev., **62,** 504-544.

Ventosa, A., Quesada, E., Rodriguez-Valera, F., Ruiz-Berraquero, F., Ramos-Cormenzana, A. (1982) *Numerical taxonomy of moderately Halophilic Gram-negative rods*. J. Gen. Microbiol., **128,** 1959-1968.

Viti, C., Pace, A., and Giovannetti, L. (2003) *Characterization of Cr (VI)-Resistant bacteria isolated from chromium contaminated soil by Tannery activity*. Curr. Microbiol., **46,** 1-5.

Washington, J.A., and Sutter, V.L. (1980) *Dilution susceptibility test: agar and macro-broth dilution procedures*, p. 453-458. In E. H. Lennette, A. Balows, W.J., Hausler, Jr., And J.P., Truant (ed.), Manual of clinical microbiology, 3rd ed. American Society for Microbiology, Washington, D. C.

www.SID.ir