مجله آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۳، شماره ۱، بهار ۱۳۸۸، ص ۷-۱

Journal of Water and Soil
Vol. 23, No. 1, Spring 2009, p.1-7

تعیین آستانه سمیت فلزات مس و روی در باکتری *E. coli* (حسگر زیستی)

امیر لکزیان[۱]

تاریخ دریافت: ۸۶/۷/۲۴
تاریخ پذیرش: ۸۷/۷/۲۱

چکیده

امروزه آلودگی خاکها به عناصر سنگین که از منابع مختلف وارد خاکها می شوند در دنیا بصورت یک مسئله کاملا جدی مطرح می‌باشد. برای تشخیص آلودگی فلزات سنگین روشهای متفاوتی مورد استفاده پژوهشگران قرار می‌گیرد. استفاده از حسگرهای زیستی یکی از روشهای جدید برای ارزیابی سمیت فلزات در خاک می‌باشد. در این مطالعه غلظتهای مختلف برای عناصر مس (۰، ۵، ۲۰، ۱۲۰، ۳۰۰، ۷۵۵ و ۲۰۰۰ میلی گرم برکیلوگرم) و روی (۰، ۱۰، ۳۰، ۷۰، ۱۶۰، ۴۰۰، ۱۰۰۰ و ۳۰۰۰ میلی گرم برکیلوگرم) بر روی یک خاک از سری لینکن واقع در نیوزیلند در دو محل جداگانه اعمال شد. غلظت کل عناصر مس و روی در نمونه های خاک پس از گذشت یکسال اندازه گیری شد. سپس آستانه سمیت این دو فلز سنگین به کمک حسگر زیستی *E.Coli* تعیین شد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که با افزایش غلظت عناصر مس و روی میزان بیولومینسنس باکتری *E.Coli* کاهش یافت. نتایج این مطالعه همچنین نشان داد که به ترتیب در غلظتهای کل ۴۵۰ و ۶۵ میلی گرم بر کیلوگرم مس و روی، میزان بیولومینسنس پنجاه درصد نسبت به شاهد کاهش پیدا کرد. نتایج حاصل از پردازش داده ها و مطالعه همبستگی بین میزان بیولومینسنس و غلظت کل فلزات مس و روی نشان داد که تاثیر عنصر روی بر کاهش میزان لومینسنس باکتریایی ۱۰ مرتبه بیشتر از عنصر مس بوده است.

واژه‌های کلیدی : بیولومینسنس، فلزات سنگین، مس، روی حسگر زیستی

مقدمه

امروزه آلودگی فلزات سنگین گستردگی زیادی پیدا کرده است. فعالیتهای انسان نظیر ذوب فلزات و استخراج معادن، نیروگاه های صنعتی، کاربرد آفت کشهای حاوی فلزات، کودهای شیمیایی و استفاده از فاضلابها بر روی اراضی منجر به آلودگی خاک به انواع فلزات شده است (۷). نگرانی راجع به افزایش آلودگی خاکها تنها بخاطر سمیت آنها برای گیاهان و جانوران نیست بلکه خطرات ناشی از ماندگاری و پایداری این عناصر در خاک، مسئولین محیط زیست و پژوهشگران سلامت و کیفیت خاک را بیشتر نگران کرده است (۶). آزمایشات تعیین غلظت سمی فلزات سنگین برای موجودات خاک که نقش بسیار مهمی در فرایندهای تجزیه مواد آلی و چرخه های عناصر غذایی خاک دارند از چالشهای مهم برای بسیاری از پژوهشگران خاک بوده است. مسئولین محیط زیست در بسیاری از مناطق دنیا شناسایی و تعیین خصوصیات محلهای آلوده و اصلاح آنها را در اولویت تحقیقات خود قرار داده اند. شاید به جرات بتوان گفت که در سالهای اخیر روشهای بسیار متعددی برای تشخیص آلودگی خاک و آب به فلزات سنگین و دیگر آلاینده ها بکار گرفته شده است. به عنوان مثال کربن بیومس میکروبی بعنوان یک شاخص میکروبی حساس برای آشکارسازی اثرات منفی آلایندها معرفی شده است (۱). برخی دیگر از پژوهشگران استفاده از آنزیمها را برای مطالعه اثرات سمی و تعیین درجه آلودگی مناطق آلوده شده بکار گرفته اند. این پژوهشگران حساس بودن آنزیمها به آلایندهای فلزی و سریع بودن انجام آزمایشات آنزیمی را دلیل انتخاب این روش معرفی کرده اند (۱۱). اخیرا روشی تحت عنوان بیولومینسنس برای مطالعات آلودگی خاک و آب مورد استفاده قرار می‌گیرد. بیولومینسنس در حقیقت فرآیندی است که طی آن نور در پی یکسری واکنشهای آنزیمی در درون سلول تولید می‌شود. تولید این آنزیمها محصول بیان ژنهای *LUX* می‌باشند. بیوشیمی، فیزیولوژی و ژنتیک این فرآیند درون سلولی برای تشخیص مواد سمی بوسیله برخی از پژوهشگران بررسی شده و در منابع علمی معتبر به چاپ رسیده است (۳ و ۸۹). در این فرآیند بیولوژیکی، لوسیفرین باکتریایی که یک منونوکلئید فلاوین (FMNH2) است در حضور یک آلدئید بلند زنجیره، اکسیژن و آنزیم لوسیفراز اکسید می‌شود. با اکسید شدن لوسیفرین نور سبز رنگ مایل

۱- دانشیار گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(* - نویسنده مسئول Email: alakzian@yahoo.com)

Archive of SID
www.SID.ir

به آبی با طول موج ۴۹۰ نانومتر تولید می‌شود. که میزان این نور تولید شده متناسب با تعداد این واکنشها در درون سلولهای باکتریایی می‌باشد. LuxA و LuxB از مجموعه ژنهای LuxABCDE در تولید آنزیم لوسیفراز (به ترتیب بخش α و β آنزیم) و بخشهای LuxC ، LuxDو LuxE در تولید آنزیم رداکتاز اسید چرب که یک پروتئین متشکل از ۱۲ پلی پپتید است دخالت دارند. استفاده از باکتریهای لومینسنس کننده برای تشخیص آلودگی خاک و آب وتعیین آستانه سمیت فلزات سنگین برای میکروارگانیزمهای خاک نسبت به روشهای دیگر دارای مزایایی است. حساس بودن، آسان بودن فرایند اندازه گیری و سرعت عمل و کم هزینه بودن آزمایشات از جمله مزایای این روش جدید می‌باشد. اخیرا گزارشهایی مبنی بر توسعه و بهبود روشهایی بیولومینسنس برای ارزیابی سمیت در فاضلابها (۵) ، تشخیص بازدارنده های فرایند نیتریفیکاسیون (۱۰) و تعیین بیشترین حد مجاز فلزات در خاک (۲ و ۹) ارائه شده است .

هدف از این تحقیق استفاده از بیولومینسنس باکتریایی برای بررسی امکان تعیین سمیت عناصر مس و روی برای خاکهای آلوده به این عناصر در یک گستره غلظتی بسیار وسیع از این دو عنصر بوده است. تعیین ارتباط سمیت این دو عنصر برای باکتری *E.coli* و نهایتا تعیین آستانه سمیت آن نیز از اهداف این تحقیق بود.

مواد و روش‌ها

در آبان ماه سال ۱۳۸۵ به منظور تعیین بیشترین حد مجاز دو عنصر مس و روی در خاکهای لینکن نیوزلند طرح آزمایشی طراحی شد که در آن غلظتهای متفاوت از دو عنصر مس (۰، ۵، ۲۰، ۵۰، ۱۲۰، ۳۰۰، ۷۵۵ و ۲۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و روی (۰، ۱۰، ۳۰، ۷۰، ۱۶۰، ۴۰۰، ۱۰۰۰ و ۳۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) هر دو به فرم سولفات در دو قطعه زمین مجاور هم در کرتهایی به مساحت یک متر مربع اعمال شد. ابتدا ۳۰ سانتیمتر اولیه خاک به دقت برداشته شد و کلیه ریشه های موجود در آن و جانوران ماکرو (نظیر کرمهای خاکی و لارو حشرات) جدا و سپس نمونه خاک مربوط به هر کرت بطور جداگانه در یک مخلوط کن بزرگ بمدت ۲۰ دقیقه مخلوط شدند. سولفات مس و روی با غلظتهای فوق تدریجا در حین مخلوط شدن نمونه های خاک به آنها اضافه شد. سپس تمامی خاک تیمار شده با غلظتهای مختلف دو عنصر روی و مس مربوط به هر کرت به محل اولیه برگردانده و بر روی آن شبدر سفید و چمن کاشت شد. پس از یک سال نمونه های یک کیلو گرمی خاک با استفاده از آگر (حدود ۲۵ آگر از هر کرت) از کرتهای آزمایشی جمع آوری شدند. غلظت کل عناصر مس و روی در آنها با استفاده دستگاه X-Ray fluorescence spectrometer زیمنس SRS303AS تعیین شد.

آزمایش بیولومینسنس در سوسپانسیون ۱:۲۰ آب و خاک انجام شد. برای این منظور سوسپانسیون آب و خاک بمدت ۲ ساعت با ۲۰۰ دور در دقیقه تکان داده شد. سپس نمونه ها با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و از فیلتر ۰/۲ میکرومتر عبور داده شدند. کلیه نمونه ها قبل از استفاده عصاره ها برای آزمایش لومینسنس در ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

برای حیاتبخشی باکتری *E. Coli* HB101 PUCD607 (۱۱) مقدار ۱۰ میلی لیترمحلول کلرور پتاسیم یک دهم نرمال به باکتری لیوفریز شده به شیشه های مکارتی استریل اضافه و به مدت یک ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد رشد داده شد. سپس میزان بیولومینسنس ۱۰۰ میکرو لیتر سوسپانسیون باکتری در ۹۰۰ میکرو لیتر آب مقطر با دستگاه لومینومتر قرائت شد. سپس ۱۰۰ میکرو لیتر از سوسپانسیون باکتری با ۹۰۰ میکرولیتر عصاره های نمونه های خاک به آرامی مخلوط و میزان بیولومینسنس در نمونه ها اندازه گیری شد. این آزمایش در قالب بلوکهای کاملا تصادفی با دو تکرار انجام شد و نتایج حاصل از آزمایش با استفاده از نرم افزار آماری Minitab تجزیه آماری و مقایسه میانگین ها با استفاده از نرم افزار MSTATC انجام شد. .

نتایج و بحث

نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که افزودن فرم سولفات دو عنصر مس و روی غلظت کل این دو عنصر را در تمامی کرتهای آزمایشی خاک افزایش داد. گستره غلظت کل مس از ۱۰ میلی گرم بر کیلو گرم در تیمار شاهد تا حدود ۱۵۰۰ میلی گرم در کیلو گرم خاک در تیمار ۲۰۰۰ میلی گرم در کیلو گرم مس متغیر بود. گستره غلظت روی از ۶۰ در تیمار شاهد تا حدود ۱۴۰۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک در تیمار ۳۰۰۰ میلی گرم در کیلو گرم تغییر کرد. بنابر این با اعمال تیمارهای آزمایشی مس و روی بستره ای مناسب با یک گستره غلظتی نسبتا وسیع برای دو فلز سنگین مس و روی فراهم شد. این غلظت ها از حدود بسیار پائین تر از ماکزیمم حدود مجاز برای کشور نیوزیلند (۴) (به ترتیب ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم برای مس و روی) تا غلظتهای بسیار بالاتر از آن که معمولا برای آزمایشات تعیین سمیت لازم می‌باشد وجود داشت.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس میزان لومینسنس تیمارهای آزمایش (جدول ۱) نشان داد که اختلاف معنی داری بین دو قطعه زمین انتخاب شده (تکرار) از لحاظ درجه آلودگی و تاثیر بر میزان بیولومینسنس وجود داشته است. البته این نتیجه خارج از انتظار نبود زیرا خاکها حتی در فواصل بسیار نزدیک می‌توانند تغییرات قابل توجهی داشته باشند. همچنین نتا یج حاصل ازاین آزمایش نشان داد که سمیت دو عنصر روی و مس با یکدیگر نیز تفاوت معنی داری داشتند. عنصر روی تاثیر بیشتری بر کاهش لومینسنس باکتری

Archive of SID

www.SID.ir

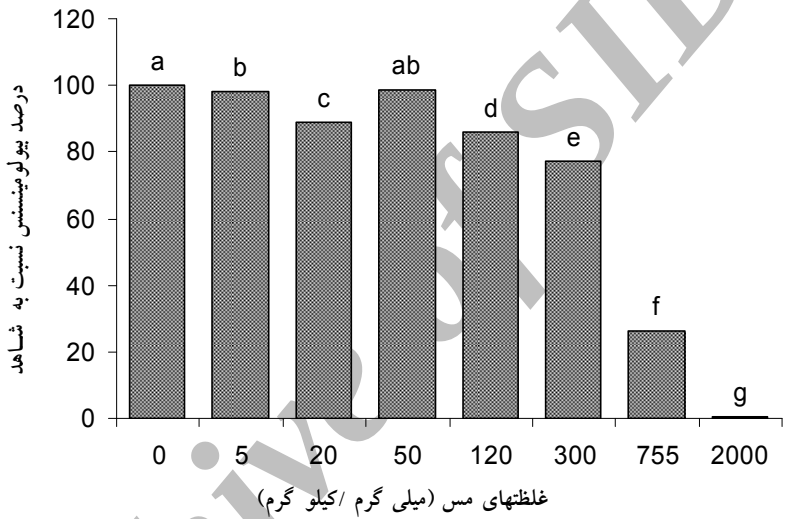
E.Coli در مقایسه با عنصر مس داشت.

(جدول ۱)- تجزیه واریانس مقدار بیولومینسنس باکتری *E.Coli*

منابع تغییر	درجه آزادی	SS	MS
بلوک	۱	۴۶۶/۹	۴۶۶/۹ **
تیمار	۱۴	۱۵۴۸۲۳/۶	۱۱۰۵۸/۸ **
خطای آزمایش	۱۴	۲۶۷۵/۹	۱۹۱/۱
خطا نمونه گیری	۶۰	۱۲۳	۲/۱

** معني دار (P<۰/۰۱)

نتایج حاصل از بیولومینسنس نشان داد که تا تیمار ۵۰ میلی گرم در کیلو گرم (غلظت کل ۱۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تفاوت معنی داری در میزان بیولومینسنس برای عنصر مس وجود نداشت (شکل ۱). به نظر می‌رسد که در غلظتهای پایین یک شوک کاهشی در باکتریها رخ می‌دهد و با بیان بعضی از ژنها آن شوک تا حدودی جبران می‌گردد. این تغییرات در غلظتهای ۵ تا ۵۰ به خوبی قابل مشاهده است. اما کاهش معنی دار در میزان لومینسنس باکتری که خود در حقیقت گواه بر کاهش تعداد سلولهای باکتری در مقایسه با شاهد است در غلظتهای ۱۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم مشاهده شد. روند کاهشی در میزان لومینسنس باکتری در غلظتهای بالاتر همچنان ادامه داشت به نحوی که در تیمار ۲۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم مس تقریبا کلیه سلولهای باکتری از بین رفته و میزان بیولومینسنس تقریبا به صفر رسید و یا اینکه دستگاه لومینومتر قادر به تشخیص نور تولید شده توسط باکتری نبود (شکل ۱).



(شکل۱)- مقایسه میانگین لومینسنس باکتری *E.Coli* در غلظتهای مختلف عنصر مس

در مورد عنصر روی می‌توان گفت که بیولومینسنس باکتری در کلیه غلظتهای این عنصر کاهش یافت. شروع کاهش در لومینسنس باکتری از غلظت ۱۰ میلی گرم بر کیلو گرم شروع شد و در تیمارهای ۴۰۰ میلی گرم در کیلوگرم روی

(غلظت کل ۴۲۵ میلی گرم بر کیلو گرم) میزان بیولومینسنس باکتری به صفر رسید (شکل ۲). درتیمارهای بالاتر از ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم روی نیز کلیه سلولهای باکتری از بین رفته و لومینومتر قادر به اندازه گیری نور نبود.

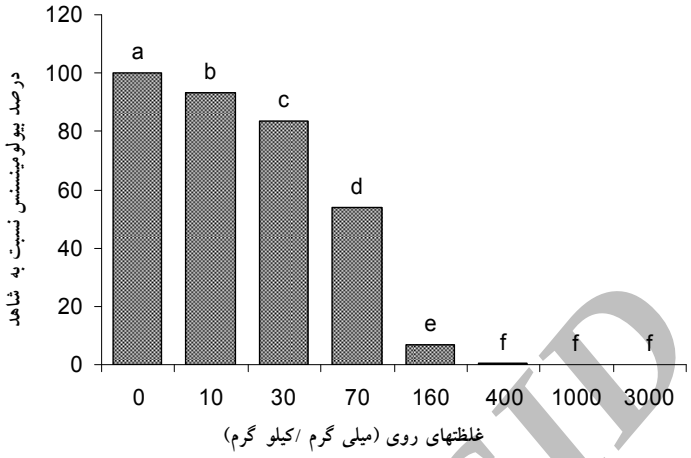
با مقایسه دو شکل ۱ و ۲ می‌توان به تفاوت درجه سمیت فلز سنگین مس و روی پی برد. نتایج این آزمایش نشان داد که عنصر روی زودتر از مس سبب از بین رفتن لومینسنس باکتری شده به عبارت دیگر آثار سمی آن بر روی باکتری *E.Coli* سریع تر آشکار شده است. البته با توجه به میزان بالای مواد آلی در این خاکها و ظرفیت بالای مس برای تشکیل کلات با مواد آلی به نظر می‌رسد که بخش فراهم و قابل دسترس مس برای میکروارگانیزمها در مقایسه با روی کمتر بوده و احتمالا به همین خاطر سمیت مس در مقایسه با عنصر روی کمتر ظاهر شده است (۳).

اطلاعات حاصله از این ازمایش باید با احتیاط مورد بررسی قرار گیرد زیرا پاسخ لومینسنسی باکتری به غلظت مس و روی پاسخی به میزان عنصر مس یا روی عصاره گیری شده در نسبت خاک به آب ۱:۲۰ می‌باشد. بنابر این ذکر این نکته ضروری است که قطعا زمانی که باکتری در معرض عصاره خاک قرار می‌گیرد در واقع با غلظت بسیار پائینی از مس روبرو است. البته ذکر این نکته ضروری است که ارتباط بسیار منطقی و خوبی معمولا (نه همیشه) بین میزان مقدار کل عناصر با میزان عناصر در عصاره ها وجود دارد. بسیاری از پژوهشگران به این ارتباط اشاره کرده اند . از جمله هورسول و همکاران (۴) نشان دادند زمانی که مس عصاره گیری شده ۰/۱۲ میلی گرم بر لیتر بوده میزان مس کل حدود ۵۴۰ میلی گرم بر کیلو

Archive of SID

www.SID.ir

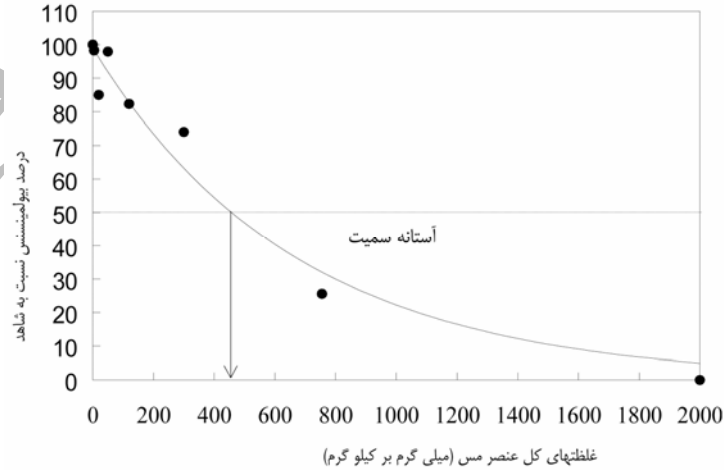
گرم بوده است. ایشان ارتباط رگرسیونی بسیار خوبی بین غلظت کل عنصر مس در خاک و پاسخ لومینسنسی باکتری *E.Coil* را گزارش کردند. بنابر این رابطه بسیار قوی بین غلظت کل عناصر با مقادیر آنها در جزء محلول یا عصاره های حاصله از عصاره گیرهای مختلف می‌تواند ارتباط و همبستگی بالا بین پاسخ لومینسنسی را با غلظت کل توضیح دهد.



(شکل۲)- مقایسه میانگین لومینسنس باکتری *E.Coli* در غلظتهای مختلف عنصر روی

نکته قابل توجه دیگر در اینگونه آزمایشها واریانس نسبتا زیاد داده ها می‌باشد که ناشی از حساسیت بالا و وجود پارامترهای بسیار متنوع و درگیر در این فرایند زیستی است. به همین دلیل است که پژوهشگران هر کاهشی در میزان لومینسنس باکتری را که در اثر غلظت آلاینده ها رخ می‌دهد را دلیل بر سمیت آنها نمی دانند. معمولا کاهش ۵۰ درصدی در تیمارهای آزمایشی نسبت به شاهد را مبنای تاثیر سمیت فلز یا هر آلاینده دیگر بر لومینسنس در نظر می‌گیرند (۵). با توجه به این نکته و مراجعه مجدد به داده‌های حاصله از آزمایش می‌توان گفت که فقط تیمارهای مس بالاتر از ۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم تاثیر معنی داری بر میزان بیولومینسنس باکتری داشته است. به عبارت دیگر در تیمارهای بالای ۳۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم تاثیر سمی فلز مس بر لومینسنس باکتری *E.Coil* آشکار و قابل اعتماد می‌باشد.

با رسم معادله نمایی برای داده های حاصل از میزان لومینسنس باکتری *E.Coil* در برابر غلظتهای مختلف عنصر مس، می‌توان به یک همبستگی بسیار بالا (r^2=0.962) و خوب بین میزان لومینسنس و غلظت مس دست یافت. شکل ۳ این ارتباط را نشان می‌دهد. بنابراین با حل معادله نمایی برای کاهش پنجاه درصدی لومینسنس به غلظت کل ۴۵۰ میلی گرم بر کیلو گرم مس می‌رسیم. به عبارت دیگر می‌توان گفت زمانی که غلظت کل عنصر مس به ۴۵۰ میلی گرم در کیلو گرم در خاکهای تحت بررسی می‌رسد میزان بیولومینسنس باکتری پنجاه درصد کاهش پیدا می‌کند. بنابر این با این داده ها آستانه سمیت مس با انجام آزمایش بیولومینسنس ۴۵۰ میلی گرم بر کیلو گرم تعیین می‌شود (شکل ۳).

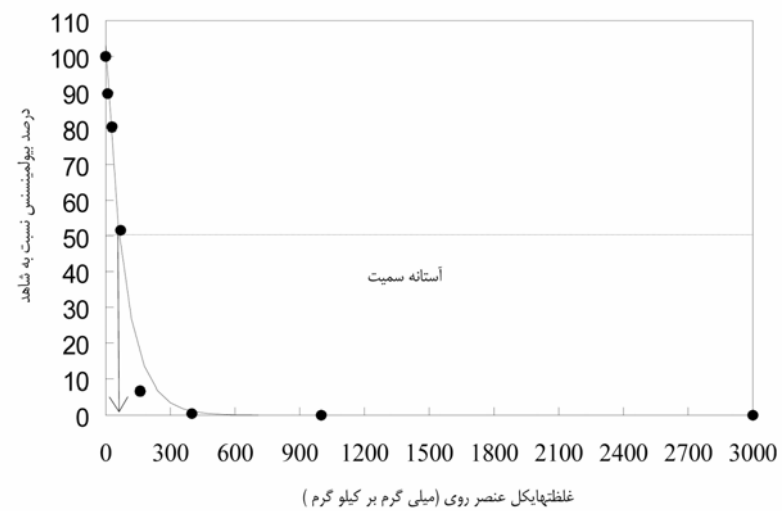


(شکل۳)- آستانه سمیت مس برای باکتری *E.Coli* (حسگر زیستی)

Archive of SID

www.SID.ir

زمانی که کلیه محاسبات فوق در مورد عنصرمس را برای عنـصر روی انجام دهیم مجددا یک همبستگی بالا (r^2=0.985) بین میـزان لومینسنس و غلظت روی حاصل می‌شود. با حل معادلـه فـوق بـرای کاهش پنجاه درصدی میزان بیولومینسنس به غلظت ۶۵ میلـی گـرم بر کیلو گرم روی می‌رسیم (شکل ۴) که این غلظت بسیار پائین تـر از ماکزیمم حد مجاز تعیین شده بـرای خاکهـای کـشور نیوزیلنـد اسـت (۳۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم) .



(شکل٤)- آستانه سمیت روی برای باکتری *E.Coli* (حسگر زیستی)

با مقایسه ضریب کاهش لومینسنس که از معادلات پردازش شده بین میزان لومینسنس و غلظت عناصر روی و مس حاصل شده اسـت می‌توان نتیجه گرفت که آثار سمیت عنصر روی تقریبا ده برابر زودتـر از مس بر روی میزان لومینسنس باکتری ظاهر شده است (جدول ۲).

(جدول ۲)- همبستگی و ضریب کاهش میزان بیولومینسنس برای عناصر مس و روی

عنصر	R^2	SE	K
Cu	0.962	0.00025	0.00149
Zn	0.985	0.00139	0.01126

بنابراین مطالعه دقیق‌تر و بیشتری پیرامون غلظت این عناصـر در عصاره های تهیه شده از نمونه های خاک یک ضرورت جـدی بـرای ادامه این مطالعه می‌باشد تا بدینوسیله تفاوت در مـاکزیمم غلظتهـای مجاز تعیین شده در کشور نیوزیلند و نتـایج حاصـل از ایـن تحقیـق را بتوان توجیه منطقی کرد. ضمنا مطالعه بخشهای مختلف مواد آلـی در این خاکها و تاثیر کاربری این اراضی بر روی فراهمی این عناصر نیـز می‌تواند به عنوان موضوع تحقیقی بعدی انجام شود.

سپاسگزاری

بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه فردوسی مـشهد و مرکز تحقیقات علوم محیطی کنوپورو نیوزیلند که امکان ایـن تحقیـق را فراهم کردند تشکر می‌کنم.

منابع

1- Brookes P. C. and S. P. McGrath. (1984). Effects of metal toxicity on the size of the soil microbial biomass, *Journal of Soil Science.* 35:. 341–346.
2- Chaudri, A.M., K. Lawlor, S. Preston, G.I. Paton, K. Killham and S.P. McGrath. (2000). Response of a *Rhizobium*-based luminescence biosensor to Zn and Cu in soil solutions from sewage treated soils. *Soil Biology and Biochemistry*. 32:383-388.
3- Hastings J.W., Potrikus, C. J. Gupta, S. C. Kurfhrst, M. and Makemson. J. C. (1985). Biochemistry and physiology of bioluminescent bacteria. Advances Microbial physiology. 26: 235-291.
4- Horswell J, Weitz, H. J. Percival H. J. and Speir. T. W (2007). Impact of heavy metal amended sewage sludge on forest soils as assessed by bacterial and fungal biosensors. Biology and Fertility of Soils. 42: 569–576.

Archive of SID

www.SID.ir

5- Kelly C.J., Lajoie, C. A. Layton A. C. and Sayler. G. S. (1999). Bioluminescent reporter bacterium for toxicity monitoring in biological wastewater treatment systems. *Water Environment Research*. 71: 31-35.
6- McGrath S.P., and Lane. P. W. (1989). An explanation for the apparent losses of metals in a long-term field experiment with sewage sludge, *Environmental pollution.* 60**:** 235–256.
7- McGrath S.P., Chaudri A. M. and Giller K. E. .(1995). Long-term effects of metals in sewage sludge on soils, microorganisms and plants, *Journal of industrial and Biotechnology.* 14: 94–104.
8- Meighen E.A. (1991). Molecular biology of bacteria bioluminescence. *Microbiology review 5:* 123–142.
9- Paton G.I., Palmer, G. Burton, M. Rattray, E. A. S. McGrath, S. P. Glover L. A. and Killham. K. (1997). Development of an acute and chronic ecotoxicity assay using *lux*-marked *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii*. *Letter applied microbiology*. 24: 296-300.
10- Sousa S (1999) Use of lux bacterial biosensors to assess bioremediation potential and constraints at a BTEX contaminated site. Ph.D. Thesis, University of Aberdeen.
11- Stuczynski T. I., McCarty G. W. and Siebielec. G. (2003). Response of soil microbiological activities to cadmium, lead, and zinc salts amendments, *Journal of Environmental Quality.* 32**:** 1346–1355.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Water and Soil
Vol. 23, No. 1, Spring 2009, p.1-7

مجله آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۳، شماره ۱، بهار ۱۳۸۸، ص ۷-۱

Determination of toxicity threshold of zinc and copper for *E. coli (*as biosensor)

A. Lakzian[1]

Abstract

Soil contamination with heavy metals is a serious problem in all over the world. Soils are contaminated by many different sources of heavy metals. Currently different methods are used by researchers for identifying heavy metal contamination. Assessing soil metal toxicity with bacterial bioluminescence is one of the new techniques. In this study, different concentrations of zinc and copper (0, 5, 20, 120 300,755, 2000 mg/kg for Cu, 0, 10, 30, 70, 160 400, 1000, 3000 mg/kg for Zn in sulphate form) were applied to Lincoln soils, New Zealand, in two different sites. After one year, the total concentrations of copper and zinc were measured in soil samples. Bacterial bioluminescence technique (Bioluminator) was used for determination of toxicity threshold of Cu and Zn for *E.coli*.. The results showed that the bacterial bioluminescence decreased by increasing copper and zinc concentrations. We also found that the bacterial bioluminescence decreased, 50% compared to control plot at 450 and 65 mg/kg Cu and Zn concentrations respectively. The correlation between bioluminescence and total metal concentration showed that zinc was more toxic to *E. coli* than copper.

Keywords: Bioluminescence, Heavy metals, Zinc, Copper. *E. coli*

Archive of SID

1 - Contribution from College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad (Corresponding author Email: alakzian@yahoo.com)

www.SID.ir