تجزیه‌ی حشره کش دیمتوات توسط باکتری Pseudomonas Putida

دکتر ابوالفضل نظریان[1]

تاریخ دریافت ۸۸/۲/۱ تاریخ پذیرش ۸۸/٤/۱۷

چکیده

پیش زمینه و هدف: دیمتوات[2] به‌عنوان ترکیب آلی فسفردار در مبارزه با آفات کشاورزی استفاده می‌شود که برای اعصاب انسان سمی است. پسودوموناس‌های حاوی پلاسمیدهای تجزیه کننده ترکیبات فسفردار، راهی مناسب برای پاکسازی محیط زیست معرفی شده‌اند.

مواد و روش کار: پسودوموناس پیوتیدا از خاک آلوده به این سموم تفکیک و در محلول معدنی غنی شده با دیمتوات، شناسائی و به‌طور مطلوبی کشت شد. مصرف دیمتوات براساس مهار (سمیت) استیل کولین استراز بدست آمد. پلاسمیدهای تجزیه کننده آنزیم‌های هیدرولیتیک به‌وسیله آکریدین اورنج حذف شدند و از باکتری مقاوم به حساس منتقل شدند.

یافته‌ها: دیمتوات با غلظت ۰/۸ گرم در لیتر در محلول معدنی به‌وسیله باکتری به‌خوبی مصرف شد. رشد باکتری در محیط حاوی دیمتوات دو برابر بیشتر از فسفات معدنی بود. میزان پروتئین تام تولیدی تا ۳۵۷ میلی‌گرم بر لیتر افزایش یافت. فعالیت آنزیم استیل کولین استراز توسط دیمتوات در غلظت‌های ۰/۲ تا ۲ گرم در لیتر به‌طور خطی کاهش می‌یافت اما چنانچه پسودوموناس پوتیدا در محلولی دارای دیمتوات با غلظت دو گرم در لیتر به‌مدت ۴۸-۹۶ ساعت کشت می‌شد اثر مهارکنندگی باقیمانده دیمتوات در آن محلول به‌ترتیب ۶۳ تا ۹۷ درصد کاهش می‌یافت. این باکتری مقاوم در برابر دیمتوات در اثر آکریدین اورنج، پلاسمیدهای مقاومت را از دست می‌داد .پلاسمیدهای مقاومت به باکتری‌های حساس، انتقال یافتند.

بحث و نتیجه‌گیری: پلاسمیدهای مذکور که آنزیم‌های تجزیه کننده سموم فسفردار را بیان می‌کنند، ابزار موثری برای پاکسازی ترکیبات آلی فسفردار (سموم ضد اعصاب) محسوب می‌شوند و با فن آوری‌های نوین امکان کاربرد در جلوگیری از مضرات ناخواسته ترکیبات آلی فسفردار را دارند.

کلید واژه‌ها: تجزیه بیولوژیکی، دیمتوات، مصرف ارگانوفسفات، ضد استیل کولین استراز

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیستم، شماره سوم، ص ۲۲۱-۲۱۵، پاییز ۱۳۸۸

آدرس مکاتبه: زنجان، شهرک کارمندان، دانشکده پزشکی، گروه بیوشیمی، تلفن: ۱-۰۲۴۱۴۲۴۰۳۰۰

Email: nazarian@zums.ac.ir

مقدمه

ترکیبات آلی فسفردار از آفت کش‌های پر مصرف‌اند که ۳۴ درصد از خریدهای حشره کش‌ها را در جهان به‌خود اختصاص می‌دهند (۱). اکوسیستم‌های طبیعی به‌طور گسترده‌ای به‌وسیله ارگانوفسفات‌ها آلوده شده‌اند. سمیت آن‌ها در محیط زیست قابل توجه است و کاربرد روش‌های مناسب به‌منظور پاک‌سازی محیط زیست از این سموم ضروری است. تجزیه بیولوژیکی، روش موثری برای سم زدایی در محیط‌های طبیعی آلوده به ترکیبات آلی فسفردار و باقیمانده‌های سمی آن‌ها است (۲،۳). دیمتوات یکی از انواع سموم فسفردار پرمصرف در کشاورزی و بسیار سمی است (۴) و ممکن است تراتوژن یا سرطان‌زا باشد (۵). برخی باکتری‌های مقاوم به دیمتوات، تفکیک و شناسایی شده (۶)، تجزیه میکروبی دیمتوات (۷) و باکتری‌های مقاوم به دیمتوات در آبزیان گزارش شده‌اند (۸،۹). باکتری‌های مقاومی که جدا شده‌اند دارای پلاسمیدهای تجزیه کننده ترکیبات آلی فسفردار بوده‌اند (۱۰). هدف از این پژوهش یافتن باکتری‌های توانا در برابر سموم ضد اعصاب (دیمتوات) است. براساس مطالعات این نوع از باکتری‌ها، حاوی پلاسمیدهای تولید کننده آنزیم‌های هیدرولیتیک و مصرف

[1] استادیار بخش بیوشیمی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی، زنجان، ایران

[2] Dimethoate

کننده است که امید می‌رود با کمک فن آوری‌های نوین، کاربردهای موثری در مقابله با مضرات ناخواسته سموم و ترکیبات آلی فسفردار ارائه شود.

مواد و روش کار

مصرف دیمتوات به‌عنوان منبع فسفر و انرژی توسط باکتری‌های گرم منفی مطالعه شد و از آنزیم استیل کولین استراز در تایید کاهش مهارکنندگی دیمتوات پس از مصرف آن استفاده شد. چون سمیت دیمتوات به‌عنوان مولکول آلی فسفردار با مهار کردن آنزیم مذکور در پایانه‌های عصبی و عضلانی انسان و جانداران در محیط زیست بروز می‌نمود (۱۱). باکتری مورد مطالعه از میان انواع مقاوم به ترکیبات آلی فسفردار و از نمونه‌های خاک یک منطقه آلوده به این سموم انتخاب شده بود. باکتری‌هایی که پایداری، رشد و مقاومت مطلوبی در شرایط مختلف از لحاظ دما ،pH، غلظت سم در یک محیط معدنی نشان می‌دادند، جدا شدند و سپس با روش‌های متداول و نیز مجموعه API 20E (Rosch)، شناسایی شدند که از دو خانواده پسودوموناس و فلاوباکتریوم بودند، (۱) که از میان آن‌ها دو باکتری P.putida (P) و F.breve (F) انتخاب شدند.

تلقیح دو باکتری مقاوم (P وF) به‌ترتیب در ۱۶ فلاسک حاوی ۵۰ میلی‌لیتر محلول معدنی استریل (هیدروکسی متیل آمینو متان یا تریس (Base)۵۰mM، کلرور پتاسیم ۲۰۷mM، سولفات منیزیم ۰/۸mM،کلرور آمونیوم ۴۰mM، کلرور فریک ۰/۰۰۵ mM (همه املاح از شرکت Merck) در آب مقطر تا حجم یک لیتر و pH=۷/۲-۷/۴ در دو تکرار تهیه شد. این محلول به‌وسیله گلوکز و یکی از سموم فسفردار (Guthion ۰/۱ گرم در لیتر و Dimethoate ۰/۲ گرم در لیتر به دو صورت هیدرولیز شده و دست نخورده) غنی شد و دو فلاسک کنترل فاقد گلوکز بودند. تمام فلاسک‌ها در حالت هوازی با تکان ۲۰۰ دور در دقیقه، دمای ۳۰ درجه تا ۴۸ ساعت کشت شدند. رشد باکتری‌ها با کدورت محلول‌های کشت در طول موج ۵۰۰ نانومتر تعیین شد و در محیط معدنی نیمه جامد حاوی دیمتوات برای تشکیل کلنی با تعداد 10^{5} سلول کشت شدند (از رقت‌های سریال محلول‌های کشت باکتری در محیط نیمه جامد پس از ۴۸ ساعت کلنی‌ها شمارش شدند).

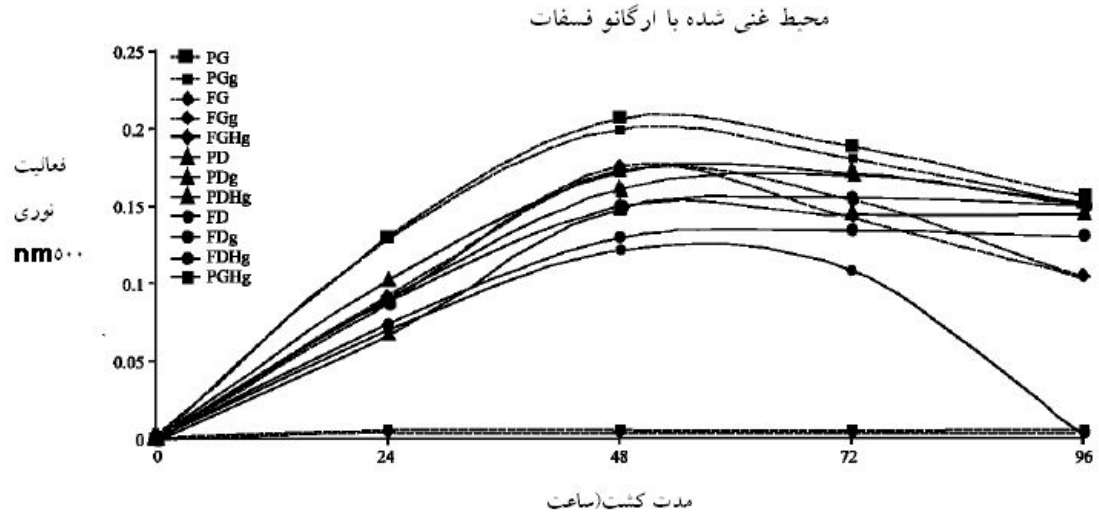
مصرف مواد آلی فسفردار: چهار سویه مقاوم (P.putida, P.fluorescence, F.breve, Flavobacterium SPP.) به‌صورت خالص و یا مخلوط در ۷۵ میلی‌لیتر محلول معدنی حاوی صفر و دو گرم در لیتر دیمتوات یا اورتو فسفات جداگانه در دو تکرار در شرایط هوازی و دمای ۳۰ درجه تا ۴۸ ساعت کشت داده شدند. محیط‌های کشت مایع با بررسی ایجاد کدورت رشد و محیط‌های کشت جامد با شمارش کلنی در هر ۲۴ ساعت کنترل شدند. مقدار فسفات تام و معدنی (۹) و پروتئین‌های خارج سلولی و درون سلولی پس از سانتریفوژ نمودن در ۲۰۰۰۰ g (MSE 25Beckman,Fixed angle) به‌مدت ۳۰ دقیقه و اولتراسون (MSE-150W) با قدرت ۷۰ درصد و پروب ۲۲/۵ تعیین شد. معرف‌های اندازه‌گیری فسفات شامل: آسکوربات ۱۰ درصد، مولیبدات آمونیوم ۴۲ درصد در اسیدسولفوریک به نسبت ۱: ۶ با نیترات منیزیوم ۱۰ درصد در اتانل خالص و اسید کلریدریک ۴ درصد مخلوط شدند.

البته کلیه‌ی ظروف شیشه‌ای برای پاک شدن از فسفات‌ها یک شب در اسید نیتریک پنج نرمال نگهداشته و با آب دو بار تقطیر شستشو داده شدند (تمام مواد مصرفی از شرکت Merck تهیه شدند).

تجزیه باکتریولوژیکی دیمتوات: چهار باکتری مقاوم: spp P.putida, P.fluorescence, F.breve , Flavobacterium به‌طور خالص یا مخلوط با دیگر باکتری‌ها با کشت در محلول معدنی و مصرف دیمتوات (دو گرم در لیتر)مقایسه شدند. اثر باقیمانده سم بر فعالیت آنزیم استیل کولین استراز با کاربرد (روش Ellman)، (۱۱) با استفاده از اسپکتروفوتومتر (PerkinElmer35) در مقایسه با محلول‌های معدنی فاقد کشت باکتری (کنترل) که حاوی دیمتوات با غلظت‌های مختلف (۰، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸، ۱/۰، ۱/۲، ۱/۴ و ۲/۰ گرم در لیتر) تعیین شد.

حذف و انتقال پلاسمیدها: باکتری P.Putida که احتمالا حاوی پلاسمیدهای مخصوص تجزیه کننده و یا مصرف کننده دیمتوات مطرح شده بود، در محیط معدنی با افزودن آکریدین اورنج با غلظت ۰/۳ گرم در لیتر در حالت هوازی با دمای ۳۰ درجه به مدت ۴۸ ساعت کشت داده شد، در این شرایط باکتری‌هایی که این پلاسمیدها (عوامل مقاومت) را از دست دادند با روش کپی‌گذاری کلنی‌های حساس در محیط‌های نیمه جامد حاوی دیمتوات و فاقد دیمتوات تفکیک شدند. در باکتری‌های مذکور علاوه بر توانایی مصرف دیمتوات، مقاومت به آنتی بیوتیک‌ها مانند استرپتومایسین و نالیدیکسیک اسید هم وجود داشت که از آزمایش‌های تعیین مقاومت در برابر گروهی از آنتی بیوتیک‌ها انتخاب شدند. باکتری P که توانایی آن در مصرف دیمتوات به اثبات رسیده بود به‌همراه باکتری حساس(با عدم توانایی مصرف دیمتوات)،که مقاوم به دو آنتی بیوتیک فوق بود، ابتدا در محلول معدنی حاوی ۰/۲ گرم در لیتر دیمتوات، به مدت ۴۸ ساعت در حالت هوازی و دمای ۳۰ درجه کشت داده شدند، سپس از کشت مناسب با کدورت رشد مناسب در رقت 10^{-3} در محیط نیمه جامد حاوی ۲ گرم در لیتر دیمتوات و ۲۰ میکروگرم در میلی‌لیتر

از دو آنتی بیوتیک‌های استرپتومایسین و نالیدیکسیک اسید، برای تشکیل کلنی تلقیح شد.



نمودار شماره (۱): محیط غنی از ترکیبات آلی فسفردار، دو باکتری مقاوم P وF در محلول معدنی حاوی سموم: گوتیون (۰/۱ گرم بر لیتر) و دیمتوات (۰/۲گرم برلیتر)، گلوکز (۰/۳ گرم بر لیتر). به‌طور مطلوبی رشد کردند. در برابر دیمتوات رشد زیادتر بود و نیاز به گلوکز نداشت چون دیمتوات منبع فسفر و انرژی محسوب می‌شد در حالی‌که گوتیون به مکمل گلوکز نیاز مند بود. دو نوع سم (دست نخورده یا هیدرولیز شده) تفاوت مهم نشان ندادند. علائم اختصاری:

P: p.putida F: F. breve.G:guthion, GH:hyrolysed guthion, D:dimethoate,DH:hydrolysed dimethoate. g: glucose

یافته‌ها

محیط غنی شده: باکتری‌های مقاوم به سموم فسفردار درمحیط معدنی غنی شده با سموم (دیمتوات، گوتیون) در دو شکل دست نخورده و هیدرولیز شده کشت شدند. کدورت رشد با فعالیت نوری ۵۰۰ نانومتر داشتند. سموم هیدرولیز شده تفاوت مهمی با سموم دست نخورده نداشتند در مورد گوتیون افزودن گلوکز لازم بود اما دیمتوات به تنهایی کافی بود (نمودار ۱) باکتری‌های مقاوم P وF رشد بالایی در غلظت ۲ گرم در لیتر از دیمتوات نشان دادند. P. Putida رشد مطلوبی در دیمتوات با غلظت ۱و۲ گرم در لیتر داشت که در مقایسه با فسفات معدنی بیشتر بود، تعدادکلنی $۲ \times ۱۰^{۹} - ۲ \times ۱۰^{۱۰}$ پس از ۴۸ ساعت کشت در کنار کنترل (بدون دیمتوات) مشاهده شد در حالی‌که تعداد کلنی درکشت کنترل ۲×۱۰^{۵} شمارش شد (نمودار ۱).

مصرف سموم فسفردار: مصرف دیمتوات اثر قابل ملاحظه‌ای در رشد باکتری مقاوم نسبت به فسفات معدنی بروز داد، طوری‌که کدورت رشد به اندازه ۰/۵۶۰ در ۵۰۰ نانومتر، تعداد کلنی ۲×۱۰^{۹} و پروتئین تام ۳۵۷ میلی‌گرم در لیتر (شکل ۲) شد. P.Putidaدیمتوات را به‌عنوان ماده انتخابی در برابر فسفات معدنی مصرف کرد (جدول ۱). رابطه بین مصرف فسفات‌ها و بیوسنتز پروتئین در این باکتری بالاتر از باکتری‌های دیگر حتی در شرایط کشت خالص بود (نمودار ۲).

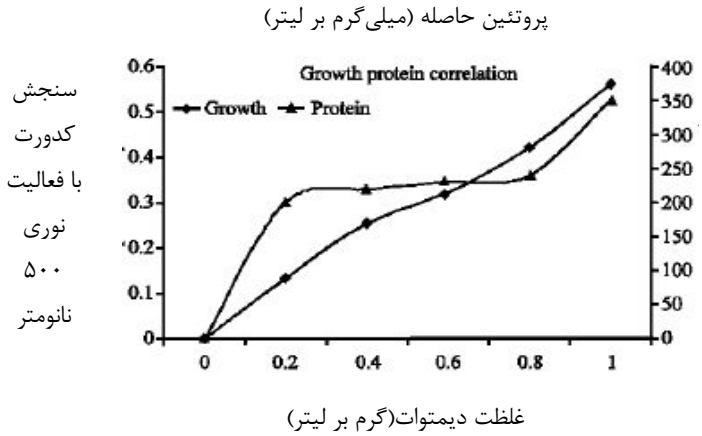
بررسی فعالیت استیل کولین استراز: فعالیت بیولوژیکی آنزیم مذکور، به‌عنوان شاخص بسیار حساس و مخصوص در برابر تاثیر دیمتوات ارزیابی شد. فعالیت این آنزیم در مقابل غلظت‌های صفر، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۸، ۱/۴،۱/۰ و ۲/۰ گرم در لیتر دیمتوات در دو تکرار قبل و پس از کشت باکتری P به‌طور خالص و مخلوط با دیگر باکتری‌ها، در مقابل کنترل (فاقد باکتری)، در دو دوره ۴۸ ساعت و ۹۶ ساعت پس از کشت باکتری تعیین شد. باکتری P به تنهایی پس از ۴۸ و ۹۶ ساعت به‌ترتیب ۶۳ و ۹۷ درصد و مخلوطی از باکتری‌ها حدود ۵۰ درصد از فعالیت آنزیم را پس از مصرف یا تجزیه دیمتوات افزایش می‌داد (نمودار ۳).

تاثیر پلاسمیدها: باکتری مقاوم و توانا به مصرف دیمتوات، حاوی پلاسمیدهای تجزیه کننده دیمتوات است که با آکریدین اورنج حذف شدند و باکتری به نوع حساس نسبت به دیمتوات تبدیل شد

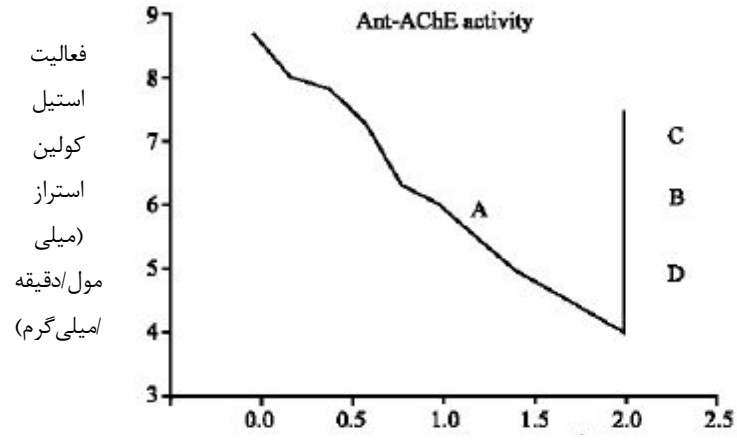
و با روش کپی‌برداری در محیط نیمه جامد حاوی دیمتوات رشد نکرد. اما دارای عوامل مقاومت نسبت به استرپتومیسین و نالیدیکسیک اسید بود. پس از کشت توام دو گونه از باکتری مقاوم و باکتری حساس،باکتری حساس که پلاسمیدهای تجزیه کننده دیمتوات را دریافت نموده بود و همچنین عوامل مقاومت به آنتی بیوتیک‌های فوق را داشت بدست آمد.

جدول شماره (۱): مصرف دیمتوات، دیمتوات به‌عنوان فسفات آلی در مقایسه با فسفات معدنی ترجیحاً به‌عنوان تنها منبع فسفر و انرژی برای تولید ماده مهم مانند پروتئین و دیگر نیازهای متابولیکی باکتری مصرف شده که رابطه بین فسفات مصرفی و پروتئین تولیدی در بین چهار باکتری مقایسه شده است. نتیجه کشت خالص بهتر از کشت مخلوط می‌باشد.

نام باکتری	فسفات‌ها	فسفات آلی µM		فسفات معدنی µM		مواد مصرفی		درصد نسبت پروتئین به فسفات
		(hr) ۰	(hr) ۹۶	(hr) ۰	(hr) ۹۶	فسفات µM	پروتئین mg/ml	
P.Putida	دیمتوات	۷/۶۲۵	۴/۰	۰/۰۵۰	۰/۰۰۸	۳/۶۶۷	۳۵۷	۷۰/۰۸۴
	فسفات	-	-	۷/۰۰۹	۱/۴	۵/۶۰۹	۳۵۵	۶۳/۲۹
P.Flourescence	دیمتوات	۷/۶۲۵	۳/۸۰۲	۰/۰۵۰	-	۳/۸۷۳	۲۸۷	۷۴/۱۰
	فسفات	-	-	۷/۰۰۹	۱/۴۳۹	۵/۵۸	۲۶۷	۴۷/۹۳
F.Spp	دیمتوات	۷/۶۲۵	۳/۸۰	۰/۰۵۰	-	۳/۸۷۵	۱۱۳	۲۹/۱۶
	فسفات	-	-	۷/۰۰۹	۱/۵	۵/۵۰۸	۸۳	۱۰/۰۶
F.Breve	دیمتوات	۷/۶۲۵	۳/۶۸۰	۰/۰۵۰	-	۳/۹۹۵	۱۵۸	۹۳/۵۴
	فسفات	–	–	۷/۰۰۹	۱/۵	۵/۷۰۹	۲۶۵	۴۶/۴۱
کشت مخلوط چهار باکتری	دیمتوات	۷/۶۲۵	۳/۶۸۰	۰/۰۵۰	-	۴/۰۶۵	۱۵۴	۳۷/۸۷
	فسفات	-	-	۷/۰۰۹	۱/۴ ۷	۵/۶۳۹	۲۳۸	۴۱/۴۹



نمودار شماره (۲): همبستگی رشد - سنتز پروتئین، پسودوموناس پیوتیدا کدورت رشد خطی در برابر غلظت‌های مختلف دیمتوات (صفر، ۰/۰۲، ۰/۰۴ ، ۰/۰۶،۰/۰۸، ۱/۰ گرم بر لیتر) و فسفات معدنی (۱/۰ گرم بر لیتر) و پروتئین تام نشان داد.



نمودار شماره (۳): مهار آنزیم استیل کولین استراز (AChE)، دیمتوات در غلظت‌های مختلف (۰/۰، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۸، ۱/۰، ۱/۴ و ۲/۰) فعالیت آنزیم استیل کولین استراز را مهار کرده (A) اما در محیط کشت دارای دیمتوات (۲/۰ گرم بر لیتر) باکتری مقاوم (پ پیوتیدا) به‌علت مصرف دیمتوات در طی ۴۸ و ۹۶ ساعت (B,C) در حالت خالص یا (D) در حالت مخلوط با دیگر باکتری‌ها، از مهار آنزیم مذکور به‌ترتیب ۶۳ درصد تا ۹۷ درصد کاسته است.

بحث

P. Putida و F. breve در زمره باکتری‌های مقاوم با توانایی‌های متعدد برای تجزیه باکتریولوژیکی سه گروه از ترکیبات آلی فسفردار شناسایی شده بود و نیز برای مصرف ترکیبات آلی فسفردار مذکور استفاده شد (۱)، اگرچه در مطالعات مشابه فسفو - دی استراز برای سم زدایی آفت کش‌های فسفو- تری استر بکار رفته است (۲)، باکتری‌های مستعد با دارا بودن چرخه کاتابولیکی مرتبط به این روند کشیده می‌شوند تا به‌عنوان تنها منبع فسفر از آن‌ها استفاده کنند (۱۲،۳). مقاومت به ترکیبات آلی فسفردار ناشی از وجود پلاسمیدهای تجزیه کننده، باکتری را برای ساختن آنزیم‌های کاتالیتیکی و مصرف کننده ترکیبات آلی فسفردار مستعد نموده تا بعنوان تنها منبع فسفر، انرژی و احتمالا ماده اولیه برای بیوسنتز پروتئین‌ها و دیگر مواد عمل کند (۱۶،۱۳). P. Putida F_1 ترکیبات آروماتیک مختلف را از طریق چرخه‌های مرتبط در مطالعه‌های مشابه (۱۴) مصرف کرده است.

P. Putida F_1به مصرف مواد جدید عادت کرده و مکانیزم مولکولی به این عادت با طیف گسترده‌ای از مواد حلقوی معین شده است (۱۴،۱۵). گونه‌های مذکور توسط مواد جدید تر القاء شده و نوع وحشی (تغییر نیافته) از باکتری توان کم‌تر به این مواد داشته است، نتایج مذکور توان P. Putida را به مصرف مواد مختلف نشان داده است (۱۵). مصرف ترکیبات آلی فسفردار به‌عنوان ماده پایه، انرژی و چرخه‌های بیوسنتز مثل پروتئین می‌باشد. باکتری‌های مقاوم که به دیمتوات سازش یافته‌اند به اندازه دو برابر بیش از فسفات معدنی فعالیت حیاتی نشان دادند.

برای اثبات علت توانایی باکتری‌های مقاوم در یک محیط معدنی که فاقد ماده مغذی دیگری است، این عوامل مقاومت یا در واقع پلاسمیدها ابتدا توسط آکریدین اورنج حذف شدند و باکتری توانایی مذکور را از دست داد. از طرف دیگر با انتقال پلاسمیدهای مقاومت به باکتری‌های حساس، رشد و مقاومت در برابر ترکیبات آلی فسفردار در این باکتری‌ها مشاهده شد. چون سمیت اصلی دیمتوات مهار کردن فعالیت آنزیم استیل کولین استراز (AchE) بود، میزان مصرف ترکیبات آلی فسفردار با اندازه گیری فعالیت AchE انجام شد. مهار خطی AchE توسط دیمتوات و تاثیر افزاینده این فعالیت پس از رشد مطلوب P. Putida در کشت باکتری به‌صورت خالص، نمایانگر مصرف دیمتوات و کاهش سمیت آن می‌باشد. با این مطالعه امکان کاربرد باکتری‌های وحشی که حاوی پلاسمیدهای تجزیه کننده ترکیبات آلی فسفردار نظیر دیمتوات هستند، اثبات می‌شود و می‌توانند ابزارهای تولید آنزیم‌های هیدرولیتیک ویژه بر علیه ترکیبات و عوامل ضد عصب باشند.

کاربردهای زیستی که بالقوه دراکوسیستم طبیعی وجود دارند (۱۶،۴-۲) همواره نظر پژوهشگران را جلب ساخته به‌طوری‌که

مطالعات گسترده‌ای در زمینه باکتری‌های مفید که دارای توانایی‌های مولکولی و تولید کاتالیست‌های زیستی‌اند (۱۵،۱۴،۱۳) بکار برده‌اند. سرعت، ویژگی و سالم بودن آنزیم‌های هیدرولیتیک با کمک فن آوری‌های نوین میزان موفقیت را افزایش داده است. پژوهشگران با مطالعات مولکولی باکتری‌های مشابهی را برای اثبات پلاسمیدهای تجزیه کننده دیمتوات از منابع زیستی تفکیک و بررسی نموده‌اند (۱۰-۷).

محدودیت‌های مطالعه: این مطالعه مدلی از امکان کاربرد اندکی از توانایی‌های میکروارگانیسم‌ها در پاکسازی آلودگی‌های شیمیایی یک اکوسیستم طبیعی است. بدیهی است که تنوع زیستی و گستردگی آثار عوامل گوناگون در یک اکوسیستم، به‌سادگی قابل پیش بینی نبوده و نیازمند مطالعات گروهی طولانی مدت می‌باشد تا در مراحل اجرایی موفقیت‌هایی کسب نماید.

تشکر

این پژوهش با پشتیبانی وزارت دفاع و مرکز تحقیقات بیوشیمی – بیوفیزیک (IBB) دانشگاه تهران صورت گرفته که بدین وسیله کمال امتنان را دارم.

References:

1. Nazarian A, Mousawi MA. Study of bacterial resistance to organophosphorus pesticides in Iran. Iran J Environ Health Sci Eng 2005; 2(3):207-11.
2. Zhang JL, Qiao CL. Novel approaches for remediation of pesticide pollutants. Int J Environ Pollut 2002**;** 18(5):423-33
3. Singh BK, Walker A. Microbial degradation of organophosphorus compounds. FEMS 2006; 30(3): 428-78.
4. Zhang RZ, Jiang Cui J, He J, GU X, Li S. Diversity of organophosphorus pesticide-degrading bacteria in a polluted soil and conservation of their organophosphorus hydrolase genes. Can J Microbiol 2005; 51(4):337-43.
5. Al-Jughbir MT, Salhab AF, Hamarsheh FA. Dermal and inhalation exposure to dimethoate. Arch Environ Contam Toxicol 1992; 22(4):358-61.
6. Racke KD, Coats JR. Comparative degradation of organophosphorus insecticides in soil: specificity of enhanced microbial degradation. J Agric Food Chem1988; 6:193-9.
7. Mandal Deb, Mandal M, Pal SNK. Plasmid – mediated dimethoate degradation by bacillus lichenifor isolated from fresh water fish Lebeo rohita. J Biomed Biotechnol 2005; 3: 280-6.
8. Mandal Deb , Mandal MS, Pal NK. Screening of dimethoate resistance among bacterial isolates from the Gam river water at Howrah and Hooghly districts. Indian Environ Ecol 2003; 21: 204-6
9. Mandal Deb, Mandal MS, Pal NK. Evaluation of bioremediation potential of organophosphorus pesticides dimethoate, 30% EC by heavy metal and antibiotic resistant p vulgarisisolated from ganges at sreerampore. Indian Res J Chem Environ 2002; 6:49-52
10. Deshpande NM, Dhakephalkar PK, Kanekar PP. Plasmid-mediated dimethoate degradation in Pseudomonas aeruginosa MCMB-427. Lett Appl Microbiol 2001; 33: 275-9
11. Ellman E. Acetylcholine esterase assay method. Biochem. Pharmacology 1961; 7:88
12. Foster LJR, Kewan BH, Vancov T. Microbial degradation of the organophosphate pesticide, Ethion. FEMS Microbiol Lett 2004; 240: 49-53
13. Raushel FM. Bacterial detoxification of organophosphate nerve agents. Curr Opin Microbiol 2002; 5(3):288-95.
14. Choi E. Expansion of growth substrate range in Pseudomonas Putida F1 by mutations in both cymR and todS. Microbiology 2003; 149: 795-805.
15. Bertani I, Kojic M, Venturi V. Regulation of the p-hydroxybenzoic acid hydroxylase gene (pobA)

16. Digrak M, Kazanici F. Effect of some organophpsphorus insecticides on soil microorganisms. Turk J Biol 2001; 25:51-8

in plant-growth-promoting Pseudomonas putida WCS358. Microbiology 2001; 147:1611-20.