علوم و تکنولوژی محیط زیست ، دوره یازدهم، شماره یک، بهار ۸۸

بررسی توانایی باکتری های رودخانهٔ کر درحذف بیولوژیکی جیوه

فرشید کفیل زاده[۱] (مسئول مکاتبات)
نیما میرزائی[۲]
محمد کارگر[۳]
مهدی کارگر[٤]

تاریخ دریافت:۸۵/۱۱/۱۵ **تاریخ پذیرش:۸۶/۲/۳۰**

چکیده

جیوه یکی از سمی ترین فلزات سنگین می باشد. استفاده های صنعتی از فلز سمی جیوه آلودگی محیط زیست را به همراه داشته است. یکی از بهترین راهکارها جهت حذف جیوه از طبیعت و پساب کارخانجات استفاده از باکتری های موجود در مناطق آلوده می باشد. این باکتری ها از طریق فرآیند احیای Hg(II) به Hg(0) قادر به حذف جیوه از محیط اطراف خود هستند. رودخانهٔ کر در استان فارس به دلیل همجواری با صنایع مختلف، همواره آلودگی های زیست محیطی مختلف از جمله آلودگی به جیوه را متحمل می شود. در این تحقیق نمونه گیری از آب و رسوبات ۴ ایستگاه در طول رودخانهٔ کر در ۴ فصل سال (از تابستان ۱۳۸۵ تا بهار ۱۳۸۶) انجام گرفت. جداسازی باکتری های مقاوم از طریق غنی سازی و کشت مستقیم در محیط جامد حاوی جیوه صورت گرفت. میزان مقاومت باکتری ها در محیط کشت LB broth و در غلظت های ۱۰ تا ۹۰ میلی گرم کلرید جیوه در هر لیتر، ارزیابی شد. توانایی حذف جیوه توسط مقاوم ترین باکتری های جدا شده، از طریق اندازه گیری میزان جیوه باقی مانده در محیط کشت، محاسبه گردید. گروه های باکتریایی مختلف نظیر Bacillus sp. , Pseudomonas sp., Serratia marcescens, E.coli و ... به عنوان باکتری های مقاوم به جیوه شناسایی شدند. برخی از باکتری ها قادر به تحمل غلظت ۷۰ میلی گرم کلرید جیوه در هر لیتر نیز بودند. توانایی حذف جیوه در این باکتری ها بین ۲۸ تا ۸۶ ٪ متغیر بود. بیشترین توانایی حذف جیوه در باکتری Pseudomonas sp.3 جدا شده در فصل بهار مشاهده شد. این باکتری می تواند کاندید مناسبی جهت به کارگیری در حذف زیستی جیوه از پساب کارخانجات باشد.

واژه های کلیدی: جیوه ، حذف بیولوژیکی جیوه ، باکتری های مقاوم به جیوه ، رودخانهٔ کر

۱- استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم
۲- کارشناس ارشد گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم
۳- استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم.
۴- کارشناس گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم.

مقدمه

آب یکی از مهم ترین و ارزشمند ترین منابع طبیعی می باشد. در نتیجه توسعه سریع صنعتی شدن و افزایش جمعیت، بیشتر رودخانه ها به صورت روز افزون آلوده می شوند. امروزه مقامات بهداشتی کشورها در مورد مواد شیمیایی سمی نظیر فلزات سنگین که در آب ها یافت می شود و از طریق مصرف آب زیان وارد بدن انسان می گردند نگرانی های زیادی دارند(۱).

رودخانهٔ کر مهم ترین و پرآب ترین رودخانـــهٔ استان فارس می باشـــد و بخش اعظم آب شـرب شیراز را تامیـــن می کند. پساب پتروشیمی شیراز، کارخانه آزمایش، شهرک صنعتی آب باریک و فاضلاب خانگی مرودشت مستقیماً وارد این رودخانه می شود. به همین دلیل رودخانهٔ کر همواره آلودگی های محیطی مختلفی را متحمل می شود. از جمله آلودگی های این رودخانه وجود فلزات سنگین مثل جیوه می باشد(۲). جیوه به دلیل ورود به زنجیرهٔ غذایی و تجمع سریع در بدن موجودات زنده یکی از خطرناک ترین فلزات سنگین می باشد(۳). نتایج حاصل از اندازه گیری میزان فلزات سنگین در رودخانهٔ کر که به وسیله کریمی در سال ۱۳۷۴ (۴) و کفیل زاده در سال ۱۳۸۴(۲) صورت گرفته است، نشان می دهد میزان جیوه در بیشتر قسمت های رودخانه کر از حد مجاز استاندارد های جهانی برای هرگونه مصرفی بیشتر است.

جیوه در طبیعت به سه شکل عنصری ($Hg(0)$) ، فلزی ($Hg(II)$) و آلی ($MeHg$) وجود دارد. هرسه شکل جیوه سمی می باشد، ولی جیوه فلزی و جیوه آلی سمیت بیشتری برای تمامی موجودات زنده دارد(۵). ورود سمی ترین شکل جیوه یعنی متیل مرکوری به بدن انسان، بیماری میناماتا ایجاد می کند. این بیماری اولین با در دههٔ ۱۹۵۰ در خلیج میناماتای ژاپن مشاهده شد. بروز این بیماری در انسان با عوارض گوناگون عصبی از جمله اختلال در حواس پنجگانه، بروز آلزایمر در سنین پیری و در موارد حاد با مرگ بیمار، همراه است. مقادیر اندک جیوه برای تمام موجودات زنده سمی و خطرناک می باشد. با وجود این برخی از باکتری های ساکن مناطق آلوده به دلیل این که به میـزان زیاد در معـــرض غلظت های سمی جیوه قرار می گیرند، قادرند ژن های مقاوم به جیوه را از طریق فرآیند های همیوغی[1] و جابه جایی ترانسپوزون[2] بین یکدیگر رد و بدل کنند و بدین ترتیب در برابر اثرات سمی جیوه مقاوم می شوند(۳). در باکتری ها، مقاومت در برابر جیوه به واسطه اپرون *mer* صورت می گیرد. اپرون *mer* از ژن های *merRTPABD* تشکیل شده است. محصول ژن های *merP* و *merT* در انتقال $Hg(II)$ به درون سیتوپلاسم باکتری، نقش دارند. MerR و MerD بیان ژن های اپرون را تنظیم می کنند. محصول ژن *merA* آنزیمی به نام مرکوریک ردوکتاز کد می کند که نقش اصلی را در حذف جیوه به عهده دارد. این آنزیم $Hg(II)$ را طبق مکانیزم زیر به $Hg(0)$ که سمیت کمتری دارد، تبدیل می کند.

$$Hg(II) + NADPH_2 \longrightarrow Hg(0) + NADP + 2H^+$$

$Hg(0)$ بسیار فرار است و به سرعت از سیتوپلاسم و محیط اطراف باکتری خارج می شود و بدین ترتیب باکتری ها قادر به حذف این فلز سمی و خطرناک از محیط اطراف خود هستند. MerB نیز موجب تجزیه جیوه آلی می گردد(۸ – ۶).

اولین تحقیقات در زمینه مقاومت باکتری ها به جیوه به وسیله Moore و همکارانش در سال ۱۹۶۰ انجام شد. این افراد مقاومت باکتری *Staphylococcus aureus* جدا شده از نمونه های کلینیکی، به ترکیبات جیوه را گزارش کردند(۹). پس از آن تحقیقات گسترده ای در زمینهٔ باکتری های مقاوم به جیوه و توانایی حذف جیوه، صورت گرفت. Ray و همکارانش در سال ۱۹۸۹ توانایی حذف جیوه توسط باکتری های آزادزی تثبیت کنندهٔ ازت (عمدتاً *Azotobacter* و *Beijerinkia*) جدا شده از خاک مناطق آلوده به جیوه را بررسی کردند. باکتری هایی با توانایی ۸۳٪ در حذف جیوه، جداسازی نمودند(۱۰). Chen و همکارانش در سال ۱۹۹۷ با دست ورزی ژنتیکی *E.coli* ، این باکتری را برای پاک سازی

1. Conjugation
2. Transposition

محیط های آلوده به جیوه آماده نمـودند. این سوش ها به نحوی دست ورزی ژنتیکی شدند که پروتئین های MerT, MerP را برای انتقال هر چه بیشتر Hg(II) به درون سیتوپلاسم، در سطح خود بروز دهند(۱۱). Von Canstein و همکارانش در سال ۱۹۹۹ سوشی از باکتری *Pseudomonas putida* مقاوم به جیـوه از رسوبات رودخانه ای آلوده به جیوه در آلمان جدا کردند. آن ها برای اولین بار از این سوش ها برای تصفیه پساب حاوی جیوه در کارخانهٔ کلرآلکالی، استفاده کردند(۱۲). علاوه بر این Bae و همکارانش در سال ۲۰۰۳ با کلون کردن ژن *merR* در *E.coli* و بیان آن در سطح سلول مشاهده کردند که پروتئین حاصل علاوه بر جذب جیوه قادر به جذب فلزات سنگین دیگر مثل Zn^{2+} و Cd^{2+} نیز می باشد. آن ها شیوه ای جدید با کارآیی بالا برای حذف فلزات سنگین مختلف از پساب کارخانجات، ابداع کردند(۱۳).

هدف از ایـن پژوهش جداسـازی و شناسـایی باکتری های حذف کننده جیوه از آب و رسوبات رودخانهٔ کر می باشد، تا در مراحل بعد با انتخاب باکتری های برتر و در صورت امکان، دست ورزی های ژنتیکی بتوان از آن ها در تصفیهٔ پساب های صنعتی حاوی جیوه، قبل از ورود به محیط زیست استفاده کرد.

مواد و روش ها

محدودهٔ طرح

منطقهٔ مورد پژوهش در جنوب غربی ایران و در استان فارس واقع شده است. کل محدودهٔ طرح از سد درودزن تا دریاچه بختگان به طول تقریبی ۱۲۰ کیلومتر می باشد. با توجه به نتایج حاصل از مطالعات و اندازه گیری های قبلی(۲، ۴) و همچنین شناخت کامل از کلیهٔ فعالیت های صنعتی، کشاورزی و خدماتی موجود در حاشیهٔ رودخانهٔ کر، در محدودهٔ طرح از سد درودزن تا دریاچهٔ بختگان ۴ ایستگاه نمونه گیری تعیین شد. موقعیت ایستگاه ها هنگام نمونه گیری به وسیله دستگاه موقعیت یاب جهانی مشخص گردید(جدول ۱).

جدول ۱- مشخصات ایستگاه های نمونه گیری

ایستگاه	نام منطقه	ارتفاع از سطح دریا (متر)	ویژگی منطقه	موقعیت جغرافیایی	
				طول شرقی	عرض شمالی
۱	درودزن	۱۶۳۴	بعد از سد درودزن، بدون هرگونه ورودی فاضلاب	۵۲°۲۵´۳۲/۲۶˝	۳۰°۱۲´ ۲۲/۰۰˝
۲	پل پتروشیمی	۱۵۹۳	بعد از خروجی فاضلاب پتروشیمی شیراز	۵۲° ۴۵´ ۳۹/۵۰˝	۲۹°۵۱´ ۴۲/۴۳˝
۳	پل خان	۱۵۸۸	بعد از ورودی رودخانه سیوند ، حاوی فاضلاب خانگی شهر مرودشت	۵۲°۴۶´ ۱۵/۴۴˝	۳۰° ۵۱´ ۰۰/۷۷˝
۴	گاو میشی	۱۵۶۳	نزدیک به انتهای رودخانه کر ورودی به دریاچه بختگان	۵۲°۲۵´ ۰۰/۲۰˝	۲۹° ۳۲ ´۵۹/۷۱˝

نمونه گیری

نمونه گیری از آب و رسوبات سطحی ۴ ایستگاه، در چهار فصل از تابستان ۱۳۸۵ تا بهار ۱۳۸۶ انجام گرفت. در هر فصل سه مرتبه نمونه گیری به عمل آمد. نمونه ها برای کشت میکروبی در ظروف شیشه ای استریل و برای اندازه گیری میزان فلز سنگین جیوه، در ظروف پلی اتیلن شسته شده با اسید نیتریک، جمع آوری شدند. نمونه ها در مجاورت یخ قرار گرفتند و حداکثر در مدت ۴ ساعت به آزمایشگاه منتقل گردیدند(۱۴).

جداسازی و شناسایی باکتری های مقاوم به جیوه

جداسازی باکتری های مقاوم به جیوه از طریق غنی سازی اولیه و همچنین کشت مستقیم در محیط جامد، با استفاده از شکل تغییر یافته روش Wagner Dobler و همکارانش صورت گرفت(۱۵). در غنی سازی اولیه، ابتدا ۱ گرم یا ۱ میلی لیتر از نمونه ها به ۹ میلی لیتر محیط کشت Luria Bertani broth (ساخت شرکت Scharlau اسپانیا) حاوی ۱۰ گرم پپتون، ۵ گرم عصاره مخمر، ۱۰ گرم کلرید سدیم و ۱۰ mg کلرید جیوه (تمامی مقادیر در یک لیتر می باشد)، اضافه گردید. محیط ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شدند. پس از گرمخانه گذاری، ۰/۱ میلی لیتر از کشت های غنی سازی، در محیط LB agar کشت داده شده و مجدداًگرمخانه گذاری گردیدند. پس از گرمخانه گذاری از کلنی های تشکیل شده، کشت خالص تهیه گردید. در روش کشت مستقیم، نمونه های آب و رسوب ابتدا با سرم فیزیولوژی رقیق شدند. سپس در محیط LB agar حاوی ۱۰ mg/l کلرید جیوه کشت داده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجهٔ سانتی گراد گرمخانه گذاری گردیدند. سپس از کلنی های حاصل کشت خالص تهیه شد. شناسایی باکتری های خالص سازی شده با استفاده از رنگ آمیزی گرم و تست های بیوشیمیایی، مطابق با روش Bergey صورت گرفت(۱۶).

تعیین میزان مقاومت به جیوه در باکتری ها

برای تعیین میزان مقاومت به جیوه، باکتری های جدا شده در محیط کشت LB broth حاوی ۱۰-۸۰ mg/l کلرید جیوه کشت داده شدند و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجهٔ سانتی گراد گرمخانه گذاری گردیدند(۱۷).

بررسی توانایی حذف جیوه

برای این منظور، مقاوم ترین باکتری های جدا شده در هر فصل برای بررسی توانایی حذف انتخاب شدند. ابتدا از هر باکتری کشت شبانه تهیه گردید. سپس کشت شبانه با محیط LB broth به نسبت ۱:۱۰ برای رسیدن به حجم نهایی ۲۰۰ میلی لیتر رقیق گردید(۲۰ میلی لیتر از سوسپانسیون باکتریایی به ۱۸۰ میلی لیتر محیط LB broth اضافه گردید). مقدار ۳ میلی گرم جیوه (۴ میلی گرم کلرید جیوه) نیز به هر یک از محیط ها افزوده شد. در هر بررسی ۲۰۰ میلی لیتر محیط LB broth استریل نیز به عنوان محیط کشت کنترل تهیه و به آن ۳ میلی گرم جیوه اضافه گردید. در مرحله بعد محیط ها در دمای ۳۰ درجهٔ سانتی گراد در ۱۵۰ rpm و به مدت ۱۸ ساعت گرمخانه گذاری گردیدند. پس از گرمخانه گذاری محیط های حاوی باکتری در دستگاه سانتریفیوژ ۶۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند تا توده سلولی کاملاً از مایع رویی جدا گردد. مایع رویی جهت اندازه گیری میزان جیوه به ظرف دیگری منتقل شد(۱۰). برای اندازه گیری میزان جیوه در توده سلولی، نیز ابتدا توده سلولی یک بار با آب مقطر شستشو گردید و به مدت یک شب در دمای ۱۰۵ درجه سانتی گراد قرار داده شد تا به صورت توده خشک درآید. سپس با اسید نیتریک غلیظ مخلوط و حجم آن با آب مقطر استریل به ۵ میلی لیتر رسانده شد. میزان جیوه در نمونه ها به وسیلهٔ دستگاه جذب اتمی مدل Varian اندازه گیری شد(۱۸).

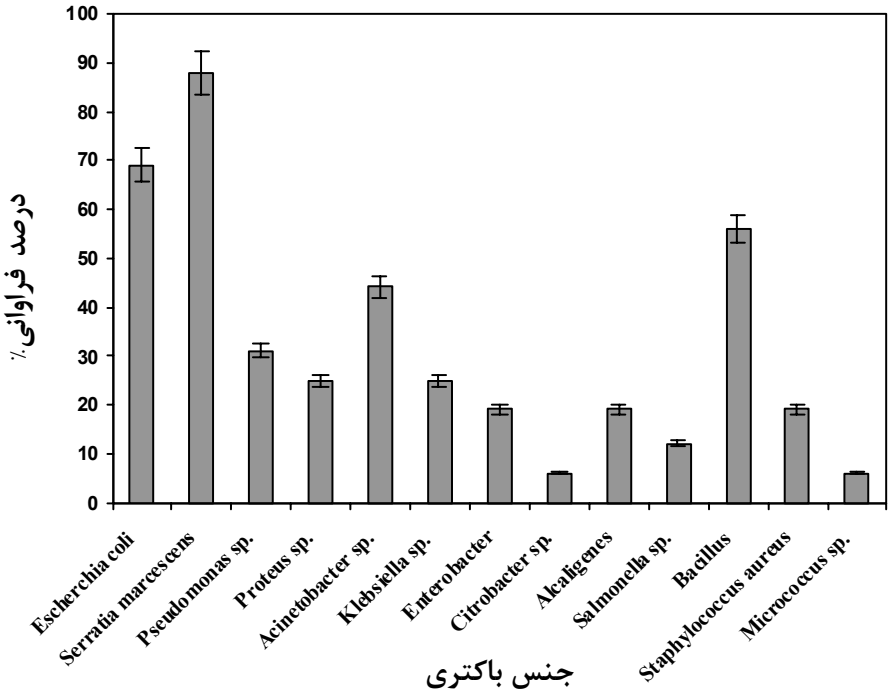
تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری نتایج به دست آمده با استفاده از آنالیز واریانس (*ANOVA*) و آزمون دانکن به وسیله نرم افزار *SPSS* ver.12 صورت گرفت. برای رسم نمودار ها نیز از نرم افزار *Excel* استفاده شد.

نتایج

جداسازی و شناسایی باکتری های مقاوم به جیوه

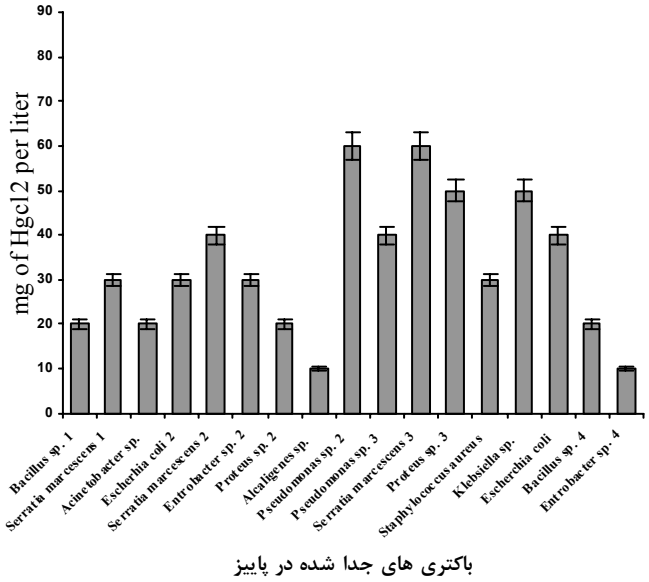
نمودار ۱ باکتری های مقاوم به جیوهٔ جدا شده در ایستگاه ها و فصول مختلف و درصد فراوانی آن ها را نشان می دهد. بر این اساس بیشترین درصد فراوانی مربوط به *Serratia marcescens* (۸۸٪) و کمترین فراوانی مربوط به *Micrococcus sp.* (۶٪) و *Citrobacter sp.* (۶٪) بود (شکل ۱).



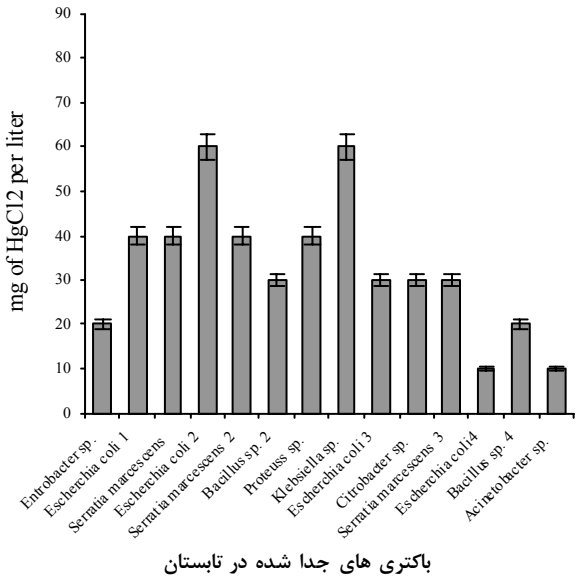
نمودار ۱- درصد فراوانی جنس های باکتریایی جدا شده در فصول و ایستگاه های مختلف

میزان مقاومت به جیوه در باکتری ها

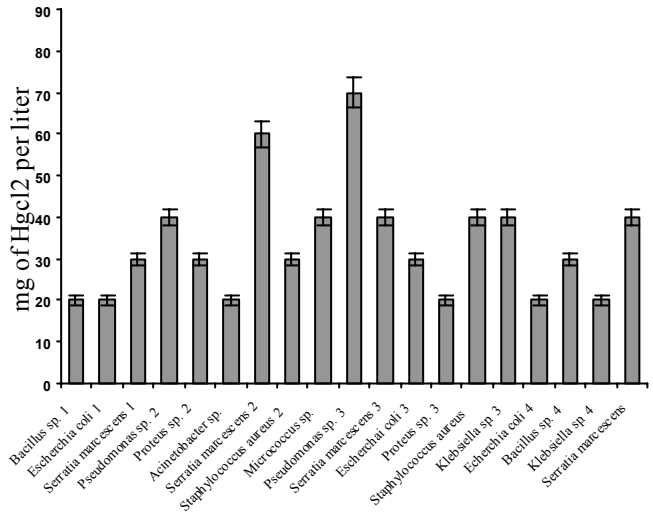
شکل۲ میزان مقاومت باکتری ها در غلظت های مختلف کلرید جیوه را نشان می دهد. باکتری های *Klebsiella sp.* جدا شده در فصل تابستان، *Serratia marcescens* 3 جدا شده در فصل پاییز، *Pseudomonas sp.* جدا شده در فصل زمستان و *Pseudomonas sp.* 3 جدا شده در فصل بهار، به عنوان مقاوم ترین باکتری ها در برابر جیوه و باکتری های *E.coli* 4 جدا شده در فصل تابستان، *Alcaligenes sp.* جدا شده در فصل پاییز، *Bacillus sp.* 4 جدا شده در فصل زمستان و *E.coli* 1 جدا شده در فصل بهار به عنوان حساس ترین باکتری ها در برابر جیوه تعیین شدند.



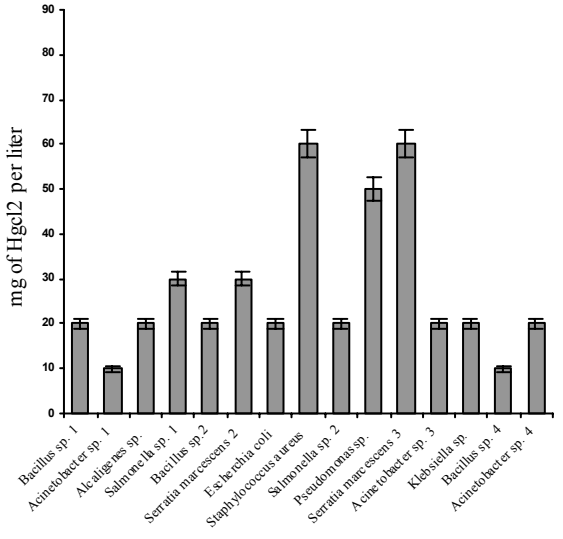
باکتری های جدا شده در پاییز



باکتری های جدا شده در تابستان



باکتری های جدا شده در بهار



باکتری های جدا شده در زمستان

نمودار ۲- میزان مقاومت به جیوه در باکتری های جدا شده در فصول و ایستگاه های مختلف

توانایی حذف جیوه توسط باکتری های مقاوم

در این مطالعه توانایی باکتری ها در حذف جیوه از محیط کشت، با کسر میزان جیوهٔ متصل به توده سلولی و جیوهٔ باقی مانده در محیط کشت از کل جیوهٔ اضافه شده در ابتدا، به دست آمد. بر این اساس توانایی حذف جیوه در بین باکتری های مقاوم بین ۲۸ تا ۸۶٪ متغییر بود. باکتری *Pseudomonas sp.* 3 جدا شده در فصل بهار بیشترین میزان حذف جیوه (۸۶٪) را نشان داد. کمترین توانایی حذف جیوه نیز مربوط به باکتری *Kelebsiella sp.* جدا شده در فصل تابستان بود. میزان حذف جیوه در محیط کشت های حاوی باکتری، در مقایسه با محیط کشت های استریل بیشتر

مشاهده شد. این میزان در محیط کشت های حاوی باکتری بین ۲۸ تا ۸۶٪ بود. میزان حذف جیوه در محیط کشت های کنترل (بدون تلقیح باکتری) بین ۵ تا ۱۳٪ متغیر بود (جدول ۲).

جدول ۲- توانایی حذف جیوه توسط باکتری های جدا شده

فصل	نام باکتری	کل جیوه از ابتدا mg	توده سلولی g	کل جیوه متصل به توده سلولی Mg/g	کل جیوه متصل به سلول ها µg	جیوه باقیمانده mg	میزان حذف mg	درصد حذف ٪
تابستان	*E.coli* 2	۳	۲/۳۲۵	۲/۲	۵/۱	۱/۰۲۷	۱/۹۸۸	۶۵/۶۰
	Klebsiella sp.	۳	۰/۹۱۶	۲/۸	۲/۶	۲/۱۵۸	۰/۸۳۹	۲۷/۹۸
	Control	۳	–	–	–	۲/۵۹۸	۰/۴۰۲	۱۳/۴۰
پاییز	*Pseudomonas sp. 2*	۳	۲/۴۰۰	۳/۷	۸/۹	۰/۸۳۵	۲/۱۵۶	۷۱/۸۷
	S.marcescens	۳	۲/۰۵۰	۲/۴	۴/۹	۱/۱۱۶	۱/۸۷۹	۶۲/۶۴
	Control	۳	–	–	–	۲/۸۴۲	۰/۱۵۸	۵/۲۷
زمستان	*Pseudomonas sp. 2*	۳	۲/۷۳۵	۳/۳	۹/۰۲	۰/۷۶۲	۲/۲۲۹	۷۴/۳۰
	S.marcescens 3	۳	۲/۵۵۰	۲/۶	۶/۶	۰/۸۴۵	۲/۱۴۸	۷۱/۶۱
	S.aureus	۳	۲/۲۰۰	۱/۵	۱/۸	۱/۲۵۹	۱/۷۳۹	۵۷/۹۷
	Control	۳	–	–	–	۲/۶۳۸	۰/۳۶۲	۱۲/۰۷
بهار	*Pseudomonas sp.* 3	۳	۲/۹۰۰	۲/۸	۸/۱	۰/۴۱۱	۲/۵۸۱	۸۶/۰۳
	S.marcescens 2	۳	۲/۷۱۰	۱/۶	۴/۳	۰/۶۵۸	۲/۳۳۸	۷۷/۹۳
	Control	۳	–	–	–	۲/۷۴۰	۰/۲۶۰	۸/۶۷

بحث و نتیجه گیری

Von Canstein و همکارانش (۱۲) جهت جداسازی باکتری های مقاوم به جیوه، از محیط کشت LB و حرارت ۳۰ درجه سانتی گراد استفاده کردند که مشابه روش به کار رفته در این تحقیق می باشد. در صورتی که Spangler و همکارانش محیط کشت Triptic Soy Agar (TSA) (۱۹)، Baldi و همکارانش Triptone Iron agar(۲۰) و Teves و همکارانش MS agar را برای جداسازی باکتری های مقاوم به جیوه به کار بردند(۲۱). به نظر می رسد که جهت جداسازی باکتری های مقاوم به جیوه از محیط کشت های مختلف اما حاوی جیوه می توان استفاده کرد.

مقاومت به جیوه در طیف وسیعی از باکتری ها مشاهده شده است. در تحقیقات گذشته باکتری هایی نظیر *Bacillus, Alcaligenes, Klebsiella, E.coli Pseudomonas, Micrococcus,* (۲۲) و *Acinetobacter sp.* (۲۳) به عنوان باکتری های مقاوم به جیوه گزارش شده است. در این تحقیق علاوه بر باکتری های ذکر شده جنس های *Proteus sp., Salmonella sp.* و *Citrobacter sp.* که در تحقیقات قبلی گزارش نشده یا کمتر جدا شده بودند نیز به عنوان باکتری های مقاوم به جیوه جداسازی گردیدند.

حداکثر غلظتی از کلرید جیوه که باکتری های جدا شده قادر به رشد در حضور آن بودند بین ۱۰ تا ۷۰ mg/l بود. حال آن که Horn و همکاران در سال ۱۹۹۴ میزان مقاومت به کلرید جیوه در سوش های مختلف *Pseudomonas putida* را در محدوده ۳۵ تا mg/l ۶۵ به دست آوردند(۱۷). یکی از دلایل این میزان مقاومت بیشتر در بین باکتری های جدا شده در تحقیق حاضر می تواند روش جداسازی باکتری های مقاوم به جیوه باشد. در بیشتر تحقیقات گذشته جداسازی باکتری های مقاوم به جیوه از طریق کشت مستقیم در محیط جامد حاوی جیوه صورت گرفته است و میزان مقاومت کمتری به دست آمده است(۲۴ و۲۵). در این تحقیق باکتری های مقاوم به جیوه از طریق غنی سازی اولیه در حضور mg/l ۱۰ کلرید جیوه جداسازی شدند. غنی سازی اولیه موجب سازگاری باکتری ها در برابر استرس ناشی از جیوه می شود. در نتیجه باکتری های جدا شده قادر به تحمل غلظت های بالاتر جیوه نیز خواهند بود. هر چند به دلایل گوناگون از جمله استفاده از محیط کشت ها و سوش های مختلف، مقایسه مستقیم مقادیر مقاومت به جیوه به دست آمده در تحقیقات مختلف نمی تواند صورت بگیرد.

باکتری های مقاوم به جیوه باید به نحوی کاتیون های سمی این فلز را از محیط اطراف خود دور کنند تا بتوانند در محیط های آلوده رشد نمایند. بنابراین این باکتری ها توانایی زیادی در حذف جیوه از محیط اطراف خود دارند. Frischmut و همکارانش در سال ۱۹۹۳ با به کار بردن باکتری های مقاوم به جیوه در راکتورهای زیستی در مدت ۴ تا ۷ هفته مشاهده کردند که این باکتری ها جیوه را از پساب کارخانجات با کارآیی ۸۲ تا ۹۹٪ حذف می کنند(۲۶). Okino و همکارانش در سال ۲۰۰۰ سوشی از *Pseudomonas putida* را شناسایی کردند که قادر به حذف جیوه از محیط کشت به میزان ۹۲ تا ۹۸ ٪ بود(۲۷). در این مطالعه توانایی حذف جیوه توسط مقاوم ترین باکتری های جدا شده بین ۲۳ تا ۸۶ ٪ متغیر بود. این در حالی است که در تحقیقات گذشته این مقادیر حذف جیوه در اثر دست ورزی های ژنتیکی و فراهم آوردن شرایط بهینه رشد برای باکتری ها به دست آمده بود. علاوه بر این میزان حذف جیوه در محیط های کنترل در مقایسه با محیط هایی که در آن ها تلقیح باکتری صورت گرفته بود بسیار کمتر به دست آمد. این نتایج نشان می دهد که عوامل زنده (باکتریایی) نقش اصلی را در حذف جیوه از محیط کشت ایفا می کنند. نتایج مشابهی هم در تحقیقات Ray و همکارانش به دست آمد(۱۰).

Von Canstein و همکارانش در سال ۱۹۹۹ از رسوبات رودخانه ای آلوده در آلمان باکتری سودوموناس پوتیدا سوش Spi 3 مقاوم به جیوه جدا کردند. آن ها با طراحی یک راکتور زیستی در مقیاس آزمایشگاهی و فراهم نمودن شرایط بهینه از نظر دما، مواد غذایی، pH و ... برای رشد باکتری، توانایی ۹۰ تا ۹۸ ٪ را در حذف جیوه به وسیله این باکتری به دست آوردند(۱۲). در این تحقیق نیز باکتری *Pseudomonas sp. 3* جدا شده در فصل بهار، با کارآیی ۸۶ درصد بیشترین توانایی را در حذف جیوه نشان داد. بیشترین میزان مقاومت به جیوه (mg/l ۷۰ کلرید جیوه) نیز در این باکتری به دست آمده بود. این باکتری مقاوم انتخاب مناسبی برای به کارگیری جهت حذف زیستی جیوه از پساب کارخانجات آلوده کنندهٔ رودخانه کر می باشد.

با توجه به کارآیی پایین روش های فیزیکی و شیمیایی حذف جیوه از پساب کارخانجات و با توجه به حضور صنایع متعدد (که از جیوه استفاده می کنند) در جوار رودخانهٔ کر، به مسئولان سازمان محیط زیست پیشنهاد می گردد کارخانجات آلوده کننده محیط زیست را ملزم به استفاده از روش های نوین پاک سازی (نظیر به کارگیری باکتری های بومی مقاوم به جیوهٔ جدا شده از مناطق آلوده) کنند. ضمن این که با فراهم نمودن شرایط بهینه برای رشد این باکتری ها، نتایج بهتری در این زمینه می توان به دست آورد.

سپاس گزاری

از جناب آقای مهندس مجید رحیمی، معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم که امکانات

آزمایشگاهی لازم را جهت انجام این تحقیق فراهم آوردند سپاس گزاری می شود.

منابع

1. Kumar, H. D., (1994). General ecology, Chapter VII, Aquatic ecology., Vinkas Pub., New Delhi, India, 497-555.

۲. کفیل زاده، ف.، ۱۳۸۴، بررسی آلودگی فلزات سنگین در رودخانه کر، طرح پژوهشی، دانشگاه آزاد اسلامی ارسنجان.

3. *Nascimento A.M.A., and Chartone Souza E., 2003, Operon mer: bacterial resistance to mercury and potential for bioremediation of contaminated environments, Genetics and Molecular Research, 2(1): 92-101.*

۴. کریمی، ی.، ۱۳۷۴، مطالعه حوزه آب ریز رودخانه کر و سیوند، اداره کل حفاظت از محیط زیست استان فارس.

۵. دی براون، ر.، ارباب زوار، م.، ۱۳۸۰، مبانی تجزیه شیمیایی، جلد دوم انتشارات سخن گستر تهران.

6. *Kiyono M. and Pan Hau H., 2006, Genetic engineering of bacteria for environmental remediation of mercury, J.Health.Sci., 52(3):199-204.*
7. *Tothova T., Pritas P., and Javorsky P., 2006, Mercuric reductase gene transfer from soil bacteria to rumen bacteria, Folia. Microbiol., 51(4): 317-319.*
8. *Deckwer W.D., Becker F.U., Ledakowitcz S., and Wagner Dobler I., 2004, Microbial removal of ionic mercury in a three phase fluidzed bed reactor, Environ.Sci., 38(6): 1858-1865.*
9. *Barkay T., Miller S.M., and Summers A.O., 2003, Bacterial mercury resistance from atoms to ecosystems, FEMS Microbiol. Rev., 27: 355-384.*
10. *Ray S., Gachhui R., Pahan K., Chaudhury J., and Mundal A., 1989, Detoxification of mercury and organomercurials by nitrogen fixing soil bacteria, J. Bio.Sci ., 14(2): 173-182.*
11. *Chen Sh., and Wilson D.B., 1997, Construction and characterization of E.coli genetically engineering for bioremediation of contaminated environments, Appl.Environ. Microbiol., 63(6): 2442-2445.*
12. *Von Canstein H., Li Y., Timmis K.N., Deckwer W.D., and Wagner Dobler I., 1999, Removal of mercury from chlor alkali electrolysis wastewater by a mercury resistance Pseudomonas putida strain, Appl.Environ.Microbiol., 65(12): 5279-5284.*
13. Bae W., Wu C.H., Kostal J., Mulchandani A., and Chon W., 2003, Enhanced with surface display MerR, Appl.Environ.Microbiol., 69(6)*: 3176-3180.*
14. Manual of Oceanographic and Observations Pollutant Analysis Methods, (MOOPAM), Chapter III Analysis method, 1999, ROMPE, Kuwait. pp. 257-342.
15. *Wagner Dobler I., Von Canstein H., K.N.Timmis Y.Li, and Deckwer W.D., 2000, Removal of mercury from chemical wastewater by microorganisms in technical scale, Environ.Sci.Tecnhnol., 34(21): 4628-4634.*
16. *Prescott, L. M.; Harley, J. P., (2002), Laboratory exercises in Microbilogy, Part 4, Biochemical activities of bacteria., McGraw Hill Pub., New York USA., 125-206.*

17. *Horn J.M., Brunke M., Deckwer W.D., and Timmis K.N., 1994, Pseudomonas putida strains wich constitutively overexpress mercury resistance for bioremediation of organomercurials pollutants, Appl.Environ.Microbiol., 60(1): 357-362.*

۱۸. جمالی، م.، ۱۳۸۳، جداسازی میکروارگانیسم های حذف کننده کادمیوم از سواحل غرب بندرعباس، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد آسلامی جهرم.

19. *Spangler W.J., Spigarelli J.L., Rose J.M., Flippin R.S., and Miller H.H., 1973, Degradation of methyl mercury by bacteria isolated environmental samples, Appl.Microbiol., 25(4): 488-493.*

20. *Baldi F., Boudou A., and Ribeyre F., 1992, Response of a fresh water community to mercury contamination in a controlled system, Springer, 22(4): 439-444.*

21. Teves F.G., 1994, Mercury resistance bacteria isolated from industrial effluent outlet in Iligan city, Multi.Inf., 9(2): 13-20.

22. *Pahan K., Ray S., Gachui R., Chaudhuri J., and Mandal A., 1990, Ecological and biochemical studies on mercury resistance bacteria. Indian, J.Environ.Health, 32(3): 250-261.*

23. *Petrova M.A., Mindlin S., Gorlenko Z., Kaliaeva E., Soina V., and Bogdanova E., 2002, Mercury resistance bacteria from permafrost sediments and prospects for their use in comparative studies of mercury resistance determinants, Genetika., 38(11): 1569-1574.*

24. *Wagner Dobler I., Von Canstein H., Li Y., Leonhauser J., and Deckwer W.D., 2003, Process integrated microbial mercury removal from wastewater of chlor alkali electrolysis plants, Eng.Life Sci., 3(4): 177-181.*

25. Karbasizaed V., Badami N., and Emtiazi G., 2003, Antimicrobial heavy metal resistance and plasmid profile of coliforms isolated from nosocomial infections in a hospital in Isfahan,Iran, African J. biotechnol., 2(10): 379-383.

26. *Frischmut A., Wappen P., Deckwer W.D., 1993, Isolation of microbes and characterization of their transformation capabilities, J.Biotechnol., 29: 39-55.*

27. *Okino S., Iwasaki K., Yagi O., and Tnaka H., 2000, Development of a biological mercury removal-recovery system, Springer, 22(9): 783-788.*