Archive of SID

نشریه دامپزشکی
در
پژوهش و سازندگی شماره ۱۰۸ پاییز ۱۳۹۴
DOI: 10.22034/vj.2015.101788

# جداسازی *Streptomyces*های مقاوم به Cr و Cd از رسوبات و آب‌های دریایی مناطق مختلف شرق استان گیلان

• **مریم بزرگی کوشالشاهی (نویسنده مسئول)**
کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان
• **خسرو عیسی زاده**
استادیار گروه میکروبیولوژی دانشگاه آزاداسلامی واحد لاهیجان
• **اکرم تهرانی فرد**
استادیار گروه میکروبیولوژی دانشگاه آزاداسلامی واحد لاهیجان
تاریخ دریافت: دیماه ۹۱ تاریخ پذیرش: خردادماه ۹۳
Email: maryam_bozorgi20@yahoo.com

## چکیده

**توسعه فعالیت های صنعتی، معدنی و فلز کاری باعث شده تا میزان زیادی فلزات سنگین وارد دریا و نهایتا رسوبات بستر شوند و منجر به ایجاد میکروارگانیسم‌های مقاوم به این فلزات گردند. با توجه به اهمیت Streptomycesها در تولید متابولیت‌های ثانویه، آنزیم و قابلیت احیای فلزات، به جداسازی Streptomycesهای مقاوم به فلزات کروم و کادمیوم از رسوبات و آب های ساحلی دریاچه خزر در این مطالعه پرداخته شده است. نمونه‌های آب و رسوبات از مناطق ساحلی به طور استریل جمع آوری شده و به منظور جداسازی Streptomycesها، در محیط های SCA و KUA کشت داده شدند. از آزمایشات بیوشیمیایی از جمله تست لیپاز، هیدرولیز کازئین، هیدرولیز نشاسته و غیره برای شناسایی این باکتری‌ها استفاده شد و جهت بررسی سویه های مقاوم به فلزات Cr و Cd، روش چاهک گذاری و برای تعیین MIC و MBC، روش Microdilution به کار برده شد. همچنین میزان فلزات سنگین در نواحی مختلف آب های ساحلی با روش اسپکتروفتومتری جذب اتمی اندازه گیری شدند. از مجموع ۴۱ Streptomyces جدا شده از مناطق ساحلی ۷ جدایه (۱۷/۰۷٪) مقاوم به کروم تا غلظت ۳۲۰ mg/l و ۵ جدایه (۱۲/۱۹٪) مقاوم به کادمیوم تا غلظت ۶۴۰ mg/l شناسایی شدند، همچنین بین پراکندگی این باکتری‌ها، دما، pH و غلظت نمک آب و رسوبات ($P > 0/01$) اختلاف معناداری وجود دارد. با توجه به پیدایش Streptomyces های مقاوم به فلزات سنگین Cr و Cd در دریاچه خزر این احتمال می رود که بتوان از آن‌ها در زیست پالایی استفاده کرد.**

**کلمات کلیدی:** Streptomyces، فلزات سنگین، دریاچه خزر

www.SID.ir

Archive of SID



Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 108 pp: 28-34

Isolation of Cr, Cd resistant Streptomyces from marine waters and sediments in different regions in east of Guilan province

*By: Bozorgi kushalshahi, M., (Corresponding Author) , Department of Microbiology, Islamic Azad University, Lahijan Branch, Lahijan. Issazade, K., Department of Microbiology, Islamic Azad University, Lahijan Branch, Lahijan and Tehranifard, A., Department of Marine Biology, Islamic Azad University, Lahijan Branch,Lahijan.*

Received: December 2012 Accepted: May 2014

Email: maryam_bozorgi20@yahoo.com

Expansion of industrial activities, mining and metal plating could cause releasing amount of high heavy metals into seawater and marine sediment led to heavy metals resistant microorganisms. Due to important role of Streptomyces in production of secondary metabolites, enzymes and elements reduction ability, were studied isolation of heavy metals (cadmium and chromium) resistant Streptomyces from marine sediments and coastal waters of Caspian Sea. Marine sediments and water samples were collected from coastal locations aseptically. SCA and KUA were used for the isolation of Streptomyces and biochemical testes like lipid, casein, starch hydrolysis and etc. carried out for identification of Streptomyces and determination of heavy metals (Cr, Cd) resistant Streptomyces was performed with well diffusion assay and for detection of MIC and MBC used Microdilution assay. Also, amounts of heavy metals in different parts of coastal waters measured with atomic absorption spectrophotometry assay. A total of 41 Streptomyces isolated from coastal locations 7 isolated (17/07%) showed chromium resistant to 300mg/l, 5 isolated (12/19%) showed cadmium resistant to 600mg/l. There was a significant difference between Streptomyces, temperature, pH and salt concentration ($P < 0.01$). Due to existence of heavy metals (Cd, Cr) resistant Streptomyces in the Caspian Sea probability can use them as well suited agents for Bioremediation.

Key words: Streptomyces, Heavy metals, the Caspian Sea

## مقدمه

استرپتومایسس باکتری رشته ای گرم مثبت است که ژنوم آن دارای G+C بالا در حدود ۷۰-۶۰ مول درصد می باشد. بیش از ۵۰۰ گونه از استرپتومایسس وجود دارد که ظاهر خشک کلنی بالغ، فشردگی طبیعی و رنگ آن و ایجاد میسلیوم هوایی و اسپور در محیط جامد تشخیص کلنی های استرپتومایسس را آسان می کند (۱۶). استرپتومایسس‌ها در خانواده Streptomycetaceae و راسته Actinomycetales قرار دارند. اکتینومیستال ها از نظر اختلاف مواد شیمیایی موجود در دیواره سلولی طبقه بندی می‌گردند، پپتیدوگلیکان در دیواره سلولی همه این باکتری‌ها از نظر داشتن گالاکتوز، آرابینوز، گلیسین و دی آمینوپایمیلیک به چهار تیپ متفاوت دیواره سلولی تقسیم می شوند که استرپتومایسس ها دارای دیواره سلولی تیپ ۱ و چرخه زندگی پیچیده‌ای می‌باشند (۱۳). اکتینومیست‌ها جزء قابل توجه جمعیت میکروبی در اکثر خاک ها را تشکیل می دهند، استرپتومیسس ها ۹۰ درصد از کل جمعیت اکتینومیست ها به شمار می‌روند (۶). مدارکی مبنی بر جداسازی این باکتری ها از رسوبات دریا و مصب رودخانه ها گزارش شده است (۲، ۴ و ۹).

هر نوع فعالیت صنعتی، در آلودگی محیط و اکوسیستم تاثیر می‌گذارد و باعث انباشتگی آلاینده ها مثل فلزات سنگین (سرب، کادمیوم، جیوه، روی و نیکل و غیره) می شود، از طرفی آلودگی خاک ها و آب های زیر زمینی و رسوبات و آب های سطحی و هوا، مشکلات متعددی در سلامت انسان و محیط به بار می آورد (۵). فلزات سنگین در غلظت کم برای موجودات سمی نمی باشند و حتی بعضی از این فلزات (Zn و Ni) با اتصال به آنزیم ها نقش کوفاکتور را دارند اما غلظت های بالای آن ها، باعث افزایش درون سلولی شده و با تشکیل فرم های فعال اکسیژن و یا با اتصال برگشت ناپذیر به مرکز فعال آنزیم ها و مانع از فعالیت آنزیم ها شده و باعث تخریب DNA می‌گردند (۱۳).

کروم و ترکیباتش در اول لیست مواد شیمیایی سمی بسیاری از کشورها (امریکا و کانادا) قرار دارد، این فلز در چندین صنعت همچون کارخانه های کروم کاری، ذخیره سازی چوب و عکاسی مورد استفاده قرار می گیرد و در طبیعت به دو صورت Cr(III) و Cr(VI) وجود دارد که Cr(VI) هزار برابر بیشتر از Cr(III) سیتوتوکسیک و جهش زا می‌باشد و در انسان سبب نکروز شدن کبد، التهاب کلیه می شود و در نهایت مرگ را به دنبال دارد. کادمیوم نیز از فلزات سمی دیگری است که تقریبا در همه جا یافت می‌شود، کارخانجات آبکاری، باطری سازی، رنگسازی، تلویزیون



www.SID.ir

Archive of SID



و نیمه رساناها از جمله منابع آلاینده Cd در محیط زیست می‌باشند و خطرات بی شماری را برای انسان به بار می‌آورد (۷).

اکثر میکروارگانیسم ها به طور دائم به مواد سمی محیط اطرافشان سازگاری نشان داده، استراتژی های مقاومت، تحمل، متابولیزه و سم زدایی را نسبت به مواد سمی توسعه بخشیده اند (۱۶). تحمل باکتری ها نسبت به فلزات سنگین به عنوان مقیاس پتانسیل سمیت برای اشکال دیگر حیات مطرح شده است (۱۲). به دلیل توانایی در تولید ترکیبات فعال زیستی، متابولیت های ثانویه، آنزیم ها و نقش در زیست پالایی فلزات سنگین و آفت کش ها و احیای فلزات، گروه اکتینومیست ها موضوع مورد توجه برای دانشمندان می باشند (۱۶). گزارش شده است که بعضی از گونه های استرپتومایسس ها تحمل چندگانه ای را نسبت به فلزات سنگین نشان داده اند (۱۱).

در این تحقیق ما به جداسازی و شناسایی Streptomyces از رسوبات و آب های ساحلی ۵ منطقه مختلف دریاچه خزر و توانایی مقاومت آن ها به فلزات سنگین Cr و Cd پرداختیم.

## مواد و روش کار

### جمع آوری نمونه ها

سواحل دریاچه 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 (۵۰cm، ۱mو ۲m از کنار ساحل) طی فصول بهار و تابستان سال ۱۳۸۹ جمع آوری شده و در این ایستگاه ها از مصب رودخانه ها نیز ۲ نمونه آب و۲ نمونه رسوب جمع آوری شدند. در هر ایستگاه دما، شوری و pH نمونه‌ها به ترتیب با دستگاه های ترمومتر جیوه ای، شوری سنج (salinometer) و pH متر اندازه‌گیری شدند. نمونه های آب و رسوب در ظروف استریل ۵۰ml جمع‌آوری شده و به آزمایشگاه منتقل و تا زمان انجام آزمایشات بعدی در یخچال نگهداری شدند.

### جداسازی استرپتومایسس ها

ابتدا مقداری از نمونه های رسوب جمع آوری شده را داخل بشر استریل ریخته، سپس در حمام آب گرم به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۵۰°C خشک نموده تا آلودگی های باکتریایی کاهش یابد، سپس از هر نمونه رسوب خشک شده و آب با ۵۰٪ آب دریای فیلتر شده استریل و ۵۰٪ آب مقطر استریل رقت تهیه شد و در محیط SCA (Starch Casein Agar) و Kuster's Agar (KUA) که با ۵۰٪ از آب دریای فیلتر شده استریل تهیه گشته کشت داده شدند. برای به حداقل رساندن آلودگی های قارچی و باکتریایی به هر دو محیط ۷۵ µg/l سیکلوهگزامید و تتراسایکلین اضافه گردید. تمام پلیت ها در دمای ۲۸°C قرار داده و پس از ۳۰-۱۰ روز کلنی های این باکتری مشاهده گردید. از بین انواع کلنی های ایجادی، کلنی های مشکوک به استرپتومایسس را بر اساس ویژگی های منحصر به فرد آن ها جدا کرده و به محیط کشت SCA دیگری انتقال داده شدند (۴).

استرپتومایسس ها 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 تست های بیوشیمیایی نظیر تست لیپاز، هیدرولیز کازئین، هیدرولیز نشاسته، تجزیه ژلاتین، کاتالاز، اوره آز، احیای نیترات، سیترات و تخمیر قندها (گزیلوز، رافینوز، گالاکتوز، مانیتول، فروکتوز و مالتوز، دکستروز، ساکارز و گلوکز) و تست حساسیت به آنتی بیوتیک نیز انجام گردید.

### سنجش میزان فلزات سنگین در آب

برای سنجش میزان فلزات سنگین Cr و Cd نمونه ها از طریق یک فیلتر میلی پور ۰/۴۵ میکرونی فیلتر شده و با اسید نیتریک اسیدی گردیدند. آنالیز فلزات سنگین در نمونه های آب دریا به روش هضم اسیدی صورت گرفت (۱)، میزان فلزات سنگین در ۵ ایستگاه نمونه برداری، با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری جذب اتمی (atomic absorption spectrophotometry) مدل Thermo s series تعیین گردید.

### بررسی مقاومت استرپتومایسس ها به Cr و Cd

برای تعیین سویه های مقاوم از روش چاهک گذاری و برای تهیه رقت فلزات Cr و Cd از نمک این فلزات $K_2Cr_2O_7$ و $CdCl_2$ استفاده شد. نمک های $K_2Cr_2O_7$ و $CdCl_2$ ابتدا در بالاترین غلظت ۶۴۰ mg/l در محیط Muller Hinton Broth (MHB) آماده و سپس رقت‌های متوالی در محدوده غلظت های ۶۴۰ mg/l -۱۰(۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰، ۱۶۰، ۳۲۰ و ۶۴۰) تهیه گردید. از استرپتومایسس های ایزوله شده سوسپانسیون ۲۴ ساعته در دمای ۲۸°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 سویه ها 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 گونه ای که تمام سطح پلیت از یک لایه میکروبی یکنواخت پوشیده شود. در چاهک ها به میزان ۵۰ میکرولیتر از رقت های مختلف تهیه شده از فلزهای نامبرده ریخته و این پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۸°C نگهداری شدند. بعد از این مدت قطر هاله عدم رشد بررسی شد، اگر قطر هاله عدم رشد بزرگتر از ۱۰ mm بود به عنوان سویه های حساس و در صورت مشاهده قطر کمتر از ۷ mm به عنوان سویه مقاوم گزارش شدند (۱۴).

### تعیین MIC و MBC

حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) به عنوان کمترین غلظت هر فلز که از رشد باکتری بر روی محیط کشت جلوگیری می کردند با روش Microdilution تعیین گردید. با توجه به تعیین مقاومت استرپتومایسس‌های ایزوله شده به Cr و Cd در روش چاهک گذاری، رقت های mg/l ۶۰۰-۳۰۰ (۳۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰ و



www.SID.ir

Archive of SID



۶۰۰) بـرای $K_2Cr_2O_7$ و رقت هـای mg/l ۱۰۰۰-۶۰۰ (۶۰۰، ۷۰۰، ۸۰۰، ۹۰۰ و ۱۰۰۰) بـرای $CdCl_2$ تهیـه گردیـد. در چاهـک اول میکروپلیـت هـای ۹۶ چاهکـی، ۹۵ µl از رقت بالای فلـز مورد نظر و در چاهـک های بعدی رقت های پایین تر به ترتیب انتقال داده شـد و چاهـک آخر با ۹۵ µl از محیط MHB بدون فلز به عنوان شـاهد تهیه شـد، در چاهک ها ۵ µl از سوسپانسـیون باکتری تلقیح گردیده سپس میکروپلیت ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۸°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 باکتری ها می شد با کشت دادن ۱۰ µl از چاهک های فاقد کدورت در محیط ISP2 تعیین گردید.

## نتایج

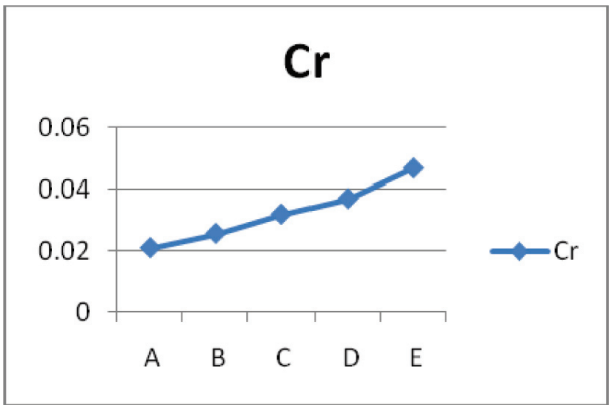
از ۸۰ نمونه مورد بررسـی در این مطالعه، ۴۱ استرپتومایسـس بر اساس صفات مورفولوژی و میکروسکوپی و بیوشیمیایی شناسایی شدند، کـه از بین آن‌هـا ۳۹ کلنی در محیط SCA و ۲ کلنی در محیط KUA جدا شدند. استرپتومایسس های جدا شده در این تحقیق دارای ظاهری خشک و چین خورده و برجسته بوده و رنگ کلنی آن ها سفید، شیری، سـفید متمایل به آبی و خاکسـتری دیده شـدند و ۵ جدایه (۱۲٪) از ایزوله‌ها در محیط پیگمان تولید کردند (جدول ۱).

در رنگ آمیزی و مشـاهدات میکروسـکوپی، رشته های گرم مثبت دراز و منشعب که در انتهای رشته، اسپورها به صورت دانه های تسبیح دیده شدند. این رشته ها در رنگ آمیزی اسید فست از نوع زیل- نلسون، نسـبی و یا منفی می باشند. خصوصیات بیوشـیمیایی استرپتومایسس های مقاوم ایزوله شده در جدول نشان داده شده است (جدول ۲).

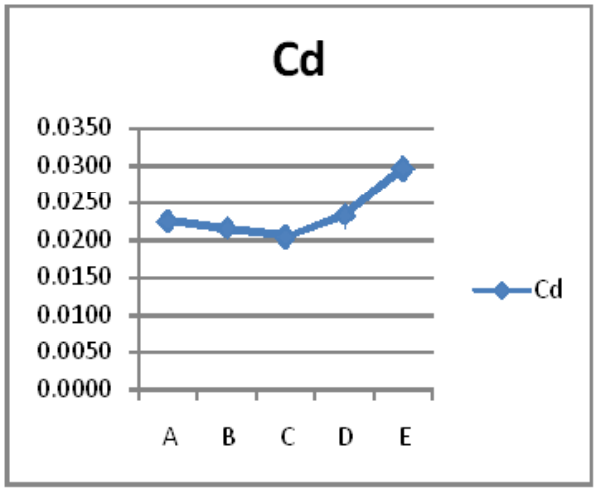
با انجام روش چاهک‌گذاری استرپتومایسـس‌های مقاوم شناسـایی

جدول ۱- مورفولوژی سویه های مقاوم

| مورفولوژی ایزوله ها | رنگ کلونی | تولید پیگمان |
|---|---|---|
| C۲ | سفید | قهوه ای |
| A۴ | سفید مایل به قهوه ای | - |
| D۸ | شیری | زرد مایل به سبز |
| C۹ | سفید مایل به خاکستری | |
| E۲۴ | خاکستری روشن | - |
| E۲۷ | آجری | - |
| D۲۸ | شیری | - |
| E۳۲ | خاکستری | - |
| E۳۹ | خاکستری | - |




نمودار۱- میزان Cr در آب ۵ ایستگاه




نمودار۲- میزان Cd در آب ۵ ایستگاه

شکل۱- نمونه‌ای از Streptomyces جدا شده



www.SID.ir

Archive of SID



جدول۲- تست‌های بیوشیمیایی انجام شده برای شناسایی Strptomycesهای جداشده از رسوبات و آب‌های دریایی

| ایزوله ها / تست ها | C۲ | A۴ | D۸ | C۹ | E۲۴ | E۲۷ | E۲۸ | E۳۲ | E۳۹ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| تخمیر فروکتوز | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| تخمیر مانیتول | + | + | – | + | + | + | – | – | + |
| تخمیر مالتوز | + | – | – | + | + | + | – | – | – |
| تخمیر گزیلوز | + | + | + | + | – | + | + | – | – |
| تخمیر گالاکتوز | – | + | + | + | + | + | + | – | – |
| تخمیر رافینوز | – | – | – | – | _ | – | – | – | – |
| تخمیر گلوکز | – | – | + | + | + | – | – | + | – |
| تخمیر دکستروز | + | – | – | + | + | + | – | + | – |
| تخمیر ساکارز | + | + | + | + | + | – | + | – | + |
| هیدرولیز نشاسته | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| هیدرولیز ژلاتین | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| هیدرولیز کازئین | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| لیپاز | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| اوره آز | – | – | – | – | – | – | – | – | – |
| کاتالاز | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| نیترات | – | + | – | + | – | – | – | – | – |
| سیترات | + | – | – | – | – | – | – | – | – |
| تولیدH۲S | – | – | – | – | – | – | – | – | – |
| حساسیت به آنتی بیوتیک ریفامپین (۵mcg) | R* | R | ۲۱ mm | R | R | R | R | R | R |
| نیتروفورانتوین (۳۰۰mcg) | R | R | R | R | ۲۳mm | R | ۱۷ mm | R | R |
| نالیدیکسیک اسید (۳۰mcg) | ۲۳ mm | R | ۱۵mm | ۱۸ mm | R | ۲۰mm | ۲۲mm | R | R |
| جنتامایسن (۱۰mcg) | ۱۷ mm | ۳۷ mm | ۲۶mm | ۱۶ mm | ۳۰ mm | ۱۵mm | ۲۵ mm | R | ۲۰mm |
| پنی‌سیلین (۱۰u) | R | R | R | R | R | R | R | R | R |
| اریترومایسین (۱۵mcg) | R | ۱۵mm | R | R | ۱۷mm | R | mm ۱۵ | R | R |
| آمپی‌سیلین (۱۰mcg) | R | R | R | R | R | R | ۱۵mm | R | R |

* Resistant : مقاوم



www.SID.ir

Archive of SID



شدند که ازمجموع ۴۱ استرپتومایسس ایزوله شده ۷ جدایه (۱۷/۰۷٪) A۴، D۸، E۲۴، E۲۷، D۲۸، E۳۲ و E۳۹ مقاومت بالایی به Cr در غلظت ۳۲۰ mg/l نشان دادند و در ۵ جدایه (۱۲/۱۹٪) C۲، D۸، C۹، E۳۲ و E۳۹ مقاومت بالا به Cd تا غلظت ۶۴۰ mg/l مشاهده شد. برای تعیین MIC و MBC در روش Microdilution به نتایج مشخص شده در جدول۳ دست یافته شد.

غلظت Cr و Cd در آب‌های ۵ ایستگاه مشخص شده سواحل دریاچه خزر، در نمودار زیر نشان داده شده است که میانگین غلظت Cr، mg/l ۰/۰۳۶۶ و میانگین غلظت Cd، mg/l ۰/۰۲۳۴ می‌باشد.

## بحث

هدف اصلی این تحقیق جداسازی استرپتومایسس های مقاوم به Cr و Cd از آب و رسوبات ساحلی و همچنین بررسی ارتباط میان غلظت نمک و pH و درجه حرارت آب ها ورسوبات ساحلی مختلف با میزان پراکندگی استرپتومایسس ها می باشد که با توجه به روش های آماری انجام شده با نرم افزار SPSS و آزمون ANOVA، اختلاف معناداری بین پراکندگی استرپتومایسس‌ها، دما، pH و غلظت نمک آب و رسوبات دریایی در سطح ($p < ۰/۰۱$) وجود دارد که در دمای ۲۶°C و pH= ۸ و غلظت نمک ppt ۱ بیشترین فراوانی را دارند، البته هر چه غلظت نمک افزایش یابد تعداد کلنی‌ها کاهش می‌یابد .

Yadav و همکاران در سال ۲۰۰۹ با تحقیقاتی که انجام دادند بهترین شرایط رشد برای استرپتومایسس های جدا شده از خاک را دمای ۲۸°C و pH حدود ۷-۶ را گزارش کردند (۱۶).

با استفاده از محیط کشت SCA و بر اساس خصوصیات مورفولوژیکی و مطالعات میکروسکوپی استرپتومایسس ها از بین

جدول ۳- نتایج MIC و MBC برای فلزات Cr و Cd

| فلز مقدار کلنی | Cr | | Cd | |
|---|---|---|---|---|
| | MIC | MBC | MIC | MBC |
| C۲ | ❋S | - | ۷۰۰ | ۸۰۰ |
| A۴ | ۴۰۰ | ۵۰۰ | S | - |
| D۸ | ۴۰۰ | ۵۰۰ | ۷۰۰ | ۹۰۰ |
| C۹ | S | - | ۷۰۰ | ۸۰۰ |
| E۲۴ | ۴۰۰ | ۶۰۰ | S | - |
| E۲۷ | ۴۰۰ | ۵۰۰ | S | - |
| D۲۸ | ۴۰۰ | ۶۰۰ | S | - |
| E۳۲ | ۴۰۰ | ۵۰۰ | ۷۰۰ | ۸۰۰ |
| E۳۹ | ۴۰۰ | ۵۰۰ | ۷۰۰ | ۸۰۰ |

❋: Sensetive حساس

کلنی های مختلف ۳۹ کلنی به عنوان سویه های استرپتومایسس جدا شد و تنها ۲ کلنی استرپتومایسس 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=۲٪ , SCA=۲٪)، به نظر می رسد که SCA برای جداسازی استرپتومایسس های سواحل دریاچه خزر محیط مناسب تری می باشد که Remya وVijayakumar نیز در تحقیقات خود مبنی بر جداسازی اکتینومیست ها از سواحل هند، محیط SCA را بهترین محیط کشت برای رشد بالای اکتینومیست ها معرفی کردند(۱۰). در مطالعه ای که توسط Senthilkumar و همکاران در سال ۲۰۰۳ انجام شد یک سویه Streptomyces (SH-9) از مرداب‌های شور سواحل هند شناسایی کردند که این محققان محیط SCA را نسبت به محیط های GAA و KUA و SGA ، محیط مناسب تری معرفی کردند که با نتایج ما همخوانی دارد (۱۴).

در مطالعه حاضر ۷ استرپتومایسس مقاوم به Cr تا غلظت ۳۲۰ mg/l ( ۱/۰۹ mM) و ۵ استرپتومایسس مقاوم به Cd تا غلظت ۶۴۰ mg/l از رسوبات و آب های دریایی جدا شدند. Morales و همکاران در سال ۲۰۰۷ در جستجوی میکروارگانیسم های مقاوم به Cr و مناسب برای حذف زیستی بودند، آن ها در تحقیقات خود گونه های Streptomyces را یافتند که فلزات سنگین را تحمل می کنند و علاوه بر اثرات سمی فلز Cr بر رشدشان، با این حال در تبدیل و احیاء Cr(VI) به Cr(III) مناسب می‌باشند، لذا این میکروارگانیسم های مقاوم به کروم، یک مورد مناسب برای سم زدایی مناطق آلوده به فلزات سنگین می‌باشند (۶).

Poopal و Laxman در سال ۲۰۰۹ مطالعاتی درباره کاهش زیستی کروم توسط *Streptomyces griseus* انجام دادند متوجه شدند این باکتری می تواند Cr(VI) در غلظت های ۱۰، ۱۵، ۳۰، ۴۳، ۵۳، ۶۴، ۷۱ و ۸۹ میلی گرم در لیتر را به Cr(III) احیاء کند ولی غلظت های بالاتر (۹۶mg/l) مانع از رشد سلول می شود که در مقایسه با استرپتومایسس های جدا شده در این تحقیق مقاومت بسیار پایینی دارد (۸).

در مطالعه ای که توسط Polti و همکاران در سال ۲۰۰۷ انجام گرفت ۹ استرپتومایسس مقاوم به کروم تا غلظت ۱۳ mM از رسوبات مناطق آلوده جدا کردند (۷).

Huang و همکارانش در سال ۲۰۰۵ باکتری های مقاوم به دو فلز مس و کادمیوم را از خاک های آلوده به فلزات سنگین جداسازی کردند. این باکتری‌ها قادر به تحمل ۳mM کادمیوم بودند (۳).

از آنجا که اکتینومیست‌ها گروه بزرگی از جمعیت میکروبی خاک را تشکیل می دهند و با توجه به تنوع متابولیت‌های آن‌ها و خصوصیات ویژه و فرم میسلیوم آن‌ها تعیین کننده این نظر می باشد که به عنوان یک عامل مناسب برای حذف زیستی (bioremediation) ترکیبات آلی و فلزات سنگین مورد استفاده قرار گیرند (۷).

## تشکر و قدردانی

بدین وسیله از اداره محیط زیست مرکزی استان گیلان که در تعیین میزان فلزات سنگین نمونه ها همکاری صمیمانه نموده اند بی نهایت سپاسگزاری می شود.



www.SID.ir

Archive of SID



## پاورقی ها

1- Glycerol Asparagine Agar

2- Sehgal and Gibbons Agar

## منابع مورد استفاده


1. Baldwin, D.R. and Marshall W.J., 1999. Heavy metal poisoning and its laboratory investigation, J.Ann.Clin.Biochem. 36 pp: 267-300.

2. Deepika, T.L. And Kannabiran, K. ,2009. A morphological , Biochemical and Biological Studies of Halophilic Streptomyces sp. Isolated from Saltpan Environment, Am. J.Infect.Dis 5(3) pp:200-206.

3. Huang, Q.,Chen,W. and Xu, L., 2005. Adsorption of Copper and Cadmium by Cu- And Cd-resistant Bacteria and Their Composites with Soil Colloids and Kaolinite, J. Geomicrobiol. Vol .22 pp: 227-236.

4. Jensen, P. R., Dwight R. and Fenical, W. , 1991. Distribution of Actinomycetes in near-shore tropical marine sediments, J. Appl. Environ. Microbiol. 57 pp:1102–1108.

5. Lesmana,S.O., Febrianaa, N., Soetaredjo, F.E., Sunarso, J., Ismadji, S., 2009. Studies on potential applications of biomass for the separation of heavy metals from water and wastewater, J. Biochemical Engineering 44 pp:19-41.

6.Morales, D.K., Ocampo, W., Zambrano, M.M., 2007. Efficient removal of hexavalent chromium by a tolerant Streptomyces sp. Affected by the toxic effect of metal exposure, J. Appl. Microbiol .103(6) pp: 2704-2712.

7 .Polti, M.A., Amoroso, M.J., Abate C.M.,2007. Choromium (VI) resistance and removal by Actinomycete strains isolated from sediments, J. chemosphere 67 pp:660-667.

8. Poopal, A.C., Laxman, R.S., 2009. Studies on biological reduction of chromate by *Streptomyces griseus*, J.Hazardous Materials 169 pp:539-545.

9. Ravel, J., Schrempf, H. and Hill, R. T. ,1998. Mercury Resistance Is Encoded by Transferable Giant Linear plasmids in Two Chesapeapeake bay Streptomyces strins, J.Appl. Environ.microbiol. Vol.64.No.9 pp:3383-3388.

10. Remya, M., Vijayakumar, R.,2008. Isolation and characterization of marine Antagonistic Actinomycetes from west coast of India, J.Medicine and Biology Vol.15 No.1 pp:13-19.

11. Rho, J.Y. and Kim, J.H. ,2002. Heavy metal biosorption and its signifiacance to metal tolerance of Streptomycetes, J.microbiol Society of corea, Vol. 40 No. pp:51-54.

12 .Rifaat, H.M, Mahrous, K.F ., Khalil, W. K.B, 2009.Effect of heavy metals upon Metallothioneins in some Streptomyces Species Isolated from Egyption soil, J.Sciences in Environmental Sanitation 4(3) pp:197-206.

13. Schmidt,A., Haferburg,G., Schmidt,A., Lischke, U., Merten,D., Ghergel,F.,
Bu¨chel,G., Kothe, E., 2009. Heavy metal resistance to the extreme: Streptomyces strains from a former uranium mining area, J. Chemie derErde 69 pp:35-44.

14. Senthilkumar, S., Sivakumar, K. and Kannan, L.,2005.Mercury resistant halophilic Actinomycetes from the salt marsh environment of velar estuary, southeast coast of India, J.Aqua. Biol. Vol. 20(1) pp:141-145.

15. Shirling, EB., Gottlieb, D. 1968. Cooperative description of type culture of Streptomyces II species description from first study, Int. J. Syst Bacteriol 18pp:69-18.

16. 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,J.de mycology Medical 19 pp:234-240.




www.SID.ir