محیط زیست طبیعی، منابع طبیعی ایران، دورهٔ ۶۸، شمارهٔ ۱، بهار ۱۳۹۴
صفحات ۱۶۳-۱۵۵

ارزیابی تجزیهٔ بیولوژیکی برخی از سموم کشاورزی کلره توسط باکتری‌های جداشده (برخی از گونه‌های سودوموناس) از رودخانه‌های استان مازندران

زهرا یعقوب‌زاده[1]*، رضا صفری[2]
۱، ۲. مربی پژوهشی بخش بیوتکنولوژی آزمایشگاه میکروبیولوژی، پژوهشکدهٔ اکولوژی دریای خزر، ساری، مازندران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۷/۲۷- تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۵/۲۰)

چکیده

سموم کلره ازجمله آلاینده‌های زیست‌محیطی هستند که نیمه‌عمر بالایی دارند و با ماندن در طبیعت، وارد زنجیرهٔ غذایی می‌شوند و درنهایت به انسان انتقال می‌یابند و سبب بروز عوارض مختلف ازجمله جهش در ژن‌های مختلف و سرطان‌زایی می‌شوند. در این پژوهش تجزیهٔ بیولوژیک انواع سموم کلره نظیر آلفا، بتا و گاما هگزا کلروبنزن (لیندن)، DDT، آلدرین، دی‌آلدرین، آندوسولفان، اندرین و هپتاکلر توسط سه گونه سودوموناس به نام‌های آئروجینوزا، فلورسانس و پوتیدا جداشده از رودخانه‌های استان مازندران (تجن، بابلرود و شیرود) در مقیاس آزمایشگاهی بررسی شد. پس از آداپتاسیون باکتری‌های جداشده در محیط پایهٔ معدنی (به‌صورت مخلوط) به میزان ۵درصد از مخلوط باکتری‌ها، به محیط پایهٔ حاوی ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر از مخلوط استاندارد سموم کلره اضافه شد و در زمان‌های صفر، ۲۴، ۴۸، ۵۴ و ۱۲۰ ساعت، روند تجزیهٔ بیولوژیک با استفاده از تغییرات رشد میکروب‌ها (جذب نوری) و اندازه‌گیری سموم کلره (با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی) آزمایش شد. نتایج نشان داد که بیشترین تجزیه مربوط به سم DDT و لیندن بوده است به‌طوری‌که غلظت آن‌ها در زمان ۱۲۰ ساعت به‌ترتیب به ۹/۵۴ و۹/۳ میلی‌گرم بر لیتر رسیده بود. کمترین میزان تجزیه نیز مربوط به سم اندرین بود و غلظت آن‌ها در زمان ۱۲۰ ساعت، ۱۳/۴۵ میلی‌گرم بر لیتر بود. بیشترین جذب یا OD باکتری‌های استفاده‌شده در زمان ۴۸ ساعت بوده است. نتیجه‌ای که از این پژوهش حاصل شد آن است که با استفادهٔ بهینه از گونه‌های مختلف سودوموناس در مزارع کشاورزی، می‌توان غلظت سموم کشاورزی خصوصاً کلره را تا حد قابل قبولی کاهش داد.

کلیدواژگان: تجزیهٔ بیولوژیک، رودخانه‌ها، سموم کلرهٔ کشاورزی، سودوموناس.

* نویسندهٔ مسئول تلفن : ۰۱۱۳۳۴۶۲۴۹۹
Email: za_yaghoub@yahoo.com

۱. مقدمه

از منابع مهم طبیعی که همواره در معرض ورود آلاینده‌های مختلف هستند می‌توان به رودخانه‌ها اشاره کرد که نقش عمده‌ای در پراکنش آلودگی دارند (Laloee, 1999). مواد آلاینده بسته به ساختمان شیمیایی، نیمه‌عمر و میزان سمّیت، تأثیرات متفاوتی دارند و با پراکنده‌شدن در محیط، علاوه بر تغییر در اکوسیستم محیط زیست، در بافت سایر ارگانیسم تجمع می‌یابند و به‌طور غیرمستقیم به انسان منتقل می‌شوند (Esmaili Sari, 2002; Dabiri,2000; Erfan Manesh, 2000). ارگانیسم‌های کوچکی مثل پلانکتون‌ها و دافنی، DDT را به‌صورت غیرفعال و یا از طریق فیلتراسیون غذا از رودخانه‌ها، جذب می‌کنند. به همین دلیل غلظت DDT در این موجودات بعضاً صد تا هزار برابر غلظت محیطی است و زمانی که ماهی‌ها این موجودات را می‌خورند،DDT را وارد بافت چربی خود می‌کنند. براساس پژوهش‌های انجام‌شده، میزان دوز استاندارد DDT در اکوسیستم‌های آبی ۰/۰۰۱ میکروگرم در لیتر است. دوز استاندارد DDE نامشخص است ,Najafpour). (1998; Najafpour, 2000 دوز سمّی لیندان $۱۲۵\ mg/kg$ است ولی دوز استاندارد آن در اکوسیستم‌های آبی نامشخص است (Raghu, *et. al*., 1966; Senoo, *et.al*., 1996) سموم ارگانوکلره ازجمله سمومی هستند که نیمه‌عمر بالایی دارند و هر چند که استفادهٔ برخی از آن‌ها منسوخ شده است ولی همچنان با نام‌های تجاری متفاوت استفاده می‌شوند. این ترکیبات برای انواع موجودات مضرند (Alonso, 1995 ; Eichner,1990; Kajimax, *et. al*., 1995; Kannan *et al*., 1992; Mohapatra, *et al*., 1995).

جدول۱. بیشترین میزان قابل قبول سموم کلره و عوارض آن‌ها

نوع آلاینده	MclG mg/l	Mcl mg/l	تأثیرات	منابع
کلردان	۰	۰/۰۰۳	سیستم عصبی و کبدی	موریانه‌کش
لیندان	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۰۲	سرطان، کلیه و کبد	حشره‌کش
2-4-D	۰/۰۷	۰/۰۷	کلیوی، کبدی، غدهٔ آدرنال	علف‌کش
اندرین	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	سیستم عصبی	حشره‌کش‌ها
هپتاکلر	۰	۰/۰۰۴	کبد، سرطان	موریانه‌کش
هپتا کلراپوکسید	۰	۰/۰۰۲	کبد و سرطان	ناشی از تجزیهٔ هپتاکلر
متوکسی‌کلر	۰/۰۴	۰/۰۴	کلیه و کبد، تولید مثل	حشره‌کش
DDT	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵	سرطان	حشره‌کش
DDE	۰/۰۰۷	۰/۰۰۷	سرطان	متابولیت DDT

(Erfan Manesh, 2000; Esmaili Sari, 2002)

یکی از روش‌های کاهش این گروه از سموم استفاده از میکروارگانیسم‌های مختلف به‌منظور تجزیهٔ بیولوژیک سموم کلره است. برخی باکتری‌ها به تولید آنزیم‌های اختصاصی قادر به تجزیهٔ این گروه از مواد آلاینده هستند و آن را به متابولیت‌های ساده‌تر تبدیل می‌کنند و بعضی از باکتری‌ها روند تجزیه را تا تبدیل سم کلره به آب و دی‌اکسیدکربن ادامه می‌دهند.

جنس سودوموناس ازجمله باکتری‌های گرم منفی است که قادر به تولید انواع آنزیم‌های تجزیه‌کنندهٔ ترکیبات نفتی و همچنین سموم کشاورزی است. در این پژوهش سعی شده است از گونه‌های سودوموناس جداشده از رودخانهٔ شیلاتی و حیاتی استان مازندران که محل مهاجرت و تکثیر ماهی آزاد (رودخانهٔ شیرود) و ماهی سفید (تجن و بابلرود) هستند استفاده شود تا به‌منزلهٔ

ابـزار بیولوژیـک در راسـتای تجزیـهٔ سـموم کلـرهٔ کشاورزی (در شرایط آزمایشگاهی) ارزیابی شوند.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. ایستگاه‌های نمونه‌برداری

ایستگاه‌های بررسی‌شده شامل رودخانهٔ تجن (سـد شهید رجائی، پل آهنی راهبند و مصب)، رودخانـهٔ بابلرود (روستای سجاد محله، پل محمدحسن خان بابـل و مصـب) و شـیرود (روسـتای نسـامه، سلیمان‌آبـاد و مصـب) بـوده اسـت. نمونـه‌بـرداری به‌صورت تصادفی و با توجه به موقعیت جغرافیـایی و استقرار روستاهای مختلف انجام شد. برای آنـالیز کمّی و کیفـی سـموم کلـرهٔ سـه رودخانـهٔ مهـم و شیلاتی اسـتان مازنـدران شـامل تجـن، بـابلرود و شیرود انتخاب و بررسی شدند. تعـداد ایسـتگاه در هر رودخانه، سه ایستگاه (بالادست رودخانه، محـل عبـور رودخانـه از منـاطق روسـتایی و زمـین‌هـای کشاورزی و مصب رودخانه) بـود. بـه‌منظـور آنـالیز سموم کلره، نمونه‌برداری در ۴ مـاه اول سـال، هـر ۱۵ روز انجام شد و در ماه‌های مرداد و شهریور که میزان مصرف سم کاهش می‌یابد هر ۳۰ روز انجـام شد و برای هر نمونه ۳ تکرار در نظـر گرفتـه شـد. سموم کلرهٔ بررسی‌شده شامل آلفا هگزا کلروبنزن[1]، گامـا هگـزا کلـروبنـزن[2]، بتـا هگـزا کلروبنـزن[3]، هپتـاکلـر[4]،آلـدرین[5]، انـدرین[6]، دی‌آلـدرین[7] آندوسولفان[8] و DDT[9] (دی‌کلرو دی‌فنیل تری‌کلرو اتان) بوده است.

برای آنالیز میکروبی، نمونه‌گیری با اسـتفاده از شیشه‌های کدر درب سـمباده‌ای اسـتریل از عمـق ۲۰ سانتی‌متر زیر آب انجام شد و نمونه‌ها در کنـار زنجیـرهٔ سـرد بـه آزمایشـگاه میکروبیولـوژی پژوهشکدهٔ اکولوژی دریای خزر منتقل و در کمتـر از ۲۴ ساعت آزمایش شـدند (American Public Health Association, 2005). به‌منظـور شـمارش کلنـی‌هـای مربـوط بـه سـودوموناس در محـیط آگاردار، پـس از تهیـهٔ رقـت‌هـای متـوالی، کشـت سطحی در محیط سـتریمید آگـار[10] انجـام شـد و بـه‌مـدت ۴۸ـ ۷۲ سـاعت در دمـای ۳۰ درجـهٔ سانتی‌گراد به‌صورت هوازی انکوبه شد و پس از بـه اتمام رسیدن زمان انکوباسیون، نسبت به شناسایی آن‌ها اقـدام شـد. بیشـتر تسـت‌هـای بیوشـیمیایی انجام‌شده شامل تست OF، رشـد در محـیط مـک کانکی آگار[11]، تست حرکت، تست IMViC[12]، اوره آز، رشد در حضور نمک، رشد در دماهای مختلـف، ژلاتین، تریپل شوگر آیرون آگار[13] و لیـزین آیـرون آگار[14] بودند (Lee RJ, 2010).

۲.۲. روش تجزیهٔ بیولوژیک

برای ارزیابی میزان تجزیهٔ گونه‌هـای سـودوموناس جـداشـده در شـرایط آزمایشـگاهی، پـس از آماده‌کردن محیط کشـت، تیمارهـای مخلـوطی از سه گونه سودوموناس (آئروجینوزا[15]، فلورسانس[16]، و پوتیدا[17]) به میزان ۵درصد به همراه نمونهٔ شاهد (بدون باکتری و دارای سموم کلره) در محیط مایع تهیه و به مقدار ۳۰ میلی‌گرم در لیتر از اسـتاندارد سموم کلره به‌طور جداگانه، به محـیط اضـافه و در انکوبـاتور شـکردار قـرار داده شـد. pH محـیط در محـدودهٔ ۷ تنظـیم شـد (Rajkumar & Mononmani 2002). تغییرات غلظت سموم کلـره و همچنین رشد باکتری در زمـان‌هـای صـفر، ۲۴، ۴۸، ۵۴ و ۱۲۰ ساعت بررسی شد.

برای اندازه‌گیری سموم کلره ابتـدا یـک لیتـر از نمونهٔ آب فیکس‌شده بـا n - هگـزان، شـیک شـد و

1. Alpha Hexachlorobenzene
2. Beta Hexachlorobenzene
3. Gama Hexachlorobenzene (Linden)
4. Heptachlor
5. Aldrine
6. Endrine
7. Dieldrine
8. Endosulfa
9. Cetrimide Dichlorodifeniltricholoroetan
10. Agar
11. Macconkey agar
12. Indole test,the Methyl Red.Voges-Proskauer tests and the Citrate test
13. Triple sugar iron agar
14. Lysine iron agar
15. *pseudomonas aeruginosa*
16. *pseudomonas fluorescens*
17. *pseudomonas putida*

عمل استخراج با هگزان در سه مرحله و با استفاده از دستگاه دکانتور انجام گرفت. پس از این مرحله، فاز آلی جدا شدند و عمل آبگیری با استفاده از سولفات سدیم انیدر انجام شد و درنهایت نمونه‌ها، با استفاده از دستگاه روتاری (Rotary evaporator) تا حد ۲ میلی‌لیتر تغلیظ شدند. برای شناسایی و تعیین مقدار سم کلره، ابتدا یک محلول spike (به‌منزلهٔ شاهد) از یک لیتر آب مقطر تهیه و دوز مشخصی از استاندارد به آن اضافه شد و مانند مراحل قبلی، تا ۲ میلی‌لیتر تغلیظ شد. در کنار محلول spike، محلول استاندارد نیز تهیه و در حد یک میکرو لیتر (با استفاده از سرنگ‌های همیلتون) به دستگاه تزریق و با استفاده از پیک‌هایی مربوط به استاندارد و spike، محاسبات بر روی نمونهٔ تزریق‌شده به دستگاه انجام گرفت. شرایط و مشخصات دستگاه در اندازه‌گیری سموم در آب به‌صورت ذیل بود:

Column: capilary: CB 10 30m × 0/53 mm ID

Oven: 180 ^{0}c (1 min) to 240 ^{0}c at 2 ^{0}c / min

Carrier: He

Make up: N 2

Det: ECD

1nj: 1 μl

Flow Rate: 50 ml / min

منبع استفاده‌شده بر آزمایش‌های شیمیایی (سموم کلره) MOOPAM RAPMI USEPA USEPA 608, 508 , بودند.

۳.۲. تجزیه و تحلیل آماری

به‌منظور رسم نمودار و جدول‌ها از نرم‌افزار ۲۰۰۳ Excel و به‌منظور آنالیز داده‌ها، از نرم‌افزار ۱۰/۵ SPSS استفاده شد. برای ارزیابی معناداربودن نتایج شیمیایی، از آنالیز واریانس یکطرفه و تست دانکن استفاده شد.

با توجه به اینکه داده‌های شیمیایی و میکروبی (لگاریتم داده‌ها) در محدودهٔ استاندارد و نرمال قرار داشتند نیازی به نرمال‌بودن داده‌ها نبود با وجود این از آزمون کولموگروف اسمیرنوف برای نرمال‌کردن نهایی داده‌ها استفاده شد.

۳. نتایج

۱.۳. آنالیز کمّی و کیفی سموم کلره و گونه‌های سودوموناس

نتایج سموم کلره آلدرین، دی‌آلدرین، اندرین، DDT،DDE[1] (دی‌کلرو اتن)، آلفا هگزا کلروبنزن، بتا کلروبنزن، گاما هگزا کلروبنزن و هپتا کلرو در شش ماههٔ اول سال ۱۳۸۲ در رودخانه‌های تجن، بابلرود و رودخانهٔ شیرود به شرح زیر تجزیه و تحلیل شده است.

میزان درصد سموم مشاهده‌شده در تمامی سه رودخانه از حداکثر به حداقل

DDT > بتا کلروبنزن> هپتاکلر، گاما کلروبنزن، آلدرین > دی‌آلدرین > اندرین > DDE> آلفا کلروبنزن بوده است.

میزان درصد سم DDT در مقایسه با سموم اندازه‌گیری‌شده بیشترین مقدار را به خودش اختصاص داده و میانگین آن در رودخانه‌های تجن، بابلرود و شیرود به‌ترتیب ۴۶/۵، ۶۶/۵ و ۴۳/۵ درصد بوده است. سم بتا کلروبنزن در میان سموم اندازه‌گیری‌شده در مرحلهٔ دوم قرار داشته و درمجموع نمونه‌های اندازه‌گیری‌شده در طول شش ماه ۳۰درصد از کل نمونه‌های مشاهده‌شده قرار گرفته است. بیشترین مقدار سم گاما کلروبنزن در سه رودخانهٔ تجن، بابلرود و شیرود به‌ترتیب ۷/۶، ۵/۶ و۲۶/۲ میکروگرم بر لیتر بوده است. نتایج تست‌های بیوشیمیایی انجام‌شده درخصوص سه گونه از سودوموناس جداشده از رودخانه‌های استان در جدول۲ نشان داده شده است.

1. 1,2-Dichloroethene

جدول۲. نتایج تست‌های بیوشیمیایی سه گونه از سودوموناس جداشده

نوع تست / نوع باکتری	۱	۲	۳
رنگ‌آمیزی گرم	-	-	-
شکل میکروسکوپی	باسیل کوتاه	باسیل کوتاه	باسیل کوتاه
نوع متابولیسم	هوازی	هوازی	هوازی
حرکت	+	+	+
تست OF	O	-	O
دمای اپتیمم رشد	۳۰-۳۷	۳۵	۳۰
رشد در مک کانکی	+	+	+
تولید اندول	-	-	-
متیل رد	-	-	-
وژرپروسکوئر	متغیر	متغیر	منفی
سیترات	-	-	-
اوره آز	-	+	-
رشد در نمک ۵درصد	+	+	-
ذوب ژلاتین	+	-	+
تریپل شوگر آیرون آگار	قلیایی/ قلیایی	قلیایی/ قلیایی	قلیایی/ قلیایی
لیزین آیرون آگار	-	-	

۲.۳. آزمایش‌های تجزیهٔ بیولوژیک

نتایج نشان داد که به هنگام استفاده از مخلوط سه گونه سودوموناس، بیشترین کاهش در سموم کلره مربوط به *DDT* و لیندن و کمترین کاهش مربوط به اندرین بوده است (جدول۳). بیشترین جذب باکتری، در زمان ۴۸ ساعت بوده و پس از آن به‌صورت ثابت و یا اندکی کمتر بوده است (جدول۴). نتایج تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که هیچ‌گونه اختلاف معناداری بین تغییرات حاصله در تجزیهٔ بیولوژیک سموم وجود نداشته است ($P>0/05$). میزان کاهش آلفا هگزا کلروبنزن (۵۸/۱ درصد)، لیندن یا گاما هگزا کلروبنزن (۶۹ درصد)، بتاهگزا کلروبنزن (۶۵/۴درصد)، هپتاکلر (۶۱/۶ درصد)، آلدرین (۵۸/۱درصد)، اندرین (۵۵/۱درصد)، دی‌آلدرین (۸/ ۵۵درصد)، آندوسولفان (۶/ ۵۸درصد) و DDT (۶۸/۲درصد) بوده است.

نتایج آزمایش‌ها در نمونهٔ کنترل (بدون باکتری) بیانگر کاهش آلفا هگزا کلروبنزن (۴۶ /۱۱درصد)، لیندن (۹/۸درصد)، بتا هگزا کلروبنزن (۲۰درصد)، هپتاکلر (۳ /۱۳درصد)، آلدرین (۱۷درصد)، اندرین (۳ /۱۳درصد)، دی‌آلدرین (۳ /۱۳درصد)، آندوسولفان (۹ /۱۹درصد)، DDT (۳ /۱۳درصد) بوده است. بیشترین تجزیهٔ خودبه‌خودی در بتا هگزا کلروبنزن و آندوسولفان و کمترین تجزیه نیز در اندرین، DDT و دی‌آلدرین مشاهده شده است (جدول۵).

جدول۳. نتایج آزمایش‌های تجزیهٔ بیولوژیک برخی سموم کلره در تیمار مخلوط (سه گونه سودوموناس)

زمان(ساعت) نوع سم*	صفر	۲۴	۴۸	۵۴	۱۲۰
آلفا هگزا کلروبنزن	۳۰	۲۲/۳۱	۱۷/۵۲	۱۴/۵۳	۱۲/۵۶
گاما هگزا کلروبنزن (لیندن)	۳۰	۱۸/۵۶	۱۵/۳	۱۱/۴	۹/۳
بتا هگزا کلروبنزن	۳۰	۱۸/۳۵	۱۳/۶۰	۱۲/۵	۱۰/۳۶
هپتا کلر	۳۰	۲۶/۲۳	۲۰/۰۴	۱۴/۰۴	۱۱/۵
آلدرین	۳۰	۲۳/۴۵	۱۷/۵۶	۱۳/۴۵	۱۲/۵۶
آندرین	۳۰	۲۰/۷۶	۱۵/۳۵	۱۴/۳۵	۱۳/۴۵
دی‌آلدرین	۳۰	۲۵/۳۰	۱۷/۴۷	۱۳/۵۶	۱۳/۲۵
آندو سولفان	۳۰	۲۵/۳۵	۱۶/۵۳	۱۴/۵۴	۱۲/۴۱
DDT	۳۰	۲۳/۵۶	۱۸/۵۷	۱۲/۵۴	۹/۵۴

* مقیاس برحسب میلی‌گرم در لیتر است (ppm)

جدول۴. تغییرات رشد سه گونه سودوموناس با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر

زمان (ساعت)	صفر	۲۴	۴۸	۵۴	۱۲۰
جذب	۰/۰۰۳	۰/۰۱۱	۰/۰۱۴	۰/۰۱۴	۰/۰۱۳

جدول۵. نتایج آزمایش‌های تجزیهٔ بیولوژیک برخی سموم کلره در نمونهٔ کنترل (بدون باکتری)

زمان (ساعت) نوع سم*	صفر	۲۴	۴۸	۵۴	۱۲۰
آلفا هگزا کلروبنزین	۲۶/۵۶	۲۷/۰۲	۲۷/۵۶	۲۸/۰۱	۳۰
گاما هگزا کلروبنزن (لیندن)	۲۷/۰۶	۲۷/۲۳	۲۸/۰۱	۲۹/۴۵	۳۰
بتا هگزا کلروبنزن	۲۴	۲۵/۵	۲۶/۴۴	۲۸/۵۶	۳۰
هپتا کلر	۲۶	۲۶/۲	۲۷/۵۶	۲۹/۱	۳۰
آلدرین	۲۴/۹	۲۵/۵	۲۷/۰۱	۲۷/۳۶	۳۰
آندرین	۲۶	۲۶/۵۳	۲۸	۲۸/۵۶	۳۰
دی‌آلدرین	۲۶	۲۶/۰۳	۲۶/۴۷	۲۸/۰۱	۳۰
آندو سولفان	۲۴/۰۱	۲۴/۵۱	۲۵/۳	۲۷/۴۵	۳۰
DDT	۲۶	۲۷/۰۱	۲۷/۳۵	۲۸/۳۶	۳۰

* مقیاس برحسب میلی‌گرم در لیتر است (ppm)

۴. بحث و نتیجه‌گیری

میکروارگانیسم‌ها از ترکیبات مختلف به‌منزلهٔ منبع کربن خود استفاده می‌کنند. یکی از این ترکیبات سموم کلره است. سموم کلره بسته به ساختمان فضایی تحت‌تأثیر فرایندهای مختلفی قرار می‌گیرند و به دنبال انجام واکنش‌های متوالی (که هر یک توسط آنزیم‌های اختصاصی انجام می‌گیرد) به متابولیت‌های ساده‌تر تبدیل می‌شوند.

تجزیهٔ سموم کلره توسط گونه‌های سودوموناس با توجه به اینکه بیشترین تجزیهٔ سموم کلره مربوط به DDT و لیندن بوده است بنابراین، تحلیل داده‌های مورد نظر بیشترین بر روی دو سموم فوق انجام می‌گیرد. نتایج آزمایش‌ها در تیمارهای تهیه‌شده از سودوموناس‌ها نشان داد که تجزیهٔ DDT سریع‌تر از لیندن بوده است. در نمونهٔ

کنترل که هیچ‌گونه باکتری تلقیح نمی‌شد، میزان کاهش ppm ۴ بود که خود ناشی از فرایندهای دیگر نظیر اتواکسیداسیون، فتولیز بوده است. ساختمان شیمیایی لیندن ساده‌تر از DDT بود ولی بیشتر باکتری‌های استفاده‌شده، به‌دلیل داشتن آنزیم‌های دهالوژناز، DDT را به‌منزلهٔ منبع کربن اختصاصی انتخاب کردند و به هنگام استفاده از مخلوط باکتری‌ها، این اثر بهتر انجام گرفته که ناشی از اثر سینرژیسمی باکتری‌های استفاده‌شده بوده است (Amherst, 2000). نتایج مطالعات Rajkumar و Mononmani نشان داد که باکتری‌های گروه انتروباکتریاسه نظیر سراشیا[1] توانایی تجزیهٔ DDT را داشت و غلظت‌های ۵، ۱۰، ۱۵ میلی‌گرم در لیتر آن را به‌ترتیب پس از ۹۶، ۱۰۰، ۱۲۰ ساعت به صفر کاهش می‌دهد (Rajkumar & Mononmani 2002). مطالعات Aislabia و همکارانش بیانگر تجزیهٔ DDT هنگام استفاده از مخلوط میکروارگانیسم است (Aislabia *et al.*, 1997).

اگر میکروب DDT را به‌منزلهٔ منبع اصلی کربن انتخاب کند، در غلظت‌های پایین نیز آن را استفاده می‌کند (Katayama *et al.*, 1993). تجزیهٔ میکروبی توسط سایر باکتری‌ها ازجمله آلکالی ژنز[2]، آئروباکتر[3] و پلئوروتوس[4] نیز گزارش شده است

(Nedeau *et al.*, 1994 ;Martinez, 1997 ;Wedemeyer, 1993). سودوموناس پوتیدا ازجمله باکتری‌هایی است که توانایی بسیار بالایی برای تجزیهٔ آلاینده‌های مختلف ازجمله DDT را دارد (Subba Rao *et al.*, 1997). باکتری‌های مختلف نظیر باسیلوس‌ها، باکتری‌های احیاکنندهٔ سولفات و برخی باکتری‌های گرم منفی توانایی تجزیهٔ لیندن را دارند که این امر به طیف آنزیمی و قدرت تجزیه‌کنندگی میکروارگانیسم‌ها بستگی دارد (Crupta *et al.*, 2000; Deo *et al.*, 1998; Kim, 1997).

غلظت سموم استفاده‌شده در این پژوهش ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر بوده است. نتایج Rajkumar و Mononmani نشان داد که هنگام استفاده از ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر، حدود ۴۵ـ ۶۰درصد از DDT (۱۰ppm) و هنگام استفاده از ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر میزان تجزیه افزایش می‌یابد (۷۲ ساعت) و هنگام استفاده از ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، میزان DDT به صفر می‌رسد(Rajkumar & Mononmani 2002). مطالعات Crupta و همکارانش در ارتباط با تجزیهٔ لیندن نشان داد که هنگام استفاده از باسیلوس سیرکولانس[5] و برویس[6]، غلظت ppm ۱ لیندن پس از ۸ روز به صفر می‌رسد و غلظت ppm ۵ آن پس از ۸ روز به ۰/۲۶۸ (باسیلوس سیرکولانس) و ۰/۰۷۹۶ میلی‌گرم بر لیتر(ppm) (باسیلوس برویس) می‌رسد (Crupta *et al.*, 2000). با افزایش تعداد باکتری، زمان رسیدن به فاز رشد لگاریتمی سریع‌تر صورت می‌گیرد و از طرفی مقاومت باکتری به شرایط نامساعد محیطی بیشتر خواهد بود.

pH استفاده‌شده در این مطالعه برای تجزیهٔ سموم کلره، ۷ بوده است. مطالعات انجام‌شده نشان می‌دهد که گونه‌های سودوموناس بهترین رشد را در pH خنثی دارند. pH خنثی، شرایط رشد را برای بیشتر میکروب‌ها فراهم می‌کند و گونه‌های استفاده‌شده در این پژوهش نیز در این pH بهترین اثر را نشان داده‌اند. هرچند که گونه‌های استفاده‌شده، درpH های پایین‌تر یا بالاتر نیز رشد بطئی از خود نشان می‌دهند ولی pH اپتیمم آن‌ها ۷ است. مطالعات Rajkumar و Mononmani نشان داد که با افزایش نسبی pH، رشد افزایش می‌یابد و در محدودهٔ ۷ـ ۷/۵ بیشترین کاهش DDT دیده می‌شود. بالاتر از این pH، رشد باکتری کاهش می‌یابد و از میزان تجزیه نیز کاسته می‌شود (Rajkumar & Mononmani 2002). PH

1. Serratia
2. *Alcalijenes*
3. *Aerobacter*
4. *pleurotus*
5. *Bacillus circulans*
6. *Bacillus brevis*

اسیدی شرایط را برای بیشتر باکتری‌ها محدود می‌کند ولی برخی قارچ‌ها قادر به تجزیهٔ DDT در شرایط نسبتاً اسیدی هستند (Bumpus & Aust 1990). باکتری‌های تجزیه‌کنندهٔ لیندن، در دامنهٔ وسیعی از pH قادر به رشد هستند و برخی از آن‌ها نظیر باسیلوس از pH ۵/۵ تا ۵/۷ قادر به رشد و تجزیهٔ لیندن هستند و برخی دیگر مثل باکتری‌های احیاکنندهٔ سولفات و باکتری‌های متانوژن در pH اسیدی رشد و تکثیر و اقدام به تجزیهٔ لیندن می‌کنند (Middeldorp *et al.*, 1996; Deo *et al.*, 1998; Bachmann, 1998; Awasthi *et al.*, 2000; Alfred *et al.*, 1999).

دمایی که در این مطالعه برای تجزیهٔ سموم کلره استفاده شد ۳۰ درجه بوده است. مطالعات انجام‌شده نشان می‌دهد که سودوموناس بهترین رشد را در دمای ۳۰ درجه داشته است. مطالعات Rajkumar و Mononmani نشان داد که بهترین شرایط برای تجزیهٔ DDT توسط سراشیا در دمای ۳۰ درجه ولی بهترین رشد باکتری در دمای ۳۷ درجه است (Rajkumar & Mononmani 2002). بهترین دما برای تجزیهٔ DDT توسط آلکانی ژنز دمای ۲۷ درجه (Nedeau *et al.*, 1994) و برای سودوموناس پوتیدا دمای ۲۵ـ ۳۰ بوده است (Subba Rao *et al.*, 1997). باکتری‌های گروه اخیر جزء باکتری‌های سرماگرا هستند و در محیط‌های آبی که دمای آن بین ۲۰ـ ۲۵ باشد غالب‌اند. باکتری‌های تجزیه‌کنندهٔ لیندن نیز شرایط دمایی متفاوت دارند و بسته به نوع میکروب، دمای مورد نظر متفاوت خواهد بود (Senoo, *et.al.*, 1996).

REFERENCES

1. Aislabiea,J. M., Richardsb, N. K., Boul, H. L., 1997. Microbial degradation of DDT and its residues- a review. New Zealand Journal of Agricultural Research. Volume 40, Issue 2, pages 269-282.
2. Alonso, P. P., 1995. Determination of organochlorine pesticides in water. Quim. Anal. 30. 323 - 325.
3. American Public Health Association (APHA)., 2005. American Water Works Association (AWWA) & Water Environment Federation (WEF). Standard methods for the examination of water and wastewater. 22th.
4. Amherst, M. A., 2000. Bioremediation of DDT and Toxaphene contaminated soils. 16 th Annual International Conference on contaminated soils, sediments and water, october 16.
5. Awasthi, N., Ahuja, R., Kumar, A., 2000. Factors influencing the degradation of soil applied endosulfan somers. Soil Biology and Biochemistry Volume 32, Issues 11–12, Pages 1697–1705.
6. Bachmann, A.,Walet,P., Wijnen, P., Bruin, W., Huntjens, J.L., Roelofsen, W., Zehnder, A.J., 1988. Biodegradation of alpha and beta - HCH in a soil slurry under different redox conditions Appl Environ Microbiol. 54(1):143-9.
7. Bumpus, J.A., Aust,S.D., 1987. Biodegradation of DDT [1,1,1-trichloro-2,2-bis(4-chlorophenyl)ethane] by the white rot fungus Phanerochaete chrysosporium. Appl Environ Microbiol. 53(9):2001–2008.
8. Dabiri, M., 2000. Environmental pollution (air, water, soil and noise), Ettehad of Publications. Pp. 221 to 230. (In Persian).
9. Deo, P.G., Karanth. N.G., Karanth, N.G., 1998. Biodegradation of hexechlorocyclohexane isomer in soil environment. Crie Rev Microbiol; 20(1):57-78.
10. Eichner, M., 1990. Residue determinations of organocholorine insecticides and PCBS in fish and water from lake constance and the upper Rhine and its tributaries Z. lebensm. unters Forsch. 161. 327 – 336.
11. Erfan Manesh, M., 2000. Environmental contamination of water, soil and air.Ardakan of Publications, pp, 38-50. (In Persian).
12. Esmaili Sari, A., 2002. pollution, health and environmental standards. Publications mehr

of pattern, pp, 287 to 302. (In Persian).

13. Gupta, A., Kaushik,C.P., Kaushik, A., 2000. Degradation of exachlorocyclohexane (HCH ; $\alpha.\beta.\gamma$ and δ) by Bacillus circulans and Bacillus brevis isolated from soil contaminated with HCH. Soil Biology and Biochemistry Volume 32, Issues 11–12, Pages 1803–1805.

14. Kannan, K. , Tanabe, Sh., Ramesh, A., Subramanian, A., Tatsukawa, R., 1992. Persistent organcholorine residues in food stuffs from India and their implications on human dietary exposure. Journal Agricultural and Foodchem. ACS Publications 40 (3), pp 518–524.

15. Katayama, A., Fujimura, y., Kuwatsuka, Sh., 1993.Microbial degradation of DDT at extremely low concentrations. Journal of Pesticide Science. VOL,18, NO.4, Page.353-359.

16. Kim, I.S., Ishii, H., Sayles, G.D., Kupferle, M.K., Huang, T.L., 1998. Biotransformation of Hexachlorobenzene by Anaerobic Enriched Cultures. Battelle Press.

17. Kojima, K., Araki, T., 1995. Recent status of organochlorine pesticide residues in foods in Japan. Environ. Qual. safety 4, 74 - 79.

18. Laloee, F., 1999. Tajan River Environmental Studies. Caspian Sea Ecological Research and water Organization. (In Persian).

19. Lee, R.J., 2010. The microbiology of drinking water. Wessex Water, Regional Scientific Centre, Saltford, Bristol, England, UK.

20. Martinez , C (1997) Biodegradation of DDT : the Role of pleurotus sp. a lignicolous fungus.

21. Middeldorp, P. J. M., Jaspers, M., Zehnder, A. J. B., Schraa, G., 1996. Biotransformation of α ,ß ,γ and δ-Hexachlorocyclohexane under methanogenic conditions. Environmental Science Technology. 30 (7), pp 2345–2349.

22. Mohapatra, S. P., Kumar, M., Gajbhiye, V. T., Agnihotri, N. P., 1995. Groundwater contamimation by organochlorine insecticide in a rural area in the Indo – gangetic plain. Environmental Monitoring and Assessment, Volume 35, Issue 2, pp 155-164.

23. Nadeau, L.J., Menn. F.M., Breen, A., Sayler, G.S., 1994. Aerobic degradation of 1,1,1-trichloro - 2, 2 – bis - (4 – chlorophenyl) ethane (DDT) by Alcaligenes eutrophus A5. Appl Environ Microbiol , 60 : 51 – 5.

24. Najafpour, SH., 1998. Continuing Survey of pesticides in river road, Final Report, Mazandaran Fisheries Research Center (In Persian).

25. Najafpour, SH., 2000. Continuing Survey of pesticides in river road, Final Report, Mazandaran Fisheries Research Center (In Persian).

26. Raghu, k., MacRae, IC., 1966. Biodegradation of gamma - isomer of benzene hexachloride in submerged soils. science 154 , 263 – 264.

27. Rajkumar, B., Mononmani. H.K.,2002. Aerobic degradation of dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) by Serratia marcescens DT – 1P, Process Biochemistry Volume 38, Issue 1, Pages 49–56.

28. Senoo, K., Nishiyama, M., Matsumoto, S., 1996. Bioremediation of gamma-HCH-polluted field soil by inoculation with an aerobic gamma-HCH-decomposing bacterium (Sphingomonas paucimobilis SS86). Soil Science and Plant Nutrition 42(1): 11-19.

29. Subba Rao, R.V., Alexander, M., 1997. Cometabolism product of 1 , 1 , 1 - trichloro -2 , 2 - bis – (4- chlorophenyl) ethane (DDT) by Pseudomonas putida. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 25(4):855-6.

30. Wedemeyer, G., 1993. Dechlorination of DDT by Aerobacter aerogenes. Appl Microbiol , 15 : 569 – 74.