مجله ایمنی زیستی
دوره ۱۱، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۷

جداسازی باکتری‌های گرم مثبت مقاوم به آنتراسن از رسوبات نفتی بندر امام خمینی

راضیه لموچی[۱]، فاطمه شاه‌علیان[۱*]، علیرضا صفاهیه[۲]، نگین سلامات[۲]، فاطمه موجودی[۳]، هاجر آبیار[۴]، مصطفی زارع‌دوست[۵]

۱- کارشناس ارشد زیست شناسی دریا گرایش آلودگی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران
۲- استادیار گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران
۳- دانشجوی دکتری محیط زیست، گروه محیط زیست، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی کرج، دانشگاه تهران، تهران، ایران
۴- دانشجوی دکتری آلودگی محیط زیست، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، تهران، ایران
۵- دانشجوی دکتری مدیریت محیط زیست، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران، دانشکده محیط زیست و انرژی، تهران، ایران

fatemehshahaliyan@gmail.com

چکیده

امروزه بسیاری از میکروارگانیسم‌ها به‌طور موفقیت‌آمیزی در تصفیه ضایعات خطرناک مانند فاضلاب ها، رواناب‌های صنعتی و آلاینده‌های نفتی مورد استفاده قرار می‌گیرند. در این مطالعه نمونه‌های رسوبات آلوده به نفت از بندر امام خمینی برداشت شدند. جهت جداسازی و سازگار نمودن گونه باکتری‌های موجود در رسوب با شرایط آزمایش، عملیات غنی‌سازی این میکروارگانیسم‌ها در ارلن های حاوی محیط کشت پایه نمکی مایع (pH: ۷±۰/۵) و غلظت ۳۰ppm آنتراسن به‌عنوان تنها منبع کربن به مدت سه هفته انجام گرفت و در نهایت دو گونه باکتری خالص‌سازی شدند. گونه‌های *باسیلوس پاستئوری* (*Bacillus pasteurii*) و *آمفی باسیلوس زایلانوس* (*Amphibacillus xylanus*) به عنوان باکتری‌های شاخص رشد یافته در محیط کشت حاوی ppm ۳۰ آنتراسن شناسایی شدند. نتایج نشان داد که از میان این گونه‌ها *باسیلوس پاستئوری* با انکوباسیون در دمای C° ۳۰ و دوره زمانی ۵ روزه، سرعت رشد بیشتر و سازگاری سریعتری بر سطح محیط کشت حاوی ترکیب نفتی آنتراسن داشت.

واژه‌های کلیدی: بندر امام خمینی، باکتری گرم مثبت، رسوبات نفتی، تجزیه زیستی، آنتراسن.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-18]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.4.1.3]

مقدمه

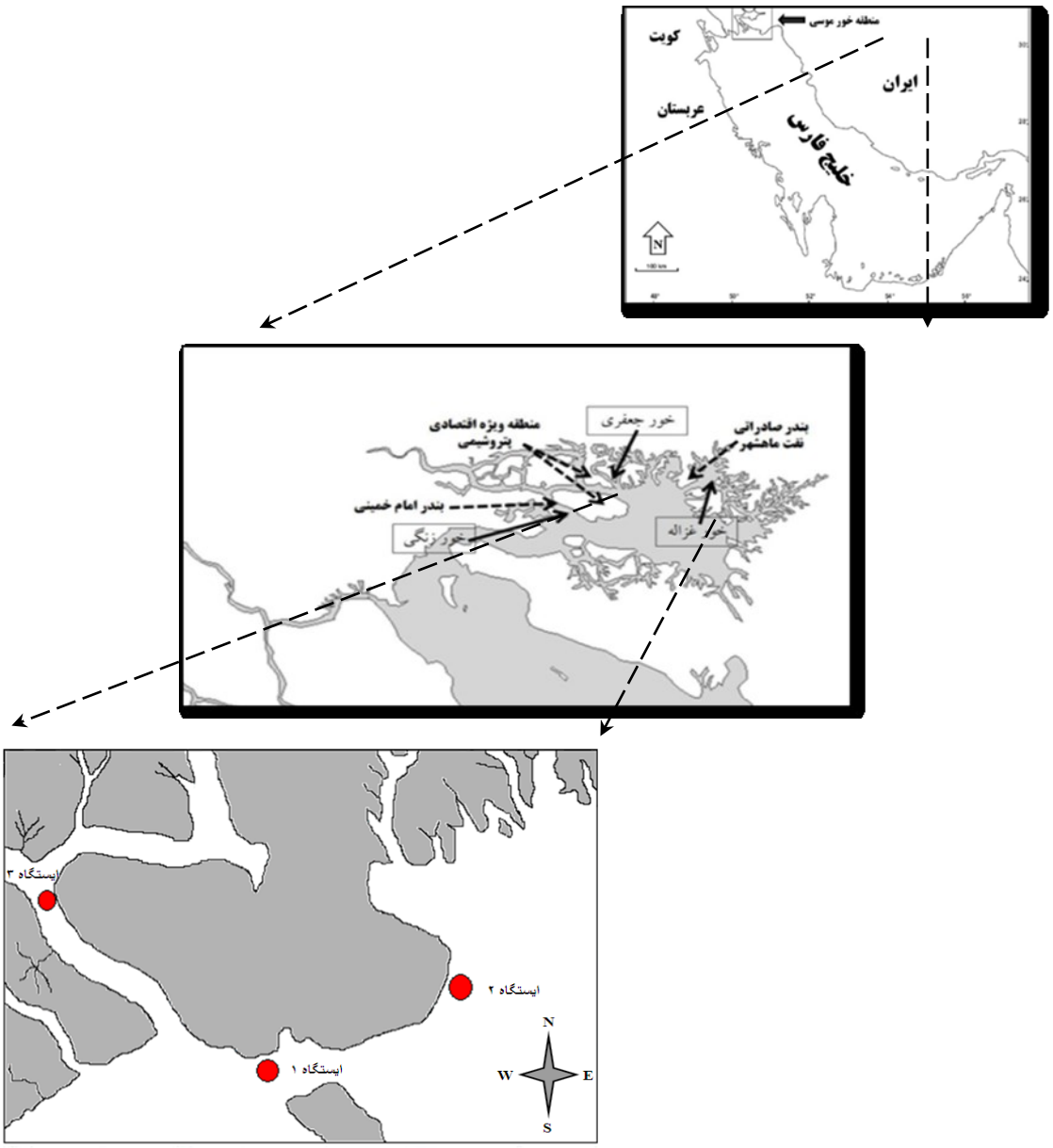
خلیج فارس یکی از مناطق نفت خیز دنیا محسوب می‌شود و در این ناحیه حمل و نقل بین‌المللی نفت به وسیله تانکرهای نفت‌کش، بسیار زیاد است. تمامی تانکرها از آب توازن (Ballast water) استفاده می‌کنند و به هنگام تخلیه این آب، محیط زیست دریایی را به نفت آلوده می‌سازند. علاوه‌براین، تصادفات تانکرها و سوانح دریایی می‌توانند به شدت محیط زیست دریایی را تحت تأثیر قرار دهند (۳۱). ترکیبات نفتی محلول، می‌توانند در تماس با ماهی و صدف، باعث تجمع مواد شیمیایی بالقوهٔ سرطان زا در زنجیره غذایی شوند. این ترکیبات همچنین بو و مزه ماهی را تغییر داده و آن را از نظر بهداشتی نامقبول می سازند. اثرات آلودگی نفتی بر موجودات بی حرکت و کم تحرک ساحلی مانند جلبک‌ها، صدف‌ها، حلزون‌ها و سایر جانداران بسیار زیاد و حائز اهمیت است (۱). تخریب زیست محیطی از جانب آلودگی‌های نفتی، نیاز به استراتژی‌های سازگار با محیط زیست را برای برطرف کردن آن‌ها مطرح کرده است. در این میان، تجزیه زیستی توسط میکروارگانیسم‌ها نقش مهمی را به خصوص در تجزیه اجزای غیر فرار نفت از محیط زیست ایفا می‌کند (۷). باکتری‌ها به‌علت توانایی متابولیکی بالا در استفاده از کربن موجود در آلاینده‌های نفتی و سرعت رشد زیاد برای پاک‌سازی خاک‌های آلوده استفاده می‌شوند (۳۲). باکتری‌هایی که از بین میکروارگانیسم‌های بومی مناطق نفت‌خیز ایزوله می‌شوند، عمدتا برای پاک سازی مناطق آلوده به نفت می توانند در آینده به کار گرفته می‌شوند (۲۴). هدف از این مطالعه نیز شناسایی باکتری‌های بومی و بررسی واکنش آن‌ها در تجزیه آنتراسن که یکی از هیدروکربن‌های نفتی موجود در منطقه بندر امام خمینی می‌باشد، است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری با ۳ تکرار، توسط ون وین گرب (۱۰) از رسوبات سطحی منطقه بندر امام خمینی از سه ایستگاه انجام گرفت (شکل ۱). نمونه‌های رسوب هر منطقه درون ظروف شیشه‌ای استریل روی یخ به آزمایشگاه انتقال یافت.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-18]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.4.1.3]



شکل ۱- ایستگاه‌های نمونه‌برداری

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-18]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.4.1.3]

در آزمایشگاه، نمونه‌های مربوط به هر ایستگاه تحت شرایط استریل با هم ترکیب شدند. جهت سازگار نمودن میکروارگانیسم‌ها با شرایط آزمایش، ۱ گرم از رسوب هر ایستگاه به‌طور جداگانه ۱۰ میلی‌لیتر کلرید سدیم ۰/۸۵ درصد به اضافه گردید (۱۷). عملیات غنی‌سازی برای جداسازی ایزوله‌های سازگار با آنتراسن انجام گرفت. ابتدا محیط کشت پایه نمکی مایع (محیطی حاوی املاح معدنی، عناصر کمیاب و ppm ۳۰ آنتراسن به عنوان تنها منبع کربن) در تعدادی ارلن تهیه و pH آن‌ها روی ۷±۰/۵ تنظیم شد. سپس ارلن ها به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو شدند. مقدار ۵۰۰ میکرو لیتر از محلول حاوی رسوب و کلرید سدیم (رقت ۰/۱) به ارلن‌ها اضافه گردید (۲۰ و ۲۱).

بعد از یک هفته انکوباسیون در دمای ^{o}C ۳۰ و دور rpm ۱۵۰، با مشاهده کدورت، ۱۰ میلی لیتر از هر محیط کشت به محیط پایه جدید انتقال داده شد و تا سه هفته این عمل تکرار شد (۴). جهت خالص‌سازی ایزوله‌ها ۱ میلی لیتر از آخرین محیط کشت مایع مرحله غنی سازی بر روی پتری‌دیش حاوی محیط کشت پایه نمکی جامد کشت داده و به‌مدت ۵ روز محیط ها در دمای ^{o}C ۳۰ انکوبه شدند (۶). کلنی‌هایی که از نظر ظاهری متفاوت بودند به روش خطی روی محیط کشت جامد پایه حاوی آنتراسن کشت داده شد. این کار تا مشاهده کلنی‌های خالص هر باکتری در هر پلیت، تکرار شد (۲۱).

شناسایی باکتری‌ها

گونه‌های باکتری‌های جداسازی شده با استفاده از آزمایش‌های بیوشیمیایی ، باکتریولوژیک و آزمون‌های رشد (اکسیداز، کاتالاز و حرکت باکتری ...) و براساس کتاب رده‌بندی سیستماتیک باکتری‌ها (Bergey's) شناسایی شدند (جدول ۱). تست‌های استاندارد از قبیل رنگ‌آمیزی گرم، شکل ظاهری و رنگ کلنی‌ها به شناسایی آن‌ها نیز کمک کرد (۹ و ۲۵).

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-18]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.4.1.3]

جدول ۱- نتایج حاصل از تست‌های بیوشیمیایی باکتری‌های جداسازی شده

تست	باکتری	
	Bacillus pasteurii	*Amphibacillus xylanus*
رنگ آمیزی گرم	+	+
شکل سلول	میله ای	میله ای
اکسیداز	+	-
تولید اندول	-	-
اوره	-	-
کاتالاز	+	-
د-کربوکسیلاز	+	+
فنیل آلانین	-	-
سیمون سیترات	-	-
تخمیر لاکتوز	+	+-
رشد بر محیط مک کانکی	-	-
KOH	-	-
MR	+-	+
VP	-	+
SIM	-	-
TSI	-	+

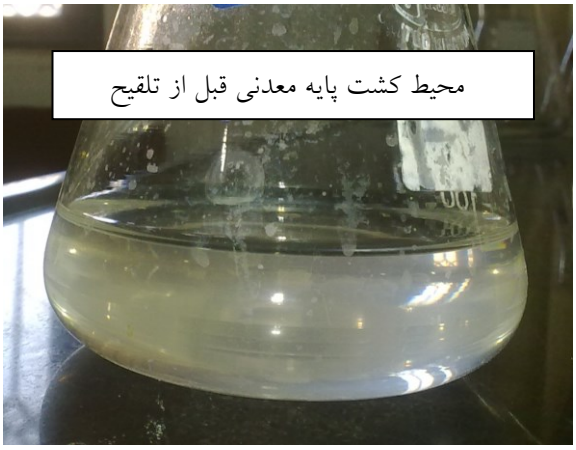
نتایج

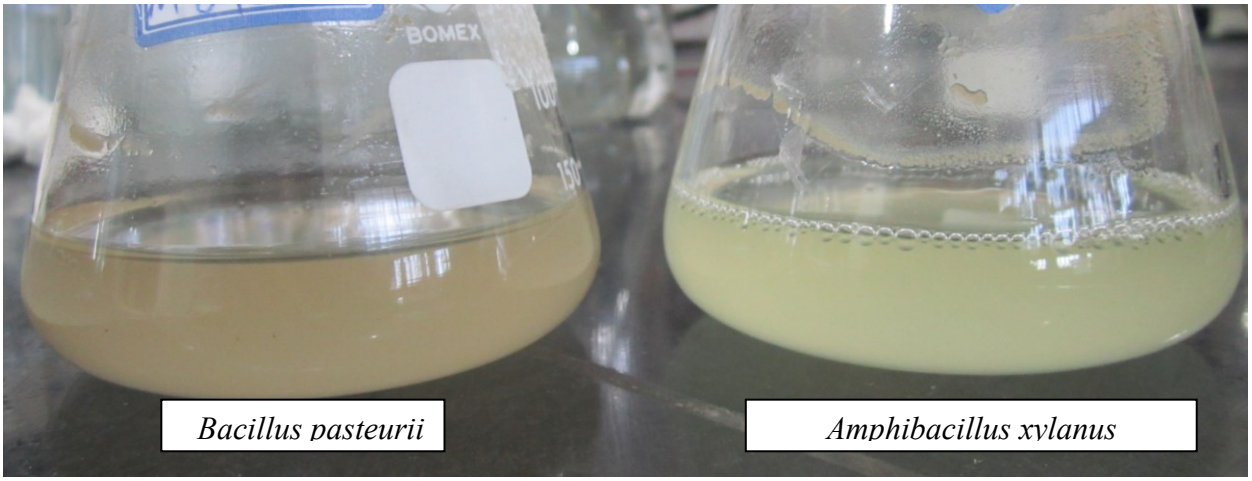
اولین هدف این تحقیق جداسازی و خالص سازی باکتری‌هایی بود که توانایی استفاده از آنتراسن را به عنوان تنها منبع کربنی داشته باشند. از این رو جمعا دو کلنی متفاوت جداسازی شد.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-18]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.4.1.3]

همچنین رشد باکتری باسیلوس پاستئوری موجب تغییر رنگ محیط کشت از شیری شفاف به قهوه ای زرد شد ولی باکتری آمفی باسیلوس زایلانوس تنها رنگ محیط کشت را اندکی کدر کرد. تغییر رنگ محیط کشت گویای رشد باکتری ها و ازدیاد آن‌ها در محیط کشت و نیز ایجاد متابولیت های ثانویه و گاهی اوقات رنگی در طول رشد باکتری ها و تجزیه سوبسترا می‌باشد (شکل ۲).





شکل۲- رنگ محیط کشت باکتری‌های ایزوله شده در اثر شدت رشد آن‌ها

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-18]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.4.1.3]

شکل۳- کلنی‌های دو گونه باکتری

باسیلوس پاستئوری گونه مقاوم به آنتراسن که در مقایسه با *باکتری آمفی‌باسیلوس زایلانوس* سریعتر بر روی محیط کشت حاوی آنتراسن خود را نشان داد و با سرعت بیشتری بر روی محیط کشت حاوی این ترکیب گسترش یافت. این باکتری بعد از ۲۴ ساعت روی پلیت آلوده به آنتراسن ظاهر و بعد از گذشت ۴۸ ساعت تمام سطح پلیت را پوشانده است. در حالی که باکتری *آمفی باسیلوس زایلانوس* با گذشت ۴۸ ساعت بر سطح پلیت ظاهر و به آرامی بر روی آن گسترش یافت (شکل۳).

در راستای شناسایی باکتری‌های ایزوله شده، واکنش هر باکتری در هر محیط کشت با توجه به تغییر رنگ، pH یا تولید H_2S با علامت مثبت یا منفی مشخص شد (جدول ۱). سپس پاسخ باکتری با کلیدهای شناسایی مطرح شده در کتاب باکتریولوژی برگی (۹) مقایسه شد.

بحث و نتیجه‌گیری

کشور ایران با توجه به داشتن مخازن نفتی، پالایشگاه ها و خطوط مربوط به انتقال نفت در معرض آلودگی‌های نفتی آب و خاک قرار دارد. حذف زیستی در مقایسه با دیگر روش های پاکسازی، راندمانی بالاتر با هزینه‌ای کمتر را نشان می‌دهد که از طریق انتخاب میکروارگانیسم‌های مناسب و بومی، هزینه‌ها به میزان بیشتری کاهش می‌یابد (۱۱ و ۲۷). یکی از فعال ترین میکروارگانیسم‌های تجزیه کننده ترکیبات PAH، باکتری ها هستند (۱۳، ۱۸ و ۱۹). جوامع میکروبی تجزیه‌کننده، در مناطق آلوده نسبت به مناطق غیرآلوده از رشد بیشتری برخوردارند و مناطق غیرآلوده یا با آلودگی کمتر اغلب دارای باکتری‌های اندک یا

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-18]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.4.1.3]

اصلاً بدون باکتری‌های تجزیه کننده‌اند.از آن جایی‌که باکتری های بومی مناطق آلوده به طور مدام در تماس با ترکیبات آروماتیکی هستند پس این باکتری ها به نحوی باید قادر به رشد در محیط حاوی این ترکیبات باشند. رشد گونه‌ها در محیط حاوی ترکیبات نفتی حاکی از مقاومت آن‌ها به این آلاینده می باشد. گونه‌های مقاوم قادرند از این ترکیبات به‌عنوان منبع غذایی جهت رشد و نمو استفاده نموده و با شکستن ساختار آن‌ها منجر به کاهش و حذف آلاینده‌های نفتی در محیط شوند. پژوهشگران زیادی توانایی تجزیه ترکیبات آروماتیک توسط این میکروارگانیسم ها را مربوط به آنزیم‌هایی می‌دانند که توسط پلاسمیدها کد می شود (۴). در این رابطه Geiselbrecht و همکاران (۱۹۹۶) نیز با شمارش باکتری‌های تجزیه‌کننده نفتالن و فنانترن موجود در رسوبات آلوده پوگت سوند دریافتند که در هر گرم از وزن خشک رسوبات مناطق نفتی ۱۰۴ تا ۱۰۷ باکتری موجود می‌باشد، در حالی که در هر گرم از وزن خشک رسوبات یک سایت غیر آلوده ۱۰۳ تا ۱۰۴ باکتری وجود داشت (۱۰). بنابراین جداسازی و شناسایی باکتری های تجزیه کننده PAH اولین گام جهت فهم روند تجزیه و سرنوشت آن ها در محیط می باشد (۱۵). باکتری باسیلوس پاستئوری موجود در خاک است که به علت توانایی در ته نشینی کربنات کلسیم، نقش مهمی در از بین بردن شکاف و ترک موجود در ساختارهای گرانیتی و بتنی دارد (۳). این باکتری برای رشد خود به شدت نیازمند اوره یا آمونیوم و محیط کاملا قلیایی می باشد (۱۶).

آمفی باسیلوس زایلانوس به خانواده باسیلوس و از جمله باکتری های نمک دوست یا تحمل کننده شوری می باشند. اگر چه این باکتری فاقد سیستم تنفسی و پروتئین هم مانند کاتالاز است اما قادر به رشد در هر دو شرایط هوازی و بی هوازی می باشد. این باکتری در شرایط هوازی و بی هوازی دارای نرخ رشد و محصول سلولی یکسان است که به علت وجود مسیرهای تامین انرژی در هر دو حالت هوازی و بی هوازی می باشد (۱۹).

در این تحقیق باکتری *باسیلوس پاستئوری* و *آمفی‌باسیلوس زایلانوس* قادر بودند ترکیبات سمی هیدروکربن آنتراسن را به بیوماس میکروبی تبدیل نماید. این بیوماس به دلیل بی خطر بودنش می‌تواند به عنوان کود بیولوژیکی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-18]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.4.1.3]

و نیز شروع‌کننده زنجیره غذایی به حساب آید. ایزوله‌های تحقیق حاضر در مرحله غنی سازی طی دوره زمانی ۲۱ روزه توانستند خود را با محیط کشت جدید آزمایشگاهی وفق دهند اما با کشت‌های انجام شده طی عمل خالص‌سازی، این زمان به ۳ روز کاهش پیدا کرد. دلیل این سازش ممکن است بخاطر ایجاد تغییرات در سلول باکتری و سنتز آنزیم های جدید به وسیلهٔ میکروارگانیسم‌ها باشد (۳۰).

Bacillaceae به دلیل داشتن آنزیم‌های متعدد توان بالقوه‌ای در حذف آلاینده های نفتی به ویژه PAH دارا می‌باشند. فعالیت متابولیکی این دسته از باکتری‌ها باعث شده که با سرعت بیشتری هیدروکربن‌های نفتی را تجزیه کنند. توان تجزیه‌کنندگی جنس باسیلوس در نتایج تحقیقات محققان مختلفی اشاره شده است.

Zhuang و همکارانش (۲۰۰۳) نیز جنس‌های میکروکوکوس، باسیلوس و استافیلوکوکوس را از رسوبات دریایی مناطق جذر و مدی گرمسیری آلوده به نفت جداسازی کردند. این باکتری‌های گرم مثبت، جمعا بیش از ۶۹٪ از جمعیت میکروارگانیسم ها را در منطقه مذکور، تشکیل داده اند (۳۳).

Survery و همکاران در سال ۲۰۰۴ به روی خاک نزدیک به چند پمپ بنزین در شهر کراچی تحقیقی انجام دادند که موفق به جداسازی و شناسایی ۶۰ سویه باکتری شدند که اکثر انها از جنس باسیلوس بودند و توانایی حذف هیدروکربن‌های مورد آزمایش را داشتند (۲۶). Hunter و همکاران (۲۰۰۵) توانستند باکتری‌هایی باکتری باسیلوس با قابلیت تجزیه هیدروکربن‌های آروماتیک را از خاک‌های آلوده جداسازی کنند. این جنس پس از چهار روز انکوباسیون، توانست به ترتیب ۴۰ و ۵۰ درصد از هیدروکربن موجود در محیط کشت را تجزیه نماید. ژن‌های این باکتری‌ها قادرند کاتالیست‌های بیولوژیکی تولید کنند و مواد شیمیایی خطرناک را، اکسید، احیا، دهالوژنه و هیدرولیز کرده و با تولید ترکیبات حد واسط می‌توانند مواد آلی را تجزیه کرده و آب، دی‌اکسید کربن و موادی با سمیت کمتر تولید نمایند (۱۲ و ۲۳).

همچنین Toledo و همکاران (۲۰۰۶) نیز ۱۴ سویه باکتری گرم مثبت (۳ سویه میکروکوکوس، ۱۱ سویه باسیلوس) را از نمونه‌های خاک نفتی جداسازی و شناسایی کردند (۲۸). طبق گزارشات در طلایی و

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-18]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.4.1.3]

همکاران (۱۳۸۷) از چهار منطقه آلوده به ترکیبات نفتی نمونه‌برداری نموده و میکروارگانیسم‌های قادر به زندگی در مجاورت نفت خام را جداسازی و خالص سازی کردند. در این مطالعه ۱۴ میکروارگانیسم از نمونه‌ها جداسازی گردید. باکتری‌های A-3 و A-14 به‌ترتیب با ۸۹ و ۸۶ درصد کاهش ترکیبات آروماتیک بیشترین کارایی را در تجزیه ترکیبات آروماتیک موجود در نفت خام دارا بودند (۲).

در تحقیق دیگری که توسط Arbabi و همکارانش در سال ۲۰۰۹ انجام شد عملیات تجزیه فنانترن از دو سایت آلوده به نفت خام در ایران بررسی شد (۵). Reda در سال ۲۰۰۹ خاک‌های آلوده به نفت را مورد بررسی قراردادند که باکتری‌های تجزیه کننده جدا سازی شده شامل باکتری‌های سودوموناس، باسیلوس، میکروکوکوس بودند (۲۲). Eduok و همکاران در سال ۲۰۱۰ یک مانگرو در نیجریه را مورد بررسی قرار دادند و باکتری های تجزیه‌کننده PAH را جداسازی و شناسایی کردند که در بین آن‌ها گونه باسیلوس هم حضور داشت (۸). در این تحقیق هم باکتری‌های جنس باسیلوس به عنوان باکتری‌های تجزیه‌کننده هیدروکربن شناخته شدند.

نتیجه‌گیری

باکتری‌های جداسازی شده در این تحقیق قادر بودند در حضور آنتراسن بخوبی رشد کنند. لذا می‌توان آن ها را به منظور رفع آلودگی‌های نفتی آب‌ها، سواحل، رسوبات و خاک‌های شور و شیرین نسبتا گرم، همچنین به منظور استفاده صنعتی در آینده پیشنهاد نمود.

تشکر و قدرانی

کلیه آزمایش‌های مربوط به سنجش در دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر صورت گرفت. به این وسیله از حمایت‌های اجرایی این دانشگاه سپاسگزاری می‌شود. لازم می دانیم از اداره کل بنادر و دریانوری استان خوزستان واقع در بندر امام خمینی به دلیل همکاری در نمونه‌برداری قدرانی و تشکر کنیم.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-18]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.4.1.3]

فهرست منابع References

۱. کلارک،آر. (۱۳۷۹). آلودگی دریا. ترجمه محمد علی زاهد، محمدی دشتکی، ز. انتشارات نسق و نقش مهر. چاپ اول، ص ۲۶۴– ۲۶۷.

۲. طلایی ا.، جعفرزاده ن.، طلایی م.، بهشتی م. (۱۳۸۷). کاربرد سودوموناس آئروژنوز در تجزیه ترکیبات آروماتیک موجود در نفت خام شناور بر روی سطح آب. یازدهمین همایش ملی بهداشت محیط زاهدان، ۷ تا ۹ آبان. زاهدان.

3. Achal V., Mukherjee A., Basu P.C. and Reddy M.S. (2009). Lactose mother liquor as an alternative nutrient source for microbial concrete production by *Sporosarcina pasteurii*. J Ind Microbiol Biotechnol. 36: 433-438.

4. Al-Thani R.F., Abd-El-Haleem D.A.M. and Al-Shammri M. (2009). Isolation and characterization of polyaromatic hydrocarbons-degrading bacteria from different Qatari soils. African Journal of Microbiology Research. 3 (11): 761-766.

5. Arbabi M., Nasseri S. and Anyakora C. (2009). Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in petroleum contaminated soils. Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering. 28(3): 53-59.

6. Coral G and Karagoz S. (2005). Isolation and characterization of phenanthrene degrading bacteria from a petroleum refinery.soil, Annals of Microbiology. 55 (4): 255-259.

7. Ebrahimi S., Ladan Sh and Malekoti M.J. (2009). Feasibility of Different Petroleum Pollutants Remediation in soil and an algorithm based on the type of pollutants. 11th Soil Science Congress of Iran, Gorgan. Iran. Pp: 21-23.

8. Eduok S.I., Ebong G.A., Udoinyang E.P., Njoku J.N. and Eyen E.A. (2010). Bacteriological and polycyclic aromatic hydrocarbons accumalation in mangrove oyster from Douglas creek. Nigeria, Pakistan Jornal of Nutrition. 9(1): 35-42.

9. Garrity G.M. (2005). In D.J. Brenner, N.R. krig and J.T. Staley(ed). Bergey,s manual of systematic bacteriology. 2nd ed. Springer. New York. 2c:323-384.

10. Geiselbrecht A.D., Herwig R.P., Deming J.W. and Staley J.T. (1996). Enumeration and phylogenetic analysis of polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading marine bacteria from Puget Sound sediments. Appl. Environ. Microbiol. 62(9): 3344-3349.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-18]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.4.1.3]

11. Hanson K.G., Nigam A., Kapadia M. and Desai A.J. (1997). Bioremedation of crude oil contamination with *Acinetobacter* sp. A3, Current Microbiology. 35: 191-193.

12. Hunter R.D., Ekunwe S.I., Dodor D.E., Hwang H.M. and Ekunwe L. (2005). *Bacillus subtilis* is a potential degrader of pyrene and benzo[a]pyrene. International Journal of Environmental Research and Public Health. 2(2): 267-71.

13. Johnsen A.R., Wick L.Y. and Harms L. (2005). Principles of microbial PAH-degradation in soil. Environmental Pollution. 133: 71-84.

14. Kayode T.M., Eniola K.I.T., Olayemi A.B. and Igunnugbemi O.O. (2008). Response of Resident Bacteria of a Crude Oil-Polluted River to Diesel Oil. Am-Euras. J. Agron. 1(1): 06-09.

15. Khalid M., Tianling Z., Huasheng H., Zhiming Y., Jianjung Y. and Zhong H. (2004). Preliminary study on PAH degradation by bacteria from contaminated sediment in Xiamen Western sea, Fugian,china. chin.J.Oceaned. Limnol. 22(4): 431-435.

16. Klein M., Kaltwasser H. and Jahns T. (2002). Isolation of a novel, phosphate-activated glutaminase from *Bacillus pasteurii*, FEMS Microbiology Letters. 206: 63-67.

17. Kumar M., Leon V., Materano A.D.S. and Ilzins O.A. (2006). Enhancement of oil degradation by co-culture of hydrocarbon degrading and biosurfactant producing bacteria, Polish Journal of Microbiology. 55: 139-146.

18. Leung M. (2004). Bioremediation: Techniques for Cleaning up a mess. BioTeach Journal. 2:18-22.

19. Mochizuki D., Arai T., Asano M., Sasakura N., Watanabe T., Shiwa Y., Nakamura S., Katano Y., Fujinami S., Fujita N., Abe A., Sato J., Nakagawa J. and Niimura Y. (2014). Adaptive response of *Amphibacillus xylanus* to normal aerobic and forced oxidative stress conditions. Microbiology 160: 340-352.

20. Mukred A.M., Hamid A.A., Hamzah A. and Yusoff W.M.W. (2008). Development of Three Bacteria Consortium for the Bioremediation of Crude Petroleum-oil in Contaminated Water, On Line Journal Biological Science. 8(4): 73-79.

21. Nnamchi C.I., Obeta J.A.N. and Ezeogu L.I. (2006). Isolation and characterization of some polycyclic aromatic hydrocarbon degrading bacteria from Nsukka soils in Nigeria. International Journal of Environmental Science and Technology. 2 (3): 181-190.

22. Reda A.B. (2009). Bacterial bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons in heavy oil contaminated soil. Journal of Applied Sciences Research. 5(2): 197-211.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-18]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.4.1.3]

23. Samanta S.K., Singh O.V. and Jain R.K. (2002). Polycyclic aromatic hydrocarbons: environmental pollution and bioremediation. Trends in Biotechnology. 20: 243-248.

24. Seyed Alikhani S., Shorafa M. and Asgharzade A. (2009). Treatments efficiency of bacterial production internal on biological treated of hydrocarbon contaminated soil. National energy congress. Tehran, Iran. 7: E05104.

25. Sneath P.H.A., Mair N.S. and Holt J.G. (1984). Bergey's manual of systematic bacteriology .Vol 2, Williams and Wilkinks. London. Pp: 965-1599.

26. Survery S., Ahmad S., Subhan S., Ajaz M. and AjazRasool S. (2004). Hydrocarbon degrading bacteria from Pakistani soil: isolated, identification, screening and genetical studies. Pakistan Journal of Biological Science 7(9): 1511-1522.

27. Swannell R.P.J., Lee K. and McDonagh M. (1996). Field evaluation of marine oil spill bioremediation, Microbiological Reviews. 60 (2): 342-365.

28. Toledo F.L., Calvo C., Rodelas B. and Gonzalez-Lo pezJ. (2006). Selection and identification of bacteria isolated from waste crude oil with polycyclic aromatic hydrocarbons removal capacities, Systematic and Applied Microbiology, 29: 244-254.

29. Vallero A.D. (2010). Environmental Biotechnology: A Biosystems Approach, 1 St .Elsevier Academic Press, Burlington, MA Edition.

30. Wain M., Tindall B.J., Schumann P. and Ingvorsen K. (1999). *Gracilibacillus gen*. Nov., with descriptiono *gracilibacillus halotolerans* gen. Ov; tranfer of *bacillus salexigens* to the genus *salibacilus* gen. Nov., as *sallibacillus salexigens* comb. Nov., International journal of systematic bacteriology. 49: 821-831.

31. Wolfe D.A., Hameedi M.J., Galt J.A., Watabayashi G., Short J., O'Claire C., Rice S., Michel J., Payne J.R., Braddock J., Hanna S. and Sale D. (1994). The fate of oil spilled from Exxon Valdz, Environmental Science and Technology (ACS Publications). 28: 560-A-568A.

32. Wolicka D., Suszek A., Borkowski A. and Bielecka A. (2009). Application of aerobic microorganisms in bioremediation in situ of soil contaminated by petroleum products. Biortech. 100: 3221-3227.

33. Zhuang W.Q., Tay J.H., Maszenan A.M., Krumholz L.R. and Tay S.T.L. (2003). Mportance of Gram-positive naphthalene-degrading bacteria in oil-contaminated tropical marine sediments. Letters in Applied Microbiology. 36: 251-257.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-18]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.4.1.3]

Isolation of anthracene resistant positive gram bacteria from Imam Khomeini Port oil polluted sediments

Razieh Lamoochi[1], Fatemeh Shahaliyan[1*], Alireza Safahieh[2], Negin Salamat[2], Fatemeh Mojodi[3], hajar Abyar[4], Mostafa Zaredoost[5]

1- M.Sc. Student, Department of Marine Biology, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr
2- Assist. Prof., Department of Marine Biology, Khorramshahr University of Marine Sciences and Technology, Khorramshahr
3- Department of Environmental Sciences, Natural Resources Faculty, University of Tehran, Karaj
4- PhD student in Environmental pollution, Tarbiat Modarres University, School of Natural Resources and Marine Sciences
5- PhD Student in Environmental Management, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Faculty of Environment and Energy

fatemehshahaliyan@gmail.com

Abstract

Today's most of microorganisms are used for purification of hazard waste such as municipal and industrial waste water and oil contaminants. In this study 2 bacterial species were isolated and purified in hydrocarbon (anthracene) containing media from oil polluted sediment of Imam Khomeini port. *Bacillus pasteurii* and *Amphibacillus xylanus* species were identified as indicator degrading bacteria in media containing 30 ppm anthracene. Results showed among these bacteria, *Bacillus pasteurii* had faster growth and compatibility on solid medium containing anthracene oil hydrocarbon for 5 days at 30ْC incubation.

Keywords: Imam Khomeini port, Positive Gram Bacteria, Oil Polluted Sediments Bioremediation, Anthracene.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-06-18]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1397.11.4.1.3]