مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی - مولکولی
دوره ششم، شماره بیست و چهارم- پائیز۱۳۹۵

Research Article
مقاله تحقیقی

مطالعه ژن های کد کننده‌ی مقاومت به کادمیوم و نیکل در سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از فاضلاب تهران

هانیه السادات قائم‌مقامی[۱]، میترا صالحی[۲*]، نور امیر مظفری ثابت[۳]

۱- گروه میکروبیولوژی ، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات، تهران، ایران.

۲- دانشگاه آزاد اسلامی ، واحد تهران شمال، تهران، ایران.

۳- دانشکده ایران، تهران، ایران.

چکیده

سابقه و هدف: فعل و انفعالات میکروارگانیسم‌ها بر روی فلزات سنگین از مدت‌ها قبل مطالعه های بسیاری را به خود اختصاص داده است و برای کاربردهایی متفاوتی از جمله، کنترل و حذف فلزات سنگین از فاضلاب‌ها مورد بررسی قرار گرفته است. در این راستا شناسایی مقاومت باکتری‌های گوناگون به فلزات سنگین مختلف از اهمیت بالایی برخوردار است.

از این‌رو در این پژوهش اثر فلزات سنگین، مشابه کادمیوم و نیکل بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا (استخراج شده از فاضلاب‌های سطح تهران) مورد بررسی قرار گرفته و حضور ژن های کدکننده‌ی مقاوم به این فلزات مشابه *czr* مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش ها: در این راستا ۲۴۰ نمونه، از فاضلاب‌ها و پساب‌ها جمع آوری شد که از میان آن ها، تنها ۱۰٪ سودوموناس آئروژینوزا، جداسازی و خالص‌سازی گردید و مقاومت این باکتری، در برابر رقت‌های مختلفی از نمک فلزات سنگینِ نیکل و کادمیوم، با اندازه گیری MIC سنجیده شد و مورد بررسی قرار گرفت، هم چنین برای بررسی وجود ژن کدکننده‌ی مقاوم به فلز سنگین کادمیوم (*czr*) از PCR کمک گرفته شد.

یافته ها: نتایج نشان از آن داشت که باکتری سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از فاضلاب‌های سطح تهران نسبت به ۱mM فلز سنگین نیکل کاملا مقاوم بوده، اما در مقابل فلز سنگین کادمیوم مقاومتی در رنج ۶/۹ µM تا ۷۹µM از خود نشان می‌داد. هم چنین وجود ژن مقاوم به کادمیوم، *czr* در این باکتری با PCR به اثبات رسید.

بحث: این مطالعه نشان داد که مقاومت گونه‌های مختلف باکتری سودوموناس آئروژینوزا به فلز سنگین کادمیوم متفاوت است.

نتیجه گیری: نتایج به دست آمده حاکی از آن بود که باکتری مورد نظر در مقابل فلز سنگین کادمیوم مقاوم بوده، اما میزان مقاومت آن، به میزان فلز سنگین موجود در محیط زندگی آن، وابسته است.

کلمات کلیدی : سودوموناس آئروژینوزا، فلزات سنگین، کادمیوم، نیکل، PCR، *czr*

مقدمه

رسوب فلزات سنگین در بافت آبزیان، گیاهان و جانوران به دلیل وجود این فلزات در آب و خاک محیط اطراف، مضرات فراوانی هم چون، به خطر افتادن حیات موجودات زنده و قرارگیری در چرخه محیط‌زیست را با خود بهمراه دارد. از آن‌جایی که انسان‌ها مصرف‌کننده‌های اصلی منابع غذایی هستند لذا پاک‌سازی این محیط‌ها (آب، خاک) از وجود فلزات سنگین الزامی است.

استفاده از این میکروارگانیسم‌ها برای کنترل و از بین بردن فلزات سنگین از فاضلاب‌ها یکی از کاربردهایی است که مطالعه های زیادی را به خود اختصاص داده است.

از این‌رو مطالعه های فراوانی در ارتباط با فعل و انفعالات فلزات سنگین بر روی میکروارگانیسم‌ها صورت گرفته که هر یک از

نویسنده مسئول :

دانشگاه آزاد اسلامی ، واحد تهران شمال، تهران، ایران.

پست الکترونیکی: mitra_salehi_microbiology@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۶/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۱/۰۵

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.6.24.8.7]

این مطالعه های مباحث مختلفی را مدنظر قرار داده‌اند، به عنوان نمونه، Laila در سال ۲۰۱۱ به بررسی الگوی مقاومتی باکتری‌های گرم متبت و گرم منفی در مقابل فلزات سنگین پرداخته (۷)، Hassen در سال ۱۹۹۸ مقاومت سویه‌های باکتری سودوموناس آئروژینوزا را در مقابل فلزات سنگین و هم چنین حضور مواد دیگری مشابه اسیدسیتریک سنجیده است. امروزه هدف مطالعه‌ی بسیاری از محققان بررسی میزان مقاومتِ باکتری‌های مختلف، به فلزات سنگین گوناگونِ استخراج شده از محیط‌های متفاوت، مشابه فاضلاب صنعتی، محیط‌های بیمارستانی، آب و خاک است (۱۴-۱).

تحقیقات Sethuraman که توانایی زودون کروم توسط باکتری‌های *Bacillus subtilis*، *Pseudomonas aeroginosa* و *Enterobacter cloacase* را مورد مطالعه قرار داده (۱۵،۱۳) و هم چنین بررسی‌هایی که در آن توانایی فلزات، در جذب شدن به گیاهان (۸، ۶، ۴) و استفاده از میکروارگانیسم‌های مقاوم، به عنوان شاخصه‌ای از شدت سمیت (۲،۱۰) را مورد مطالعه قرار داده‌اند، بر اهمیت موضوع می‌افزایند. تاکنون بررسی‌های فراوانی از این دست بر روی باکتری‌های مختلف، که از محیط‌های گوناگون استخراج شده‌اند، انجام شده، اما در مورد باکتری سودوموناس، بلاخص گونه‌ی آئروژینوزا که Ceylan هم در پژوهش خود (۱۲) اشاره کرده یکی از بهترین باکتری‌ها در حذف فلزات سنگین از محیط‌های آلوده و هم چنین یکی از بهترین کاندیداها برای نمایش دادن کیفیت آب از نظر وجود میکروارگانیسم‌ها می‌باشد، بررسی‌های زیادی صورت نگرفته است.

از این‌رو تصمیم گرفته شد که مقاومت باکتری سودوموناس آئروژینوزای استخراج شده از پساب‌های سطح شهر تهران (بررسی فاضلاب شهری، برخلاف کارهای مشابه انجام شده در مورد فاضلاب صنعتی)، نسبت به فلزات سنگینی هم چون نیکل و کادمیوم مورد بررسی قرار داده شود.

تا ضمن بررسی مقاومت باکتری فوق‌الذکر نسبت به فلز سنگین کادمیوم که یکی از ده فلز سنگین بسیار مضر برای محیط زیست است، ژن کدکننده‌ی مقاوم به این فلز سنگین در باکتری سودوموناس آئروژینوزا به کمک روش مولکولی (PCR) شناسایی گردد.

روش کار

در این مطالعه از میان ۲۴۰ نمونه‌ی جمع‌آوری شده، ۲۴ سویه از سودوموناس آئروژینوزا، از نمونه‌های محیطی (سطح تهران) جداسازی گردید و برای تعیین مقاومت و یا حساسیت این سویه‌ها نسبت به فلزات سنگین نیکل و کادمیوم، اقدام به انجام تستِ مقاومت، به روش دیسک‌گذاری شد.

برای این منظور، ابتدا با سوآپ از آب‌های جمع‌آوری شده بر روی محیط کشت سیتروماید‌آگار، کشت انجام داده و در انکوباتور در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ تا ۷۲ ساعت گرماگذاری شد. سپس کلونی‌هایی که به رنگ سبز-آبی بودند، جداسازی و خالص‌سازی گردیدند، هم چنین از تست بیوشیمیایی که در جدول۱ قابل مشاهده است برای تشخیص باکتری سودوموناس آئروژینوزا از میان سایر باکتری‌ها استفاده شد.

نام گونه / تست بیوشیمیایی	کاتالاز	اکسیداز	اندول	MR	گلوکز OF	لاکتوز OF	هیدرولیز ژلاتین	آرژنین دهیدرولاز	رشد در ۴۲ درجه C
سودوموناس آئروژینوزا	+	+	–	+	+	–	+	+	+

جدول۱- تست بیوشیمیایی جهت شناسایی باکتری سودوموناس آئروژینوزا

پس از خالص‌سازی، الگوی حساسیت سویه‌ها نسبت به فلزات سنگین نیکل و کادمیوم بررسی شد.

برای اندازه گیری مقاومت سویه‌ها نسبت به فلزات سنگین نیکل و کادمیوم ابتدا رقت‌های متفاوتی از نمک سولفات نیکل و نیترات کادمیوم تهیه شد (جدول۴).

سپس به میزان ۳۰µl از هر یک از رقت‌های تهیه شده روی دیسک‌های بلانک ریخته و دیسک‌ها بر روی پلیت‌های حاوی محیط کشت سیتروماید‌آگار که سویه‌ها به روش متراکم پاساژ داده شده قرار داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور گرماگذاری شدند.

جهت تعیین MIC، از روش تهیه‌ی رقت در لوله (ماکرو دایلیوشن) استفاده شد، به این صورت که یک لوله شاهد حاوی محیط کشت و باکتری فاقد فلز سنگین در نظر گرفته شد. سپس رقت سریال از فلز سنگین تهیه شد. به هر لوله مقدار معین از باکتری افزوده و درون انکوباتور ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت گرماگذاری شد. سرانجام لوله‌ها با لوله‌ی شاهد مقایسه و لوله‌ای که باکتری هیچ‌گونه رشد قابل مشاهده‌ای در آن نداشت، رقتش به عنوان MIC در نظر گرفته شد.

سپس با خط‌کش قطر هاله‌های عدم رشد را اندازه گیری کرده و به عنوان معیاری از سنجش مقاومت سویه‌ها به فلزات سنگین سولفات نیکل و نیترات کادمیوم مدنظر قرار داده شد.

به دلیل حضور ژن *czr* بر روی پلاسمید باکتری، از کیت پلاسمیدی شرکتZYMO RESEARCH CORP استفاده شد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.6.24.8.7]

برای اثبات وجود ژن مقاوم به کادمیوم و نیکل در باکتری سودوموناس آئروژینوزا تکنیک PCR استفاده گردید که پرایمر مورد استفاده در آن دارای توالی‌های آورده شده در جدول۲ است (۱۱):

Forward primer (F)	GTG ATC AGC CCG CAG- 5 TTG TC- 3
Reverse primer ((R	TGC CCA GTT CGG ATT- 5 TGA GGA TGA- 3

جدول۲- توالی پرایمر

پس از استخراج پلاسمی دهای باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا، به منظور شناسایی ژن مقاوم به کادمیوم به صورت آن‌چه در جدول۳ آورده شده عمل شد (۱۱).

number of cycle	Time at tem-perature	Steps	Process	Num
cycle 1	5min at 95˚c	Step1	Denaturation	1
	30s at 95˚c	Step2		
cycle 30	30s at 55˚c			
	80s at 72˚c			
cycle 1	10min at 72˚c	Step1	Elongation	2

جدول۳- مراحل طی شده برای شناسایی ژن مقاوم به کادمیوم

با طی مراحل اشاره شده در جدول۳، ژن مقاوم مورد نظر از DNA پلاسمیدی خارج شده و آماده گردید تا الکتروفوز بر روی آن انجام شود.

محصول PCR روی ژل ۱٪ بررسی شد.

یافته‌ها:

نتایج حاصل از قطر هاله‌ی عدم رشد در حضور کادمیوم در جدول۴ برای ۱۲ سویه سودوموناس آئروژینوزای ایزوله شده از فاضلاب، آورده شده است و هم چنین اثر میزان دوزِ فلز سنگین بر روی رشد باکتری نیز مد نظر قرار گرفته است. توجه شود که در مورد فلز سنگین نیکل تا mM۱,۵ هاله‌ای تشکیل نگردید.

نیترات کادمیوم (mM) / قطر هاله (cm)	4.8* 10^{-3}	9.6* 10^{-3}	19.2* 10^{-3}	38.4* 10^{-3}	7.9* 10^{-2}	0.158	0.24	0.32	0.40	0.47	0.55
لاله	-	-	**۰/۸**	۱/۶	۲	۲/۶	۳	۳/۶	۴	۴/۲	۴/۷
معین	-	**۰/۹**	۱/۴	۱/۹	۲/۳	۲/۹	۳	۳/۱	۳/۷	۳/۹	۴/۲
سیمون بولیوار	-	-	**۱**	۱/۳	۱/۶	۳	۳/۲	۳/۸	٤/۱	۴/۵	۴/۷
دربندی	-	-	-	**۱/۱**	۱/۷	۲	۲/۴	۲/۷	۲/۹	۳/۲	۳/۵
استخر	-	**۱**	۱/۳	۱/۶	۱/۸	**۲/۱**	۲/۴	۲/۵	۲/۸	۳	۳/۴
هنگام	-	-	**۱/۴**	۱/۷	۲	۲/۵	۲/۷	۲/۸	۳	۳/۲	۳/۵
ورودی‌د انشگاه	-	-	**۱/۲**	۱/۶	۱/۹	۲/۳	۲/۵	۲/۶	۲/۹	۳	۳/۲
جناح	-	-	-	**۱/۱**	۱/۴	۱/۸	۲/۴	۲/۸	۳/۱	۳/۶	۴
کوهسار	-	-	-	-	**۱/۵**	۱/۷	۱/۲	۲/۳	۲/۵	۲/۶	۲/۷
گیشا	-	-	-	**۰/۹**	۱	۱/۳	۱/۷	۱/۲	۲/۶	۲/۷	۳/۱
بلوار صبا	-	-	**۰/۹**	۱/۱	۱/۵	۱/۹	۲/۴	۲/۶	۲/۷	۲/۹	۳/۲
فرجام	-	**۰/۹**	۱/۲	۱/۵	۱/۸	۲/۱	۲/۵	۲/۷	۲/۹	۳/۱	۳/۴

جدول۴- قطر هاله‌های تشکیل شده در محیط کشت متناسب با غلظت‌های متفاوت نیترات کادمیوم

یک نمونه از نتایج به دست آمده ناشی از، عدم رشد باکتری سودوموناس آئروژینوزا در مقابل کادمیوم، که به صورت هاله‌ای (ناحیه‌ای که باکتری در آن رشد نکرده است)، قابل رؤیت می‌باشد، در شکل۱ آورده شده است.



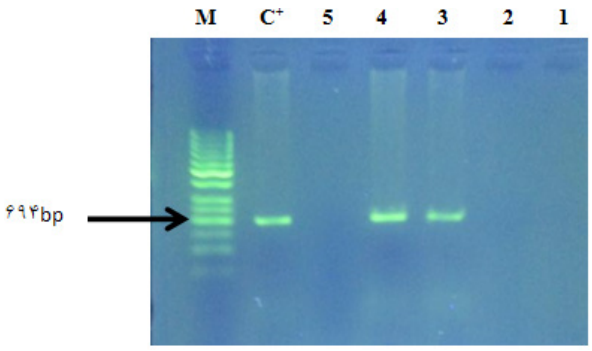
شکل۱- قطر هاله‌ی عدم رشد باکتری سودوموناس آئروژینوزا (۲,۶ سانتی متر) در مقابل ۰,۴ میلی مول فلز سنگین کادمیوم

از نتایج به دست آمده و عدم تشکیل هاله تا رقت مشخصی (که از جدول۴ قابل مشاهده است)، در هر یک از نمونه‌های استخراج شده از موقعیت‌های مختلف قابل دریافت است که، مقاومت باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزای استخراج شده از فاضلاب‌های سطح تهران نسبت به کادمیوم، در رنج ۶/۹ µM تا ۷۹µM قرار دارد.

کنترل مثبت و نتایج ناشی از PCR برخی از نمونه‌های حاوی ژن *czr* در شکل۲ قابل مشاهده است.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.6.24.8.7]



شکل۲- کنترل مثبت بهمراه جواب PCR دو تا از نمونه‌های حاوی ژن *czr* (در چاهک۳و ۴، نمونه‌های سودوموناس آئروژینوزا، چاهک۶، کنترل مثبت و چاهک۷، مارکر)

قابل ذکر است که سویه‌های باکتری سودوموناس آئروژینوزای استخراج شده از فاضلاب‌های سطح تهران تا غلظت ۱/۵ mM در مقابل فلز نیکل از خود مقاومت نشان دادند.

بحث

از جمله نتایج استخراج شده می توان به حساسیت بیش تر سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا در مطالعه‌ی حاضر، نسبت به محققان دیگر نظیر Hassan (۹) و Raja (۳) اشاره نمود، در بررسی Hassan، مقاومت گونه‌های مختلف باکتری سودوموناس آئروژینوزا (مشابه CMG۱۰۳ تا CMG۱۰۷) به کادمیوم، در رنج ۱-۲ mM گزارش شده و در کار Raja نیز این مقاومت در رنج ۴-۷ mM به دست آمده است. قابل مشاهده است که در هر دو بررسی رنج مقاومت باکتری سودوموناس آئروژینوزا با رنج به دست آمده در مطالعه‌ی حاضر بسیار فاصله دارد، البته ناگفته نماند که نتایج Hassan و Raja نیز با یکدیگر متفاوت است.

Raja در بررسی‌های خود بیان کرده چنان‌چه میزان فلز سنگینی در محیط زندگی باکتری زیاد باشد، مقاومت آن باکتری نسبت به آن فلز سنگین افزایش می‌یابد، به عبارت دیگر میزان مقاومت یک باکتری به فلز سنگین مشخصی می تواند تابعی از میزان آن فلز سنگین در محیط زندگی باکتری باشد (۳).

بنابراین اگر به بررسی صورت گرفته توسط Hassan مراجعه شود علت بالاتر بودن مقاومت به دست آمده برای باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا در مطالعه های انجام گرفته توسط او کاملا مشخص خواهد شد، زیرا باکتری‌های تحت بررسی در کار او از یک رودخانه‌ای در پاکستان جمع‌آوری شده‌اند، که آب این رودخانه در حالت عادی حاوی مقدار زیادی کادمیوم است.

در بررسی Raja نیز نمونه‌ها از فاضلاب‌های صنعتی استخراج شده‌اند، که احتمال وجود فلز سنگین در آن ها بالا است.

اما در مطالعه‌ی حاضر باکتری سودوموناس آئروژینوزا از فاضلاب‌های سطح تهران استخراج شده‌اند، که در حالت عادی انتظار می‌رود میزان کادمیوم در آن ناچیز و در نتیجه مقاومت باکتری به فلز کادمیوم پایین باشد، که این نکته از نتایج به دست آمده در مطالعه‌ی حاضر نیز قابل اثبات است.

نکته‌ی دیگر رنج مقاومتی به دست آمده برای باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزای استخراج شده از فاضلاب‌های سطح تهران، که ۶/۹ - ۷۹μM است می‌باشد.

این رنج نشان از آن دارد که مقاومت برخی از باکتری‌ها در یک موقعیت نسبت به برخی که در موقعیت دیگری قرار دارند (در مطالعه‌ی حاضر)، در مقابل کادمیوم بیش تر است.

در توضیح این موضوع می توان به دو اثر اشاره نمود، ۱- متفاوت بودن گونه‌ی سودوموناس آئروژینوزا و ۲- متفاوت بودن میزان کادمیوم در محیط زندگی باکتری‌های استخراج شده از نقاط مختلف شهر تهران.

در توضیح علت اول می‌بایست متذکر شد، که در مطالعه‌ی انجام شده، تنها باکتری سودوموناس آئروژینوزا از میان سایر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی با انجام تست‌های بیوشیمیایی جدا گردید و گونه‌های مختلف باکتری سودوموناس آئروژینوزا از یکدیگر متمایز نگردیدند، بنابراین در مطالعه‌ی حاضر می تواند انواع گونه‌های باکتری سودوموناس آئروژینوزا شرکت داشته باشند. از طرفی متفاوت بودن رنج مقاومت گونه‌های مختلف یک باکتری مشابه سودوموناس آئروژینوزا CMG۱۰۳ تا CMG۱۰۷ از نتایج Hassan قابل دریافت است(۹)، به عنوان نمونه CMG۱۰۶، ۲mM بوده، در حالی که CMG۱۰۱ برابر ۵/۱ mM می‌باشد.

بنابراین یکی از علت‌های به دست آمدن مقاومت مختلف برای باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزای استخراج شده از مکان‌های مختلف در مطالعه‌ی حاضر، می تواند متفاوت بودن گونه‌های آن ها نسبت به یکدیگر باشد.

اما این نمی تواند تنها دلیل این موضوع باشد، زیرا همان‌گونه که در فوق اشاره گردید، حتی مقاومت باکتری‌های یکسان نیز (از نظر نوع و گونه، مشابه باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا با گونه‌های یکسان، نسبت به یکدیگر) که در محیط‌هایی با میزان فلز سنگین متفاوت زندگی می کنند، می تواند نسبت به یکدیگر متفاوت باشد. بنابراین شاید علت متفاوت به دست آمدن مقاومت باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزای استخراج شده از مکان‌های مختلف شهر تهران، متفاوت بودن میزان فراوانی فلز کادمیوم در محیط زندگی آن ها بوده باشد.

در بخش یافته‌ها اشاره گردید که ۱۰۰٪ باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزای استخراج شده از موقعیت‌های مختلف شهر تهران، در ازای حداقل غلظت ۱/۵mM کادمیوم از خود مقاومت نشان

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.6.24.8.7]

داده‌اند.

قابل ذکر است که اکثر کارهایی که تاکنون بر روی بررسی مقاومت باکتری سودوموناس آئروژینوزا در مقابل نیکل انجام شده تنها مقاومت داشتن این باکتری به فلز سنگین نیکل را، با بررسی رشد و یا عدم رشد باکتری در حضور این فلز مورد مطالعه قرار داده‌اند و تنها، در منبع (۵) اشاره شده که احتمالا مقاومت باکتری سودوموناس آئروژینوزا به نیکل بواسطه حضور ژن های مقاوم بر روی کروموزوم می‌باشد، از این‌رو بررسی‌های خود را از محتوای پلاسمیدی به کروموزوم برای یافتن توالی به منظور انجام PCR تغییر داده، اما باز هم منبعی که بواسطه‌ی آن بتوان توالی برای یکی از ژن های کدکننده‌ی مقاوم به نیکل در سودوموناس آئروژینوزا یافت، پیدا نگردید.

یادآوری این نکته ضروری است که نکات بیان شده تنها در مورد سودوموناس آئروژینوزا اعتبار دارد و در مورد باکتری‌های دیگر مشابه *Basillus* و *Alculigene* و حتی سودوموناس از نوع *Riboflavia* نیز مقاومت به نیکل با انجام PCR بررسی گردیده است (۱)، که مقاومت آن ها به ترتیب ۵mM، ۱۰mM و ۱۰mM به دست آمده است.

نتیجه گیری

در پژوهش انجام شده که بررسی ژن های کدکننده‌ی مقاوم به فلزات سنگین کادمیوم و نیکل می‌باشد، مقاومت باکتری سودوموناس آئروژینوزا به فلز سنگین کادمیوم با حضور ژن *czr* در این باکتری به اثبات رسید.

سپاسگزاری

در انتها تشکر می کنم از سرکار خانم دکتر میترا صالحی و جناب آقای دکتر نور امیر مظفری ثابت بابت راهنمایی‌های ارزشمندشان در راستای انجام پژوهش.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.6.24.8.7]

منابع

1. Abou-Shanab R. van Berkum P. Angle J. Heavy metal resistance and genotypic analysis of metal resistance genes in gram-positive and gram negative bacteria present in Ni-rich serpentine soil and in the rhizosphere of Alyssum murale. Chemosphere, 2007; 68: 360–367.

2. Doelman P. Jansen E. Michels M. Van Til M. Effects of heavy metals in soil on microbial diversity and activity as shown by the sensitivity-resistance index, an ecologically relevant parameter. Biol. Fertil. Soil, 1994; 17: 177- 184.

3. Edward Raja C. Selvam G.S. Kiyoshi Omine. Isolation, Identification and Characterization of heavy methal resistant bacteria from sewage. Int. J. Sym Geo. Preven Geoenvir. asia, 2009; 205-211.

4. Holm P. Christensen T. Tjell J. McGrath S. Heavy metals in the environment. Speciation of cadmium and zinc with application to soil solutions. J. Environ. Qual, 1995; 24: 183-190.

5. Hassen A. Saidi N. Cherif M. Boudabous A. Effects of heavy metals on *Pseudomonas aeruginosa* and bucillus thvringiensis. Bioresour. thechnol,1998; 65:73-82.

6. Lun X. & Christensen T. Cadmium complexation by solid waste leachates. Water Rex, 1989;. 23: 81-84.

7. Laila M, Wagdy K. Thanaa H. Karima F. Heavy Metal Resistance and Gene Expression Analysis of Metal Resistance Genes in Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria Present in Egyptian Soils. J Appl Sci Environ Sani, 2011; 6 (2): 201-211.

8. Mullen M. Wolf D. Ferris F. Beveridge T. Flemming C. Bailey G. Bacterial sorption of heavy metals Appl. Environ. Microbial, 1989; 55: 3143-3149.

9. Mah-e-Talat H. Daniel V. Dirk S. Ute R. Nuzhat A. Identification of a gene cluster, *czr*, involved in cadmium and zinc resistance in *Pseudomonas aeruginosa* . Gene,1999; 238: 417–425.

10. Olson B. Thornton I. The resistance patterns to metals of bacterial populations in contaminated land. J. Soil Sci, 1982; 33: 271-277.

11. Olasumbo L. Mary D. Resistance Determinants of *Pseudomonas Species* from Aquaculture in Australia.J Aquac Res Dev, 2012; 3: 1-6.

12. CEYLAN O. Uğur A. Bio-Monitoring of Heavy Metal Resistance in *Pseudomonas* and *Pseudomonas* Related Genus. J. BIOL. ENVIRON SCI, 2012; 6(18): 233-242.

13. Rohit M. Sheela S. Uptake of zinc in Pseudomonas sp. strain UDG26. Appl. Environ. Microbial, 1994; 60: 2367-2370.

14. Raafat M. Enzi A. Alaa H. Charrakh A. Heavy Metal Resistant Bacteria:*Pseudomonas aeruginosa* as a model. Babylon University, Iraq. Lap LAMB Academ, 2013.

15. Sethuraman P. Balasubramanian N. Removal of Cr(VI) from aqueous solution using *Bacillus subtilis, Pseudomonasaeruginosa* and *Enterobacter cloacae.* Int. J. Eng Sci Technol, 2010; 2(6): 1811-1825.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.6.24.8.7]