

بررسی تنوع باکتریایی معدن طلای آق دره و تعیین مقاومت آنها در برابر آرسنیک و نقره

فوزیه مقدمی¹، امیرارسلان کاویانی فرد^{1*}

¹ گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور دانشگاه پیام نور، صندوق پستی: 19395-4697، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول: kavyanifarda@pnu.ac.ir

پذیرش 1402/5/1

دریافت: 1401/12/16

چکیده

میکروارگانیزم‌ها نقش مهمی در تشکیل معادن دارند. در این پژوهش باکتری‌های موجود در ذخایر طلای آق دره تکاپ جداسازی و با خاک‌های کشاورزی مقایسه شدند. شناسایی جدایه‌ها با استفاده از آنالیز قطعه S 16rDNA انجام و جستجوهای همولوژی با استفاده از ابزارهای تحت وب BlastN، EzTaxon و RDP Classifier انجام گرفت. همچنین مقاومت جدایه‌ها در برابر آرسنیک و نقره در حضور و عدم حضور ppm 3,5 طلا بررسی شد. هرچندکه خاک شاهد تنوع باکتریایی زیادی را نشان داد (43 جدایه متعلق به 13 جنس)، اما از خاک‌های معدن، تنها 17 جدایه باکتریایی که به 11 جنس تعلق داشتند، جداسازی شد که شامل *Microbacterium* *Listeria* *Deinococcus*، *Comamonas* *Agrobacterium* *Acinetobacter* *A. radiobacter* *Pseudomonas* *Rhizobium* *Roseomonas* و *Staphylococcus* بودند. باکتری‌های *A. radiobacter* *D. ficus* *M. antarcticus* *M. luteus* *R. radiobacter* و *R. selenitidurans* قادر به تحمل اندازه‌های مختلفی از آرسنیک و نقره در حضور طلا بودند و در این میان باکتری‌های *A. radiobacter* و *D. ficus* بیشترین مقاومت را نشان دادند به طوری که در حضور 50ppm آرسنیک، 50 ppm نقره و ppm 3,5 طلا قادر به رشد بودند. نتایج ما نشان داد تعداد و تنوع باکتری‌ها در خاک‌های حاوی فلزات طلا، نقره و آرسنیک، کمتر از خاک کشاورزی بود. همچنین مشخص شد تنوع باکتری‌های موجود در معدن طلا به میزان طلا و نیز میزان و نوع عناصر همراه با آن نیز بستگی داشت. دو گونه باکتریایی بومی *A. radiobacter* و *D. ficus* نیز به دلیل مقاومت بسیار بالا به آرسنیک و نقره از پتانسیل مناسبی برای استفاده صنعتی در محیط‌های آلوده به این فلزات برخوردارند.

واژه‌های کلیدی: آرسنیک، آق دره، باکتری بومی، معدن طلا، نقره.

1- مقدمه

میکروارگانیزم‌ها از قدیمی‌ترین ساکنان کره زمین به شمار می‌آیند که برخلاف جثه بسیار ریز خود، تغییرات بسیار زیادی را در کره زمین انجام داده‌اند. این موجودات میکروسکوپی در چرخه فلزات و تشکیل معادن در سطح زمین مؤثر هستند [1؛ 2]. از طرفی برخی فلزات نقش تعیین‌کننده‌ای در تعداد و انواع میکروارگانیزم‌ها دارند [3]. تعدادی از یون‌های فلزات برای میکروارگانیزم‌ها ضروری هستند. برخی نیز با اکسید یا احیاشدن، منبع تولید انرژی متابولیکی برای میکروارگانیزم‌ها هستند درحالی‌که برخی از یون‌های فلزی مانند طلا، جیوه و نقره بر رشد آنها آثار سمی دارند. برخلاف سایر فلزات، طلا یک عنصر کمیاب و غیر ضروری است که در محلول‌های آبی به‌صورت یون‌های آزاد مشاهده نمی‌شود [4]. امروزه معلوم شده است که باکتری‌ها نقش فعال و عمده‌ای در ایجاد ناگت‌های طلا بازی می‌کنند، به‌این‌صورت که با ایجاد بیوفیلم بر رگه‌های طلا، سبب بیرون‌کشیدن و انباشتن کمپلکس‌های طلا از محلول‌ها می‌شوند. سپس این کمپلکس‌ها از راه سازوکارهای خاصی در درون باکتری تبدیل به ترکیب‌های مختلفی از طلا شده و به‌صورت ذرات طلای عنصری ذخیره می‌شوند [5؛ 6].

مطالعات زیادی بر میکروارگانیزم‌های موجود در مخازن طلا انجام شده است و تا کنون گونه‌های مختلفی از باکتری‌ها به‌عنوان میکروبیوتای مخازن طلا معرفی شده‌اند [4]. در میان آنها می‌توان به *Pedomicrobium* و *Ralstoni ametalidurans* [7]، *Micrococcus* [8]، *Bacillus cereus* [9]، *Delftia acidovorans* [3] و *Cupriavidus metallidurans* [6] اشاره کرد. تعداد و نوع میکروارگانیزم‌ها در خاک‌های حاوی طلا متغیر است. علت این تفاوت به عوامل مختلفی بستگی دارد که شامل موارد زیر است: مقدار عناصری مانند مس، آنتیموان، آرسنیک، نقره. همچنین نوع کمپلکس‌های طلا [7] و نوع

و مقادیر عناصر پاراژنتیک [6] و نیز عناصری که همواره به‌همراه طلا در مخازن دیده می‌شوند [10-12]. مطالعه میکروارگانیزم‌های موجود در معادن و بررسی میزان مقاومت آنها به عناصر مختلف، این امکان را فراهم می‌کند که بتوان از آنها برای مقاصد صنعتی مانند فروشویی میکروبی¹ و پاکسازی زیستی محیط‌های آلوده به فلزات سنگین بهره‌برداری کرد. معدن آق‌دره به‌عنوان دومین معدن طلای ایران در بخش تخت سلیمان روستای شیرمرد و در 30 کیلومتری شمال شرقی شهرستان تکاب در استان آذربایجان غربی واقع شده است. این معدن از نوع سطحی است و میانگین عیار طلای 2,48 ppm دارد. علاوه بر طلا، نقره و جیوه نیز از کانسنگ‌های آن استخراج می‌شود. در این پژوهش سعی شده است تا با مطالعه و شناخت میکروبیوتای بومی معدن آق‌دره و تأثیر اندازه‌های مختلف سایر عناصر پاراژنتیک بر تنوع باکتری‌ها، گامی در جهت انجام این مهم برداشته شود.

2- مواد و روش‌ها

2-1 نمونه‌برداری

نمونه‌های خاک از عمق 5-10 سانتی‌متری جمع‌آوری شدند. به‌این‌صورت که از چهار نقطه از خاک‌های معدن آق‌دره دو نمونه خاک 500 گرمی با عیار بالا و دو نمونه خاک 500 گرمی کم‌عیار و از خاک‌های اطراف معدن با فاصله 1,5 کیلومتری نیز از سه نقطه نمونه‌های 500 گرمی برداشته شد. نخست نمونه‌های خاک الک‌شده و ذرات بزرگ‌تر از 1 cm دور ریخته شد و سپس درون کیسه‌های پلاستیکی استریل زیپ‌دار، جمع‌آوری و روی یخ به آزمایشگاه منتقل شد. سپس مراحل کشت اولیه برای جداسازی میکروارگانیزم‌ها تا 24 ساعت بعد انجام گرفت.

1 Bioleaching

از خاک زمین‌های کشاورزی اطراف شهرستان قزوین نیز با همان شرایط به‌عنوان شاهد نمونه‌برداری شد.

2-2 محیط‌های کشت استفاده‌شده

برای جداسازی باکتری‌ها از دو محیط کشت NA^2 از شرکت دیفکو و SEA^3 استفاده شد. برای ساخت محیط کشت SEA، 200 گرم از نمونه خاک در 500 میلی‌لیتر آب مقطر حل و پس از 5 دقیقه جوشاندن به مدت سه ساعت روی شیکر با سرعت 70 دور در دقیقه هم زده شد. پس از یک ساعت سکون و صاف‌کردن مایع رویی به‌وسیله کاغذ صافی واتمن، به ازای هر 100 میلی‌لیتر عصاره، 0,05 گرم پیتون؛ 0,03 گرم عصاره مخمر و 1,5 گرم آگار به آن اضافه و پس از استریل در پلیت توزیع شد. برای بررسی میزان تحمل فلزات به‌وسیله جدایه‌ها، از محیط کشت $BSMY^4$ (گلوکز 10 گرم، عصاره مخمر 1 گرم، سولفات آمونیوم 0/3 گرم، سولفات منیزیم 0/14 گرم، کلرید کلسیم 0/2 گرم، کلرید سدیم 0/1 گرم، فسفات دو هیدروژن پتاسیم 0/05 گرم، فسفات هیدروژن دو پتاسیم 0/05 گرم، اسید بوریک 0/6 میلی‌گرم، کلرید کبالت 0/17 میلی‌گرم، کلرید مس 0/09 میلی‌گرم، کلرید منگنز 0/1 میلی‌گرم، کلرید روی 0/22 میلی‌گرم و 1000 میلی‌لیتر بافر Tris-HCl با pH 8.0) استفاده شد [13].

3-2 جداسازی میکروارگانیسم‌های موجود در نمونه‌های خاک

نمونه‌های خاک‌های با عیار بالا، خاک‌های با عیار پایین، خاک‌های اطراف معدن و نمونه خاک شاهد به‌صورت جداگانه بررسی شدند. به‌این‌ترتیب که 100 گرم از هر نمونه خاک به‌آرامی آسیاب و در یک لیتر سالین بافر فسفات و توین 80 (500 میکرولیتر در هر لیتر بافر)

استریل حل شد. سپس به مدت 3 ساعت روی شیکر با سرعت 70 دور در دقیقه هم زده شد. پس از یک ساعت سکون، 5 میلی‌لیتر از مایع رویی هر نمونه برای تهیه رقت‌سازی‌پیپای⁵ استفاده شد. برای هر نمونه خاک، رقت‌های پیپای از 10^0 تا 10^{-10} تهیه و از هر رقت، مقدار 50 میکرولیتر روی پلیت‌های حاوی محیط‌های کشت مختلف کشت و در شرایط هوازی به مدت 5 روز در دمای اتاق ($25^\circ C$) گرماگذاری شدند. پس از این مدت، تک‌کلنی‌های متفاوت انتخاب و با پاساژ پیپای روی محیط‌های استریل خالص‌سازی شدند. در مواردی که کلنی‌ها، ریخت شناسی مشابهی داشتند، از رنگ‌آمیزی و تست‌های اولیه بیوشیمیایی برای تعیین شباهت یا تفاوت کلنی‌ها استفاده شد.

3 - شناسایی میکروارگانیسم‌های جداسازی‌شده

به‌منظور شناسایی جدایه‌ها، آنالیز قطعه rDNA 16S انجام گرفت. به‌این‌منظور، استخراج DNA ژنومی با استفاده از کیت High pure PCR Product محصول شرکت Roche آلمان و براساس برنامه این شرکت صورت گرفت. برای تکثیر ژن مزبور با کمک PCR، از پرایمرهای 8F (forward: AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') و 5'-ACGGCTACCTTGTTACGACTT-3') 1525R (Reverse: 5'- [14]. بعد از انجام الکتروفورز روی ژل، محصولات PCR از روی ژل بازیابی شده و قطعه‌های تکثیر و خالص‌شده با استفاده از یک DNA Sequencer و به روش اتوماتیک (SEQLAB, Germany) براساس Chain Termination Method با سنگر روش و به‌وسیله تکاپو زیست تعیین توالی شد [15]. برای تعیین میزان نزدیکی جدایه‌ها با دیگر میکروارگانیسم‌ها، جستجوهای همولوژی با استفاده از BlastN در بانک‌های اطلاعاتی GenBank به نشانی <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast> انجام شد. برای

5 Serial dilution

2 Sabouraud Dextrose Agar
3 Soil Extract Agar
4 Basal Salt Minimal Media

انکوباتور نگهداری شدند. کلنی‌های رشد کرده به‌عنوان جدایه‌های مقاوم به آرسنیک انتخاب شدند. در مرحله دوم برای بررسی میزان تحمل جدایه‌ها در برابر نقره نیز آزمایش تکرار شد، با این تفاوت که این بار محیط کشت های SEA، BSMY و NA حاوی اندازه‌های 20، 35 و 50 میلی‌گرم نیترات نقره در لیتر بودند. کلنی‌های رشد کرده به‌عنوان جدایه‌های مقاوم به نقره انتخاب شدند. در مرحله سوم، همین آزمایش با محیط کشت‌های BSMY، SEA و NA که حاوی اندازه‌های 20، 35 و 50 میلی‌گرم سدیم آرسنیت در لیتر و اندازه‌های 20، 35 و 50 میلی‌گرم نیترات نقره در لیتر بودند، انجام شد و کلنی‌های رشد کرده به‌عنوان جدایه‌های مقاوم به آرسنیک و نقره برگزیده شدند [19].

5- نتایج

1-5 میزان عناصر موجود در دو نمونه خاک پرعیار و کم‌عیار

براساس اطلاعات دریافتی از کارخانه پویازرکان آق‌دره تکاپ، عناصر موجود در هر دو نمونه خاک کم‌عیار و پرعیار معدن طلای آق‌دره شامل آرسنیک، نقره، کلسیم، فسفر، منیزیوم، منگنز، طلا، جیوه، آلومینیم، مس، روی، کبالت، آهن، نیکل، سرب، کادمیم، انتیموان و گوگرد بود. تفاوت میزان عناصر موجود در دو نمونه خاک پرعیار و کم‌عیار معدن طلای پویازرکان آق‌دره تکاپ در جدول 1 قابل مشاهده است (براساس اطلاعات گرفته‌شده از کارخانه پویازرکان آق‌دره تکاپ).

تأیید نتایج شناسایی حاصل از پایگاه GenBank، دور دیگری از شناسایی با استفاده از ابزارهای تحت وب EzTaxon به نشانی <http://www.ezbiocloud.net/eztaxon> و RDP Classifier به نشانی <https://rdp.cme.msu.edu/classifier/classifier.jsp> انجام شد [16]. به‌منظور شناسایی میکروارگانیسم‌های موجود در نمونه خاک شاهد، از تست‌های استاندارد بیوشیمیایی استفاده شد و شناسایی با استفاده از کتاب سیستماتیک برگگی در حد جنس انجام گرفت [17]. برای شناسایی باکتری‌ها، مشخصات ماکروسکوپی کلنی‌ها، ریخت شناسی، واکنش گرم و تست‌های بیوشیمیایی از جمله تست‌های کاتالاز، اکسیداز، اوره، سیترات، تخمیر لاکتوز، MR-VP، کشت روی TSI و SIM، غیره انجام شد [18].

4- بررسی مقاومت جدایه‌ها در برابر آرسنیک و نقره

از محیط کشت BSMY برای بررسی مقاومت جدایه‌ها در برابر آرسنیک و نقره استفاده شد. به‌این‌منظور در مرحله اول به محیط کشت BSMY اندازه‌های متفاوت 20، 35 و 50 میلی‌گرم در لیتر سدیم آرسنیت اضافه شد و پس از تلقیح تک‌تک جدایه‌ها، ارلن‌ها در دمای 25°C به مدت 72 ساعت با سرعت چرخش 80 دور در دقیقه در شیکرانکوباتور نگهداری شدند. سپس 0/1 میلی‌لیتر از هر ارلن به محیط کشت SEA (ساخته‌شده از خاک پرعیار حاوی 3,5 میلی‌گرم در لیتر طلا) و NA که حاوی مقادیر 20، 35 و 50 میلی‌گرم سدیم آرسنیت در لیتر بودند، منتقل و پلیت‌ها در دمای 25°C به مدت 72 ساعت در

جدول 1 تفاوت میزان عناصر موجود در دو نمونه خاک کم‌عیار و پرعیار معدن طلای آق‌دره

نوع خاک	طلا (ppm)	نقره (ppm)	آرسنیک (ppm)
خاک کم‌عیار	2	7	10
خاک پرعیار	3,5	9	12

2-5 جداسازی و شناسایی جدایه‌ها

از خاک‌های کم‌عیار و پرعیار معدن آق‌دره، تعدادی کلنی روی محیط‌های کشت SEA و NA رشد کردند. در مجموع تعداد 17 جدایه باکتری جداسازی و خالص‌سازی

شدند. نتایج آنالیز توالی 16S rDNA نشان داد که این جدایه‌ها به 11 جنس تعلق داشتند که در جدول 2 فهرست شده‌اند.

جدول 2 جدایه‌های تخلیص و شناسایی شده از خاک معدن آق‌دره براساس همولوژی توالی 16S rDNA

BlastN	Similarity (%)	EzTaxon	Similarity (%)	RDP Classifier	Similarity (%)	Phylum
<i>Acinetobacter johnsonii</i>	99.97	<i>Acinetobacter johnsonii</i>	99.73	<i>Acinetobacter sp.</i>	100.0	<i>Proteobacteria</i>
<i>Acinetobacter junii</i>	100.0	<i>Acinetobacter junii</i>	99.97	<i>Acinetobacter sp.</i>	100.0	<i>Proteobacteria</i>
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	99.99	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	99.99	<i>Acinetobacter sp.</i>	100.0	<i>Proteobacteria</i>
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	99.94	<i>Agrobacterium radiobacter</i>	100.0	<i>Agrobacterium sp.</i>	100.0	<i>Proteobacteria</i>
<i>Comamonas testosterone</i>	99.88	<i>Comamonas testosterone</i>	99.86	<i>Comamonas</i>	100.0	<i>Proteobacteria</i>
<i>Deinococcus ficus</i>	99.92	<i>Deinococcus ficus</i>	99.92	<i>Deinococcus sp.</i>	100.0	<i>Deinococcota</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	100.0	<i>Listeria monocytogenes</i>	100.0	<i>Listeria sp.</i>	100.0	<i>Bacillota</i>
<i>Microbacterium esteraromaticum</i>	99.99	<i>Microbacterium esteraromaticum</i>	100.0	<i>Microbacterium</i>	100.0	<i>Actinomycetota</i>
<i>Microbacterium profundum</i>	99.68	<i>Microbacterium profundum</i>	99.85	<i>Microbacterium sp.</i>	100.0	<i>Actinomycetota</i>
<i>Micrococcus antarcticus</i>	99.69	<i>Micrococcus antarcticus</i>	99.45	<i>Micrococcus sp.</i>	100.0	<i>Actinomycetota</i>
<i>Micrococcus luteus</i>	99.89	<i>Micrococcus luteus</i>	99.95	<i>Micrococcus sp.</i>	100.0	<i>Actinomycetota</i>
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	100.0	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	100.0	<i>Pseudomonas sp.</i>	100.0	<i>Proteobacteria</i>
<i>Rhizobium radiobacter</i>	100.0	<i>Rhizobium radiobacter</i>	100.0	<i>Rhizobium sp.</i>	100.0	<i>Proteobacteria</i>
<i>Roseomonas selenitidurans</i>	99.15	<i>Roseomonas selenitidurans</i>	99.27	<i>Roseomonas sp.</i>	100.0	<i>Proteobacteria</i>
<i>Roseomonas soli</i>	100.0	<i>Roseomonas soli</i>	99.98	<i>Roseomonas sp.</i>	100.0	<i>Proteobacteria</i>
<i>Roseomonas terrae</i>	99.56	<i>Roseomonas terrae</i>	99.61	<i>Roseomonas sp.</i>	100.0	<i>Proteobacteria</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	100.0	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	100.0	<i>Staphylococcus sp.</i>	100.0	<i>Bacillota</i>

از آنجا که فراوانی و تنوع باکتری‌های موجود در نمونه خاک شاهد بسیار زیاد بود، شناسایی جدایه‌ها فقط در حد جنس و با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی انجام شد. به دلیل تعدد تست‌های بیوشیمیایی، از ذکر جداول تست‌ها و نتایج آن خودداری و فقط به نتایج شناسایی

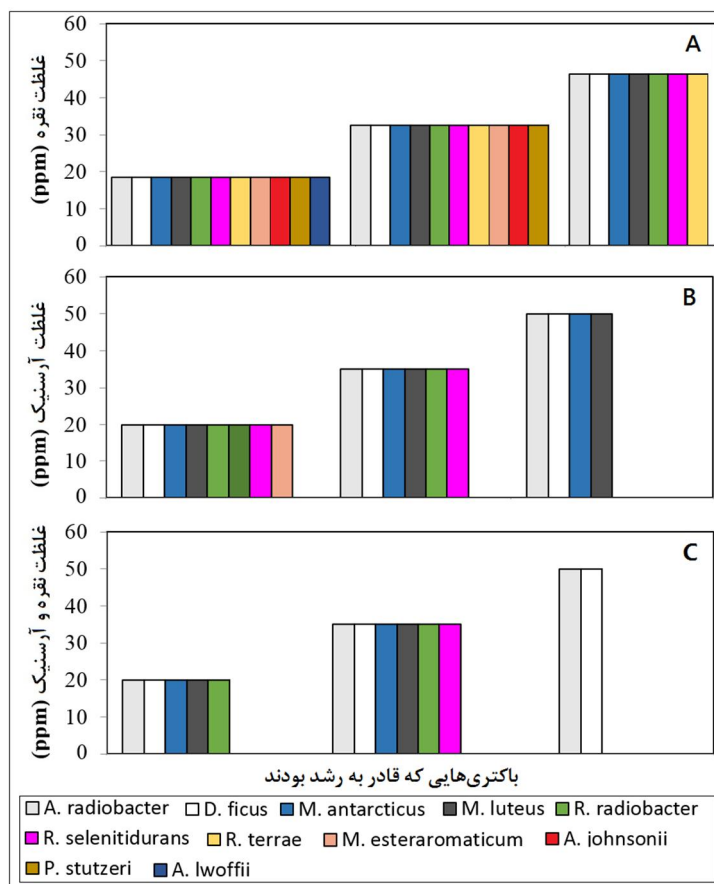
جدایه‌ها اشاره شده است. از خاک پرعیار 6 و از خاک کم‌عیار 12 سویه جداسازی و شناسایی شد. از خاک شاهد نیز 43 جدایه جداسازی شد که پس از شناسایی در حد جنس مشخص شد که متعلق به 13 جنس بودند. نتایج نهایی شناسایی جدایه‌ها در جدول 3 ارائه شده است.

جدول 3 جدایه‌های به‌دست‌آمده از خاک‌های پرعیار و کم‌عیار طلا و خاک شاهد

نوع خاک		
شاهد	کم‌عیار	پرعیار
<i>Acinetobacter sp.</i>	<i>A. johnsonii</i>	<i>A. lwoffii</i>
<i>Actinomyces sp.</i>	<i>A. junii</i>	<i>A. radiobacter</i>
<i>Aerococcus sp.</i>	<i>C. testosterone</i>	<i>M. esteraromaticum</i>
<i>Azotobacter sp.</i>	<i>D. ficus</i>	<i>M. antarcticus</i>
<i>Bacillus sp.</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>R. radiobacter</i>
<i>Burkholderia sp.</i>	<i>M. profundus</i>	<i>R. selenitidurans</i>
<i>Cryptococcus sp.</i>	<i>M. luteus</i>	
<i>Enterobacter sp.</i>	<i>P. stutzeri</i>	
<i>Klebsiella sp.</i>	<i>R. soli</i>	
<i>Listeria sp.</i>	<i>R. terrae</i>	
<i>Pseudomonas sp.</i>	<i>S. epidermidis</i>	
<i>Rhizobium sp.</i>		
<i>Streptomyces sp.</i>		

خود نشان دادند. ترتیب مقاومت در برابر آرسنیک شامل باکتری‌های *A. radiobacter*، *D. ficus*، *M. antarcticus* و *M. luteus* بود که نشان می‌دهد باکتری‌های *R. radiobacter* و *R. selenitidurans* قادر به تحمل غلظت بالای آرسنیک نبوده‌اند. هایت از بین سویه‌های جداسازی شده، باکتری‌های *A. radiobacter* و *D. ficus* بیشترین مقاومت را هم در برابر نقره و هم آرسنیک و در حضور 3,5ppm طلا داشتند.

3-5 مقاومت جدایه‌ها در برابر آرسنیک و نقره
 برای بررسی مقاومت جدایه‌ها در برابر آرسنیک و نقره، سویه‌های شناسایی شده در حضور اندازه‌های مختلف آرسنیک و نقره کشت داده شدند. همچنان‌که در شکل 1 نشان داده شده است، نتایج نشان می‌دهد که باکتری‌های *A. radiobacter*، *D. ficus*، *M. antarcticus*، *M. luteus* و *R. radiobacter* به ترتیب بیشترین مقاومت را در برابر نقره و در حضور 3,5ppm طلا از



شکل 1 مقاوت جدایه‌های به‌دست‌آمده در برابر اندازه‌های مختلف نقره (A)، آرسنیک (B) و نقره و آرسنیک به‌طور همزمان (C) بر محیط کشت SEA (ساخته‌شده از خاک پر عیار با 3,5 ppm طلا).

6- بحث

متابولیت یا عناصر احتمالی ویژه‌ای (چه از نظر نوع و چه از نظر غلظت) که ممکن بود فقط در خاک معدن یافت شود، از خاک معدن عصاره‌گیری و محیط SEA نیز ساخته شد. از آنجایی‌که بسیاری از باکتری‌ها در محیط‌های آلی مغذی و پیچیده رشد نمی‌کنند و از طرفی در چنین محیط‌هایی، رشد میکروارگانیسم‌های کند رشد به وسیله میکروارگانیسم‌هایی که سریع رشد می‌کنند، مهار می‌شود، ما محیط SEA را طراحی کردیم تا امکان جداسازی چنین باکتری‌هایی فراهم شود. مطالعات نشان داده است که غلظت مواد مغذی در محیط رشد برای باکتری‌های اولیگوتروف خاک مهم است [20] و رشد اولیگوتروفي (یعنی توانایی رشد بر محیط‌های کشت با 1-15 میلی‌گرم کربن آلی در لیتر) در شاخه‌هایی از

جمعیت‌های مختلفی از میکروارگانیسم‌ها به‌ویژه قارچ‌ها، اکتینومیسیت‌ها و باسیلوس‌ها از ساکنان معمول خاک به شمار می‌آیند [19]. اگرچه با توجه به شرایط و امکانات موجود در این مطالعه، همه باکتری‌های خاک قابل جداسازی نبودند، ولی تعدادی از سویه‌های باکتریایی که قابلیت رشد بر محیط‌های استفاده‌شده را داشتند، جداسازی شد. با هدف امکان جداسازی حداکثر تنوع میکروارگانیسم‌های موجود در خاک‌های معدن آق‌دره، از دو محیط NA و SEA استفاده شد. محیط NA مواد مغذی مختلف را برای میکروارگانیسم‌های گوناگون که قابل کشت هستند، فراهم می‌کند. هرچند محیط NA یک محیط مغذی برای رشد باکتری‌هاست ولی به دلیل تأمین

غنی از مواد مغذی بهتر رشد کردند [23]. این یافته با گزارش‌های سایر پژوهشگرانی که محیط‌های غنی از مواد مغذی را برای کشت باکتری‌های متعلق به این شاخه‌ها ایدئال می‌دانند، مطابقت دارد [24؛ 25]. از سوی دیگر، بارتلم و همکاران متوجه شدند که در محیط حاوی مواد مغذی کم، درصد *Proteobacteria* و *Actinobacteria* در مقایسه با محیط غنی، فقط کمی بیشتر است و این فزونی چندان چشمگیر نیست [20]. در این میان مطالعات سیبانا و همکاران نشان داد که شاخه *Actinobacteria* از قدرت تطابق و انعطاف‌پذیری برای رشد در محیط‌های به‌شدت سخت و بحرانی برخوردارند [22].

در پژوهش ما جنس‌های *Acinetobacter* و *Roseomonas* هرکدام با سه گونه، جنس‌های غالب در نمونه‌های به‌دست‌آمده بودند. همچنین جنس‌های *Micrococcus* و *Microbacterium* نیز هرکدام دو گونه و جنس‌های *Comamonas*، *Agrobacterium*، *Rhizobium*، *Pseudomonas*، *Listeria*، *Deinococcus* و *Staphylococcus* هرکدام یک گونه از این تعداد را به خود اختصاص داده بودند. این نتایج با مطالعه‌های قبلی روی میکروبیوتای معادن طلا مطابقت دارد و نشان می‌دهد که این جنس‌ها، میکروبیوتای اصلی سنگ معدن طلا را تشکیل می‌دهند. لی و همکاران [26] و تومزیک و همکاران به‌ترتیب وجود جنس‌های *Acinetobacter* و *Pseudomonas* را در معادن طلا گزارش کردند [27]. همچنین درونیاک و همکاران در مطالعه‌ای که روی معدن طلای زولتی استوک در لهستان انجام دادند، متوجه شدند که جنس‌های *Microbacterium* و *Pseudomonas* بخش چشمگیری از جمعیت باکتریایی را در معدن طلای Zloty در لهستان تشکیل می‌دهند [28]. ریث و همکاران وجود جنس‌های *Acinetobacter*، *Microbacterium* و *Pseudomonas* را در بیوفیلم باکتریایی طلا گزارش کردند [29]. نتایج این پژوهشگران با نتایج به‌دست‌آمده به‌وسیله

باکتری‌های خاک که کمتر مطالعه شده‌اند، به میزان بسیار زیادی رخ می‌دهد [16].

در این پژوهش 17 سویه باکتریایی، خالص‌سازی و بعد از آنالیز ژن 16S rDNA به وسیله هم‌ردیفی در NCBI، شناسایی در سطح گونه انجام شد. نتایج حاصل از آنالیز BlastN با نتایج به‌دست‌آمده به‌وسیله ابزار شناسایی دیگر، یعنی EzTaxon و RDP Classifier تأیید شدند. ذکر این نکته لازم است که در مطالعه حاضر، تنها باکتری‌های زنده قابل کشت بررسی شدند و به همین دلیل تنوع باکتریایی به‌دست‌آمده، تنها به 16 گونه مختلف محدود شد. به‌طور طبیعی اگر از سایر روش‌های مبتنی بر جستجوی DNA استفاده می‌شد، ممکن بود تنوع به‌دست‌آمده بسیار بیشتر از این عدد باشد. برای اطمینان بیشتر از اینکه شناسایی به‌خوبی انجام گرفته است، نتایج به‌دست‌آمده به‌وسیله تجزیه‌وتحلیل هم‌ردیفی با نتایج به‌دست‌آمده حاصل از دو ابزار شناسایی دیگر، یعنی EzTaxon و RDP Classifier مقایسه و تأیید شدند [16].

نتایج نشان داد میکروبیوتای قابل کشت به‌دست‌آمده از نمونه‌های خاک معدن آق‌دره، به‌طور عمده از شاخه *Proteobacteria* تشکیل شده بود (9 گونه) و شاخه‌های *Actinomycetota*، *Bacillota* و *Deinococcota* به‌ترتیب با 4، 2 و 1 گونه در رده‌های بعدی فراوانی قرار داشتند. مطالعات بسیاری حضور *Proteobacteria* را به دلیل تنوع و قابلیت متابولیکی گسترده‌ای که دارند، در معادن و دیگر محیط‌ها نشان داده است [21-22] که با نتایج ما همخوانی دارد. البته مطالعات سیبانا و همکاران بر تنوع میکروبی سنگ‌های باطله معادن طلا نشان داد که شاخه *Actinobacteria* غالب‌ترین و پس از آن *Proteobacteria*، *Firmicutes*، *Chloroflexi*، *Cyanobacteria*، *Bacteroidetes*، *Acidobacteria* و *Planctomycetes* قرار داشتند. برخلاف *Proteobacteria*، شاخه‌های *Actinobacteria* و *Firmicutes* در محیط‌های

ما همخوانی دارد. براساس مشاهدات، جنس *Microbacterium* می‌تواند اتصال باکتری به سطح دانه-های طلا را آغاز کند و واسطه کلونیزه‌شدن اولیه طلا باشد. این جنس همچنین در معدن طلای زولتی استوک در لهستان دیده شد و ویژگی بارز آن، قدرت تحمل بالا در برابر آرسنیک، سرب و مس بود [16]. جنس *Micrococcus* قادر به بقای طولانی‌مدت در شرایط سخت است. مشخص شده است که *M. luteus* متان را به طور مؤثر در حضور طلا اکسید می‌کند [4] و قادر به جذب زیستی کادمیوم و مس است [30؛ 31]. شواهدی مبنی بر توانایی *P. stutzeri* در تجزیه سیانید و تیوسیانات [32]، تولید نانوذرات فلزی و رسوب طلا از محلول وجود دارد [33].

طلا در محیط به شکل یون‌های آزاد مشاهده نشد و بیشتر به شکل کمپلکس‌های طلا دیده می‌شود [19]. کمپلکس‌های طلا همانند دیگر یون‌های آزاد فلزات برای باکتری‌ها سمی هستند، زیرا این کمپلکس‌ها می‌توانند در درون سلول باکتری‌ها استرس اکسیداتیو ایجاد و از فعالیت آنزیم‌ها نیز جلوگیری کنند [34]. باکتری *Bacillus cereus* با قارچ‌های موجود در خاک در تعامل است، به این شکل که آنتی‌بیوتیک‌های ترشح‌شده از این قارچ‌ها، امکان زیست این باکتری را در خاک‌های حاوی طلا فراهم می‌آورد. این باکتری قادر است تا آنتی‌بیوتیک‌های مترشح‌شده از قارچ را شکسته و به موادی که چلات نامیده می‌شوند، تبدیل کند. این چلات‌ها به کمپلکس‌های طلا چسبیده و به‌این‌صورت باکتری‌ها از اثرات سمی طلا در امان می‌مانند [21]. تعیین ترادف میکروبیوتای ناگت‌های طلا مشخص کرده است که دو باکتری *Cupriavidus metallidurans* و *Delftia acidovorans* مهم‌ترین باکتری‌های ساکن در ناگت‌های طلا هستند و در حدود 90 درصد جمعیت را شامل می‌شوند. معلوم شده است که *Cupriavidus metallidurans* برای مبارزه اثر سمی طلا،

کمپلکس‌های طلا را به درون سیتوپلاسم خود برده و در آنجا با کمک سازوکارهای پمپاژ یا ایفلاکس، احیا و متیلاسیون، این کمپلکس‌های طلای سه‌ظرفیتی را به ترکیب‌های مختلف و در نهایت ذرات طلای عنصری تبدیل می‌کنند. این باکتری متالوفیل خوشه‌های ژنی مقاوم به فلزات دارد و با بیان به‌موقع آنها قادر است اندازه‌های مختلفی از فلزات را در محیط رشد خود تحمل کند [6]. این سازوکار در باکتری *M. luteus* هم مشاهده شده است [35؛ 36]. سازوکارهای دیگر که سبب مقاومت به کمپلکس‌های طلا می‌شود، ایجاد بیوفیلم [6؛ 21] و ترشح برخی متابولیت‌های ثانویه است که در باکتری *Delftia acidovorans* دیده شده است. این متابولیت‌ها طلای محلول را به طلای جامد تبدیل می‌کنند. به‌این‌ترتیب اثر سمی آن برای باکتری‌ها کاهش پیدا می‌کند [3]. باکتری‌های جداشده از خاک پرعیار به اندازه‌های مختلفی از یون‌های مضر مثل آرسنیک و نقره مقاومت نشان دادند ولی در اندازه‌های بالاتر از آن فقط باکتری *Deinococcus* مقاوم بود. درواقع می‌توان گفت که وجود انواع عناصر مضر برای باکتری‌ها می‌تواند بر تحمل آنها تأثیرگذار باشد و سبب کاهش تنوع باکتری‌های مقاوم به طلا شود. باکتری‌های *Micrococcus* و *Roseococcus* در حالتی که یون‌های نقره یا آرسنیک را به‌تنهایی تحمل می‌کردند، مقاومت بیشتری از خود نشان می‌دادند نسبت به زمانی که این یون‌ها به همراه عناصر موجود در خاک توأم در محیط کشت موجود بودند.

مشاهده‌های ما نشان داد باکتری‌های *A. radiobacter* و *D. ficus* در حضور طلا، بیشترین مقاومت را در برابر آرسنیک و نقره از خود نشان دادند. بنابراین می‌توان از آنها برای مقاصد صنعتی در محیط‌های آلوده به این فلزات بهره برد. اعضای جنس‌های *Agrobacterium* و *Deinococcus* از باکتری‌های مقاوم در محیط زیست می‌باشند که به انواع مختلفی از استرس‌های اکسیداتیو

منابع

- [37؛ 38]. پرتوهای رادیواکتیو [39؛ 40]، سرما، خشکی، اسیدیته بالا و یون‌های مضر [41] مقاومت بالایی دارند. از این رو جای تعجب نیست که این باکتری‌ها قادرند اندازه‌های بیشتری از یون‌های آرسنیک و نقره را به همراه سایر عناصر موجود در خاک حاوی طلا تحمل کنند. اکسیداسیون آرسنیک، یکی از سازوکارهای استفاده‌شده برای ختناسازی آثار سمی آرسنیک به وسیله بعضی گونه‌های جنس *Agrobacterium* می‌باشد [42].
- به‌طور کلی می‌توان گفت تنوع میکروارگانیسم‌های موجود در خاک‌های ذخایر طلا نه تنها به میزان طلای موجود در آن، بلکه به میزان و انواع عناصر و یون‌های دیگر موجود در آن خاک نیز بستگی دارد و هرچه انواع و میزان عناصر همراه با طلا در خاک بیشتر باشد، تنوع میکروبی آن خاک نیز کاهش پیدا می‌کند. مطالعات جی و همکاران نشان داد که تنوع میکروبی و ترکیب جامعه در بین محل‌های مختلف نمونه‌برداری متفاوت است و در اعماق مختلف، میکروبی‌های خاک به‌طور چشمگیری تحت تأثیر عوامل محیطی خاک مانند فلزات سنگین قرار گرفتند، برای مثال سرب و جیوه بر تنوع میکروبی خاک تأثیر منفی گذاشتند و خاک کمتر آلوده، تنوع میکروبی را افزایش داد [43].
- نتایج این پژوهش نشان داد که باکتری‌های جداشده از خاک‌های حاوی طلا با باکتری‌های معمول در خاک تفاوت‌هایی داشته است به‌طوری‌که از خاک‌های حاوی طلا، هیچ نمونه باسیلوس جداسازی نشد. این در حالی است که این باکتری‌ها از ساکنان نرمال خاک به شمار می‌آیند. همچنین مشاهده ما نشان داد باکتری‌های *A. radiobacter* و *D. ficus* در حضور طلا، بیشترین مقاومت را در برابر آرسنیک و نقره از خود نشان دادند. بنابراین می‌توان از آنها برای مقاصد صنعتی در محیط‌های آلوده به این فلزات بهره برد.
- [1] Southam G, Saunders JA. (2005). The geomicrobiology of ore deposits. *Economic geology*; 100:1067–1084.
- [2] Hassanvand A, Saadatmand S, Lari Yazdi H, Iranbakhsh A R. (2022). Investigation of Antioxidant, Antimicrobial and Anticancer Potential of Silver Nanoparticles Synthesized by *Viola tricolor* L. Extract. *JAST*; 24 (4): 885-900 URL: <http://jast.modares.ac.ir/article-23-48826-en.html>
- [3] Johnston CW, Wyatt MA, Li X, Ibrahim A, Shuster J, Magarvey NA. (2013). Gold biomineralization by a metallophore from a gold-associated microbe. *Nature Chemical Biology*. 9: 241–243.
- [4] Reith F, Lengke M, Falconer D, Craw D, Southam G. (2007). The geomicrobiology of gold. *ISME Journal*. 1(7):567–584.
- [5] Reith F, Rogers SL, McPhail DC, Webb D. (2006). Biomineralization of gold: Biofilms on bacterioform gold. *Science*. 313:333–336.
- [6] Reith F, Fairbrother L, Nolze G, Wilhelmi O, Clode P. (2010). Nanoparticle factories: Biofilms hold the key to gold dispersion and nugget formation. *Geology*. 38 (9): 843-846
- [7] Mergeay M, Monchy S, Vallaeyts T. (2003). *Ralstonia metallidurans*, a bacterium specifically adapted to toxic metals: Towards a catalogue of metal-responsive genes. *FEMS Microbiology Reviews*. 27:385–410.
- [8] Kerr RA. (2006). Bacteria help grow nuggets from Dirt. *Science*. 313(5784): 159-166 DOI: 10.1126/science.313.5784.159a
- [9] Reith F, Mcphail DC, Christy AG. (2005). *Bacillus cereus*, gold and associated elements in soil and regolith samples from Tomakin Park Gold Mine in south eastern New South Wales. *Journal of Geochemical Exploration*. 85: 81-89
- [10] Zouboulis AI, Loukidou MX, Matis K. (2004). Biosorption of toxic metals from aqueous solutions by bacteria strains isolated from metal-polluted soils. *Process Biochemistry*. 39(8); 909-916
- [11] Mandal BK1, Suzuki KT. (2002). Arsenic round the world: a review. *Talanta*. 16;58(1): 201-35.
- [12] Drewniak L, Styczek A, Sklodowska A. (2007). Arsenic Hypertolerant Bacteria Isolated from Gold Mine Rocks Biofilms. *Advanced Materials Research*. 20(21): 576-576,

- microorganisms. *Microbial Biotechnology*. 10(3):570–585.
- [23] Sibanda T, Selvarajan R, Msagati T. (2019). Defunct gold mine tailings are natural reservoir for unique bacterial communities revealed by high-throughput sequencing analysis. *Science of The Total Environment*. 650 (2): 2199-2209.
- [24] Jiang Y, Li Q, Chen X, Jiang C. (2016). Isolation and Cultivation Methods of Actinobacteria. *Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications* [Internet]. 11; Available from: <http://dx.doi.org/10.5772/61457>
- [25] Missiakas DM, Schneewind O. (2018). Growth and laboratory maintenance of *Staphylococcus aureus*. *Current Protocols in Microbiology*. 9: 1-9
- [26] Li M, Haixia T, Wang L, Duan J. (2017). Bacterial diversity in Linglong gold mine, China. *Geomicrobiology Journal*. 34(3):267–273.
- [27] Tomczyk - Zak K, Kaczanowski S, Drewniak L, Dmoch L, Sklodowska A, Zielenkiewicz U. (2013). Bacterial diversity and arsenic mobilization in rock biofilm from an ancient gold and arsenic mine. *Science of the Total Environment*. 461–462(1):330–340.
- [28] Drewniak L, Styczek A, Majder-Lopatka M, Sklodowska A. (2008). Bacteria, hypertolerant to arsenic in the rocks of an ancient gold mine, and their potential role in dissemination of arsenic pollution. *Environment Pollution*. 156(3):1069–1074.
- [29] Reith F, Rea MAD, Sawley P, Zammit CM, Nolze G, Reith T, Rantanen K, Bissett A. (2018). Biogeochemical cycling of gold: Transforming gold particles from arctic Finland. *Chemistry Geology*. 483: 511–529.
- [30] Letnik I, Avrahami R, Port R, Greiner A, Zussman E, Rokem JS, Greenblatt C. (2017). Biosorption of copper from aqueous environments by *Micrococcus luteus* in cell suspension and when encapsulated. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 116:64–72.
- [31] Uniyal S, Rawat M, Rai JPN. (2013). Cadmium biosorption by *Stenotrophomonas humi* and *Micrococcus luteus*: kinetics, equilibrium and thermodynamic studies. *Desalination and Water Treatment*. 51(40–42): 7721–7731.
- [32] Grigor'eva NV, Kondrat'eva TF, Krasil'nikova EN, Karavaiko GI. (2006). Mechanism of cyanide and thiocyanate decomposition by an association of *Pseudomonas*
- [13] Yamamura S, Ike M, Fujita M. (2003). Dissimilatory arsenate reduction by a facultative anaerobe, *Bacillus* sp. Strain SF-1. *Bioscience Bioengineering*. 96: 454-460
- [14] Kavynifard A, Ebrahimipour G, Ghasempour A. (2016). Optimization of crude oil degradation by *Dietzia cinnamea* KA1, capable of biosurfactant production. *Journal of Basic Microbiology*. 56(5):566-75. doi: 10.1002/jobm.201500386.
- [15] Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 74(12):5463-5467. doi:10.1073/pnas.74.12.5463
- [16] Nosáľová L, Maliničová L, Kisková J, Timková I, Sedláková-Kaduková, Pristaš P. (2021). Cultivable Microbiota Associated with Gold Ore from the Rozáľia Gold Mine, Hodruša-Hámre, Slovakia. *Geomicrobiology Journal*. 38:5, 415-425, DOI: 10.1080/01490451.2021.1871685
- [17] Hol JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Maryland USA: Williams Wilkins.
- [18] Ulfata M, Abada Z, Alic NM, Sarwarb S, Jabeenb K, Abrar A. (2021). Screening, biochemical characterization and antibiotics resistance/susceptibility of bacteria isolated from native soil and water samples. *Brazilian Journal of Biology*. 84, e254016. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.254016>
- [19] Mandal, D.; Aghababaei, M.; Das, S.K.; Majumder, S.; Chatterjee, D.; Basu, A. (2022). Isolation and Identification of Arsenic Hyper-Tolerant Bacterium with Potential Plant Growth Promoting Properties from Soil. *Minerals*. 12, 1452. <https://doi.org/10.3390/min12111452>.
- [20] Bartelme RP, Custer JM, Dupont CHL, Espinoza JL, Torralba M, Khalili B, Carini P. (2020). Influence of substrate concentration on the culturability of heterotrophic soil microbes isolated by highthroughput dilution-to-extinction cultivation. *mSphere*. 5(1): e00024–20.
- [21] Reith F, McPhailDC. (2006). Effect of resident microbiota on the solubilization of gold in soils from the Tomakin Park Gold Mine, New South Wales, Australia. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 70:1421–1438.
- [22] Sibanda T, Selvarajan R, Tekere M. (2017). Synthetic extreme environments: overlooked sources of potential biotechnologically relevant

- [39] Asker D, Awad TS, McLandsborough L, Beppu T, Ueda K. (2011). *Deinococcus depolymerans* sp. nov., a gamma- and UV-radiation-resistant bacterium, isolated from a naturally radioactive site. *International Journal of Systematic and Evolutionary*. 61(Pt 6):1448-1453. doi: 10.1099/ijs.0.013482-0. Epub 2010 Jul 9. PMID: 20622051.
- [40] Daly MJ. (2009). A new perspective on radiation resistance based on *Deinococcus radiodurans*. *Nature Review Microbiology*. 7:237-245
- [41] Zhang Sh, Yang H, Ma P, Luan Z, Tong L, Jin Z, Sand W. (2022). Column bio-oxidation of low-grade refractory gold ore containing high-arsenic and high-sulfur: Insight on change in microbial community structure and sulfide surface corrosion. *Minerals Engineering*. 175. 107201.
- [42] Kashyap DR, Botero LM, Franck WL, Hassett DJ, McDermott TR. (2006). Complex regulation of arsenite oxidation in *Agrobacterium tumefaciens*. *Journal of Bacteriology*. 2006; 188(3):1081-8. doi: 10.1128/JB.188.3.1081-1088. PMID: 16428412; PMCID: PMC1347330.
- [43] Ji H, Zhang Y, Bararunyeretse P, Li H. (2018). Characterization of microbial communities of soils from gold mine tailings and identification of mercury-resistant strain. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 165; 182-193
- putida and *Pseudomonas stutzeri* strains. *Microbiology*. 75(3):266-273.
- [33] Gericke M, Pinches A. (2006). Microbial production of gold nanoparticles. *Gold Bulletin*. 39(1):22-28.
- [34] Rana S, Mishra P, Ab Wahid Z, Thakur S, Pant D, Singh L. (2020). Microbe-mediated sustainable bio-recovery of gold from low-grade precious solid waste: A microbiological overview. *Journal of Environmental Sciences*. 1;89:47-64.
- [35] Deng W, Yang Y, GaoHao P, Wenting C, Sun W. (2016). Radiation-Resistant *Micrococcus luteus* SC1204 and Its Proteomics Change Upon Gamma Irradiation. *Current Microbiology*. 72(6): 767-775
- [36] Levchenko LA, Sadkov AP, Lariontseva NV, Koldasheva EM, Shilova AK, Shilov AE. (2020). Gold helps bacteria to oxidize methane. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 88:251-3.
- [37] Slade D, Radman M. (2011). Oxidative Stress Resistance in *Deinococcus radiodurans*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 75(1):133-91
- [38] Abreu IA. (2008). The kinetic mechanism of manganese-containing superoxide dismutase from *Deinococcus radiodurans*: a specialized enzyme for the elimination of high superoxide concentrations. *Biochemistry*. 47:2350-2356

Investigation of bacterial diversity of Aq-Darreh gold mine and determination of their resistance to arsenic and silver

Foozieh Moghadami¹, Amirarsalan Kavyanifard^{1*}

¹ Department of Biology, Payame Noor University, P.B:19395-4697, Tehran, Iran.

*Corresponding author
Email: kavyanifarda@pnu.ac.ir

Received: 2023/3/7

Accepted: 2023/7/23

Abstract

Microorganisms play an important role in formation of mines. In this research, the bacteria inhabiting in Aq-Darreh Takab gold mine were isolated and compared with agricultural soils. The isolates were characterized using 16S rDNA sequencing and the homology searches were performed using BlastN, EzTaxon, and RDP Classifier web tools. Resistance of the isolates was also investigated against arsenic and silver in the presence and absence of 3.5 ppm gold. Although the control soil showed a wide variety of bacterial diversity (43 isolates belonging to 13 genera), only 17 isolates belonging to 11 genera were isolated from mine soils including *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Comamonas*, *Deinococcus*, *Listeria*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Roseomonas* and *Staphylococcus*. Among the isolates, *A. radiobacter*, *D. ficus*, *M. antarcticus*, *M. luteus*, *R. radiobacter* and *R. selenitidurans* were able to tolerate different amounts of arsenic and silver in the presence of gold, among which *A. radiobacter* and *D. ficus* showed the highest resistance in such a way that they grew in the presence of 50 ppm arsenic, 50 ppm silver, and 3.5 ppm gold. Our results showed that bacterial diversity in soils containing gold, silver and arsenic metals is less than agricultural soils. It was also found that the bacterial diversity in gold mines depends on the amount of gold and the amount and type of associated elements. Due to high resistance of two endogenous bacterial species to arsenic and silver, *A. radiobacter* and *D. ficus*, have also the potential for industrial purposes in environments contaminated with these metals.

Keywords: Arsenic, Aq-Darreh, Endogenous bacterium, Gold mine, Silver.