

جداسازی سویه‌های *Streptomyces* مقاوم به مس و جیوه از رسوبات و آب‌های ساحلی مناطق مختلف شرق استان گیلان

مریم بزرگی کوشالشاهی^۱، خسرو عیسی زاده^{۲*}، اکرم تهرانی فرد^۳

۱ و ۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، دانشکده علوم، گروه میکروبیولوژی، لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶

۳- دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، دانشکده علوم، گروه بیولوژی دریا، لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶

(*عهده دار مکاتبات – Issa_kaam@yahoo.com)

چکیده

توسعه فعالیت‌های صنعتی، معدنی و فلزکاری باعث شده تا میزان زیادی فلزات سنگین وارد دریا و نهایتاً رسوبات بستر دریا شوند و در این محیط‌ها، میکروارگانیسم‌ها به فلزات، مقاوم گردند و با توجه به اهمیت *Streptomyces* در تولید متابولیت‌های ثانویه و آنزیم و احیای فلزات، در این مطالعه به جداسازی استرپتومایسس‌های مقاوم به فلزات مس و جیوه از رسوبات و آب‌های ساحلی دریای خزر پرداخته شده است. نمونه‌های آب و رسوبات از ۵ منطقه ساحلی از اعماق ۱۰، ۲۰ و ۳۰ سانتیمتری به طور استریل جمع‌آوری شده و به منظور جداسازی استرپتومایسس‌ها در محیط‌های Starch Casein Agar و Kuster's Agar کشت داده شدند. از آزمایشات بیوشیمیایی از جمله تست لیپاز، هیدرولیز کازئین، هیدرولیز نشاسته، تجزیه ژلاتین، احیای نیترات و تخمیر قندها و... برای شناسایی *Streptomyces* استفاده شد و جهت بررسی استرپتومایسس‌های مقاوم به فلزات مس و جیوه روش‌های Micro dilution و چاهک‌گذاری به کار برده شد، همچنین میزان فلزات سنگین در نواحی مختلف آب‌های ساحلی با روش اسپکتروفتومتری جذب اتمی اندازه‌گیری شد. از مجموع ۴۱ *Streptomyces* ایزوله شده از مناطق ساحلی ۷ سویه (۱۷/۰۷٪) مقاوم به مس تا غلظت ۱۰۰۰ mg/l مس و ۴ سویه (۹/۷۵٪) مقاوم به جیوه می‌باشد که سویه‌های C9، D11 و E16 تا غلظت ۲۰ mg/l و سویه C2 تا غلظت ۴۰ mg/l جیوه مقاوم می‌باشند با توجه به پیدایش *Streptomyces* مقاوم به فلزات سنگین مس و جیوه در دریای خزر این احتمال می‌رود که بتوان از آن‌ها در زیست‌پالایی استفاده کرد.

کلمات کلیدی: *Streptomyces*، فلزات سنگین، مس، جیوه، زیست‌پالایی.

مقدمه

اکتینومیست‌ها جزء قابل توجه جمعیت میکروبی در اکثر خاک‌ها را تشکیل می‌دهند، *Streptomyces* ۹۰ درصد از کل جمعیت اکتینومیست‌ها به شمار می‌روند (۵). *Streptomyces* باکتری رشته‌ای گرم مثبت است که ژنوم آن دارای GC بالا در حدود ۷۰-۶۰ مول درصد می‌باشد. بیش از ۵۰۰ گونه از *Streptomyces* وجود دارد که ظاهر خشک کلنی بالغ، فشرده‌گی طبیعی و رنگ آن و ایجاد میسلیم هوایی و اسپور در محیط جامد تشخیص کلنی‌های *Streptomyces* را آسان می‌کند (۶ و ۱۳). *Streptomyces* دارای دیواره سلولی تیپ ۱ و در خانواده *Streptomycetaceae* و راسته *Actinomycetales* قرار داشته که چرخه زندگی پیچیده دارند (۱۲). گزارش‌های مبنی بر جداسازی این سویه‌ها از رسوبات دریا و مصب رودخانه‌ها گزارش شده است (۱، ۲ و ۷).

آلودگی فلزات سنگین در سراسر جهان با توسعه فعالیت‌های صنعتی، معدنی، فلز کاری و باتری سازی گسترش یافته است. فاضلاب‌های کارخانجات صنعتی مخصوصاً باتری‌سازی‌ها حاوی فلزات سنگین همچون نیکل و مس می‌باشند. اگرچه این فلزات کاربردهای مفیدی برای زندگی ما دارند، اما با وارد شدن به منابع طبیعی آب صدمات جبران ناپذیری برای سلامتی انسان‌ها ایجاد می‌کنند (۳). آلودگی جیوه در محیط ناشی از فعالیت‌های انسانی مثل سوخت زغال سنگ و ترکیبات نفتی می‌باشد، جیوه به طور طبیعی از طریق سنگ و خاک و هم چنین صنایع کاغذ سازی، دباغی چرم، آبکاری و کودهای شیمیایی وارد آب‌های سطحی می‌گردد. فرایند تصفیه فاضلاب نیز ممکن است جیوه را در آب منتشر نماید. سمیت زیاد متیل جیوه

نسبت به ترکیبات معدنی، به دلیل حلالیت در لیپیدها است، این ترکیبات قادرند به سوی مغز، ستون فقرات، سیستم عصبی محیطی و اطراف جفت حرکت کنند، عمده‌ترین عوارض ناشی از مسمومیت با جیوه بروز اختلالات عصبی و کلیوی می‌باشد که در اثر ترکیبات آلی و معدنی جیوه ظاهر می‌شود (۱۱).

مقادیر اندک مس برای همه حیوانات، گیاهان و ارگانیسم‌ها ضروری می‌باشد اما در غلظت‌های بالا سمی بوده و از سنتز ماکرومولکول‌ها و واکنش‌های آنزیمی جلوگیری می‌کند (۱۳). اکثر میکروارگانیسم‌ها به طور دائم به مواد سمی محیط اطرافشان سازگاری نشان داده، استراتژی‌های مقاومت، تحمل، متابولیسم و سم‌زدایی را نسبت به مواد سمی توسعه بخشیده‌اند (۱۳). تحمل باکتری‌ها نسبت به فلزات سنگین به عنوان مقیاس پتانسیل سمیت برای اشکال دیگر حیات مطرح شده است (۱۰).

به دلیل توانایی در تولید ترکیبات فعال زیستی، متابولیت‌های ثانویه، آنزیم‌ها و نقش در زیست پالایی، آفت‌کش‌ها و احیای فلزات سنگین گروه اکتینومیست‌ها موضوع مورد توجه برای دانشمندان می‌باشند (۱۳). گزارش شده است که بعضی از گونه‌های استرپتومایسس‌ها تحمل چندگانه‌ای را نسبت به فلزات سنگین نشان داده‌اند (۹).

در این تحقیق به جداسازی و شناسایی *Streptomyces* از رسوبات و آب‌های ساحلی از ۵ منطقه مختلف شرق دریای خزر و توانایی مقاومت آن‌ها به فلزات سنگین مس و جیوه پرداخته شده است.

فیلتر شده استریل و ۵۰٪ آب مقطر استریل استفاده و سپس در محیط Starch Casein Agar (SCA) و Kuster's Agar (KUA) که با ۵۰٪ از آب دریای فیلتر شده استریل تهیه گشته کشت داده شدند. برای به حداقل رساندن آلودگی‌های قارچی و باکتریایی به هر دو محیط ۷۵ μg/ml سیکلوهگزامید و تتراسایکلین اضافه گردید. تمام پلیت‌ها در دمای ۲۸°C قرار داده و پس از ۱۰-۳۰ روز کلنی‌های این باکتری مشاهده گردید. از بین انواع کلنی‌های ایجادی، کلنی‌های مشکوک به *Streptomyces* را بر اساس ویژگی‌های منحصر به فرد آن‌ها جدا کرده و به محیط کشت SCA دیگری انتقال داده شدند.

Streptomyces از روی مورفولوژی (ظاهر خشک کلنی، چین خوردگی و رنگ آن) و با انجام رنگ-آمیزی گرم و اسید فست و مطابق منابع Bergey's Manual of Systematic Bacteriology مورد بررسی و شناسایی قرار گرفتند و تست‌های بیوشیمیایی نظیر تست لیپاز، هیدرولیز کازئین، هیدرولیز نشاسته، تجزیه ژلاتین، کاتالاز، اوره آز، احیای نترات، سترات و تخمیر قندها (گزیلوز، رافینوز، گالاکتوز، مانیتول، فروکتوز و مالتوز) و تست حساسیت آنتی بیوتیکی نیز انجام گردید.

سنجش میزان فلزات سنگین در آب

برای سنجش میزان فلزات سنگین مس و جیوه نمونه‌ها از طریق یک فیلتر میلی‌پور ۰/۴۵ میکرونی فیلتر شده و با اسید نیتریک اسیدی گردیدند. آنالیز فلزات سنگین در نمونه‌های آب دریا به روش هضم اسیدی صورت گرفت میزان فلزات سنگین در ۵ ایستگاه نمونه برداری، با استفاده از دستگاه اسپکترو-

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌ها

سواحل شرق دریای خزر در استان گیلان را به ۵ ایستگاه (A, B, C, D, E) تقسیم کرده و در هر ایستگاه ۶ نمونه آب و ۶ نمونه رسوب از اعماق ۱۰، ۲۰ و ۳۰ سانتیمتری (۵۰ cm، ۱ m و ۲ m از کنار ساحل) طی فصول بهار و تابستان سال ۱۳۸۹ جمع‌آوری شده و در این ایستگاه‌ها از مصب رودخانه‌ها نیز ۲ نمونه آب و ۲ نمونه رسوب جمع‌آوری شدند (شکل ۱). در هر ایستگاه دما، شوری و pH نمونه‌ها به ترتیب با دستگاه‌های ترمومتر جیوه‌ای، شوری سنج (salinometer) و pH متر اندازه‌گیری شدند. نمونه‌های آب و رسوب در ظروف استریل ۵۰ ml جمع‌آوری شده و به آزمایشگاه منتقل و تا زمان انجام آزمایشات بعدی در یخچال نگهداری شدند.



شکل ۱: موقعیت ایستگاه‌ها

جداسازی *Streptomyces*

به منظور خشک نمودن نمونه‌های رسوب، آن‌ها در حمام آب گرم به مدت ۶۰ دقیقه در حرارت ۵۰°C قرار داده شدند. جهت تهیه رقت از ۵۰٪ آب دریای

۱۰mm بود به عنوان سویه‌های حساس و در صورت مشاهده قطر کمتر از ۷mm به عنوان سویه مقاوم گزارش شدند (۱۱).

تعیین MIC و MBC

حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) به عنوان کمترین غلظت هر فلز که از رشد باکتری بر روی محیط کشت جلوگیری می‌کردند با روش Micro dilution تعیین گردید. با توجه به تعیین مقاومت *Streptomyces* ایزوله شده به مس و جیوه در روش چاهک گذاری، رقت های ۱۲۰۰-۶۰۰ mg/l (۶۰۰، ۷۰۰، ۸۰۰، ۹۰۰، ۱۰۰۰، ۱۱۰۰، ۱۲۰۰) برای CuSO_4 و رقت های ۱۰-۱۶۰ mg/l (۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۶۰) برای HgCl_2 تهیه گردید. در چاهک اول میکروپلیت‌های ۹۶ چاهکی، ۹۵ μl از رقت بالای فلز مورد نظر و در چاهک‌های بعدی رقت‌های پایین‌تر به ترتیب انتقال داده شد و چاهک آخر با ۹۵ μl از محیط MHB بدون فلز به عنوان شاهد تهیه شد، در چاهک‌ها ۵ μl از سوسپانسیون باکتری تلقیح گردیده سپس میکروپلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای 28°C نگهداری و بعد از این زمان، به صورت چشمی کدورت بررسی شد، اولین چاهک فاقد کدورت برای هر استرپتومایسس به عنوان MIC در نظر گرفته شد. حداقل غلظت کشندگی MBC به عنوان کمترین غلظت هر فلز که به طور کامل باعث مرگ باکتری‌ها می‌شد با کشت دادن ۱۰ μl از چاهک‌های فاقد کدورت در محیط ISP2 تعیین گردید.

فتومتری جذب اتمی (atomic absorption spectrophotometer) مدل Thermo s series تعیین گردید.

بررسی مقاومت استرپتومایسس‌ها به مس و جیوه

برای تعیین رقت فلزات مس و جیوه از نمک این فلزات CuSO_4 و HgCl_2 استفاده شد. نمک‌های CuSO_4 و HgCl_2 ابتدا در بالاترین غلظت ۶۴۰ mg/l در محیط MHB (Muller Hinton Broth) آماده و سپس رقت‌های متوالی در محدوده غلظت‌های ۱۰-۶۴۰ mg/l (۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰، ۱۶۰، ۳۲۰، ۶۴۰) تهیه گردید. در اینجا از روش چاهک گذاری برای تعیین سویه‌های مقاوم استفاده شد. بدین منظور از استرپتومایسس‌های ایزوله شده سوسپانسیون ۲۴ ساعته در دمای 28°C در محیط MHB تهیه گردید تا کدورتی مشابه لوله ۰/۵ مک فارلند ایجاد نماید در صورت عدم مشاهده کدورت به دلیل رشد کند بعضی از سویه‌ها به مدت ۲۴ ساعت دیگر در همان دما نگهداری شدند. سپس توسط سوآب استریل از لوله حاوی سوسپانسیون باکتری مقداری برداشت نموده و روی پلیت‌های حاوی محیط MHA (Mueller Hinton Agar) و ISP2 (International Streptomyces Project) که از قبل در آن چاهک تعبیه گردیده بود به صورت خطوط موازی در سه جهت کشت داده شد به گونه‌ای که تمام سطح پلیت از یک لایه میکروبی یکنواخت پوشیده شود. در چاهک‌ها به میزان ۵۰ میکرولیتر از رقت‌های مختلف تهیه شده از فلزهای نامبرده ریخته و این پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای 28°C نگهداری شدند. اگر قطر هاله عدم رشد بزرگتر از

نتایج

از ۸۰ نمونه مورد بررسی در این مطالعه، ۴۱ *Streptomyces* بر اساس صفات مورفولوژی و میکروسکوپی و بیوشیمیایی شناسایی شدند، که از بین آن‌ها ۳۹ کلنی در محیط SCA و ۲ کلنی در محیط KUA جدا شدند. *Streptomyces* جدا شده در این تحقیق دارای ظاهری خشک و چین خورده و برجسته بوده و رنگ کلنی آن‌ها سفید، شیری، سفید متمایل به آبی و خاکستری دیده شدند و ۵ سویه (۱۲٪) از ایزوله‌ها در محیط پیگمان تولید کردند (جدول ۱).

در رنگ آمیزی و مشاهدات میکروسکوپی، رشته‌های گرم مثبت دراز و منشعب که در انتهای رشته، اسپورها به صورت دانه‌های تسییح دیده شدند. این رشته‌ها در رنگ آمیزی اسید فست از نوع زیل-نلسون، نسبی و یا منفی می‌باشند. خصوصیات بیوشیمیایی سویه‌های مقاوم ایزوله شده در جدول نشان داده شده است (جدول ۲).

با انجام روش چاهک گذاری سویه‌های مقاوم شناسایی شدند که از مجموع ۴۱ *Streptomyces* ایزوله شده ۷ سویه (۱۷/۰۷٪) D8، C9، D11، C12، E14، E16 و E17 مقاومت بالایی به Cu در غلظت ۱۰۰۰ mg/l نشان دادند و در ۴ سویه (۹/۷۵٪) C9، C2، D11 و E16 مقاومت بالا به Hg مشاهده شد که سویه-

های C9، D11 و E16 تا غلظت ۲۰ mg/l و سویه C2 تا غلظت ۴۰ mg/l جیوه مقاوم می‌باشند. برای تعیین MIC و MBC در روش Micro dilution به نتایج مشخص شده در جدول ۳ دست یافته شد.

جدول ۱: مورفولوژی سویه‌های مقاوم

مورفولوژی کلنی	رنگ کلونی	تولید پیگمان
C2	سفید	قهوه‌ای
C9	سفید مایل به خاکستری	-
C12	سفید مایل به آبی	-
D8	شیری	زرد مایل به سبز
D11	سفید مایل به قهوه‌ای	شیری
E14	خاکستری روشن	-
E16	خاکستری	-
E17	خاکستری	-

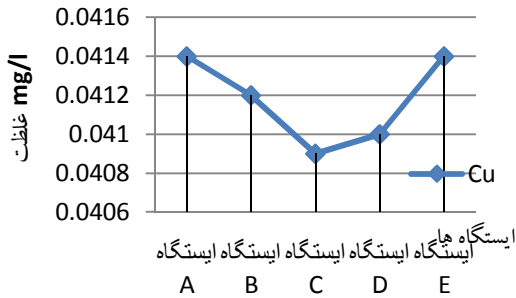
غلظت مس در آب‌های ۵ ایستگاه مشخص شده سواحل شرق دریای خزر، در نمودار ۱ نشان داده شده و قابل به ذکر است به دلیل ناچیز بودن جیوه در آب‌ها، میزان غلظت جیوه در حد تشخیص دستگاه جذب اتمی نبوده است.

جدول ۲: تست‌های بیوشیمیایی و حساسیت آنتی بیوتیکی

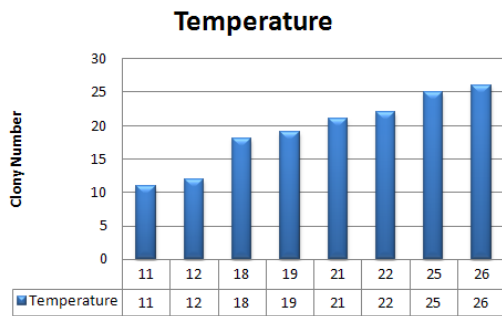
E17	E16	E14	D11	D8	C12	C9	C2	کلنی
								تست‌ها
								تخمیر قندها
+	+	+	+	+	+	+	+	فروکتوز
+	-	-	-	-	+	+	+	مانیتول
-	-	+	-	-	+	+	-	مالتوز
-	-	-	+	+	+	+	+	گزیلوز
-	-	+	-	+	+	+	-	گالاکتوز
-	-	-	-	-	-	-	-	رافینوز
+	+	+	+	+	+	+	+	هیدرولیز نشاسته
+	+	+	+	+	+	+	+	هیدرولیز ژلاتین
+	+	+	+	+	+	+	+	هیدرولیز کازئین
+	+	+	+	+	+	+	+	لیپاز
-	-	-	-	-	-	-	-	اوره آز
+	+	+	+	+	+	+	+	کاتالاز
-	-	-	-	-	+	+	-	نیترات
-	-	-	+	-	+	-	+	سیترات
-	-	-	-	-	-	-	-	تولید H ₂ S
R	R	R	R	۲۱ mm	۱۵ mm	R	R*	حساسیت آنتی بیوتیک ریفامپین (5mcg)
R	R	۲۳ mm	R	R	۲۲ mm	R	R	نیتروفوران توین (300mcg)
R	۲۲ mm	R	R	۱۵ mm	R	۱۸ mm	۲۲ mm	نالیدیکسیک اسید (30mcg)
۲۰ mm	R	۳۰ mm	۳۰ mm	۲۶ mm	۳۴ mm	۱۶ mm	۱۷ mm	جنتامایسن (10mcg)
R	R	R	R	R	R	R	R	پنی سیلین (10u)
R	R	۱۷ mm	R	R	۱۵ mm	R	R	اریترومایسین (15mcg)
R	R	R	R	R	R	R	R	آمپی سیلین (10mcg)

R: مقاوم

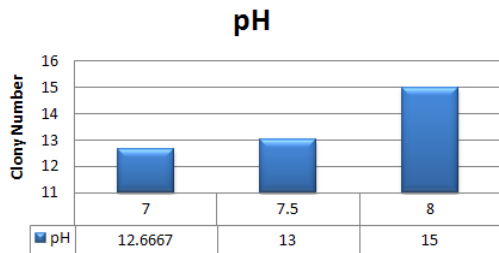
Streptomyces جدا شده از خاک را دمای ۲۸°C و pH حدود ۶-۷ را گزارش کردند.



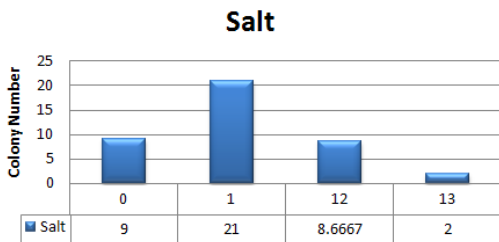
نمودار ۱: غلظت فلز مس در آب‌های ۵ ایستگاه



نمودار ۲: ارتباط دما با فراوانی استرپتومایسس‌ها



نمودار ۳: ارتباط میان pH با فراوانی استرپتومایسس‌ها



نمودار ۴: ارتباط میان غلظت نمک با فراوانی استرپتومایسس‌ها

جدول ۳: میزان MIC و MBC، *Streptomyces* ایزوله شده

نسبت به مس و جیوه		نسبت به مس و جیوه		فلز / کلنی
Hg	Cu	Hg	Cu	
MBC	MIC	MBC	MIC	
۱۶۰	۸۰	۹۰۰	۸۰۰	C2
۸۰	۴۰	۱۲۰۰	۱۱۰۰	C9
-	S	۱۲۰۰	۱۱۰۰	C12
-	S	۱۲۰۰	۱۱۰۰	D8
۸۰	۴۰	۱۲۰۰	۱۱۰۰	D11
-	S	۱۲۰۰	۱۱۰۰	E14
۴۰	۴۰	۱۲۰۰	۱۱۰۰	E16
-	S	۱۲۰۰	۱۱۰۰	E17

S: حساس

با توجه به روش‌های آماری انجام شده با نرم افزار SPSS و آزمون ANOVA، اختلاف معناداری بین پراکندگی *Streptomyces*، دما، pH و غلظت نمک آب و رسوبات دریایی در سطح $P < 0.01$ وجود دارد که در دمای ۲۶°C و pH = ۸ و غلظت نمک ۱ ppt بیشترین فراوانی را دارند، البته هرچه غلظت نمک افزایش یابد تعداد کلنی‌ها کاهش می‌یابد (نمودارهای ۲، ۳ و ۴).

بحث

هدف اصلی این تحقیق جداسازی استرپتوما- یسس‌های مقاوم به Cu و Hg از آب و رسوبات ساحلی و همچنین بررسی ارتباط میان غلظت نمک و pH و درجه حرارت آب‌ها و رسوبات ساحلی مختلف با میزان پراکندگی *Streptomyces* می‌باشد.

Yadav و همکاران (۱۳) در سال ۲۰۰۹ با تحقیقاتی که انجام دادند بهترین شرایط رشد برای

Sehgal and Gibbons) SGA و KUA و Agar (Agar محیط مناسب تری معرفی کردند که با نتایج ما همخوانی داشت.

از آنجا که اکتینومیست‌ها گروه بزرگی از جمعیت میکروبی خاک را تشکیل می‌دهند و با توجه به تنوع متابولیت‌های آن‌ها و خصوصیات ویژه و فرم میسلیوم آن‌ها تعیین کننده این نظر می‌باشد که به عنوان یک عامل مناسب برای حذف زیستی (bioremediation) ترکیبات آلی و فلزات سنگین مورد استفاده قرار گیرند (۴).

سپاسگزاری

بدین وسیله از اداره محیط زیست مرکزی استان گیلان که در تعیین میزان فلزات سنگین نمونه‌ها همکاری صمیمانه نموده‌اند بی‌نهایت سپاسگزاری می‌شود.

منابع

1. Deepika, T. L., Kannabiran, K., 2009. A morphological, Biochemical and Biological Studies of Halophilic *Streptomyces* sp. Isolated from Saltpan Environment. American Journal of Infectious Diseases, Vol. 5, pp. 200-206.
2. Jensen, P. R., Dwight R., Fenical, W., 1991. Distribution of actinomycetes in near-shore tropical marine sediments. Applied and Environmental Microbiology, Vol.57, pp. 1102-1108.
3. Öztürk, A., Artan, T., Ayar, A., 2004. Biosorption of nickel (II) and copper(II) ions from aqueous solution by *Streptomyces coelicolor* A3(2). Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, Vol. 34, pp.105-111.
4. Polti, M. A., Amoroso, M. J., Abate, C. M., 2007. Chromium (VI) resistance and removal by *Actinomycete* strains isolated from sediments. Chemosphere, Vol. 67, pp. 660-667.

با استفاده از محیط کشت SCA و بر اساس خصوصیات مورفولوژیکی و مطالعات میکروسکوپی *Streptomyces* از بین کلنی‌های مختلف ۳۹ کلنی به عنوان سویه‌های *Streptomyces* جدا شد و تنها دو کلنی *Streptomyces* از محیط KUA جدا و با توجه به اینکه دو محیط به کار برده شده دارای ترکیبات یکسان بوده و فقط در میزان NaCl اختلاف دارند (KUA=2% , SCA=0.2%)، به نظر می‌رسد که SCA برای جداسازی *Streptomyces* سواحل دریای خزر محیط مناسب‌تری می‌باشد که Remya و Vijayakumar نیز در تحقیقات خود مبنی بر جداسازی اکتینومیست‌ها از سواحل هند، محیط SCA را بهترین محیط کشت برای رشد بالای اکتینومیست‌ها معرفی کردند (۸).

Yadav و همکاران (۱۳) از خاک مناطق خلیج بنگال در هند ۳ سویه استرپتومایس (A160, A161 و ۱۶۴A) با مقاومت بالا به Cu حدود ۴۸۰ mg/l شناسایی کردند.

در تحقیق حاضر ۷ سویه (D11, C9, D8, C12, E14, E16 و E17) مقاوم به Cu تا غلظت ۱۰۰۰ mg/l می‌باشند و سه سویه (D11, C9 و E16) مقاوم به Hg تا غلظت ۲۰ mg/l ($7/35 \times 10^{-5}$ mol) و یک سویه C2 تا ۴۰ mg/l ($14/7 \times 10^{-5}$ mol) شناسایی شد.

در مطالعه‌ای که توسط Senthilkumar و همکاران (۱۱) در سال ۲۰۰۳ انجام گرفت یک سویه استرپتومایسس (SH-9) از مرداب‌های شور سواحل هند شناسایی کردند که مقاومت بالایی به $HgCl_2$ در غلظت ۱۵۰-۱۰۰ nmol نشان داده است، همچنین این محققان SCA را نسبت به GAA (Glycerol Asparagine)

5. Poopal, A. C., Laxman, R. S., 2009. Studies on biological reduction of chromate by *Streptomyces griseus*. Hazardous Materials, Vol. 169, pp. 539-545.
6. Prescott, L. M., Harley, J. P., Klein, D. A., 2002. Microbiology. 5th ed.
7. Ravel, J., Schrempf, H., Hill, R. T., 1998. Mercury Resistance Is Encoded by Transferable Giant Linear plasmids in Two Chesapeake bay *Streptomyces* strains. Applied and Environmental Microbiology, Vol. 64, pp. 3383-3388.
8. Remya, M., Vijayakumar, R., 2008. Isolation and characterization of marine Antagonistic *Actinomycetes* from west coast of India. Medicine and Biology, Vol.15, pp. 13-19.
9. Rho, J. Y., Kim, J. H., 2002. Heavy metal biosorption and its significance to metal tolerance of *Streptomyces*. Microbiology Society of Korea, Vol. 40, pp. 51-54.
10. Rifaat, H. M., Mahrous, K. F., Khalil, W. K. B., 2009. Effect of heavy metals upon Metallothioneins in some *Streptomyces* Species Isolated from Egyptian soil. Sciences in Environmental Sanitation, Vol. 4, pp.197-206.
11. Senthilkumar, S., Sivakumar, K., Kannan, L., 2005. Mercury resistant halophilic *Actinomycetes* from the salt marsh environment of velar estuary, southeast coast of India. Aqua. Biol., Vol. 20, pp. 141-145.
12. Shirling, E. B., Gottlieb, D., 1968. Cooperative description of type culture of *Streptomyces* II species description from first study. Int J Syst Bacteriol, Vol. 18, pp.18-69.
13. Yadav, A. K., Kumar, R., Saikia, R., Bora, T. C., Arora, D. K., 2009. Novel copper resistant and antimicrobial *Streptomyces* isolated from Bay of Bengal, India. Mycology Medical, Vol. 19, pp. 234-240.

Archive 03