

بررسی نقش باکتری‌های بومی جدا شده از رسوبات خلیج فارس در حذف

زیستی فلز سرب و هیدروکربن آنتراسن

فاطمه شاه‌علیان^{۱*}، هاجر آبیاری^۲، راضیه لموجی^۱، علیرضا صفاهیه^۲، نگین سلامات^۲، فاطمه موجودی^۴ و مصطفی

زارع‌دوست^۵

۱- کارشناس ارشد آلودگی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران

۲- استادیار گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران

۳- دکتری آلودگی محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۴- دکتری آلودگی محیط زیست، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۵- دکتری مدیریت محیط زیست، دانشکده محیط زیست و انرژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات، تهران، ایران

shahaliyanfatemeh@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۹/۱۱/۱۵، تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۲/۱۲

صفحه ۵۰-۳۱

چکیده

در دهه‌های اخیر روش‌های زیستی جهت کنترل و حذف فلزات سنگین و هیدروکربن‌های نفتی از محیط مورد توجه قرار گرفته‌اند. از جمله این روش‌ها حذف زیستی آلاینده‌ها به کمک باکتری‌ها است. در این مطالعه جهت شناسایی باکتری‌های مقاوم به فلز سنگین سرب و هیدروکربن آنتراسن نمونه‌برداری از مناطق آلوده در خلیج فارس با استفاده از گرب از عمق ۳ متری با ۳ تکرار انجام شد. نتایج حاصل از جداسازی و خالص‌سازی گونه‌های باکتریایی منجر به شناسایی باکتری *Ochrobactrum* sp. مقاوم به فلز سرب و باکتری *Pseudomonas* sp. مقاوم به آنتراسن شد. بررسی رشد باکتری *Ochrobactrum* sp. در ۴ غلظت ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نشان داد که حداکثر رشد باکتری در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر است، همچنین این باکتری قادر به حذف ۶۶/۵ درصد سرب در این غلظت بود. بیشترین میزان جذب نوری در جنس *Pseudomonas* sp. در محیط کشت MSM (۳۰ میلی‌گرم بر لیتر آنتراسن) در روز نهم به میزان ۰/۸۵۲ مشاهده شد. باکتری جنس *Pseudomonas* sp. تلقیح‌شده به محیط مذکور پس از ۵ روز ۹۸/۴۸ درصد آنتراسن موجود در محیط کشت را تجزیه کرد. کاهش عملکرد باکتری‌ها در غلظت‌های بالای سرب و آنتراسن احتمالاً به علت اثرات تخریبی ناشی از این آلاینده‌ها بر سنتز پروتئین و توقف فعالیت آنزیمی میکروارگانیسم‌ها است.

واژه‌های کلیدی: فلزات سنگین، هیدروکربن، *Ochrobactrum* sp.، *Pseudomonas* sp.، خلیج فارس.

مقدمه

ماندگاری بالای فلزات سنگین و عدم تجزیه پذیری این آلاینده‌ها منجر به تجمع آنها در بافت‌های مختلف آبزیان شده و با مصرف ماهیان خوراکی توسط انسان باعث بروز پیامدهای خطرناک ناشی از ورود این آلاینده‌ها به زنجیره غذایی می‌شود (۱، ۲). فلز سنگین سرب از عناصر غیرضروری برای موجودات زنده و انسان بوده، می‌تواند جایگزین کلسیم در استخوان شده و باعث پوکی استخوان شود (۱). از منابع عمده ورود سرب به محیط می‌توان به تخلیه پساب کارخانجات صنعتی نظیر صنایع آבקاری، نساجی، باتری‌سازی و استخراج معادن اشاره کرد. ورود این نوع از آلاینده‌ها به اکوسیستم‌های آبی در نتیجه فعالیت‌های انسانی باعث افزایش غلظت این آلاینده‌ها در مناطقی با سطوح بالای فعالیت‌های صنعتی و شهری می‌شود (۳).

فعالیت‌های انسانی مانند سوزاندن ناقص سوخت‌های فسیلی و فرآیندهای صنعتی می‌تواند باعث انباشت گروه دیگری از آلاینده‌ها به نام هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای (PAHs) در محیط شود (۴).

این ترکیبات از جمله مواد نفتی هستند که به دلیل ساختار پایدار و مقاومت بالا در برابر تجزیه از آلاینده‌های مهم محیط زیست به شمار می‌روند (۵). ترکیبات آروماتیک نیز با داشتن حلقه‌های متراکم به‌عنوان ترکیبات سرطان‌زای قوی برای انسان شناخته شده‌اند (۶). آنتراسن یکی از ترکیبات PAH با وزن مولکولی پایین است که از سه حلقه کربنی تشکیل شده است و در بین ۱۶ ترکیب PAH خطرناک که توسط آژانس حفاظت محیط زیست آمریکا (US EPA) معرفی شده‌اند، قرار می‌گیرد (۷). به همین جهت استفاده از روش‌هایی که بتوان با بهره‌گیری از آنها غلظت آلاینده را در محیط کاهش داد و به میزان استانداردهای زیست‌محیطی رساند، لازم و ضروری به نظر می‌رسد (۸). جذب زیستی با استفاده از میکروارگانیسم‌هایی نظیر قارچ، مخمر، جلبک یکی از روش‌های حذف فلزات سنگین از محلول‌های آبی است. وجود گروه‌های فعال کربوکسیل، فسفوریل، هیدروکسیل، آمین و سولفور با بار منفی در دیواره سلولی میکروارگانیسم‌ها منجر به تشکیل پیوند با کاتیون‌های فلزی و عدم

"شاه‌علیان و همکاران، بررسی نقش باکتری‌های بومی جدا شده از رسوبات خلیج فارس در ..."

تحرک آنها در محیط می‌شود. در میان جاذب‌های زیستی باکتری‌ها به دلیل اندازه کوچک، نسبت بالای سطح به حجم، سرعت بالای رشد و تکثیر و برخورداری بودن از سایت‌های فعال جذبی نظیر پپتیدوگلیکان‌ها برای فرایند جذب زیستی گزینه مناسب‌تری به شمار می‌روند (۳، ۹). همچنین به منظور حذف و سمیت‌زدایی آلاینده‌های نفتی از محیط می‌توان از میکروارگانیسم‌ها استفاده کرد. میکروارگانیسم‌ها حلالیت این ترکیبات را در آب افزایش داده و منجر به تجزیه زیستی می‌شوند (۱۰). باکتری‌ها یکی از فعال‌ترین میکروارگانیسم‌های تجزیه‌کننده ترکیبات PAH هستند (۱۱-۱۴). ژن‌های باکتری‌ها می‌توانند کاتالیست‌های زیستی را رمز کنند که در محیط خاک مواد شیمیایی خطرناک را، اکسید، احیا، دهاالوژنه و هیدرولیز کنند (۱۵). باکتری‌ها قادر به تخریب ساختمان شیمیایی این ترکیبات بوده و با تولید ترکیبات حد واسط می‌توانند مواد آلی را تجزیه کرده و آب، دی اکسید کربن و موادی با سمیت کمتر تولید کنند (۱۶، ۱۷).

منطقه خور موسی در شمال غربی خلیج فارس واقع شده است. مجاورت این خور با صنایع بزرگ پتروشیمی نظیر صنایع پتروشیمی بندر امام خمینی، رازی، فارابی و منطقه ویژه اقتصادی و از طرفی ارتباط محدود این خور با خلیج فارس، گردش اندک آب و عمق کم، باعث شده که آلاینده‌ها برای مدت زمان طولانی‌تری در محیط خور باقی مانده و منجر به آلوده شدن رسوبات و آبریان بومی این منطقه به انواع آلاینده‌های آلی و معدنی شده است. هدف از مطالعه حاضر بررسی، توانایی باکتری‌های بومی خلیج فارس در حذف زیستی سرب و آنتراسن از رسوبات آلوده به فلزات سنگین و مواد نفتی بود.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

عملیات نمونه‌برداری در مهر ماه سال ۱۳۹۰ از سه ایستگاه در خورموسی واقع در شمال غربی خلیج فارس و در مجاورت بندر امام خمینی انجام شد (شکل ۱). نمونه‌برداری با استفاده از گرب از لایه‌های سطحی رسوبات با سه تکرار انجام شد.

نمونه‌برداری فاکتورهای محیطی نظیر pH، دما و میزان شوری نیز با استفاده از pH متر (HORIBA, model B-713, Japan)، دماسنج (QM7218, Digitech) و شوری‌سنج (HACH SensION 156) اندازه‌گیری شدند.

نمونه‌های مربوط به هر ایستگاه را در ظروف شیشه‌ای درب‌دار و از قبل استریل شده قرار داده و نام ایستگاه و تاریخ نمونه‌برداری بر روی آنها درج شد. در ادامه نمونه‌ها در ظروف نگهداری یخ به آزمایشگاه منتقل شدند. همچنین در محل



شکل ۱- موقعیت ایستگاه‌های مورد مطالعه در خلیج فارس.

یک گرم از آن به ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۸۵ درصد کلرید سدیم اضافه شد و به این شکل رقت 10^{-1} بدست آمد. یک میلی‌لیتر از رقت 10^{-1} با آب مقطر به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده و رقت 10^{-2} تهیه شد. تهیه

جداسازی باکتری‌های مقاوم به سرب و خالص‌سازی

جهت جداسازی باکتری‌ها ابتدا نمونه‌های رسوب مربوط به هر ایستگاه در شرایط کاملاً استریل با هم ترکیب شد و سپس،

"شاه‌علیان و همکاران، بررسی نقش باکتری‌های بومی جدا شده از رسوبات خلیج فارس در ..."

سرب به صورت خطی بر روی محیط کشت نوترینت آگار حاوی غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر سرب کشت داده شدند. پلیت‌ها به مدت ۳-۵ روز در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد انکوباتور قرار گرفتند. این مرحله از آزمایش تا بدست آمدن کلنی‌های خالص ۲-۳ مرتبه تکرار شد (۲۰).

جداسازی باکتری‌های مقاوم به آنتراسن و خالص سازی

به منظور جداسازی باکتری‌های سازگار با آنتراسن، از نمونه‌های رسوب اسکله بارگیری مواد نفتی رقت 10^{-1} تهیه و به میزان ۵۰۰ میکرولیتر در محیط کشت MSM (mineral salt medium) (جدول ۱) حاوی ۳۰ میلی گرم بر لیتر آنتراسن و 7 ± 0.5 pH منتقل شد.

رقت 10^{-3} نیز با به حجم رساندن یک میلی لیتر از رقت 10^{-2} انجام شد. در ادامه ۰/۱ میلی لیتر از هر رقت روی محیط کشت نوترینت آگار حاوی غلظت‌های ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر فلز سرب (نیترا سرب) ریخته شد. همچنین محیط کشت فاقد فلز به عنوان محیط کنترل در نظر گرفته شد. محیط کشت‌های موردنظر در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳-۵ روز گرماگذاری شدند (۱۸).

بعد از جداسازی نمونه‌های باکتریایی از نمونه‌های رسوب مربوط به ایستگاه‌های مختلف، کلنی‌های ظاهر شده روی محیط کشت حاوی بالاترین میزان فلز سرب (۱۰۰ میلی گرم بر لیتر) به عنوان باکتری‌های مقاوم به این فلز، جهت خالص سازی انتخاب شدند (۱۹). در این مرحله با استفاده از لوپ باکتری‌های مقاوم به فلز

جدول ۱- ترکیبات محیط کشت MSM.

ترکیبات	مقدار
NH ₄ CL	۵ گرم
K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	۲/۵ گرم
MgSO ₄ .7H ₂ O	۱ گرم
FeSO ₄ .7H ₂ O	۰/۰۵ گرم
CaCl ₂ .2H ₂ O	۰/۰۵ گرم

۱۰۰ میکرولیتر	micro element
۱۰۰۰ میلی لیتر	distilled water

ارلن‌ها در انکوباتور شیکردار به مدت هفت روز در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد با دور ۱۵۰ rpm قرار گرفتند (۲۱). یک میلی‌لیتر از محیط کشت مذکور را بر روی تعدادی پلیت حاوی محیط کشت MSM به روش پورپلیت کشت داده و محیط‌ها به مدت پنج روز در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند (۲۲). سپس، کلنی‌ها از طریق لوپ استریل به پلیت‌های حاوی محیط کشت MSM منتقل و دوباره انکوبه شدند (۲۱).

روش‌های شناسایی باکتری‌ها

شناسایی باکتری‌های خالص شده با استفاده از خصوصیات ماکروسکوپی (رنگ و شکل کلنی) و میکروسکوپی (مورفولوژی، رنگ‌آمیزی گرم و تایید آن با تست KOH)، تست‌های بیوشیمیایی و کتاب راهنمای برجی (۲۳) انجام شد.

مطالعه رشد باکتری

به منظور تعیین میزان رشد باکتری، یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری به ۲۰

میلی‌لیتر محیط کشت LB broth حاوی غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر فلز سرب اضافه شد. نمونه‌های شاهد فاقد فلز (کنترل منفی) نیز جهت مقایسه در نظر گرفته شدند. سپس نمونه‌ها در انکوباتور شیکردار در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند (۲۴). جهت سنجش نمونه‌ها ابتدا دستگاه اسپکتروفتومتر با استفاده از سه میلی‌لیتر محلول blank که همان محیط کشت LB broth است صفر شد. سپس ۰/۶ میلی‌لیتر از محیط کشت حاوی باکتری در غلظت‌های مختلف فلز با ۲/۴ میلی‌لیتر محلول LB broth رقیق شده و ظرف حاوی محلول باکتری جهت اندازه‌گیری به دستگاه اسپکتروفتومتر داده شد. سنجش رشد باکتری در فواصل زمانی ۱۲ ساعت به مدت پنج روز با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر قرائت شد. سنجش نمونه‌ها با سه تکرار انجام شد.

برای تعیین میزان رشد باکتری در محیط‌های حاوی ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر

"شاه‌علیان و همکاران، بررسی نقش باکتری‌های بومی جدا شده از رسوبات خلیج فارس در ..."

هیدروکربن آنتراسن، از باکتری‌های خالص‌سازی شده، ۰/۵ مک فارلند تهیه و سه میلی‌لیتر از سوپانسیون فوق، به محیط کشت‌ها اضافه شد. ارلن‌ها به مدت ۱۲ روز در انکوباتور شیکردار ۱۵۰rpm با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. جذب نوری ارلن‌های حاوی نمونه و شاهد در طول موج ۶۰۰ نانومتر با سه تکرار در فواصل زمانی ۲۴ ساعت قرائت شد (۲۱).

سنجش توانایی باکتری در حذف فلز از محیط

بدین منظور ۱۰۰ میلی‌لیتر از محلول‌های فلز سرب با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در ارلن‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری تهیه و pH محلول‌ها با استفاده از محلول هیدروکسید سدیم و اسید نیتریک روی عدد ۶ تنظیم شد. سپس یک میلی‌لیتر از سوپانسیون باکتری به محلول‌های فوق تلقیح شد. ارلن‌ها در انکوباتور شیکردار با دور ۱۶۰rpm و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. سنجش میزان جذب فلز سرب توسط باکتری در فواصل زمانی ۳۰ دقیقه‌ای و به مدت ۱۵۰ دقیقه انجام شد. بدین ترتیب که در فاصله زمانی

۳۰ دقیقه‌ای، پنج میلی‌لیتر از محلول حاوی فلز و باکتری در مدت زمان ۱۰ دقیقه در دور ۴۰۰۰rpm سانتریفیوژ شد. در ادامه محلول رویی در بالون ژوژه‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری با استفاده از آب مقطر به حجم رسانده شد و با استفاده از دستگاه جذب اتمی سنجش شد. برای هر غلظت یک نمونه شاهد فاقد باکتری در نظر گرفته شد (۲۵، ۲۶). سنجش نمونه‌ها با سه تکرار انجام شد و با کسر میزان فلز باقیمانده در محلول از میزان اولیه فلز، توانایی باکتری در حذف فلز سرب تعیین شد.

سنجش توانایی باکتری در حذف آنتراسن از محیط کشت

محیط کشت MSM با غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر آنتراسن تهیه و ۵۰۰ میکرو لیتر از سوپانسیون باکتری به ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت تلقیح شد. سه نمونه شاهد نیز بدون تلقیح باکتری با همان غلظت در نظر گرفته شد. محیط‌ها به مدت پنج روز در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد با ۱۵۰rpm بر روی انکوباتور شیکردار انکوبه شدند. در فواصل زمانی معین ۵ میلی‌لیتر از هر محیط کشت

به همراه ۵ میلی لیتر هگزان به عنوان حلال به لوله های آزمایش منتقل و به مدت ۵ دقیقه به وسیله ورتکس با دور زیاد به هم زده شدند. سپس مایع رویی با استفاده از قیف جداکننده به بشرهای تمیز منتقل و بعد از تبخیر حلال ۵ میلی لیتر استونیتریل به نمونه ها اضافه شد. برای اندازه گیری میزان آنتراسن، نمونه ها به دستگاه KNAUER HPLC تزریق شدند (۲۲).

باکتری در غلظت های متفاوت فلز از آنالیز واریانس یکطرفه (One way ANOVA) استفاده شد. در صورت وجود اختلاف معنی دار، برای جداکردن گروه های مختلف از پس آزمون توکی استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS 11.5 انجام شد و نرم افزار Excel برای رسم نمودارها به کار رفت.

نتایج

ابزار تجزیه و تحلیل

با انجام آزمایش های معمول میکروبیولوژی مطابق جدول شماره ۲ دو باکتری جداسازی و خالص سازی شدند.

نرمال بودن داده ها از لحاظ پراکنش با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk بررسی شد. برای بررسی وجود تفاوت در رشد

جدول ۲- نتایج حاصل از شناسایی باکتری های جداسازی شده.

باکتری		تست بیوشیمیایی
<i>Ochrobactrum</i> sp.	<i>Pseudomonas</i> sp.	
-	-	گرم باکتری
میله ای	میله ای	شکل
+	+	اکسیداز
-	-	اندول
+	-+	اوره آز
+	+	کاتالاز
+	+	PD
-	-	دکربوکسیلاز
+	+	سیترات

"شاه‌علیان و همکاران، بررسی نقش باکتری‌های بومی جدا شده از رسوبات خلیج فارس در ..."

-	+	لاکتوز
+	+	مک کانکی
+	+	KOH
-	+	MR
-	-	VP
+	+	SIM
+	-	TSI

نتایج حاصل از رشد باکتری در غلظت‌های مختلف سرب

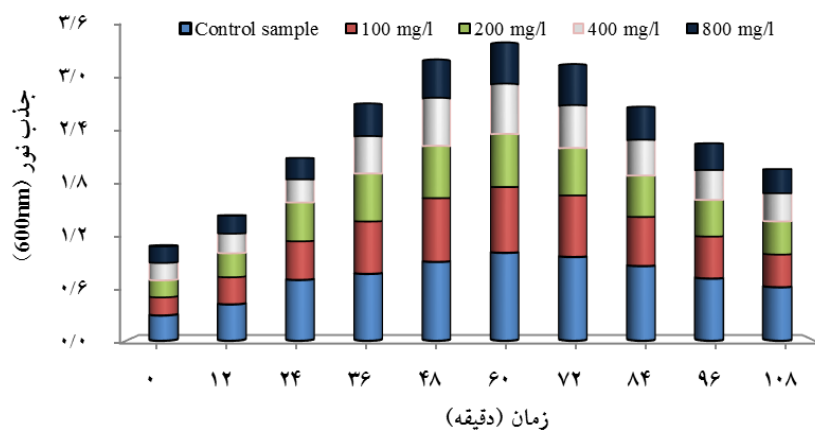
بررسی روند رشد باکتری در نمونه شاهد و غلظت‌های مختلف فلز سرب (شکل ۲) حاکی از این است که رشد باکتری در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر سرب روندی یکنواخت و مشابه با نمونه شاهد را طی می‌کند. حداکثر رشد باکتری در این غلظت نسبت به نمونه شاهد به‌طوری معنی داری کاهش یافت ($P < 0.05$).

باکتری در غلظت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر لیتر سرب بعد از گذشت ۷۲ ساعت به نهایت رشد خود رسید. این در حالی است که باکتری در غلظت ۸۰۰ میلی گرم بر لیتر سرب بعد از ۸۴ ساعت از تلقیح به حداکثر رشد خود رسید. همچنین با توجه به شکل ۳ در غلظت‌های ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم بر لیتر باکتری با تاخیری ۲۴ ساعته رشد خود را آغاز کرد. حداکثر رشد

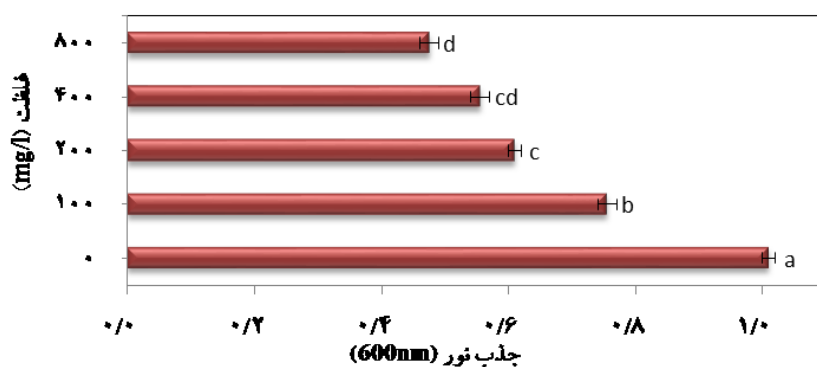
باکتری در غلظت ۸۰۰ میلی گرم بر لیتر فلز با سایر غلظت‌ها بجز غلظت ۴۰۰ میلی گرم بر لیتر تفاوت معنی داری داشت ($P < 0.05$).

نتایج حاصل از رشد باکتری در غلظت ۳۰ میلی گرم بر لیتر آنتراسن

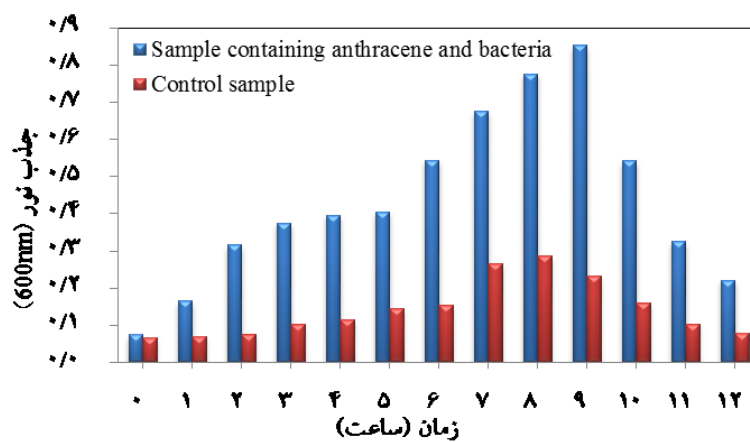
در غلظت ۳۰ میلی گرم بر لیتر آنتراسن باکتری *Pseudomonas* sp. در روز اول رشد سریعی را نشان داد، به‌طوری که میزان جذب نوری از ۰/۰۷۵ در لحظه صفر به ۰/۱۶۴ رسید. روند رشد باکتری تا روز نهم به‌صورت صعودی بود به گونه ای که جذب نوری در این روز به ۰/۸۵۲ رسید. در حالی که باکتری در غیاب آنتراسن رشد خود را با تاخیر ۴۸ ساعته آغاز کرد و حداکثر جذب نوری در نمونه فاقد آنتراسن در مقایسه با نمونه حاوی آنتراسن اختلاف ۰/۵۶۷ را نشان داد (شکل ۴).



شکل ۲- نمودار رشد *Ochrobactrum* sp. در غلظت‌های مختلف سرب.



شکل ۳- مقایسه حداکثر رشد (جذب نوری) *Ochrobactrum* sp. در غلظت‌های مختلف سرب.



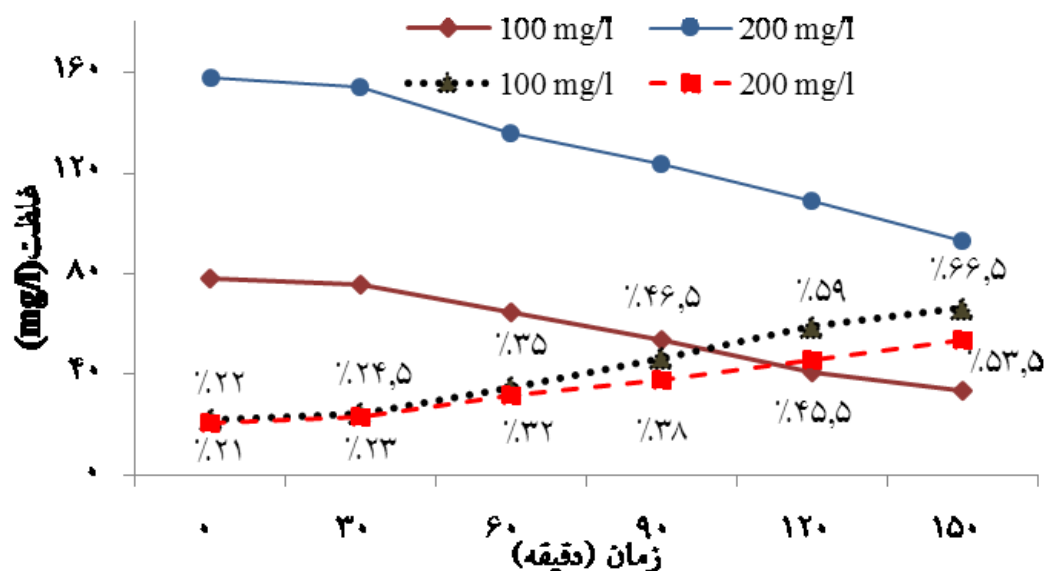
شکل ۴- نمودار رشد *Pseudomonas* sp. در حضور آنتراسن.

"شاه‌علیان و همکاران، بررسی نقش باکتری‌های بومی جدا شده از رسوبات خلیج فارس در ..."

اندازه‌گیری جذب زیستی

بررسی عملکرد باکتری *Ochrobactrum* sp. در حضور غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر فلز سرب نشان داد که با افزایش غلظت سرب در محلول فلزی باکتری قادر است میزان فلز بیشتری را جذب کند. کاهش میزان سرب در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر این فلز در زمان تلقیح در مقایسه با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بسیار چشمگیر است. به گونه‌ای که میزان سرب از ۲۰۰ میلی‌گرم بر

لیتر به $158 \pm 2/3$ کاهش یافت. باکتری تا آخرین لحظه جذب فعالی داشته و در هر دو غلظت قادر به حذف سرب از محلول فلزی تا دقایق انتهایی سنجش بود. درصد حذف سرب توسط باکتری در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر فلز سرب در زمان تلقیح تقریباً مشابه بود. در پایان، باکتری مورد نظر در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سرب به ترتیب ۶۶/۵ و ۵۳/۵ درصد جذب زیستی را نشان داد (شکل ۵).

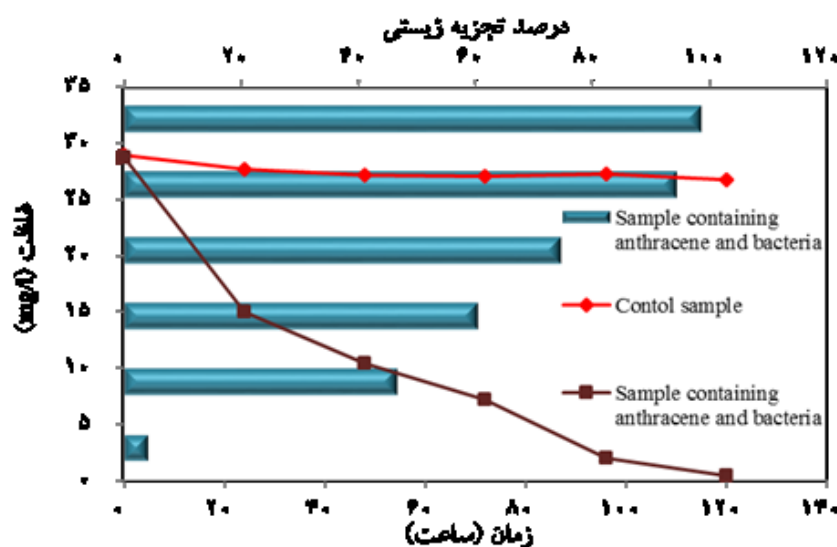


شکل ۵- نمودار جذب سرب توسط *Ochrobactrum* sp. در غلظت‌های مختلف. خطوط صاف، تغییرات غلظت سرب و خطوط نقطه چین، درصد حذف سرب را نشان می‌دهند.

اندازه گیری تجزیه زیستی آنتراسن

نتیجه کاهش زیستی آنتراسن در محیط مایع MSM توسط باکتری *Pseudomonas sp.* در شکل ۶ آمده است. میزان تجزیه آنتراسن توسط باکتری مذکور در ۲۴ ساعت اولیه پس از تلقیح زیاد بوده و به $15/02 \pm 1/85$ میلی گرم بر لیتر رسید. پس از آن، تجزیه زیستی هیدروکربن تا آخرین ساعات با شیب کندی پیش رفت. باکتری فوق مقدار آنتراسن را در غلظت ۳۰ میلی گرم بر لیتر به میزان قابل توجهی کاهش

داد و پس از ۱۲۰ ساعت غلظت هیدروکربن مذکور به $0/454 \pm 0/223$ میلی گرم بر لیتر رسید. از طرفی کاهش قابل توجه میزان آنتراسن در محیط کشت بدون باکتری (نمونه شاهد) مشاهده نشد. باکتری جنس *Pseudomonas sp.* تلقیح شده به محیط کشت MSM حاوی آنتراسن (غلظت ۳۰ میلی گرم بر لیتر) توانست ۹۸/۴۸ درصد آنتراسن را پس از ۵ روز از محیط کشت حذف کند (شکل ۶).



شکل ۶- کردار تجزیه زیستی آنتراسن توسط *Pseudomonas sp.*

بحث

گذاشته و باعث کاهش بیومس و تنوع آنها در محیط می شوند از اینرو جمعیت و فعالیت میکروارگانیسم ها در مناطق آلوده به فلزات

به طور طبیعی فلزات سنگین در غلظت های بالا بر رشد و فعالیت باکتری ها اثر منفی

سنگین نسبت به مناطق غیر آلوده کمتر است. علی‌رغم این استرس، برخی از باکتری‌ها قادرند خود را با غلظت‌های بالای فلزات سنگین سازگار کنند. به همین سبب باکتری‌هایی که از این مناطق جداسازی می‌شوند، گونه‌هایی مقاوم به این فلزات هستند که قادرند غلظت‌های بالای فلزات سنگین را تحمل کنند (۱۹، ۲۷). مطالعات در زمینه جداسازی و شناسایی باکتری‌هایی که قادر به مصرف ترکیبات نفتی به‌عنوان تنها منبع کربن و انرژی باشند، وسیع و روز افزون است (۲۸-۳۰). در مناطق آلوده نسبت به مناطق غیرآلوده جوامع میکروبی تجزیه‌کننده از رشد بیشتری برخوردارند و مناطق غیرآلوده یا مناطقی با آلودگی کمتر اغلب دارای باکتری‌های اندک یا اصلاً بدون باکتری‌های تجزیه‌کننده‌اند (۲۹). میزان رشد باکتری در حضور فلزات سمی، از جمله فاکتورهای موثر بر توانایی این میکروارگانیسم‌ها در جذب فلزات سنگین از محیط است. در مطالعه حاضر جهت بررسی رشد باکتری در حضور غلظت‌های مختلف فلز سرب از شاخص کدورت سنجی در طول موج ۶۰۰ نانومتر دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد.

باکتری مقاوم به فلز سرب *Ochrobactrum* sp. در تمامی غلظت‌ها رشد داشته که حاکی از مقاومت بالای این گونه به فلز سرب است. باکتری *Ochrobactrum* sp. در غلظت‌های بالای فلز سرب رشد خود را با تاخیر آغاز کرده و فاز لگاریتمی طولانی‌تری دارد. نتایج حاصل از مطالعه آبیاری در سال ۲۰۱۲ نیز حاکی از طولانی‌بودن طول دوره لگاریتمی این باکتری در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر فلز مس است (۳۱). طولانی‌شدن فاز لگاریتمی و کاهش رشد باکتری در غلظت‌های بالای فلز می‌تواند به‌دلیل سمیت فلز در غلظت‌های بالا و اثر بازدارندگی آن بر فرآیند تقسیم سلولی باشد (۳۲). وجود فاز تاخیر در آغاز رشد باکتری در غلظت‌های بالای فلز ممکن است به دو دلیل باشد اول اینکه باکتری جهت ترمیم ضایعات ناشی از مواجهه شدن با فلز سرب و دوم به‌علت سازگاری با شرایط محیطی جدید، به زمان نیاز دارد (۳۳).

بررسی رشد باکتری در حضور غلظت‌های مختلف فلز سرب مبین این نکته است که با افزایش غلظت فلز در محیط، میزان رشد کاهش می‌یابد. بیشترین میزان جذب نوری در حداقل غلظت فلز به دست آمد و با افزایش

غلظت فلز در محیط میزان جذب نوری کاهش یافت به طوری که در بالاترین غلظت فلز کمترین میزان جذب نوری به ثبت رسید. این موضوع بیانگر کاهش جمعیت میکروبی در پاسخ به افزایش سمیت فلز در محیط است. فلزات سنگین قادرند جایگزین فلزات ضروری موجود در جایگاه های اتصال باکتری شوند و با تخریب دی.ان.ا و آر.ان.ا، سنتز پروتئین ها را مهار کرده، باعث توقف فعالیت آنزیم ها شده و در نهایت مانع فرایند تقسیم سلولی شوند (۳۴).

باکتری جنس *Pseudomonas* از باکتری های است که همه جا حاضر است و در فعالیت های متابولیکی محیط زیست مانند چرخه عناصر و تجزیه آلاینده های ناشی از فعالیت های زیستی و غیرزیستی نقش بسیار مهمی را بازی می کند (۳۵). تجمع متابولیت های ثانویه حاصل از تجزیه آنتراسن و افزایش رشد باکتری *Pseudomonas* sp. موجب ایجاد کدورت و تغییر رنگ محیط کشت شد. منحنی رشد باکتری در شکل ۴ نشان می دهد که باکتری *Pseudomonas* sp. فاقد فاز تاخیری است و این می تواند به علت جداسازی این باکتری از رسوبات آلوده به

نفت و همچنین انجام کشت های مکرر در محیط کشت پایه معدنی حاوی هیدروکربن باشد که نتیجه آن سازگاری بیشتر این باکتری با منبع کربنی و در نتیجه افزایش سرعت رشد در محیط حاوی ترکیب نفتی است (۲۹). بیشترین میزان رشد باکتری *Pseudomonas* sp. در محیط حاوی ۳۰ میلی گرم بر لیتر آنتراسن در روز نهم (۰/۸۵۲) به دست آمد. به طور کلی در رشد باکتری تحقیق حاضر با گذشت زمان، میزان جذب در ۶۰۰ نانومتر زیاد شد که می تواند به علت توانایی باکتری در تولید آنزیم های مناسب برای مصرف آنتراسن باشد. به این صورت که باکتری با تجزیه سوبسترا از منبع کربن و انرژی آن استفاده کرده و این امر باعث می شود جمعیت باکتریایی از طریق تقسیم دوتایی سلول باکتری ها افزایش یابد. در نتیجه منحنی رشد روند صعودی به خود گرفته که در این حالت میزان رشد و تولید سلول های باکتریایی از میزان مرگ و میر آن ها بیشتر است (فاز رشد لگاریتمی)، ولی پس از مدتی با کاهش منبع کربنی شرایط رشد مهیا نبوده و از رشد باکتری کاسته می شود. در هر صورت، هنگامی که شرایط محیطی نتواند از جمعیت باکتریایی

"شاه‌علیان و همکاران، بررسی نقش باکتری‌های بومی جدا شده از رسوبات خلیج فارس در ..."

نیز افزایش و درصد حذف، کاهش یافت به گونه‌ای که بیشترین درصد حذف توسط باکتری‌های مقاوم به فلز سرب در مطالعه حاضر در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر اندازه‌گیری شد و با دو برابر شدن غلظت سرب در محلول فلزی درصد حذف نیز کاهش یافت.

آبیار (۱۳۸۹)، با مقایسه توانایی باکتری *O. tritici* strain AN4 در جذب فلز مس در غلظت‌های مختلف نشان داد که با افزایش غلظت فلز در محیط میزان جذب فلز نیز افزایش می‌یابد در حالی که با افزایش غلظت فلز در محیط از درصد حذف آن کاسته می‌شود. به گونه‌ای که درصد حذف فلز در غلظت‌های ۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر به ترتیب ۷۳/۵ و ۵۰ درصد گزارش شد (۳۷). با افزایش غلظت فلز در محیط میزان فلز بیشتری جهت جذب در اختیار باکتری قرار می‌گیرد. این در حالی است که در غلظت‌های پایین‌تر میزان فلزی که توسط دیواره سلولی باکتری جذب می‌شود، کمتر است. از اینرو، با افزایش غلظت فلز در محیط میزان جذب نیز افزایش می‌یابد (۳۸، ۳۹). از سوی دیگر بالا بودن درصد جذب در غلظت‌های پایین‌تر فلز نیز

حمایت کند، کاهش آشی آشکار در جمعیت باکتریایی رخ می‌دهد. قابلیت رشد گونه‌های *Pseudomonas* sp. در محیط کشت حاوی نفت خام توسط Ekpo و Udofia در سال ۲۰۰۸ مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که باکتری *Pseudomonas* sp. بدون فاز تاخیری رشد خود را آغاز کرده و بعد از ۲۵ روز انکوبه به حداکثر رشد خود رسید (۳۶). مطالعه توانایی باکتری *Ochrobactrum* sp. در جذب فلز سرب نشان داد که این باکتری قادر به کاهش سرب به میزان ۵۳/۵ درصد از محلول فلزی حاوی ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر این فلز است. همچنین فرآیند جذب زیستی سرب توسط باکتری *Ochrobactrum* sp. در هر سه غلظت تا لحظات انتهایی سنجش ادامه داشت. نتایج حاصل از مطالعه آبیار در سال ۱۳۸۹ نشان داد که *Ochrobactrum* sp. توانایی بالایی در حذف فلز مس از محیط دارد به‌طوری‌که گونه مذکور قادر به حذف ۶۴ درصدی این فلز از محلول فلزی با غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر مس است (۳۷). بررسی توانایی باکتری مقاوم به فلز سرب در حذف این فلز از محلول‌های فلزی نشان داد که با افزایش غلظت فلز در محیط میزان حذف فلز

احتمالا به این دلیل است که در این غلظت‌ها تعداد یون‌های فلزی نسبت به سایت‌های جذبی موجود در سطح سلول کمتر هستند از این رو درصد جذب بیشتر خواهد شد و با افزایش غلظت فلز و تعداد یون‌های فلزی و کاهش سایت‌های جذبی درصد جذب نیز کاهش می‌یابد.

نتایج تجزیه زیستی آنتراسن نشان داد که باکتری *Pseudomonas* sp. قادر به حذف ۹۸/۴۸۶ درصد آنتراسن در غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر است. در مطالعات دیگری Coelho و همکاران (۲۰۱۰) پتانسیل گونه‌های *Pseudomonas* و *Klebsiella* را در تجزیه زیستی نفتالن به ترتیب ۳۴/۵ و ۳۱ درصد گزارش کردند (۴۰). علاوه بر آن، Kumar و همکاران (۲۰۱۰)، گونه‌های *Pseudomonas* را برای مطالعات تجزیه زیستی آنتراسن مناسب دانستند (۴۱). Santos و همکاران (۲۰۰۸) یک گونه باکتری *Pseudomonas* با توانایی تولید بیوسورفاکتانت و قدرت تجزیه زیستی ۷۲ درصدی آنتراسن را جداسازی کردند (۴۲). همچنین Rodrigo و همکاران (۲۰۰۵) در تحقیق خود بر روی گونه‌های *Pseudomonas* جداسازی شده از خاک‌های

آلوده پتروشیمی مشاهده کردند که باکتری *Pseudomonas aeruginosa* در محیط کشت حاوی آنتراسن رشد خوبی را نشان می‌دهد. این باکتری با تولید متابولیت‌های ثانویه در مدت ۴۸ ساعت توانست ۵۶ درصد از آنتراسن موجود در محیط کشت را تخریب کند (۴۳).

همان‌طوری که در شکل ۶ نشان داده شد، باکتری *Pseudomonas* sp. در همان ۲۴ ساعت ابتدایی انکوباسیون تقریباً نیمی از آنتراسن موجود در محیط را مورد تجزیه قرار داده است. با گذشت زمان از میزان درصد کاهش آنتراسن کاسته شد. بنابراین می‌توان به این نتیجه رسید که غلظت آلاینده می‌تواند با سرعت تجزیه زیستی آن رابطه مستقیمی داشته باشد. با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش نیز در میان میکروارگانیسم‌های جدا شده از رسوبات، جنس *Pseudomonas* بیشترین مقدار رشد و تجزیه آنتراسن را نشان داد به دلیل وجود پلاسمیدهای متعدد قادر به تولید آنزیم‌های گوناگون این باکتری‌ها هستند و به همین دلیل فعالیت متابولیکی این دسته از باکتری‌ها بیشتر از سایر باکتری‌ها است و با سرعت بیشتری هیدروکربن‌های نفتی را تجزیه

"شاه‌علیان و همکاران، بررسی نقش باکتری‌های بومی جدا شده از رسوبات خلیج فارس در ..."

می‌کنند. بنابراین شناسایی باکتری‌های بومی به‌منظور استفاده و بهبود بخشیدن جمعیت میکروبی مناطق آلوده به هیدروکربن و به پاک‌سازی زیستی محیط کمک می‌کند.

از محیط کشت هستند. باکتری *Ochrobactrum* sp. قادر بود سرب را تا غلظت ۸۰۰ میلی گرم بر لیتر تحمل کند و در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر فلز سرب را به‌ترتیب به میزان ۶۶/۵ و ۵۳/۵ درصد کاهش دهد.

نتیجه‌گیری نهایی

مطالعه حاضر نشان داد که باکتری *Ochrobactrum* sp. و *Pseudomonas* sp. جداسازی شده از رسوبات آلوده خلیج فارس به ترتیب مقاوم به فلز سنگین سرب و هیدروکربن آنتراسن بوده و قادر به رشد در محیط حاوی این ترکیبات و حذف آنها

باکتری *Pseudomonas* sp. مقاوم به آنتراسن در محیط حاوی ۳۰ میلی گرم بر لیتر از این ترکیب به خوبی رشد کرد و قادر به حذف ۹۸/۴۸ درصدی آن از محیط بود که قابلیت بالای باکتری فوق را در حذف این آلاینده از محیط نشان می‌دهد.

References

- 1- Howard H. (2002). Human health and heavy metals exposure: The environment and human health. Michael McCally.
- 2- Safahieh A., Monikh F.A., Savari A. and Doraghi A. (2011). Heavy metals concentration in Mullet Fish, *Liza abu* from petrochemical waste receiving creeks, Musa Estuary (Persian Gulf). Journal of Environmental Protection. 2(68): 1218-1226 .
- 3- Wang J. and Chen C. (2009). Biosorbents for heavy metals removal and their future. Biotechnology Advances. 27(84): 195-226.
- 4- John R., Essien J., Akpan S. and Okpokwasili G. (2012). Polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacteria from aviation fuel spill site at Ibeno, Nigeria. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 88(6): 1014-1019 .
- 5- Lease C.W. (2006). Biodegradation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons in soils by defined bacterial and fungal cocultures. Flinders University, School of Biological Sciences.
- 6- Duan X., Shen G., Yang H., Lambert G., Wei F. and Zhang J. (2016). Measurement of human CYP1A2 induction by inhalation exposure to benzo(a)pyrene based on in vivo isotope breath method. Environmental Pollution. 208(1): 506-511.
- 7- Wick A.F., Haus N.W., Sukkariyah B.F., Haering K.C. and Daniels W.L. (2011). Remediation of PAH - contaminated soils and sediments: a literature review. Virginia Polytechnic Institute and State University.

فهرست منابع

- 8- Volesky B. (2001). Detoxification of metal-bearing effluents: biosorption for the next century. *Hydrometallurgy*. 59(83): 203-216.
- 9- Banerjee G., Pandey S., Ray A.K. and Kumar R. (2015). Bioremediation of heavy metals by a novel bacterial strain *Enterobacter cloacae* and its antioxidant enzyme activity, flocculant production, and protein expression in presence of lead, cadmium, and nickel. *Water Air Soil Pollution* 226(4): 91-99.
- 10- Ladino-Orjuela G., Gomes E., Silva R., Salt C. and Parsons J. (2016). Metabolic pathways for degradation of aromatic hydrocarbonds by bacteria. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. 237: 105-121.
- 11- Johnsen A.R. Wick L.Y. and Harms L. (2005). Principles of microbial PAH-degradation in soil. *Environm. Pollut.* 133: 71-84.
- 12- Leung M. (2004). Bioremediation: techniques for cleaning up a mess. *BioTech Journal*. 2: 18-22.
- 13- Vallero A.D. (2010). *Environmental biotechnology: A biosystems approach*. 1St. Elsevier Academic Press, Burlington, MA Edition.
- 14- Ward W., Singh A. and vanHamme J. (2003). Accelerated biodegradation of petroleum hydrocarbon waste. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 30: 260.
- 15- Samanta S.K., Singh O.V. and Jain R.K. (2002). Polycyclic aromatic hydrocarbons: environmental pollution and bioremediation. *Trends in Biotechnology*. 20(77): 243-248.
- 16- Bajaj S. and Singh D.K. (2015). Biodegradation of persistent organic pollutants in soil, water and pristine sites by cold-adapted microorganisms: Mini review. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 100(5): 98-105.
- 17- Vidali, M. (2001). Bioremediation. An overview. *Pure Appl. Chem.* 73(7): 1163–1172.
- 18- Dzairi F.Z. (2004). Bacterial volatilization of mercury by immobilized bacteria in fixed and fluidized bed bioreactors. *Annals of Microbiology*. 54(4): 353-364.
- 19- Leung, W.C. (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.
- 20- Chovanová K., Sládek D., Kmet V., Proksova M., Harichová J., Puskarova A., Polek B. and Ferianc P. (2004). Identification and characterization of eight cadmium resistant bacterial isolates from a cadmium-contaminated sewage sludge. *Biologia*. 59(6): 817-827.
- 21- Nnamchi C., Obeta J. and Ezeogu L. (2006). Isolation and characterization of some polycyclic aromatic hydrocarbon degrading bacteria from Nsukka soils in Nigeria. *International Journal of Environmental Science and Technology*. 3(2): 181-190.
- 22- 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.
- 23- Garrity G.M., Bell J.A. and Lilburn T.G. (2004). Taxonomic outline of the prokaryotes. *Bergey's manual of systematic bacteriology*, Springer, New York, Berlin, Heidelberg 384.
- 24- Shirdam R., Khanafari A. and Tabatabaee A. (2006). Cadmium, nickel and vanadium accumulation by three strains of marine bacteria, *Iranian Journal of Biotechnology*. 4(78): 180-187.
- 25- Kim S., Cheong Y., Seo D., Hur J., Heo J. and Cho J. (2007). Characterisation of heavy metal tolerance and biosorption capacity of bacterium strain CPB4 (*Bacillus* spp.). *Water Science and Technology*. 55(1-2): 105-111.
- 26- Zeid A.A.A., Hassanein W.A., Salama H.M. and Fahd G.A. (2009). Biosorption of some heavy metal ions using bacterial species isolated from agriculture waste water drains in Egypt. *Journal of Applied Sciences Research*. 4(56): 372-383.

- 27- Liu H., Guo S., Jiao K., Hou J., Xie H. and Xu H. (2015). Bioremediation of soils co-contaminated with heavy metals and 2,4,5-trichlorophenol by fruiting body of *Clitocybe maxima*. Journal of Hazardous Materials. 294(8): 121-127.
- 28- Xu R. and Obbard J.P. (2003). Effect of nutrient amendments on indigenous hydrocarbon biodegradation in oil-contaminated beach sediments. Journal of Environmental Quality. 32 (80): 1234-1243.
- 29- Zahed M A, Aziz H A, Isa M H, Mohajeri L. 2012. Response surface analysis to improve dispersed crude oil biodegradation. Clean-Soil, Air, Water 40(81): 262-267 .
- 30- Zhenyong Z. and W. Jonathan. (2009). Biosurfactants from *Acinetobacter calcoaceticus* BU03 enhance the solubility and biodegradation of phenanthrene. Environmental Technology. 30 (3): 291-299.
- 31- Abyar H., Safahieh A., Zolgharnein H. and Zamani I. (2012). Isolation and identification of achromobacter denitrificans and evaluation of its capacity in cadmium removal. Polish Journal Environmental Studies. 21(6): 1523-1527.
- 32- Kader J., Sannasi P., Othman O., Ismail B. and 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.
- 33- Gikas P., Sengor S., Ginn T., Moberly J. and Peyton B. (2009). The effects of heavy metals and temperature on microbial growth and lag. Global NEST Journal. 11(65): 325-332.
- 34- Maier R.M., Pepper I.L. and Gerba C.P. (2009). Environmental microbiology. Academic press. 423.
- 35- Nelson K., Weinel C. and Paulsen I. (2002). Complete genome sequence and comparative analysis of the metabolically versatile *Pseudomonas putida* KT2440. Environmental Microbiology. 4(12): 799-808.
- 36- Ekpo M, Udofia U. 2008. Rate of biodegradation of crude oil by microorganisms isolated from oil sludge environment. African Journal of Biotechnology 7(24): 4495-4499.
- 37- Abyar H. (1389). Isolation and Identification of marine bacteria resistant to copper and cadmium in Imam Khomeini port and detremination of bacterial function in biosorption of metals.
- 38- Ahalya N., Ramachandra T. and Kanamadi R. (2003). Biosorption of heavy metals. Research Journal of Chemistry and Environment. 7 (55): 71-79.
- 39- Gregorio A.D., Siracusa G., Becarelli S., Mariotti L., Gentini A. and Lorenzi R. (2016). Isolation and characterization of a hydrocarbonoclastic bacterial enrichment from total petroleum hydrocarbon contaminated sediments: potential candidates for bioaugmentation in bio-based processes. Environmental Science and Pollution Research. 1: 1-8.
- 40- Coelho F J R C, Sousa S, Santos L, Santos A L, Almeida A, Gomes N C M, Cunha A. 2010. PAH degrading bacteria in an estuarine system. Interdisciplinary Studies on Environmental Chemistry-biological Responses to Contaminants 2: 77-87.
- 41- Kumar G, Singla R, Kumar R. 2010. Plasmid associated anthracene degradation by *Pseudomonas* sp. isolated from filling station site. Nature and Science 8(4): 89-94.
- 42- Santos E.C., Jacques R.J., Bento F.M., Maria Do Carmo R.P., Selbach P.A., Sá E.L. and Camargo F.A. (2008). Anthracene biodegradation and surface activity by an iron-stimulated *Pseudomonas* sp. Bioresource technology. 99 (62): 2644-2649.
- 43- Rodrigo J.S.J., Santos E.C., Bento F.M., Peralba M.C.R., Selbach P.A., Sa E.L.S. and Camargo F.A.O. (2005). Anthracene biodegradation by *Pseudomonas* sp. isolated from a petrochemical sludge landfarming site. International Biodeterioration & Biodegradation. 56(3): 143-150.

Assessment of Isolated Bacteria from Persian Gulf Sediments for Biological Removal of Lead and Anthracene

Fatemeh Shahaliyan^{1*}, Hajar Abyar², Razieh Lamoochi¹, Alireza Safahieh¹, Negin Salamat¹, Fatemeh Mojodi³, Mostafa Zaredoost⁴

1- Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Iran.

2- Department of Environmental Science, Faculty of Natural Resources, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

3- Department of Agriculture and Natural Resources, Tehran University, Tehran, Iran.

4- Department of Environment and Energy, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

shahaliyanfatemeh@yahoo.com

Abstract

Heavy metals and petroleum entering the marine environment have adverse effects on aquatic species. The impacts of these compounds on living organisms depend on the type of contaminant and species. In recent decades, biological methods to control and remove heavy metals and petroleum hydrocarbons in the environment have come into focus. Bacterial elimination of pollutants is one of such methods. In this study, the isolation and purification of bacterial species from Persian Gulf sediments led to the identification of *Ochrobactrum* sp. and *Pseudomonas* sp. Maximum growth of *Ochrobactrum* sp. was observed at a concentration of 100 mg/l and the bacterium could also remove 66.5% of the lead metal. The maximum optical density of *Pseudomonas* sp. obtained on the ninth day of incubation was 0.852. Eventually, *Pseudomonas* sp. could degrade 98.48 % of anthracene after 5 days. The decrease of bacterial function in the high concentrations of lead and anthracene can be associated with the destructive impact of these pollutants on the protein synthesis and disruption of enzyme activities in microorganisms.

Keywords: Anthracene, Heavy Metal, *Ochrobactrum* sp., Persian Gulf, *Pseudomonas* sp.