محیط زیست طبیعی، منابع طبیعی ایران، دوره ۶۹، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۵
صفحات ۴۸۷ تا ۵۰۴

مطالعه عملکرد باکتری هالوتولرانت *Micrococcus luteus* در حذف زیستی فلز روی

راضیه لموچی[۱]*، علیرضا صفاهیه[۲] ، نگین سلامات[۲]، هاجر آبیار[۳]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد آلودگی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، دانشکده علوم دریایی

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

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

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۴/۳۱ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۹/۷)

چکیده:

رشد سریع فعالیت های صنعتی در دهه های اخیر و عدم رعایت الزامات زیست محیطی بهمراه تخلیه پساب های آلوده صنایع نظیر صنایع پتروشیمی منجر به ورود مقادیر زیادی از فلزات سنگین به محیط می گردد. جذب زیستی یک فن آوری موثر برای حذف بهینه آلاینده ها از جمله فلزات سنگین از محلول های آبی است. در این مطالعه میکروارگانیسم مقاوم به فلز روی از رسوبات خلیج فارس جداسازی و با انجام تست های بیوشیمیایی شناسایی گردید. در ادامه قابلیت رشد میکروارگانیسم شناسایی شده در حضور غلظت های مختلف فلز مورد بررسی قرار گرفت. همچنین تاثیر فاکتور شوری بر رشد باکتری مطالعه و شرایط بهینه جهت رشد آن تعیین گردید. در نهایت توانایی باکتری جداسازی شده در حذف فلز روی مورد مطالعه قرار گرفت. باکتری *Micrococcus luteus* بعنوان گونه مقاوم به فلز روی جداسازی و با استفاده از تست هایی بیوشیمیایی و رجوع به منابع باکتریولوژیکی شناسایی شد. باکتری مذکور قادر به رشد تا غلظت های بالای این فلز یعنی ۸۰۰ میلی گرم بر لیتر بود. بررسی توانایی این باکتری در جذب فلز روی نشان داد که با افزایش غلظت فلز، میزان حذف نیز افزایش می یابد بطوری که بالاترین میزان حذف فلز روی (۰/۴ ± ۱۶۹ میلی گرم بر لیتر) در غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر بدست آمد و بیشترین درصد جذب فلز روی در غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر پس از ۱۵۰ دقیقه، ۷۶ درصد به ثبت رسید. نتایج حاصل از بررسی تاثیر میزان نمک در محیط نشان داد که گونه مورد مطالعه هالوتولرانت بوده و در رنج وسیعی از غلظت های مختلف نمک قادر به رشد می باشد.

کلید واژگان: فلز روی، *Micrococcus luteus*، هالوتولرانت، جذب زیستی، خلیج فارس.

* نویسنده مسئول: تلفن: ۰۹۳۷۶۸۸۳۱۳ ایمیل: raziehlamoochi@yahoo.com

۱- مقدمه

ورود فلزات سنگین به اکوسیستم های آبی در نتیجه فعالیت های انسانی باعث افزایش غلظت این آلاینده ها در مناطقی با سطوح بالای فعالیت های صنعتی و شهری شده است. از جمله این مناطق خور موسی واقع در شمال غربی خلیج فارس می باشد که مجاورت این خور با صنایع بزرگ پتروشیمی نظیر پتروشیمی بندر امام خمینی، رازی، فارابی و منطقه ویژه اقتصادی منجر به آلوده شدن رسوبات و آبزیان بومی این منطقه به انواع آلاینده های آلی و معدنی شده است. از سوی دیگر ارتباط محدود این خور با خلیج فارس، گردش اندک آب و عمق کم آن باعث می شود که آلاینده ها از جمله فلزات سنگین برای مدت زمان طولانی تری در محیط خور باقی بمانند(Dehghan., 2007).

ماندگاری بالای فلزات سنگین و عدم تجزیه پذیری این آلاینده ها منجر به تجمع آنها در بافت های مختلف آبزیان شده و با مصرف ماهیان خوارکی توسط انسان باعث بروز پیامدهای خطرناک ناشی از ورود این آلاینده ها به زنجیره غذایی می شود(Howard, 2002; Safahieh *et al*., 2011). از جمله این فلزات، فلز روی می باشد که بعد از فولاد، آلومینیوم و مس پر مصرف ترین فلز صنعتی است و در غلظت های پایین برای سوخت و ساز سلول ها ضروری بوده و در ساختار آنزیم ها نیز بکار می رود (Ukhum *et al*., 2005). افزایش غلظت این فلز در انسان منجر به برقراری پیوند های نامناسب این فلز با پروتئین های حیاتی بدن، ایجاد اثرات حاد تنفسی و روده ای و آسیب به سلول های عصبی می گردد (Nomanbhay and Plum *et al*., 2010; Palanisamy, 2005). از این رو استفاده از روش هایی که بتوان با بهره گیری از آنها غلظت فلزات سنگین را در محیط کاهش داد و به میزان استانداردهای زیست محیطی رساند لازم و ضروری است و از آنجایی که روش های فیزیکی و شیمیایی حذف فلزات سنگین از اکوسیستم های آبی اغلب مشکلاتی از قبیل حذف ناقص فلزات، مصرف بالای انرژی، تولید لجن و گل و لای سمی را بدنبال دارد و از لحاظ اقتصادی نیز مقرون به صرفه نیستند در دهه های اخیر متد های زیستی جهت کنترل و حذف فلزات سنگین از محیط مورد توجه قرار گرفته اند(Volesky, 2001).

جذب زیستی یک فن آوری موثر جهت حذف بهینه فلزات سنگین از محلول های آبی با استفاده از میکروارگانیسم ها نظیر قارچ، مخمر، جلبک و باکتری است. در این فرآیند دیواره سلولی میکروارگانیسم ها به دلیل وجود گروه های فعال کربوکسیل، فسفوریل، هیدروکسیل، آمین و سولفور بعلت تشکیل پیوند با یون های فلزی موجب عدم تحرک آنها در محیط می شوند. در میان جاذب های زیستی باکتری ها به دلیل اندازه کوچک، نسبت بالای سطح به حجم، سرعت بالای رشد و تکثیر و برخودار بودن از سایت های فعال جذبی نظیر پپتیدوگلیکان ها برای فرایند جذب زیستی گزینه مناسب تری بشمار می روند(Wang and Chen, 2009).

در این زمینه مطالعات گسترده ای درجهان (Costa *et al*., 2001: Anderoni *et al*., 2003:

(Tunali *et al*., 2006: Kumaran *et al*., 2011) و در ایران (Karim: Khanafari *et al*., 2008: Shirdam *et al*., 2006 salmani *et al*., 1390) انجام پذیرفته است. این در حالی است که مطالعات صورت گرفته در خلیج فارس و منطقه خور موسی اندک بوده و شامل جداسازی باکتری مقاوم به فلزات روی، مس، سرب و کادمیوم *Pseudomonas aeroginosa* توسط Zolgharnein و همکاران (۲۰۱۰)، مطالعه توانایی باکتری *Pseudomonas putida* در جذب زیستی فلز مس از رسوبات خلیج فارس، توسط Abyar و همکاران (۲۰۱۱) و جداسازی و بررسی توانایی باکتری *Pseudomonas putida* گونه مقاوم به فلز مس و هیدروکربن فنانترن از رسوبات منطقه خور موسی، توسط Safahieh و همکاران (۲۰۱۲)می باشد. از اینرو در تحقیق حاضر جداسازی و خالص سازی باکتری مقاوم به فلز روی از رسوبات خلیج فارس(خور موسی)، شناسایی باکتری جداسازی شده، تعیین میزان رشد باکتری شناسایی شده در غلظتهای مختلف از فلز روی، بررسی تاثیر شوری بر رشد باکتری مقاوم به فلز روی و در نهایت تعیین توانایی باکتری در جذب این فلز مورد بررسی قرار گرفت.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- نمونه برداری، جداسازی و شناسایی باکتری

نمونه برداری از رسوبات سه ایستگاه داک سرسره، خور زنگی و خور غنام واقع در خور موسی بر اساس میزان فاصله آنها تا محل ریزش پساب پتروشیمی بندر امام خمینی با ۳ تکرار صورت پذیرفت. داک سرسره محل تردد کشتی ها و ریزش پساب صنایع پتروشیمی می باشد در حالی که خور زنگی با فاصله بیشتری نسبت به محل ریزش ها واقع شده و خور غنام بعلت دوری از صنایع بعنوان ایستگاه شاهد انتخاب گردید. نمونه های رسوب، درون ظروف درب دار شیشه ای و از قبل استریل شده به آزمایشگاه منتقل و با افزودن یک گرم از رسوبات هر ایستگاه به ۱۰ میلی لیتر محلول کلرید سدیم ۰/۸۵ تا رقت 10^{-3} رقیق گردید. سپس ۰.۱ میلی لیتر از هر رقت را به محیط کشت نوترینت آگار حاوی ۳ غلظت متفاوت ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر فلز روی $Zn(NO_3)_2$ اضافه و در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳ تا ۵ روز انکوبه گردید(Leung *et al*., 2000; Dzairi *et al*., 2004). همچنین هضم نمونه های رسوب به منظور بررسی میزان آلودگی نمونه ها به فلز روی صورت گرفت(Yap *et al*., 2006).

کلنی رشد یافته بر سطح محیط کشت با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر فلز روی، بعنوان باکتری مقاوم به این فلز انتخاب و خالص سازی گردید. گونه مورد نظر با استفاده از رنگ آمیزی گرم، تست KOH و تست های بیوشیمیایی لایزین، MR-VP، سیترات، اوره، TSI، لاکتوز، مکانکی و غیره مطابق با روش Bergey و منابع باکتریولوژیکی شناسایی شد(Woodland, 2004).

۲-۲- مطالعه رشد باکتری

مطالعه رشد باکتری در غلظت های مختلف

فلز روی

مطالعه رشد باکتری با افزودن 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 روی صورت گرفت. نمونه های فاقد فلز(کنترل مثبت) بعنوان نمونه های شاهد جهت مقایسه در نظر گرفته شدند. نمونه ها در انکوباتور شیکردار در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد قرار گرفتند (Shirdam *et al*., 2006). در ادامه ۰/۶ میلی لیتر از محیط کشت حاوی باکتری در غلظت های مختلف فلز با ۲/۴ میلی لیتر محلول LB broth رقیق و جهت اندازه گیری به دستگاه اسپکتروفتومتر داده شد. سنجش رشد باکتری در فواصل زمانی ۱۲ ساعت به مدت ۵ روز در طول موج ۶۰۰ نانومتر دستگاه اسپکتروفتومتر با ۳ تکرار صورت گرفت.

مطالعه رشد باکتری در غلظت های مختلف نمک

تست هالوفیته

جهت تعیین میزان مقاومت باکتری در غلظت های مختلف نمک ابتدا تست هالوفیته انجام شد. یک میلی لیتر از سوسپانسیون 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 (Ebrahimipour *et al*., 1384).

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 ۱ میلی لیتر سوسپانسیون باکتری به ۲۰ میلی لیتر محیط کشت نوترینت براث با غلظت های صفر، ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ درصد نمک اضافه شد. سپس نمونه ها در انکوباتور شیکردار با دور ۱۶۰ rpmو دمای ۳۰ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. در نهایت رشد باکتری ها به مدت ۵ روز هر ۱۲ ساعت در طول موج ۶۰۰ نانومتر دستگاه اسپکتروفتومتر سنجش شد (Saleem Khan *et al*., 2009).

۲-۳- سنجش توانایی باکتری در حذف فلز از محیط

بدین منظور ۱۰۰ میلی لیتر از محلول روی با غلظت های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر این فلز تهیه و pH محلول ها با استفاده از محلول هیدروکسید سدیم و اسید نیتریک روی عدد ۶ تنظیم گردید. سپس یک میلی لیتر از سوسپانسیون باکتری به محلول های فوق تلقیح و ارلن ها در انکوباتور شیکردار در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. سنجش میزان جذب فلز روی توسط باکتری در فواصل زمانی ۳۰ دقیقه ای و به مدت ۱۵۰ دقیقه صورت پذیرفت. بدین ترتیب که هر ۳۰ دقیقه، ۵ میلی لیتر از محلول حاوی غلظت های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر فلز و باکتری در مدت زمان

۱۰ دقیقه در دور rpm ۴۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. در ادامه محلول رویی در بالون ژوژه های ۱۰۰ میلی لیتری به حجم رسانده شد و با استفاده از دستگاه جذب اتمی مدل SavantaAA∑ سنجش و برای هر غلظت یک نمونه شاهد فلزی فاقد باکتری نیز در نظر گرفته شد (Kim *et al*., 2007; Azza *et al*., 2009). سنجش نمونه ها با ۳ تکرار انجام پذیرفت و با کسر میزان فلز باقیمانده در محلول از میزان اولیه فلز، توانایی باکتری در حذف فلز روی تعیین گردید.

۲-۴- ابزار تجزیه و تحلیل

نرمال بودن داده ها با استفاده از آزمون Shapiro - Wilk و وجود تفاوت در رشد باکتری در غلظت های متفاوت فلز و شوری با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه (One way ANOVA) مورد بررسی قرار گرفت. در صورت وجود اختلاف معنی دار، از پس آزمون توکی برای جدا کردن گروه های مختلف استفاده گردید. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS 11.5 صورت گرفت.

۳- نتایج

اکثر کلنی های مقاوم به فلز روی متعلق به ایستگاه داک سرسره و یک باکتری نیز متعلق به خور زنگی بودند. از ایستگاه خور غنام باکتری مقاوم به فلز روی جداسازی نشد. نتایج حاصل از هضم نمونه های رسوب و غلظت فلز و تعداد باکتری های جداسازی شده از رسوبات مربوط به هر ایستگاه در جدول ۱ آمده است.

جدول۱. غلظت فلز روی و تعداد باکتری های جداسازی شده از هر ایستگاه

نام ایستگاه	روی ($\mu g/g$)	تعداد باکتری
داک سرسره	۲/۸ ±۰/۲	۳ باکتری
خور زنگی	۱ ±۰/۳	۱ باکتری
خور غنام	*	*

*غیرقابل سنجش

از میان کلنی های ظاهر شده بر سطح محیط کشت حاوی غلظت های ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر فلز روی، تنها یک باکتری قادر به رشد بر سطح محیط کشت حاوی بیشترین میزان غلظت فلز (۱۰۰ میلی گرم بر لیتر) بود که از ایستگاه داک سرسره جداسازی و جهت ادامه آزمایش انتخاب و خالص سازی گردید.

نتایج حاصل از رنگ آمیزی گرم و تایید آن با تست KoH نشان داد که باکتری جداسازی شده یک باکتری کوکسی گرم مثبت می باشد. مقایسه نتایج بدست آمده از تست های بیوشیمیایی این باکتری با منابع باکتریولوژیکی و کتاب راهنمای برجی حاکی از

آن بود که گونه مذکور *Micrococcus luteus* می باشد(جدول ۲).

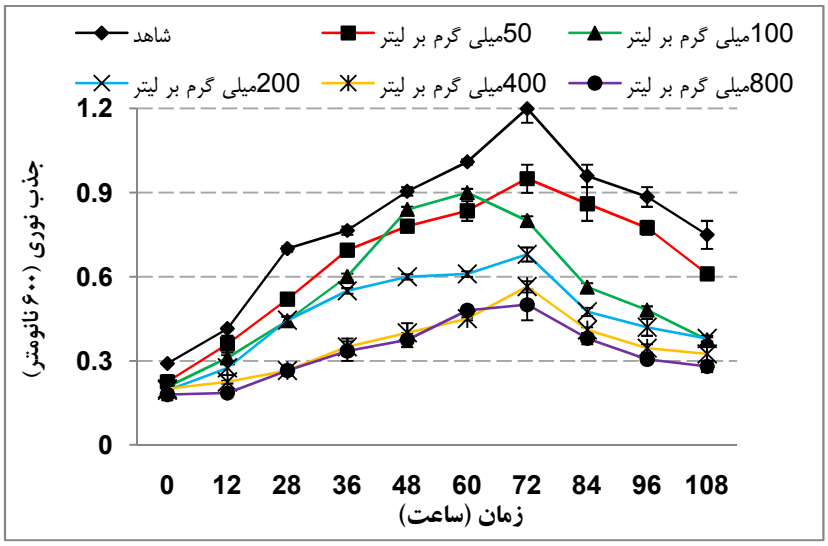
منحنی رشد باکتری *M. luteus* در غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر فلز روی رشد سریع باکتری را از همان لحظه تلقیح نشان داد. باکتری با اختلاف اندکی از منحنی رشد نمونه شاهد، رشد خود را آغاز کرده و ۷۲ ساعت بعد از تلقیح به حداکثر رشد خود رسید. حداکثر رشد باکتری در نمونه شاهد پس از ۷۲ ساعت انکوباسیون، ۱/۲ ثبت گردید. همچنین بالاترین جذب نوری درغلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر روی ۰/۹۵ بود. باکتری *M. luteus* در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر فلز روی، سریعا وارد فاز لگاریتمی شده و ۶۰ ساعت پس از تلقیح به حداکثر رشد خود می رسد. بالاترین میزان جذب نوری در این غلظت ۰/۹ بود. پس از آن سیر نزولی رشد باکتری آغاز شده و کاهش رشد تا ساعت ۱۰۸ ادامه یافت. در غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر روی، باکتری جداسازی شده رشد خود را به آرامی آغاز و وارد فاز لگاریتمی گردید.

جدول۲. خصوصیات بیوشیمیایی باکتری جداسازی شده

Colony characters	*M. luteus*
Cell type	Cocci-Gram-positive
KoH	-
Lysine Decarboxylase	-
Catalase	+
Oxidase	+
Lactose	-
Citrate	+
SIM	+
TSI	-
MR	+
VP	+
Phenylalanine Deaminase	-
Orease	-
MacConkey	-

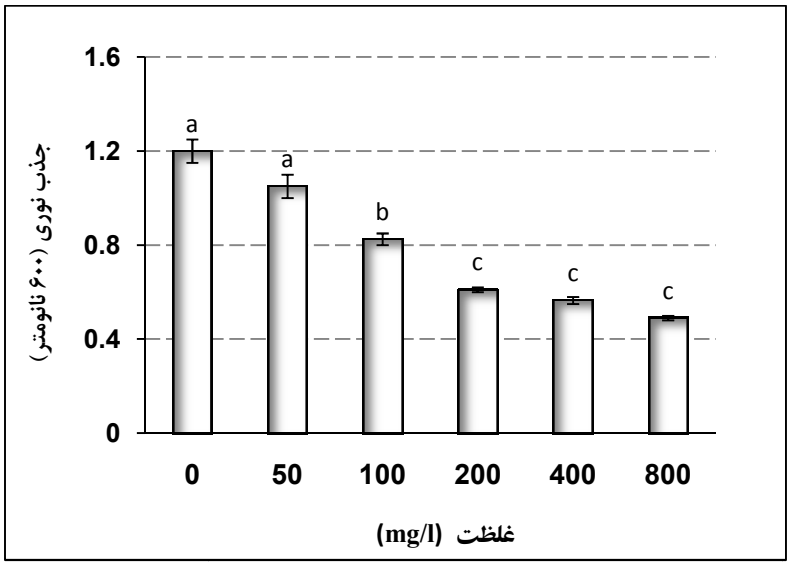
در این غلظت باکتری بعد از ۶۰ ساعت به حداکثر رشد خود رسید. میزان جذب نوری در این لحظه برابر با ۰/۶۵ بود که در مقایسه با نمونه شاهد کاهش معنی داری را نشان داد ($P < ۰/۰۵$). باکتری *M. luteus* در غلظت ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم بر لیتر فلز روی با ۱۲ ساعت تاخیر، به کندی و با شیب ملایمی فاز لگاریتمی رشد را آغاز نمود و ۷۲ ساعت پس از تلقیح به حداکثر رشد خور رسید. بالاترین

جذب نوری در غلظت ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم بر لیتر فلز بترتیب ۰/۵۶ و ۰/۵ اندازه گیری شد که نسبت به نمونه شاهد تفاوت قابل توجه ای را نشان داد(شکل ۱).



شکل ۱) منحنی رشد باکتری *M. luteus* در محیط حاوی غلظت های مختلف فلز سرب

افزایش غلظت فلز روی در محیط منجر به کاهش رشد باکتری در غلظت های بالای فلز گردید. حداکثر رشد باکتری در غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر فلز روی ۰/۹۵ بود که نسبت به بالاترین میزان جذب نوری در نمونه شاهد کاهش قابل توجهی را نشان نداد($P > ۰/۰۵$). همانطور که در شکل ۲ مشخص است، مقدار جذب نوری در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر روی با سایر غلظت ها تفاوت معنی داری دارد. باکتری مورد نظر در غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر روی پس از ۶۰ ساعت به نهایت رشد خود رسید در حالی که در غلظت ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم بر لیتر، باکتری جداسازی شده با تاخیری ۱۲ ساعته رشد خود را آغاز کرد و پس از ۷۲ ساعت به بیشترین میزان رشد خود رسید. همچنین تفاوت معنی داری بین بالاترین مقادیر رشد در ۳ غلظت ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم بر لیتر فلز روی مشاهده نشد ($P < ۰/۰۵$).



شکل۲) مقایسه حداکثر رشد باکتری *M. luteus* درغلظت های مختلف روی

تعیین هالوتولرانت بودن گونه مذکور، از طریق بررسی توانایی رشد باکتری در درصدهای مختلف نمک و از لحاظ ایجاد کدورت در محیط کشت بررسی گردید که عملکرد آن در جدول ۳ نشان داده شده است.

نتایج حاکی از هالوتولرانت بودن گونه *M. luteus* می باشد. در غلظت های صفر و ۲ درصد نمک، بیشترین میزان رشد باکتری مشاهده شد. علاوه بر این، رشد باکتری در غلظت ۴ درصد نمک نیز خوب بود اما در غلظتهای بالاتر سیر نزولی را به دنبال داشت.

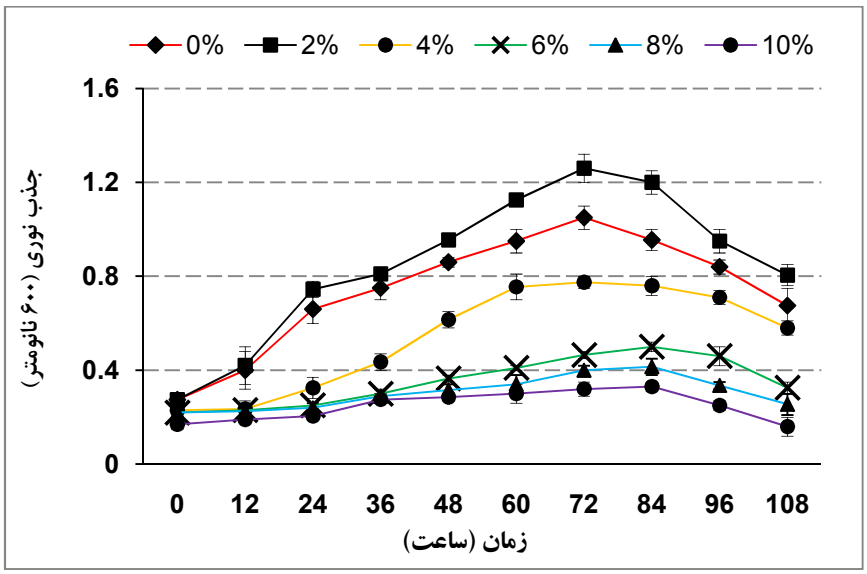
جدول۳- تحمل پذیری باکتری در مقابل غلظت های مختلف نمک

درصد نمک	۰	۲	۴	۶	۸	۱۰
M. luteus	++	++	+	(+)	(+)	(+)

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

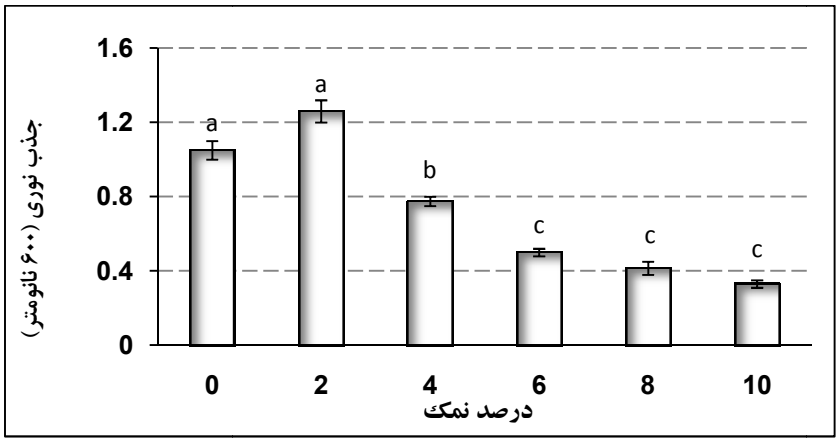
بررسی روند رشد باکتری در محیط کشت نوترینت براث و درصد های مختلف نمک، در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰۸ ساعت مورد مطالعه قرار گرفت که نتایج به دست آمده در شکل ۵ ارائه شده است. حداکثر رشد باکتری *M. luteus* در محیط فاقد نمک، ۷۲ ساعت پس از تلقیح باکتری به محیط کشت ثبت شد. بیشترین میزان جذب نوری در این غلظت ۱/۰۵ اندازه گیری شد. در ادامه رشد به سرعت کاهش یافته و به ۰/۶۷ در آخرین لحظه سنجش رسید. حداکثر رشد باکتری *M. luteus* در غلظت ۲ درصد نمک ۷۲ ساعت پس از تلقیح برابر با ۱/۲۶ بود که نسبت به حداکثر رشد در محیط فاقد

نمک، به میزان ۰/۲۱ افزایش نشان داد. با توجه به نمودار رشد باکتری *M. luteus* در شکل۳، باکتری رشد خود را در غلظت ۴ درصد نمک با تاخیری ۱۲ ساعته آغاز نمود. حداکثر رشد باکتری در این غلظت نسبت به حداکثر رشد باکتری در غلظت ۲ درصد نمک به میزان ۰/۴۹ کاهش یافت که میزان قابل توجهی بود($P < ۰/۰۵$). باکتری *M. luteus* در غلظت ۶ درصد نمک رشد را با تاخیر آغاز و ۸۴ ساعت پس از تلقیح به حداکثر رشد خود رسید. بالاترین میزان جذب نوری در این غلظت ۰/۵ بود که در مقایسه با حداکثر رشد باکتری در غلظت ۲ درصد نمک به میزان ۰/۷۶ کاهش نشان داد. باکتری *M. luteus* در غلظت ۸ و ۱۰ درصد نمک رشد خود را با تاخیری ۲۴ ساعته آغاز نمود. بالاترین میزان جذب نوری در غلظت ۸ و ۱۰ درصد نمک بترتیب ۰/۴۱ و ۰/۳۳ گزارش شد (شکل۳).



شکل۳) منحنی رشد باکتری *M. luteus* در محیط حاوی غلظت های مختلف نمک

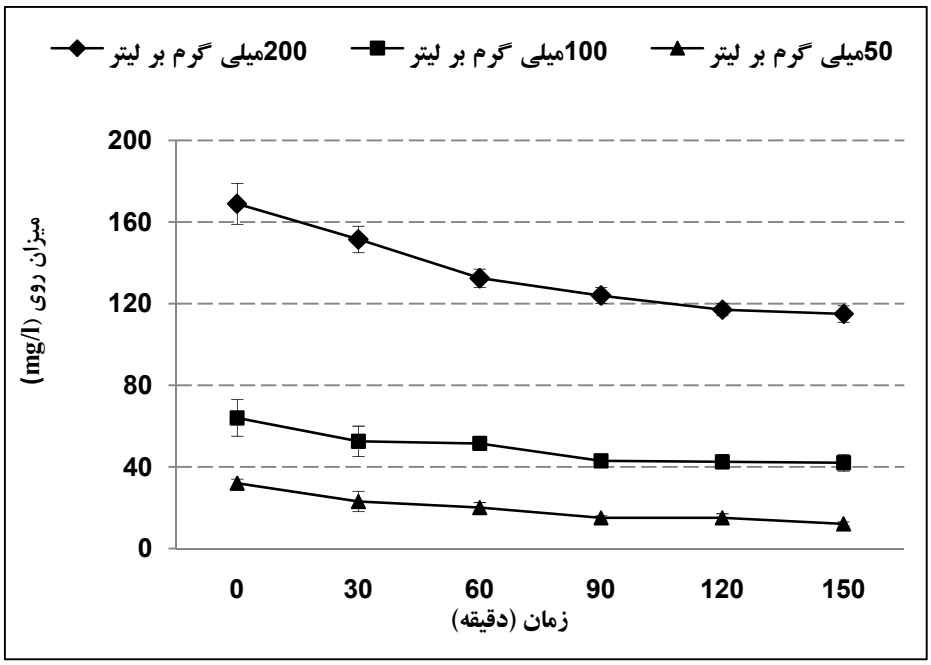
با توجه به شکل ۴، باکتری *M. luteus* بیشترین میزان رشد را در غلظت ۲ درصد نمک داشت. رشد باکتری در این غلظت با حداکثر رشد باکتری در سایر غلظت ها به استثنای رشد آن در غلظت صفر درصد بطور معنی داری متفاوت بود ($P < ۰/۰۵$). همچنین با افزایش غلظت باکتری در محیط به بیش از ۲ درصد، رشد باکتری به شکل قابل توجهی کاهش یافت. رشد باکتری در غلظت ۴ درصد نمک نسبت به رشد آن در غلظت ۲ درصد کاهش یافت اما در مقایسه با غلظت های ۶، ۸ و ۱۰ درصد، رشد باکتری بطور محسوسی افزایش نشان داد ($P < ۰/۰۵$).



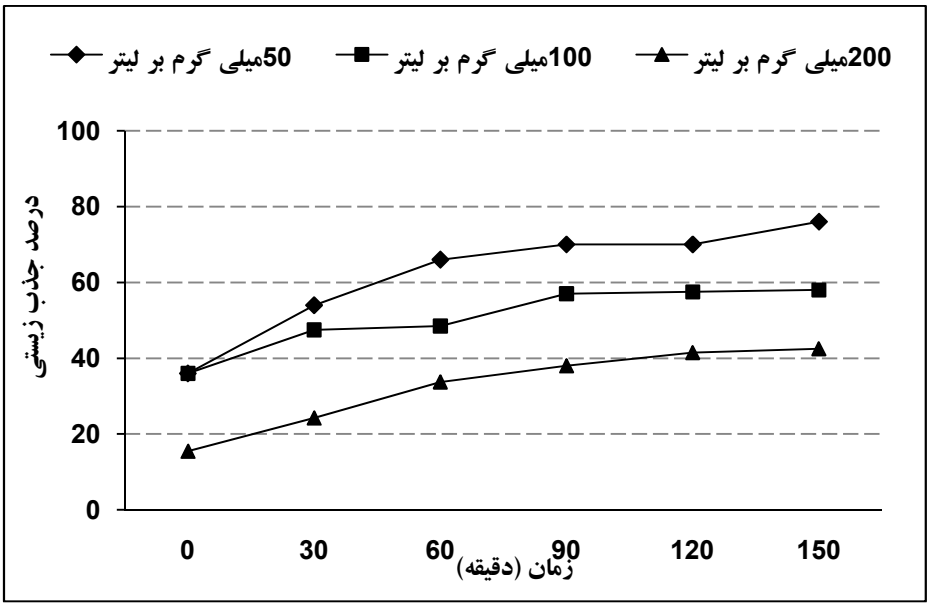
شکل۴) منحنی میله ای رشد باکتری *M. luteus* در غلظت‌های مختلف نمک

حذف غلظتهای مختلف فلز روی توسط باکتری *M. luteus* در شکل۵ ارائه شده است. نتایج نشان داد که حذف فلز در تمامی غلظت ها و دقیقا پس از تلقیح باکتری صورت گرفته است. با افزایش غلظت فلز روی در محلول فلزی، باکتری میزان فلز بیشتری جذب کرد. کاهش میزان فلز روی در غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر این فلز در زمان تلقیح در مقایسه با دو غلظت دیگر بسیار چشمگیر بود، به گونه ای که باکتری در زمان تلقیح، میزان روی را از ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر به ۰/۴ ± ۱۶۹ میلی گرم بر لیتر کاهش داد. حداکثر جذب فلز در ۳۰ دقیقه ابتدایی فرآیند صورت گرفت و در ادامه روند آرامی را طی نمود این فرایند تا ۹۰ دقیقه پس از تلقیح ادامه داشت و در ۶۰ دقیقه پایانی سنجش، تغییر قابل توجهی در میزان فلز روی در هر سه غلظت مشاهده نشد.

بررسی درصد جذب فلز روی توسط باکتری (شکل۶)، مبین این نکته بود که با افزایش غلظت فلز در محیط، درصد جذب کاهش می یابد به طوری که بالاترین درصد جذب فلز روی (۷۶ درصد) توسط باکتری در غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر پس از ۱۵۰ دقیقه به ثبت رسید و زمانی که غلظت فلز در محیط افزایش یافت درصد جذب، روند کاهشی را نشان داد و در غلظت های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر نیز به ترتیب قادر به حذف ۵۸ و ۴۲/۵ در صدی این فلز بود.



شکل۵) منحنی کاهش فلز روی از محلول توسط باکتری ***M. luteus*** در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد و pH=۶



شکل۶) منحنی درصد جذب زیستی فلز روی توسط باکتری ***M. luteus***

۴- بحث و نتیجه گیری

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 شوند. علی رغم این استرس ، برخی از باکتری ها قادرند خود را با غلظت های بالای فلزات سنگین سازگار کنند(Leung *et al.*, 2000). بطور طبیعی جمعیت و فعالیت میکروارگانیسم ها در مناطق آلوده به فلزات سنگین نسبت به مناطق غیر آلوده کمتر می باشند از این رو

باکتری هایی که از این مناطق جداسازی می شوند گونه هایی مقاوم به این فلزات هستند که قادرند غلظت های بالای فلزات سنگین را تحمل کنند (Choudhury and Srivastava, 2001). همچنین Maier و همکاران(۲۰۰۰) گزارش دادند که توانایی حذف فلزات از محیط توسط گونه های مقاوم نسبت به گونه هایی که از مقاومت کمتری برخوردارند، بسیار بیشتر می باشد. در این مطالعه از ۳ ایستگاه در منطقه خور موسی با میزان آلودگی متفاوت به فلز روی نمونه برداری صورت گرفت. از میان ۳ ایستگاه نمونه برداری شده، ۴ باکتری مقاوم به فلزروی، جداسازی و تک کلنی تشکیل شده در بالاترین غلظت فلز روی به عنوان مقاوم ترین گونه جهت ادامه مطالعه، انتخاب و شناسایی شد. از داک سرسره با آلودگی ۲/۸ ±۰/۲ میکروگرم بر گرم فلز روی، ۳ گونه باکتری مقاوم به این فلز و از رسوبات خور زنگی با آلودگی ۱ ±۰/۳ میکروگرم بر گرم فلز روی ۱ گونه باکتری مقاوم، جداسازی گردید این در حالی است که میزان آلودگی رسوبات خور غنام به فلز روی غیرقابل سنجش و در نتیجه فاقد باکتری مقاوم به این فلز بود. مطالعات Abou-Shanab و همکاران (۲۰۰۷) نیز نشان داد که همبستگی مثبت و معنی داری بین غلظت فلزات سنگین موجود در محیط و باکتری های مقاوم به این فلزات وجود دارد. جداسازی باکتری های مقاوم به فلز روی در ایستگاه هایی که میزان این فلزات در آنها بالاتر بود تایید کننده این موضوع می باشد.

از میان کلنی های رشد یافته بر سطح محیط کشت، *M. luteus* بعنوان گونه مقاوم به فلز روی شناسایی و در مراحل بعدی آزمایش به کار گرفته شد. در همین زمینه Leung و همکاران (۲۰۰۰)، ۱۹ گونه باکتری را از پساب آلوده به فلزات سنگین جداسازی نمودند. در این بین باکتری *M. luteus*بیشترین میزان مقاومت به فلز مس را نشان داد. همچنین Rani و همکاران (۲۰۱۰)، باکتری *Micrococcus sp.* را بعنوان گونه مقاوم به فلز سرب معرفی نمودند. نتایج نشان داد که این باکتری قادر به حذف ۸۴/۲۷ درصدی این فلز از محیط می باشد.

میزان رشد باکتری در حضور فلزات سنگین، غلظت فلز و درجه سمیت آن از جمله فاکتور های موثر بر توانایی این میکروارگانیسم ها در جذب این فلزات از محیط می باشد. از اینرو قبل از بررسی توانایی باکتری در جذب فلزات سنگین از محیط، مطالعه رشد باکتری درحضور غلظت های مختلف فلز لازم و ضروری است. جهت بررسی رشد باکتری در غلظت های مختلف فلز روی از شاخص کدورت سنجی در طول موج ۶۰۰ نانومتر دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد. نتایج حاصل از بررسی رشد باکتری *M. luteus* در حضور غلظت های مختلف این فلز نشان داد که با افزایش غلظت فلز در محیط، رشد باکتری کاهش می یابد. بیشترین میزان جذب نوری در حداقل غلظت فلز روی بدست آمد و با افزایش غلظت این 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 می باشد. Mathivanan و همکاران(۲۰۱۰)، کاهش رشد باکتری در غلظت های بالای فلز را به دلیل افزایش غلظت فلز در محیط و

اثرات سمی آن بر باکتری ها می دانستند.

افزایش غلظت فلز در محیط باعث می شود باکتری *M. luteus* رشد خود را با تاخیر آغاز کند. بگونه ای که در غلظت ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم بر لیتر فلز روی باکتری با تاخیری ۱۲ ساعته وارد فاز لگاریتمی شد. این در حالی است که در غلظت های پایین تر فلز روی، باکتری به سرعت رشد خود را آغاز کرد. وجود فاز تاخیر در آغاز رشد باکتری در غلظت های بالای فلز ممکن است به این دلیل باشد که باکتری جهت ترمیم ضایعات سلولی ناشی از مواجهه شدن با غلظت های بالای فلز و سازگار شدن با شرایط محیطی جدید مدت زمانی را بصورت فاز تاخیر سپری می کند (Gikas *et al*., 2009).

ورود پساب با غلظت های بالای نمک توسط صنایع مختلف به محیط، منجر به تخریب غشا سلولی، غیر فعال شدن بسیاری از آنزیمها و مرگ میکروارگانیسم ها می گردد. از اینرو این شرایط فرایند اصلاح زیستی توسط میکروارگانیسم ها را با مشکل روبرو می سازد(Kargi and Dincer, 2000). گروهی از میکروارگانیسم قادر به رشد در آب های شور و شیرین هستند که هالوتولرانت نامیده می شوند. این دسته از میکروارگانیسم ها قادرند رنج شوری صفر تا ۶ درصد نمک را تحمل کرده، با شرایط محیطی جدید سازگار شده و در آن رشد یابند. هالوتولرانت بودن یک مزیت عمده برای میکروارگانیسم ها است، زیرا قادرند تغییرات شدید شوری در محیط را تحمل کنند (Ventosa *et a*l., 1998). همچنین از این میکروارگانیسم ها برای رفع آلاینده ها در محیط های مختلف با شوری های متفاوت میتوان استفاده کرد. از این رو جهت اصلاح زیستی پساب هایی که میزان بالایی نمک در آنها مشاهده می شود، میکروارگانیسم های هالوفیل یا هالوتولرانت می توانند گزینه های مناسبی باشند.

باکتری ها از لحاظ مقاومت به نمک به دو دسته باکتری های نمک دوست و تحمل کننده نمک تقسیم می شوند. بهینه رشد برخی از باکتری ها در محیط های فاقد نمک یا در غلظت های پایین تر از نمک دریاست ولی قادر به تحمل غلظت های نسبتا بالای نمک نیز هستند. این دسته از باکتری ها را باکتری های تحمل کننده نمک می نامند. گروه دیگری از باکتری ها که جزو باکتری های نمک دوست محسوب می شوند قادر به رشد در محیط های فاقد نمک نیستند و بهینه رشد آنها در غلظت های نسبتا بالای نمک می باشد (Margesin and Schinner, 2001).

در این بین گروهی از باکتری ها هستند که هالوتولرانت نامیده می شوند. باکتری های هالوتولرانت گستره وسیعی از باکتری ها می باشند که مقاوم به نمک بوده و در حضور و عدم حضور نمک قادر به رشد می باشند. این باکتری ها می توانند در محیط با غلظت 5 درصد نمک و بیشتر نیز رشد کنند (Illias et al., 2001).

در مطالعه حاضر ابتدا میزان تحمل باکتری در حضور غلظت های مختلف نمک تست شد سپس، روند رشد آن در درصد های مختلف نمک مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که *M. luteus* یک گونه هالوتولرانت بوده و قادر به رشد در گستره وسیعی از غلظت های نمک می باشد. از مهمترین

مزایای استفاده از میکروارگانیسم های هالوتولرانت جهت حذف آلاینده ها از محیط توانایی رشد در غلظت های بالای نمک، سرعت رشد بالا، نیاز غذایی ساده و استفاده از محدوده وسیعی از ترکیبات به عنوان منبع کربن و انرژی است(Ventosa *et al*., 1998). بررسی روند رشد باکتری *M. luteus* نشان داد که حداکثر رشد باکتری در غلظت ۲ درصد نمک بوده و با افزایش غلظت نمک به ۶، ۸ و ۱۰ درصد، رشد کاهش می یابد. همچنین در غلظت های بالای نمک فاز تاخیر نسبتا طولانی تر است. 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. همچنین حداکثر رشد باکتری نیز در غلظت های صفر تا ۳ درصد اندازه گیری شد که با نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر منطبق است.

با افزایش غلظت نمک به ۷ و ۱۰ درصد، فاز تاخیر افزایش و رشد باکتری به شدت کاهش یافت. وجود فاز های تاخیر نسبتا طولانی در فرایند رشد باکتری ها در غلظت های بالای نمک به دلیل اثرات مهاری نمک بر رشد میکروارگانیسم هاست. با افزایش غلظت نمک به بیش از حد بهینه زمان سازگاری باکتری با محیط افزایش می یابد. در نتیجه رشد باکتری کاهش یافته و ساخت بیومس به کندی صورت می پذیرد(Haderlein *et al*., 2001 ؛ Ventosa *et al*., 1998).

بررسی توانایی باکتری *M. luteus* در حذف فلز روی در غلظت های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر این فلز نشان داد که باکتری در غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر، حداکثر جذب فلز را دارد. به گونه ای که این باکتری قادر بود میزان روی را تا غلظت ۱۱۵ میلی گرم بر لیتر کاهش دهد. همچنین با افزایش غلظت فلز در محیط میزان حذف فلز افزایش و درصد حذف آن کاهش می یابد بطوری که بیشترین و کمترین درصد جذب به ترتیب مربوط به غلظت های ۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر فلز روی بود. در همین زمینه بررسی روند حذف فلز جیوه توسط باکتری *Bacillus sp.* نشان داد که با افزایش غلظت جیوه در محیط از ۰/۲۵ تا ۱۰ میلی گرم بر لیتر، میزان جذب نیز از ۰/۰۲۳ به ۰/۶۸۱ تغییر می کند. این در حالی است که با افزایش غلظت فلز، درصد جذب توسط باکتری کاهش یافت(Green-Ruiz., 2006). در غلظت های پایین تر، میزان فلزی که در اختیار باکتری جهت جذب قرار می گیرد کمتر است و با افزایش غلظت فلز در محیط تعداد یون های فلز بیشتری توسط دیواره سلولی باکتری جذب می شوند، از این رو با افزایش غلظت فلز در محیط میزان جذب نیز افزایش می یابد (Ahalya *et al*., 2003). بالا بودن درصد جذب در غلظت های پایین تر فلز احتمالا به این دلیل است که در این غلظت ها تعداد یون های فلزی نسبت به سایت های جذبی موجود در سطح سلول کمتر می باشند از این رو درصد جذب بیشتر خواهد شد و با افزایش غلظت فلز و تعداد یون های فلزی و کاهش سایت های جذبی درصد جذب نیز کاهش می یابد(King *et al*., 2006).

تا به امروز جهت کاهش غلظت فلزات سنگین در محیط مطالعات گسترده ای صورت گرفته و نتایج

قابل توجهی نیز حاصل شده است. استفاده از میکروارگانیسم ها نیز یکی از روش های کاربردی جهت حذف آلاینده ها از محیط می باشد. این در حالی است که مطالعات صورت گرفته در این زمینه در منطقه خلیج فارس اندک بوده و نیازمند تحقیقات گسترده تری در زمینه شناسایی میکروارگانیسم های مقاوم به فلزات سنگین و تعیین کارایی آنها جهت حذف این آلاینده ها از محیط می باشد. باکتری *M.luteus* جداسازی شده از رسوبات خور موسی در خلیج فارس قادر به رشد در غلظت ۸۰۰ میلی گرم بر لیتر فلز روی و جذب ۷۶ درصدی آن بود. علاوه بر این، باکتری مذکور یک گونه هالوتولرانت بوده که قادر به تحمل رنج وسیعی از شوری می باشد از اینرو بعنوان یک جاذب زیستی برای حذف فلز روی در انواع اکوسیستم ها با درصد شوری متفاوت نظیر آب شیرین، لب شور(دریای خزر) و شور(خلیج فارس و دریای عمان) مناسب می باشد.

REFERENCES

Abou-Shanab, R.A.I., Berkum, P.V., Angle, J.S., 2007. Heavy metal resistance and genotypic analysis of metal resistance genes in gram-positive and gram-negative bacteria presenting Ni-rich Serpentine soil and in the rhizosphere of *Alyssum murale*. Chemosphere, 68, 360-367.

Abyar, H., Mojodi, F., Safahieh, A., Zolgharnein, H., Zamani, I., 2011. The role of *Pseudomonas putida* in bioremediation of naphthalene and copper. World Journal of Fish and Marine Sciences, 5, pp. 444-449.

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

Andreoni, V., Colombo, M., Colombo, A., Vecchio, A., Finoli, C., 2003. Cadmium and zinc removal by growing cells of *pseudomonas putida* strain B14 isolated from a metal-impacted soil. Annals of Microbiology, 53, 135-148.

Azza, A.A., Wesam, A.H., Hedayat, M.S., Ghada, A.A.F., 2009. Biosorption of some heavy metal ions using bacterial species isolated from agriculture waste water drains in Egypt. Journal of Applied Sciences Research, 4, 372-383.

Choudhury, R., Srivastava, S., 2001. Zinc resistance mechanisms in bacteria. Current Science, 81(7), 768-775.

Costa, A.D., Carlos,A., Pereira, F., 2001. Bioaccumulation of copper, zinc, cadmium and lead by *Bacillus* sp., *Bacillus cereus*, *Bacillus sphaericus* and *Bacillus subtilis* .Brazilian. Journal Microbiology, 32 (1) , 1–5.

Dehghan, S., 2007. Identify sensitive areas and under the tables the Khuzestan using indicators of ecological and biological. PhD thesis, University of Marine Biology Ph.D., University of Khorramshahr Marine Science, 146 pages.

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.

Ebrahimipour, G.H., Aminian, M. and Soorki, A. A., 2005. Isolation of a Petroleum-degrading HaloTolerant Bacterium and Study the Effects Factors in Biodegrading for Environmental Protection. Environmental Science, 65-74.

Gikas, P., Sengor, S.S., Ginn, T., Meberly, J., Peyton, B., 2009. The heavy metal and temperatur on microbial growth and lag. Global NEST Journal, 3, 325-332.

Green-Ruiz, C., 2006. Mercury(II) removal from aqueous solutions by nonviable *Bacillus sp.* from a tropical estuary. Bioresource Technology, 97, 1907-1911.

Hederlein, 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.

Howard, H. 2002. Human health and heavy metals exposure. The Environment and Human Health.Chapter 4, 235 – 255.

Illias, R.MD., Wei, O.S., Idris, A.K. and Rahman, A. 2001. Isolation and characterization of halotolerant areobic bacteria from oil reservoir. Jurnal Technology. 35: 1-10.

Karim salmani, B., Amozgar, M., Hamedi, J., 2011. Bisorption of lead by bacteria isolated from petrochemical wastewater. Environmental Science and Technology, 13(2), 41-54.

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.

Kim, S.U., Cheong, Y.H., Seo, D.C., Hur, J.S., Heo, J.S., Cho, J.S., 2007. Characterisation of heavy metal tolerance and biosorption capacity of bacterium strain CPB4 (*Bacillus spp.*). Water Science and Technology, 55(1-2), 105-111.

King, P., Rakesh, N., Beenalahari, S., Kumar, Y.P., Prasad, V.S.R.K., 2006. Removal of lead from aqueous solution using *Syzgium cumini* L. equilibrium and kinetic studies. Environmental Pollution Control Engineeting, 8(27), 340-347.

Khanafari, A., Eshghdoost, S., Mashinchian, A., 2008. Removal of lead and chromium from aqueous solution by *Bacillus circulans* biofilm. Iran Journal Environment Health Science Engineering, 5(3), 195-200.

Kumaran, N. S., Sundaramanickam, A., Bragadeeswaran,S., 2011. Absorption Studies on Heavy Metals by Isolated Bacterial Strain (Pseudomonas Sp.) from Uppanar Estuarine Water, Southeast Coast of India. Journal of Applied Sciences in Environmental Sanitation, 6 (4), 471-476.

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.

Maier, R.M., Papper, L.L., Gebra, C.P., 2000. Environmental Microbiology. Academic Press. Chapter, 17,403-423.

Mathivanan, K., Balasubramanian, V., Rajaram, R., 2010. Bacterial resistant to mercury pollution through genetic transformation. World Applied Sciences Journal, 8(4),400-403.

Margesin R. and Schinner F. 2001. Potential of halotolerant and halophilic Microorgnisms for biotechnology. Extremophiles. 5: 73-83.

Nomanbhay, S.M., Palanisamy, K., 2005. Removal of heavy metal from industrial wastewater using chitosan coated oil palm shell charcoal.Electron. J. Biotechnol, 8(1),142-150.

Plum, L.M., Rink, L., Haase, H., 2010. The Essential Toxin: Impact of Zinc on Human Health. International Journal of Environmental Research and Public Health, 1, 1343-1365.

Rani, M.J., Hemambika, B., Hemapriya, J., Rajeshkannan, V., 2010. Comparative Assessment of Heavy Metal Removal by Immobilized and Dead Bacterial Cells: A Biosorption Approach. Global Journal of Environmental Research, 4 (1),23-30.

Safahieh, A., Abyar, H., Roostan, Z., Zolgharnein,

H., Mojodi, F., 2012. Isolation and characterization of *Pseudomonas* resistant to heavy metals and poly aromatics hydrocarbons (PAHs) from Persian Gulf sediments. African Journal of Biotechnology, 11(19), 4418-4423.

Saleem Khan, A., Sheik Ali, M. and 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.

Tunali, S., Cabuk, A., Akar, T., 2006. Removal of Lead and Copper from Aqueous Solutions by Bacterial Strain Isolated from Soil. Chemical Engineering Journal, 115, 203-211.

Ukhun, M.E., Okolie, N.P., Oyerinde, A.D., 2005. Some mineral profiles of fresh and bottled palm wine – a comparative study. African Journal Biotechnology, 4(8), 829- 32.

Ventosa, A., Nieto, J. J., Oren, A., 1998. Biology of moderately holophilic aerobic bacteria. Microbiologyand Molecular Biology Reviews June, 14, 504-544.

Volesky, B., 2001. Detoxification of metal-bearing effluents: biosorption for the next century. Hydrometallurgy. 59, 203–16.

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

Woodland, J., 2004. Bacteriology. Chapter 5. 2th Edition, 1-44.

Yap, C.k., Ismail, A., Pang, B.H. Yeow, K.L., Tan, S.G., Siraj, S.S., 2006. Elevated heavy metal concentrationin surface sediments collected from the drainages of the SRI serdang industrial ares, Malasiya. Malasiya Applied Biology, 35(2), 35-40.

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

Zolgharnein, H., Karami, K., Mazaheri Assadi, M., Dadolahi, S., 2010. Investigation of heavy metals biosorption on *pseudomonas aeroginosa* strain MCCB 102 isolated from the persian gulf. Asian Journal of Biotechnology, 5, 1-11.

محیط زیست طبیعی، منابع طبیعی ایران، دوره ۶۹، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۵ صفحه ۵۰۴

Study the function of halotolerant *Micrococcus luteus* in biological removal of zinc

Razieh Lamoochi [1*], Alireza Safahieh [2], Negin Salamat [2], Hajar Abyar [3]

1- Master graduate of Marine pollution, Khorramshahr university of marine science and technology. Department of Marine Biology.
2- Department of Marine Biology, School of Marine science Khorramshahr university of marine science and technology. Khorramshahr, IRAN.
3- PhD Candidate in Environmental Pollution, Faculty of Natural Resources and Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.

Accepted: 28-Nov-2015 Received: 22-July.-2014

Abstract

The rapid growth of industrial activity in recent decades, and non-obedience with environmental laws, along with discharging of contaminant wastewaters from petrochemical industries lead to increase of heavy metals into the environment. Biosorption is an effective technology for optimal removal of pollutants such as heavy metals from marine ecosystems. In the present study, the microorganism, resisted to zinc, was isolated from Persian Gulf sediments and indentified via biochemical tests. Then, the growth ability of indentified microorganism was investigated in different concentrations of zinc. Also, the effect of salinity on the growth of microorganism was studied and the optimal conditions for its growth were determined. Eventually, the potential of bacterium in removal of zinc was studied. *Micrococcus luteus* was isolated as a zinc-resistant bacterium and identified using biochemical tests and bacteriologic references. The mentioned bacterium was able to grow up to a high concentration of zinc (800mg/l). The results showed that the removal of zinc enhanced along with the increase of zinc concentration. The maximum removal (169±0.4 mg/l) was recorded in 200 mg/l concentration of zinc and the highest percentage of zinc biosorption (76%) was happened at a concentration of 50 mg/l after 150 min of incubation. The result showed that *M .luteus* was halotolerant and could grow in the wide range of salt concentrations.

Keywords: Zinc, *Micrococcus luteus,* halotolerant, biosorption, Persian Gulf.

*Corresponding Author: Phone number +98-937688031 E-mail: raziehlamoochi@yahoo.com