مجله بوم شناسی آبزیان

Journal homepage: http://jae.hormozgan.ac.ir

تأثیر فاکتورهای محیطی دما، شوری و میزان فلز سرب بر رشد باکتری مقاوم به فلز سرب جداسازی شده از رسوبات خلیج فارس

راضیه لموچی*، علیرضا صفاهیه

گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

نوع مقاله:
پژوهشی

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۹۲/۱۱/۲۹
اصلاح: ۹۳/۰۲/۲۰
پذیرش: ۹۳/۰۲/۲۳

کلمات کلیدی:
جذب زیستی
باکتری
فلزات سنگین
خلیج فارس
Micrococcus sp.

چکیده

فلزات سنگین یکی از پایدارترین آلاینده ها در آب هستند که برخلاف سایر آلاینده ها به سختی تجزیه می شوند، در زنجیره غذایی تجمع می یابند و تهدید مهمی برای سلامت عمومی انسان به شمار می روند. فرآیند جذب زیستی، تکنولوژی جدیدی در زمینه حذف آلاینده ها از جمله فلزات سنگین براساس توانایی میکروارگانیسم‌ها می باشد. مطالعه ما در زمینه شناسایی باکتری‌های مقاوم به فلز سرب در رسوبات آلوده خلیج فارس به جداسازی باکتری *Micrococcus* sp. به عنوان گونه مقاوم به فلز سرب منجر گردید. حداکثر رشد باکتری *Micrococcus sp.* در غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر سرب بر اساس جذب نوری ۰/۸۶ اندازه گیری شد و با افزایش غلظت سرب رشد کاهش یافت با این حال تا غلظت ۸۰۰ میلی گرم بر لیتر نیز قادر به رشد بود. دمای بهینه جهت رشد باکتری مذکور ۲۵ درجه سانتی گراد است و با حداکثر رشد باکتری در دمای ۱۵، ۳۵ و ۴۵ درجه سانتی گراد تفاوت معنی داری نشان داد ($P \leq 0.05$). همچنین نتایج حاصل از تست هالوفیل، حاکی از هالوتولرانت بودن گونه فوق بود. با افزایش غلظت نمک از صفر تا ۴ درصد رشد باکتری افزایش می یابد و در صورت افزایش نمک به غلظت‌های ۶، ۸ و ۱۰ درصد رشد به طور قابل توجهی کاهش یافت.

مقدمه

عصر تکنولوژی با وجود همه ره آوردهای خود برای زندگی انسان، انواع آلودگی های زیست محیطی را نیز به دنبال داشته است. فلزات سنگین یکی از پایدارترین آلاینده ها در آب هستند که برخلاف سایر آلاینده ها به سختی تجزیه می شوند و در زنجیره غذایی تجمع می یابند. حضور این آلاینده ها در آب به سبب تخلیه فاضلاب های شهری و صنعتی باعث ورود پساب با غلظت های بالای فلزات سنگین در آب و بروز اثرات جدی و خطرناکی بر محیط، انسان و سایر موجودات می گردد (Hussein *et al*., 2009). برخی از فلزات سنگین در غلظت‌های کم جزو عناصر ضروری بوده و در موجودات زنده به مقادیر بسیار اندک برای رشد و بقاء لازم هستند؛ این در حالی است که گروه دیگری از این عناصر نه تنها برای حیات بیولوژیکی ضروری نیستند بلکه سمی نیز می باشند. از جمله این عناصر فلز سرب می باشد که در بدن موجودات تجمع یافته و تهدید مهمی برای سلامت عمومی انسان به شمار می رود (Ahalya *et al*., 2003).

حذف فلزات سنگین از طریق روش های معمول فیزیکی و شیمیایی بسیار پرهزینه و همراه با صرف انرژی فراوان با بازدهی اندک می باشد و از آنجا که صنعت به دنبال روش های ارزان و مناسب برای حذف آلاینده ها از محیط است، حذف زیستی

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: raziehlamoochi@yahoo.com

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2025-12-25]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1393.3.4.6.3]

گزینه ای مناسب جهت کنترل و حذف فلزات از محیط به شمار می آید. فرآیند جذب زیستی تکنولوژی جدیدی در زمینه حذف آلاینده ها از جمله فلزات سنگین براساس توانایی میکروارگانیسم ها می باشد. میکروارگانیسم ها به دلیل توانایی در تثبیت یون‌های فلزی، سازگاری با محیط های طبیعی و کم هزینه بودن برای فرآیند جذب زیستی بسیار مناسب بوده و در این بین باکتری ها به علت نسبت سطح به حجم بالا و برخورداری از سایت های فعال جذبی، اندازه کوچک و توانایی رشد بالا جاذب های زیستی مناسب تری محسوب می گردند (Ahalya *et al*., 2003; Wang and Chen, 2009).

دما، شوری، وجود نوترینت ها و pH از جمله فاکتورهای محیطی موثر بر رشد میکروارگانیسم ها می باشند. بر این اساس برخی از میکروارگانیسم ها قادر به زندگی در زیستگاه هایی با شرایط محیطی به شدت متغیر نظیر درجه حرارت های بالا و پایین، محیط های قلیایی و اسیدی، فشار هیدروستاتیک بالا و غلظت های مختلف نمک می باشند (Ryckeboer *et al*., 2003). دما فاکتور محیطی مهمی است که بر رشد میکروارگانیسم ها اثرگذار است. هر میکروارگانیسم در محدوده دمایی مشخصی قادر به رشد می باشد. افزایش دما به بالای ۵۰ درجه سانتی گراد اثرات نامطلوبی بر رشد اکثر میکروارگانیسم ها گذاشته و می تواند برای باکتری ها کشنده باشد. با افزایش دما آنزیم های مؤثر بر رشد باکتری تخریب می شوند که نهایتاً متابولیسم سلولی را مختل کرده و موجب مرگ باکتری می شود (Cooper *et al*., 2001). همچنین غلظت بالای نمک در محیط منجر به تخریب غشا سلولی و غیر فعال شدن بسیاری از آنزیم‌ها می شود و این شرایط می‌تواند برای میکروارگانیسم های حذف کننده آلاینده از محیط کشنده باشد (Kargi and Dincer, 2000).

بندر امام خمینی بزرگترین بندر ایران است که در منطقه محصور شده خور موسی واقع در شمال غرب خلیج فارس قرار دارد. تردد فراوان کشتی در این بندر و وجود صنایع مختلف پتروشیمی در اطراف آن، سبب تخلیه آلاینده های فراوان آلی و معدنی از جمله فلزات سنگین به این منطقه می گردد. با توجه به اینکه این خور راه ارتباطی محدودی با خلیج فارس دارد، آلاینده‌های پایدار از جمله فلزات سنگین طی سالیان درازی در محیط خور باقی مانده و به آلودگی های محیطی تبدیل خواهند شد (جاوید و صمدیار، ۱۳۸۶).

با توجه به مطالب فوق هدف ما در این مطالعه جداسازی و خالص سازی باکتری مقاوم به فلز سرب از رسوبات خلیج فارس (بندر امام خمینی)، شناسایی باکتری جداسازی شده، تعیین رشد باکتری در غلظت‌های مختلف از فلز سرب و بررسی شرایط محیطی موثر (تأثیر دما و شوری) بر رشد باکتری جذب کننده فلز می باشد.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری

نمونه برداری در مهر ماه ۱۳۸۹ از خورموسی واقع در شمال غربی خلیج فارس و در مجاورت بندر امام خمینی انجام شد. نمونه‌برداری با استفاده از گرب و از لایه های سطحی رسوبات و با ۳ تکرار صورت گرفت. داک سرسره در مجاورت صنایع پتروشیمی واقع شده است و محل تعمیر کشتی ها می باشد و به انواع آلاینده ها از جمله فلزات سنگین آلوده می باشد (دهقان مدیسه، ۱۳۸۶). نمونه ها در ظروف شیشه ای درب دار و از قبل استریل شده قرار گرفته و با حفظ شرایط استریل در ظروف نگهداری یخ به آزمایشگاه میکروبیولوژی منتقل شدند.

رقیق سازی نمونه های رسوب و ساخت محلول فلزی

قبل از اضافه کردن نمونه های رسوب به محیط کشت، ابتدا رقیق سازی صورت گرفت. برای این کار یک گرم از نمونه رسوب به ۱۰ میلی لیتر کلرید سدیم ۰/۸۵ درصد اضافه شد و سه رقت 10^{-1} ، 10^{-2} و 10^{-3} از نمونه رسوب تهیه گردید. سپس غلظت های ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر فلز سرب جهت اضافه شدن به محیط کشت نیز تهیه شدند (Dzairi *et al*., 2004).

جداسازی، خالص سازی و شناسایی باکتری

جهت جداسازی باکتری مقاوم به فلز سرب، محیط کشت نوترینت آگار حاوی غلظت های ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر این فلز تهیه گردید. همچنین محیط کشت فاقد فلز به عنوان نمونه شاهد تهیه شد. در ادامه ۰/۱ میلی لیتر از رقت های تهیه شده از نمونه رسوب بر روی سطح محیط کشت با غلظت های مختلف فلز سرب ریخته و با استفاده از میله شیشه ای سر

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2025-12-25]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1393.3.4.6.3]

خمیده پخش گردید. پلیت ها در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد انکوباتور به مدت ۵-۳ روز قرار گرفتند. با اتمام مرحله جداسازی، کلنی ظاهر شده بر سطح محیط کشت حاوی بالاترین غلظت از فلز سرب به عنوان باکتری های مقاوم نسبت به این فلز، جهت خالص سازی انتخاب و به صورت خطی بر روی محیط کشت نوترینت آگار حاوی غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر سرب کشت داده شد. در ادامه پلیت ها به مدت ۵-۳ روز در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد گرماگذاری شدند (Dzairi *et al*., 2004; Chovanova *et al*., 2004). این مرحله از آزمایش تا به دست آمدن کلنی های خالص چندین مرتبه تکرار شد. شناسایی باکتری خالص شده با استفاده از خصوصیات ماکروسکوپی (رنگ و شکل کلنی) و میکروسکوپی (مورفولوژی، رنگ آمیزی گرم و تایید آن با تست KOH)، تست های بیوشیمیایی و کتاب راهنمای برجی انجام گردید.

مطالعه رشد باکتری

به منظور تعیین میزان رشد باکتری، یک میلی لیتر از سوسپانسیون باکتری به ۲۰ میلی لیتر محیط کشت LB broth حاوی غلظت های۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم بر لیتر فلز سرب اضافه شد. نمونه شاهد فاقد فلز (کنترل مثبت) نیز جهت مقایسه در نظر گرفته شد. سپس نمونه ها در انکوباتور شیکردار در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد قرار گرفتند.

جهت سنجش نمونه ها ابتدا دستگاه اسپکتروفتومتر با استفاده از ۳ میلی لیتر محلول blank که همان محیط کشت LB broth می باشد صفر گردید. سپس ۰/۶ میلی لیتر از محیط کشت حاوی باکتری در غلظت های مختلف فلز با ۲/۴ میلی لیتر محلول LB broth رقیق شده و ظرف حاوی محلول باکتری جهت اندازه گیری به دستگاه اسپکتروفتومتر داده شد. سنجش رشد باکتری در فواصل زمانی ۱۲ ساعت به مدت ۵ روز با استفاه از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر قرائت گردید (Shirdam *et al*., 2006).

مطالعه رشد باکتری در دماهای مختلف

توانایی رشد باکتری در دماهای ۱۵، ۲۵، ۳۵ و ۴۵ درجه سانتی گراد مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور یک میلی لیتر از سوسپانسیون باکتری به ۲۰ میلی لیتر محیط کشت LB broth تلقیح شد. در ادامه ارلن های حاوی محیط کشت و باکتری در دماهای فوق در انکوباتور شیکردار با دور ۱۶۰rpm قرار گرفت. سپس رشد باکتری هر ۱۲ ساعت به مدت ۵ روز در طول موج ۶۰۰ نانومتر دستگاه اسپکتروفتومتر سنجش گردید (Okanlawon *et al*., 2010).

مطالعه رشد باکتری در غلظت های مختلف نمک

۱. تست هالوفیته: جهت بررسی توانایی رشد باکتری در غلظت های مختلف نمک ابتدا تست هالوفیته انجام شد. یک میلی لیتر ازسوسپانسیون باکتری به ۲۰ میلی لیتر محیط کشت YP- براث با غلظت های صفر، ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ درصد نمک تلقیح شد. سپس ارلن های حاوی محیط کشت و باکتری در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد در انکوباتور شیکردار با دور ۱۶۰ rpm قرارگرفت. بعد از گذشت ۴۸ ساعت توانایی تحمل غلظت های مختلف نمک از طریق ایجاد کدورت در محیط کشت مورد مطالعه قرار گرفت (ابراهیمی پور و همکاران، ۱۳۸۴).

۲. بررسی روند رشد باکتری در غلظت های مختلف نمک: پس از تعیین میزان مقاومت باکتری در غلظت های مختلف نمک، به بررسی روند رشد آن در محیط کشت نوترینت براث با درصدهای مختلف نمک پرداخته شد. بدین منظور یک میلی لیتر از سوسپانسیون باکتری به ۲۰ میلی لیتر محیط کشت نوترینت براث با غلظت های صفر، ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ درصد نمک تلقیح شد. سپس ارلن های حاوی محیط کشت و باکتری در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد انکوباتور شیکردار قرارگرفت. سنجش رشد باکتری هر ۱۲ ساعت به مدت ۵ روز در طول موج ۶۰۰ نانومتر دستگاه اسپکتروفتومتر صورت پذیرفت (Saleem Khan *et al*., 2009).

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2025-12-25]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1393.3.4.6.3]

نتایــج

انجام رنگ آمیزی گرم و تست KoH حاکی از آن بود که کلنی تشکیل شده بر سطح محیط کشت حاوی بالاترین میزان فلز سرب یک گونه کوکسی گرم مثبت است. در ادامه نتایج حاصل از تست‌های بیوشیمیایی نشان داد که کلنی مورد نظر *Micrococcus sp.* می باشد (جدول۱).

جدول ۱. نتایج حاصل از تست های بیوشیمیایی

تست بیوشیمیایی	نتیجه
رنگ آمیزی	+
شکل کلنی	کوکسی
KoH	-
اکسیداز	+
کاتالاز	+
لاکتوز	-
اوره	-
لایزین	-
حرکت	-
اندول	-
TSI	-
سیترات	-
مکانکی	-
MR	-
VP	-
تشخیص	*Micrococcus* sp.

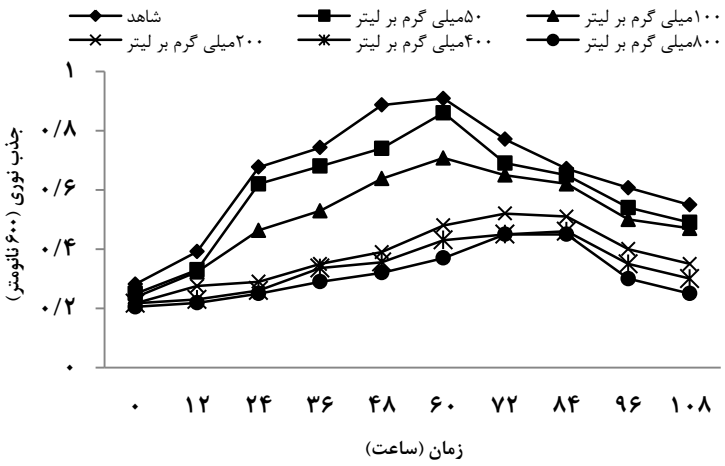
با توجه به شکل ۱، باکتری *Micrococcus* sp. در نمونه شاهد و غلظت های ۵۰ و۱۰۰ میلی گرم بر لیتر فلز سرب ۶۰ ساعت پس از تلقیح به حداکثر رشد خود می رسند این در حالی است که باکتری با افزایش غلظت فلز در محیط کشت خود، مدت زمان بیشتری را برای رسیدن به رشد حداکثری طی می کند. به گونه ای که در غلظت ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم بر لیتر سرب بعد از ۸۴ ساعت به حداکثر رشد خود می رسد. بالاترین میزان جذب نوری در غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر فلز سرب برابر ۰/۸۶ بود که با افزایش غلظت سرب در محیط این میزان کاهش یافته و به ۰/۴۵ در غلظت ۸۰۰ میلی گرم بر لیتر می‌رسد. همچنین با افزایش غلظت سرب در محیط، باکتری رشد خود را با تاخیر ۱۲ تا ۲۴ ساعته آغاز و فاز لگاریتمی را به کندی طی می کند.

حداکثر رشد باکتری *Micrococcus* sp. در غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر سرب با حداکثر رشد باکتری در نمونه شاهد و حداکثر رشد باکتری در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر تفاوت محسوسی نداشت. همچنین بین حداکثر رشد باکتری در غلظت‌های ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم بر لیتر فلز سرب اختلاف معنی دار نبود ($P \geq 0.05$). این در حالی است که رشد باکتری در نمونه شاهد به استثنای حداکثر رشد آن در غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر با سایر غلظت ها تفاوت معنی داری را نشان می داد ($P \leq 0.05$) (شکل ۲).

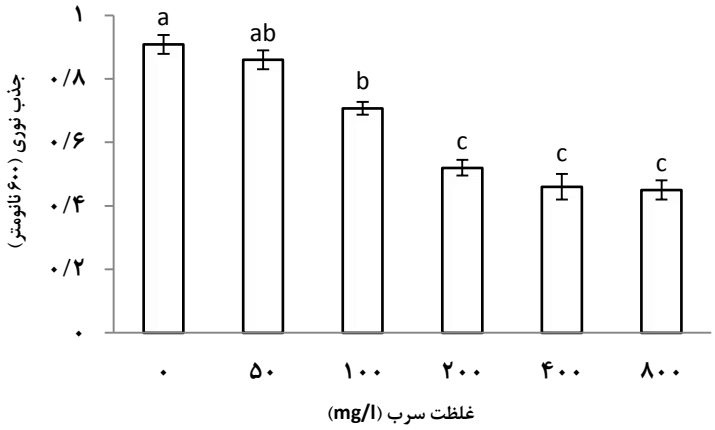
باکتری *Micrococcus* sp. بهترین میزان رشد را در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد داشت. بیشترین میزان جذب نوری در این دما برابر با ۰/۹ بود. همچنین کمترین میزان رشد در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد اندازه گیری شد. باکتری در دمای ۳۵ و ۴۵ درجه سانتی گراد سریع تر به رشد حداکثری خود می رسد. این در حالی است که باکتری در دمای ۱۵ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد دوره لگاریتمی طولانی تری دارد (شکل ۳).

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2025-12-25]

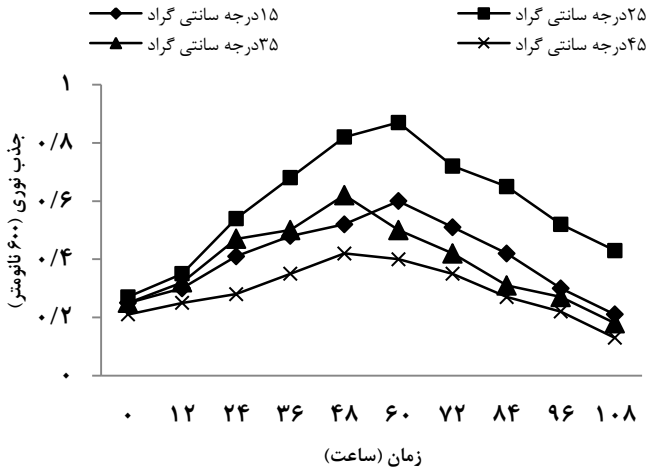
[DOR: 20.1001.1.23222751.1393.3.4.6.3]



شکل ۱. نمودار رشد باکتری *Micrococcus* sp. در غلظت های مختلف فلز سرب



شکل ۲. نمودار میله ای رشد باکتری *Micrococcus* sp. در غلظت‌های مختلف فلز سرب



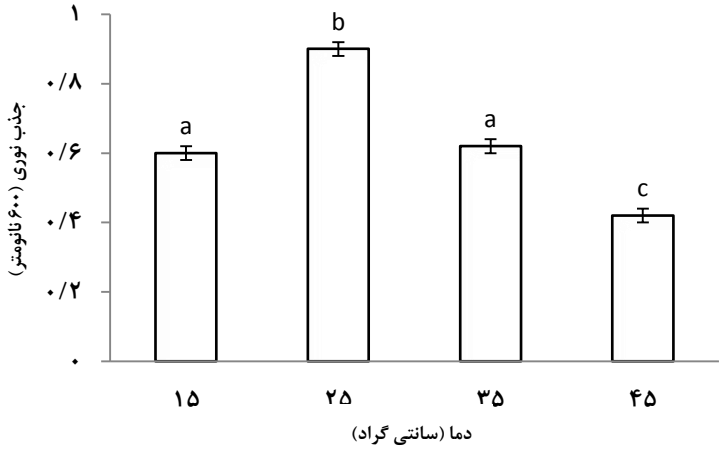
شکل ۳. نمودار رشد باکتری *Micrococcus* sp. در دماهای مختلف

نتایج بررسی حداکثر رشد باکتری *Micrococcus* sp. در دماهای مورد مطالعه نشان داد که بین حداکثر رشد باکتری در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد با حداکثر رشد باکتری در دمای ۱۵، ۳۵ و ۴۵ درجه سانتی گراد تفاوت معنی داری وجود دارد

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2025-12-25]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1393.3.4.6.3]

($P \leq 0.05$). این در حالی است که بین حداکثر رشد آن در دمای ۱۵ و ۳۵ درجه سانتی گراد تفاوت قابل وجهی مشاهده نشد ($P \geq 0.05$) (شکل۴).



شکل ۴. نمودار میله ای رشد باکتری *Micrococcus* sp. در دماهای مختلف

بررسی رشد باکتری در غلظت‌های مختلف نمک نشان داد که گونه مورد مطالعه هالوتولرانت می باشد. نتایج حاصل از تست هالوفیته نشان داد که گونه باکتریایی جداسازی شده از رسوبات خور موسی در دامنه شوری ۲ تا ۴ درصد نمک بیشترین میزان رشد را دارد و با افزایش غلظت نمک در محیط رشد کاهش می یابد (جدول۲).

جدول ۲. نتایج تست هالوفیته

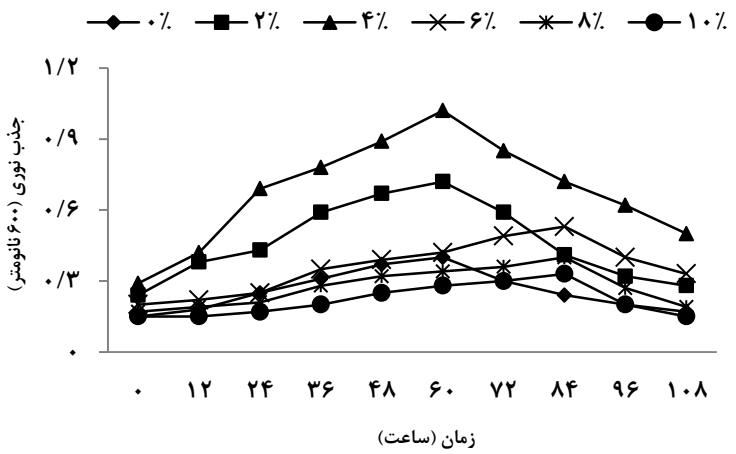
درصد نمک	۰٪	۲٪	۴٪	۶٪	۸٪	۱۰٪
Micrococcus sp.	(+)	++	+	(+)	(+)	(+)

+ +: رشد خیلی خوب، +: رشد خوب، (+): رشد ضعیف، - : عدم رشد

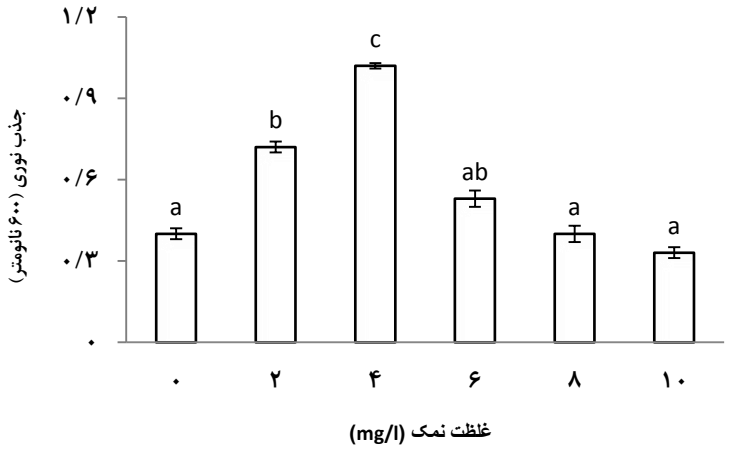
با افزایش غلظت نمک تا ۴ درصد رشد باکتری *Micrococcus* sp. افزایش و پس از آن با افزایش غلظت نمک در محیط رشد کاهش می یابد. باکتری در غلظت های پایین نمک سریع تر به حداکثر رشد خود می رسد در حالی که با افزایش غلظت نمک باکتری با تأخیر رشد خود را آغاز و بعد از گذشت زمان طولانی تری به حداکثر رشد خود می رسد (شکل۵). با توجه به شکل ۶ حداکثر رشد باکتری در غلظت ۴ درصد نمک با حداکثر رشد آن در سایر غلظت های نمک تفاوت قابل توجهی دیده می‌شود ($P \leq 0.05$). این در حالی است که بین حداکثر رشد باکتری در غلظت های صفر، ۸ و ۱۰ درصد نمک تفاوت محسوسی مشاهده نشد ($P \geq 0.05$).

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2025-12-25]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1393.3.4.6.3]



شکل ۵. نمودار رشد باکتری *Micrococcus* sp. در غلظت های مختلف نمک



شکل ۶. نمودار میله ای رشد باکتری *Micrococcus* sp. در غلظت های مختلف نمک

بحث

جهت کنترل و کاهش آلاینده ها از جمله فلزات سنگین از محیط، استفاده از گونه های بومی نسبت به باکتری های دستکاری شده گزینه مناسب تری به شمار می رود. سازمان جهانی حفاظت از محیط زیست (EPA) ورود باکتری های دست ورزی شده به محیط را نامطلوب می داند (Davison, 2005). فلزات سنگین در غلظت های بالا بر رشد و فعالیت باکتری ها اثر منفی گذاشته و باعث کاهش بیومس و تنوع آنها در محیط می شود. علی رغم این استرس، برخی از باکتری ها قادرند خود را با غلظت‌های بالای فلزات سنگین سازگار کنند (Leung *et al*., 2000). همچنین میزان رشد باکتری در حضور فلزات سمی، از جمله فاکتورهای موثر بر توانایی میکروارگانیسم ها در جذب فلزات سنگین از محیط می باشد. غلظت فلز و درجه سمیت آن نیز بر رشد باکتری و در نهایت بر توانایی آن در حذف فلزات سمی از محیط اثرگذار است. از اینرو مطالعه رشد باکتری درحضور غلظت های مختلف فلز لازم می باشد.

در مطالعه حاضر باکتری *Micrococcus* sp. از رسوبات خور موسی به عنوان یک گونه مقاوم به فلز سرب جداسازی و شناسایی گردید. این باکتری قادر به تحمل غلظت‌های بالای این فلز می باشد. میکروکوکوس ها باکتری های گرم مثبت کوکسی شکل می باشند که در انواعی از زیستگاه های آبی و خاکی یافت می شوند. *M. luteus* قادر به حذف فلزات سنگین (Nakajima *et al*, 2001) و اورانیوم از محیط می باشد (Nakajima and Tsuruta, 2004).

مطالعه روند رشد باکتری *Micrococcus* sp. نشان داد که با افزایش غلظت فلز در محیط رشد باکتری کاهش می یابد به گونه ای که بالاترین میزان رشد آن در غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر برابر با ۰/۸۶ بود و در غلظت ۸۰۰ میلی گرم بر لیتر سرب

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2025-12-25]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1393.3.4.6.3]

به ۰/۴۵ کاهش یافت. این موضوع بیانگر کاهش جمعیت میکروبی در پاسخ به افزایش سمیت فلز در محیط می باشد. از طرف دیگر با افزایش غلظت فلز در محیط کشت، باکتری رشد خود را با تأخیر آغاز کرده و دیرتر به حداکثر رشد خود می رسد. وجود فاز تأخیر در غلظت های بالای فلز می‌تواند به جهت ضایعات ناشی از مواجه شدن باکتری با فلز و صرف مدت زمان و انرژی جهت ترمیم این ضایعات و سازگاری با شرایط محیطی جدید باشد. همچنین Kader و همکاران در سال ۲۰۰۷ با بررسی تاثیر غلظت های مختلف فلز کروم بر رشد باکتری متوجه شدند که با افزایش غلظت فلز در محیط دوره لگاریتمی طولانی تر شده و باکتری دیرتر به حداکثر رشد خود می رسد که نشان دهنده اثر منفی و باز دارنده غلظت های بالای فلز بر رشد باکتری است.

میزان رشد باکتری مقاوم به فلز سرب در دماهای ۱۵، ۲۵، ۳۵ و ۴۵ درجه سانتی گراد مورد مطالعه قرار گرفت. افزایش رشد باکتری با ایجاد کدورت در محیط کشت و بالا رفتن میزان جذب نوری همراه بود. دمایی که در آن باکتری بالاترین میزان جذب نوری را داشت به عنوان دمای مطلوب جهت رشد باکتری تعیین گردید.

بیشترین میزان رشد باکتری *Micrococcus* sp. در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد اندازه گیری شد. Zheng و همکاران در سال ۲۰۰۹، بهترین دامنه دمایی برای رشد باکتری *M. luteus* را ۲۰ تا ۳۵ درجه سانتی گراد تخمین زدند. این باکتری بالاترین میزان جذب نوری را در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد داشت. همچنین کمترین میزان رشد نیز در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد به ثبت رسید. همچنین وجود فاز تأخیر در دمای بالاتر از دمای مطلوب جهت رشد باکتری می تواند به دلیل از دست رفتن فعالیت متابولیکی سلول در دماهای بالا باشد که این موضوع باعث به تأخیر افتادن فرایند تقسیم سلولی می گردد تا زمانی که باکتری خود را با شرایط دمایی موجود سازگار کرده و رشد خود را مجددا آغاز کند. از طرف دیگر تاخیر در رشد باکتری در دمای ۱۵ درجه سانتی گراد به دلیل کاهش فعالیت آنزیم های اختصاصی است که باعث می شود باکتری دیرتر فاز لگاریتمی خود را آغاز کند (Cooper *et al*., 2001: Nguyen, 2006).

یکی دیگر از فاکتورهای مؤثر بر رشد و فعالیت میکروارگانیسم ها غلظت نمک در محیط می باشد. غلظت بالای نمک در محیط منجر به تخریب غشا سلولی و غیر فعال شدن بسیاری از آنزیم‌ها می شود و این شرایط می‌تواند برای میکروارگانیسم‌های حذف کننده آلاینده ها از محیط کشنده باشد (Kargi and Dincer, 2000).

رشد بهینه باکتری های نمک دوست در غلظت‌های بالای نمک می باشد این در حالی است که باکتری های تحمل کننده نمک در غلظت های پایین تر رشد بهتری خواهند داشت. همچنین گروهی از میکروارگانیسم ها قادر به رشد در آب های شور و شیرین هستند که هالوتولرانت نامیده می شوند. این دسته از میکروارگانیسم ها قادرند دامنه شوری صفر تا ۶ درصد نمک را تحمل کرده، با شرایط محیطی جدید سازگار شده و در آن رشد کنند (Ventosa *et al*., 1998).

در مطالعه حاضر ابتدا میزان تحمل باکتری در حضور غلظت‌های مختلف نمک تست شد، سپس روند رشد آن در درصدهای مختلف نمک مورد مطالعه قرار گرفت. بررسی توانایی تحمل غلظت‌های مختلف نمک توسط باکتری *Micrococcus* sp. نشان داد که باکتری مذکور، هالوتولرانت بوده و قادر به تحمل شوری ۰ تا ۱۰ درصد نمک می باشد. بررسی روند رشد باکتری *Micrococcus* sp. نشان داد که حداکثر رشد باکتری در غلظت ۴ درصد نمک می باشد و با افزایش غلظت نمک به ۶، ۸ و ۱۰ درصد، رشد کاهش می یابد. همچنین در غلظت‌های بالای نمک، فاز تأخیر نسبتاً طولانی تر می باشد. Zheng و همکاران (۲۰۰۹)، باکتری *M. luteus* را از لجن آلوده به نیتروبنزن جداسازی نموده و اثر نمک بر رشد آن را مطالعه نمودند. نتایج حاصله هالوتولرانت بودن گونه *M. luteus* را نشان داد . حداکثر رشد نیز در غلظت های صفر تا ۳ درصد اندازه گیری شد. با افزایش غلظت نمک به ۷ و ۱۰ درصد، فاز تأخیر افزایش و رشد باکتری به شدت کاهش یافت که وجود فازهای تأخیر نسبتاً طولانی در فرآیند رشد باکتری در غلظت های بالای نمک به دلیل اثرات مهارکننده نمک بر میکروارگانیسم ها می باشد. با افزایش غلظت نمک به بیش از حد بهینه زمان سازگاری باکتری با محیط افزایش می یابد. در این حالت رشد باکتری کاهش یافته و ساخت بیومس به کندی صورت می پذیرد (Ventosa *et al*., 1998؛ Haderlein *et al*., 2001).

افزایش غلظت نمک می تواند از طریق افزایش فشار اسمزی محیط اثر منفی بر فعالیت میکروارگانیسم ها بگذارد. از مهمترین ویژگی میکروارگانیسم های هالوتولرانت که باعث می شود بتوانند غلظت های بالای نمک را تحمل کنند، وجود مکانیسم هایی

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2025-12-25]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1393.3.4.6.3]

است که به باکتری کمک می کند یون های نمکی مازاد را به بیرون پمپ کرده و تعادل مناسب بین غلظت نمک در درون سلول با محیط بیرون را فراهم سازد (Moradi *et al*., 2011).

با توجه به نتایج حاصل، باکتری *Micrococcus* sp. جداسازی شده از رسوبات خور موسی یک گونه مقاوم به فلز سرب بوده که قادر به رشد در حضور این فلز با غلظت ۸۰۰ میلی گرم بر لیتر می باشد. همچنین باکتری مذکور، هالوتولرانت بوده که این امکان را به آن می دهد که بتوانند در اکوسیستم های متفاوت از لحاظ درصد نمک فعالیت کنند. از اینرو می‌توان از این باکتری ها جهت حذف آلاینده ها به خصوص فلز سرب از محیط در خلیج فارس با شوری ۳/۵ درصد، دریای عمان با شوری ۳ درصد و دریای خزر با شوری ۱ درصد نمک استفاده نمود. همچنین امکان استفاده از این گونه جهت حذف آلاینده ها از پساب با درصد شوری بسیار بالا نیز وجود دارد.

منابــع

ابراهیمی پور، غ.، امینیان، م.، ابوالحسنی سورکی، ع. ۱۳۸۴. جداسازی یک باکتری هالوتولرانت نفت خوار و بررسی اثر فاکتورهای محیطی در تجزیه زیستی نفت خام به منظور حفظ محیط زیست. علوم محیطی. سال هشتم، صفحات ۷۴- ۶۵.

دهقان مدیسه، س. ۱۳۸۶. شناسایی مناطق حساس و تحت اثر در خوریات خوزستان با استفاده از شاخص های اکولوژیک و بیولوژیک. پایان نامه دکتری. رشته بیولوژی دریا. دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر. ۱۴۶ صفحه.

جاوید، ا. ح.، صمدیار، ح. ۱۳۸۶. مدل سازی تاثیر تغییر pH در انتقال فلزات سنگین (نیکل و کادمیوم) ناشی از فعالیت های پتروشیمی بندر امام خمینی در خلیج فارس (خور موسی). علوم و تکنولوژی محیط زیست. سال نهم، شماره ۴، صفحات ۱-۱۳.

Ahalya, N., Ramachandra, T.V., Kanamadi, R.D. 2003. Biosorption of heavy metals. Journal of Chemistry and Enviroment. 7(4): 71-78.

Chovanova, K., Sladekova, D., Kmet, V., Proksova, M., Harichova, J., Puskarova, A., Polek, B., Ferianc, P. 2004. Identification and characterization of eight cadmium resistant bacterial isolates from a cadmium-contaminated sewage sludge. Biological Bratislava. 6: 817-827.

Cooper, V.S., Bennet A.F., Lenski R.E. 2001. Evolution of thermal dependence of growth rate of Escherichia coli population during 20,000 generations in a constant environment. Evolution. 55(5): 889-896.

Davison, J. 2005. Risk mitigation of genetically modified bacteria and plants designed for bioremediation. Journal of Industrial Microbiology Biotechnology. 32: 639-650.

Dzairi, F.Z., Zeroual, Y., Moutaouakkil, A., Taoufik, J., Talbi, M., Loutfi, M., Lee, K., Blaghen, M. 2004. Bacterial volatilization of mercury by immobilized bacteria in fixed and fluidized bed bioreactors. Annals of Microbiology. 54(4): 353-364.

Haderlein, A., Legros, R., Ramsay, B. 2001. Enhancing pyrenemineralization in contaminated soil by the addition of humic acids or composted contaminated soil. Applied Microbiology Biotechnology. 56: 555-9.

Hussein, M.A., Salleh, A., Milow, P. 2009. Characterization of the adsorption of the lead (II) by the nonliving biomass *Spirogyra neglecata* (Hasall) Kutzing. American Jurnal of Biochemistry and Biotechnology. 2: 75-83.

Kader, J., Sannasi, P., Othman, O., Ismail, B.S., Salmijah, S. 2007. Removal of Cr (VI) from aqueous solutions by growing and non-growing populations of environmental bacterial *consortia*. Global Journal of Environmental Research. 1(1): 12-17.

Kargi, F., Dincer, A. 2000. Use of halophilic bacteria in biological treatment of saline wastewater by fed-batch operation. Water Environmental Research. 72:170-174.

Leung, W.C., Wong, M.F., Chua, H., Lo, W., Yu, P.H.F., Leung, C.K. 2000. Removal and recovery of heavy metals by bacteria isolated from activated sludge treating industrial effluents and municipal wastewater. Water Science and Technology. 14(12): 233-240.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2025-12-25]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1393.3.4.6.3]

Moradi, A., Tahmourespour, A., Hoodaji, M., Khorsandi, F. 2011. Effect of salinity on free living - diazotroph and total bacterial populations of two saline soils. African Journal of Microbiology Research. 5(2):144-148.

Nakajima, A., Yasuda, M., Yokoyama, H., Ohya-Nishiguchi, H., Kamada, H. 2001. Copper biosorption by chemically treated Micrococcus luteus cells. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 17: 343–7.

Nakajima, A., Tsuruta, T. 2004. Competitive biosorption of thorium and uranium by *Micrococcus luteus*. Journal Radioanalytical Nuclear Chemistry. 260:13–8.

Nguyen, M.T. 2006. The effect of temperature on the growth of the bacteria Escherichia coli DH5α. Saint Martin's University Biology Journal. 1: 87-94.

Okanlawon, B.M., Ogunbanwo, S.T., Okunlola, A.O. 2010. Growth of *Bacillus cereus* isolated from some traditional condiments under different regimens. African Journal of Biotechnology. 8(14): 2129-2135.

Ryckeboer, J., Mergaert, J., Vaes, K., Klammer, S., De Clercq, D., Coosemans, J., Insam, H., Swings, J. 2003. A survey of bacteria and fungi occurring during composting and self-heating processes. Annals of Microbiology. 53: 349-410.

Saleem Khan, A., Sheik Ali, M., Juned Ahmed Baig, I. 2009. Halophilic (aerobic) bacterial growth rate of mangrove ecosystem. Journal of Environmental Biology. 30(5): 705-707.

Shirdam, R., Khanafari, A., Tabatabaee, A. 2006. Cadmium, nickel and vanadium accumulation by three strains of marine bacteria. Iranian Journal of Biotechnology. 4(3): 180-187.

Ventosa, A., Nieto, J.J., Oren, A. 1998. Biology of moderately holophilic aerobic bacteria. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 62(2): 504-544.

Wang, J.L., Chen, C. 2009. Biosorbents for heavy metals removal and their future. Biotechnology. 27: 195–226.

Zheng, C., Qu, B., Wang, J., Zhou, J., Wang, J., Lu, H. 2009. Isolation and characterization of a novel nitrobenzene-degrading bacterium with high salinity tolerance: *Micrococcus luteus.* Journal of Hazardous Materials. 165: 1152-1158.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2025-12-25]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1393.3.4.6.3]