

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

زهرا یعقوب‌زاده<sup>۱\*</sup>، رضا صفری<sup>۲</sup>

۱، ۲. مری پژوهشی بخش بیوتکنولوژی آزمایشگاه میکروبیولوژی، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ساری، مازندران

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

### چکیده

سموم کلره از جمله آلاینده‌های زیست‌محیطی هستند که نیمه‌عمر بالایی دارند و با ماندن در طبیعت، وارد زنجیره غذایی می‌شوند و در نهایت به انسان انتقال می‌یابند و سبب بروز عوارض مختلف از جمله جهش در ژن‌های مختلف و سرطان‌زایی می‌شوند. در این پژوهش تجزیه بیولوژیک انواع سموم کلره نظیر آلفا، بتا و گاما هگزا کلروبنزن (لیندن)، DDT، آلدین، دی‌آلدین، آندوسولفان، اندرین و هپتاکلر توسط سه گونه سودوموناس به نام‌های آئروجینوزا، فلورسانس و پوتیدا جداشده از رودخانه‌های استان مازندران (تجن، بابلرود و شیروود) در مقیاس آزمایشگاهی بررسی شد. پس از آداپتاسیون باکتری‌های جداشده در محیط پایه معدنی (به صورت مخلوط) به میزان ۵ درصد از مخلوط باکتری‌ها، به محیط پایه حاوی ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر از مخلوط استاندارد سموم کلره اضافه شد و در زمان‌های صفر، ۲۴، ۴۸، ۵۴ و ۱۲۰ ساعت، روند تجزیه 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 به طوری که غلظت آن‌ها در زمان ۱۲۰ ساعت به ترتیب به ۹/۳ و ۹/۵۴ 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 استفاده بهینه از گونه‌های مختلف سودوموناس در مزارع کشاورزی، می‌توان غلظت سموم کشاورزی خصوصاً کلره را تا حد قابل قبولی کاهش داد.

**کلیدواژه‌گان:** تجزیه بیولوژیک، رودخانه‌ها، سموم کلره کشاورزی، سودوموناس.

## ۱. مقدمه

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, 2000; Najafpour, 1998; دوز سمی لیندان  $125 \text{ mg/kg}$  است ولی دوز استاندارد آن در اکوسیستم‌های آبی نامشخص است (Raghu, et al., 1996; Senoo, et al., 1966; al., سموم ارگانوکلره از جمله سمومی هستند که نیمه‌عمر بالایی دارند و هر چند که استفاده برخی از آن‌ها منسوخ شده است ولی همچنان با نام‌های تجاری متفاوت استفاده می‌شوند. این ترکیبات برای انواع موجودات مضرند (Eichner, 1990; Alonso, 1995; Kannan et al., 1992; Kajimax, et al., 1995; Mohapatra, et al., 1995).

از منابع مهم طبیعی که همواره در معرض ورود آلاینده‌های مختلف هستند می‌توان به رودخانه‌ها اشاره کرد که نقش عمده‌ای در پراکنش آلودگی دارند (Laloe, 1999). مواد آلاینده بسته به ساختمان شیمیایی، نیمه‌عمر و میزان سمیت، 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, 2000; Dabiri, 2000; Erfan Manesh, 2002; Sari, 2002). 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

جدول ۱. بیشترین میزان قابل قبول سموم کلره و عوارض آن‌ها

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

(Erfan Manesh, 2000; Esmaili Sari, 2002)

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

یکی از روش‌های کاهش این گروه از سموم استفاده از میکروارگانیسم‌های مختلف به‌منظور تجزیه بیولوژیک سموم کلره است. برخی باکتری‌ها به تولید آنزیم‌های اختصاصی قادر به تجزیه 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.

پژوهشکده اکولوژی دریای خزر منتقل و در کمتر از ۲۴ ساعت آزمایش شدند (American Public Health Association, 2005). به منظور شمارش کلنی‌های مربوط به سودوموناس در محیط آگاردار، پس از تهیه رقت‌های متوالی، کشت سطحی در محیط ستری‌مید آگار<sup>۱۰</sup> انجام شد و به مدت ۴۸-۷۲ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به صورت هوای انکوبه شد و پس از به اتمام رسیدن زمان انکوباسیون، نسبت به شناسایی آن‌ها اقدام شد. بیشتر تست‌های بیوشیمیایی انجام شده شامل تست OF، رشد در محیط مک کانکی آگار<sup>۱۱</sup>، تست حرکت، تست IMViC<sup>۱۲</sup>، اوره آز، رشد در حضور نمک، رشد در دماهای مختلف، ژلاتین، تریپل شوگر آیرون آگار<sup>۱۳</sup> و لیزین آیرون آگار<sup>۱۴</sup> بودند (Lee RJ, 2010).

## ۲.۲. روش تجزیه بیولوژیکی

برای ارزیابی میزان تجزیه گونه‌های سودوموناس جداسده در شرایط آزمایشگاهی، پس از آماده کردن محیط کشت، تیمارهای مخلوطی از سه گونه سودوموناس (آئروجینوزا<sup>۱۵</sup>، فلورسانس<sup>۱۶</sup>، و پوتیدا<sup>۱۷</sup>) به میزان ۵ درصد به همراه نمونه شاهد (بدون باکتری و دارای سموم کلره) در محیط مایع تهیه و به مقدار ۳۰ میلی‌گرم در لیتر از استاندارد سموم کلره به طور جداگانه، به محیط اضافه و در انکوباتور شکر دار قرار داده شد. pH محیط در محدوده ۷ تنظیم شد (Rajkumar & Mononmani 2002). تغییرات غلظت سموم کلره و همچنین رشد باکتری در زمان‌های صفر، ۲۴، ۴۸، ۵۴ و ۱۲۰ ساعت بررسی شد. برای اندازه‌گیری سموم کلره ابتدا یک لیتر از نمونه آب فیکس شده با n-هگزان، شیک شد و

ابزار بیولوژیکی در راستای تجزیه سموم کلره کشاورزی (در شرایط آزمایشگاهی) ارزیابی شوند.

## ۲. مواد و روش‌ها

### ۱.۲. ایستگاه‌های نمونه برداری

ایستگاه‌های بررسی شده شامل رودخانه تجن (سد شهید رجائی، پل آهنی راهبند و مصب)، رودخانه بابلرود (روستای سجاد محله، پل محمدحسن خان بابل و مصب) و شیروود (روستای نسامه، سلیمان آباد و مصب) بوده است. نمونه برداری به صورت تصادفی و با توجه به موقعیت جغرافیایی و استقرار روستاهای مختلف انجام شد. برای آنالیز کمی و کیفی سموم کلره سه رودخانه مهم و شیلاتی استان مازندران شامل تجن، بابلرود و شیروود انتخاب و بررسی شدند. تعداد ایستگاه در هر رودخانه، سه ایستگاه (بالادست رودخانه، محل عبور رودخانه از مناطق روستایی و زمین‌های کشاورزی و مصب رودخانه) بود. به منظور آنالیز سموم کلره، نمونه برداری در ۴ ماه اول سال، هر ۱۵ روز انجام شد و در ماه‌های مرداد و شهریور که میزان مصرف سم کاهش می‌یابد هر ۳۰ روز انجام شد و برای هر نمونه ۳ تکرار در نظر گرفته شد. سموم کلره بررسی شده شامل آلفا هگزا کلروبنزن<sup>۱</sup>، گاما هگزا کلروبنزن<sup>۲</sup>، بتا هگزا کلروبنزن<sup>۳</sup>، هپتاکلر<sup>۴</sup>، آلدین<sup>۵</sup>، اندرین<sup>۶</sup>، دی‌آلدین<sup>۷</sup> آندوسولفان<sup>۸</sup> و DDT<sup>۹</sup> (دی‌کلرو دی‌فنیل تری‌کلرو اتان) بوده است.

برای آنالیز میکروبی، نمونه‌گیری با استفاده از شیشه‌های کدر درب سمباده‌ای استریل از عمق ۲۰ سانتی‌متر زیر آب انجام شد و نمونه‌ها در کنار زنجیره سرد به آزمایشگاه میکروبیولوژی

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*

1. Alpha Hexachlorobenzene
2. Beta Hexachlorobenzene
3. Gama Hexachlorobenzene (Linden)
4. Heptachlor
5. Aldrine
6. Endrine
7. Dieldrine
8. Endosulfa
9. Cetrinide Dichlorodifeniltrichloroetan

لگاریتم داده‌ها) در محدوده استاندارد و نرمال قرار داشتند نیازی به نرمال‌بودن داده‌ها نبود با وجود این از آزمون کولموگروف اسمیرنوف برای نرمال کردن نهایی داده‌ها استفاده شد.

### ۳. نتایج

#### ۱.۳. آنالیز کمی و کیفی سموم کلره و

##### گونه‌های سودوموناس

نتایج سموم کلره آلدین، دی‌آلدین، اندرین، DDE, DDT<sup>۱</sup> (دی‌کلرو اتن)، آلفا هگزا کلروبنزن، بتا کلروبنزن، گاما هگزا کلروبنزن و هپتا کلرو در شش ماهه اول سال ۱۳۸۲ در رودخانه‌های تجن، بابلرود و رودخانه شیرود به شرح زیر تجزیه و تحلیل شده است.

میزان درصد سموم مشاهده شده در تمامی سه رودخانه از حداکثر به حداقل

DDT < بتا کلروبنزن < هپتاکلر، گاما کلروبنزن، آلدین < دی‌آلدین < اندرین < DDE < آلفا کلروبنزن بوده است.

میزان درصد سم DDT در مقایسه با سموم اندازه‌گیری شده بیشترین مقدار را به خودش اختصاص داده و میانگین آن در رودخانه‌های تجن، بابلرود و شیرود به ترتیب ۴۶/۵، ۶۶/۵ و ۴۳/۵ درصد بوده است. سم بتا کلروبنزن در میان سموم اندازه‌گیری شده در مرحله دوم قرار داشته و در مجموع نمونه‌های اندازه‌گیری شده در طول شش ماه ۳۰ درصد از کل نمونه‌های مشاهده شده قرار گرفته است. بیشترین مقدار سم گاما کلروبنزن در سه رودخانه تجن، بابلرود و شیرود به ترتیب ۷/۶، ۵/۶ و ۲۶/۲ میکروگرم بر لیتر بوده است. نتایج تست‌های بیوشیمیایی انجام شده در خصوص سه گونه از سودوموناس جدا شده از رودخانه‌های استان در جدول ۲ نشان داده شده است.

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 در نهایت 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 (به‌منزله 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 نمونه تزریق شده به دستگاه انجام گرفت. شرایط و مشخصات دستگاه در اندازه‌گیری سموم در آب به‌صورت ذیل بود:

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

Oven: 180 °C (1 min) to 240 °C at 2 °C / min

Carrier: He

Make up: N 2

Det: ECD

Inj: 1 µl

Flow Rate: 50 ml / min

منبع استفاده شده بر آزمایش‌های شیمیایی (سموم کلره) MOOPAM RAPMI USEPA 608, 508 , USEPA 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 معنادار بودن نتایج شیمیایی، از آنالیز واریانس یکطرفه و تست دانکن استفاده شد.

با توجه به اینکه داده‌های شیمیایی و میکروبی

1. 1,2-Dichloroethene

جدول ۲. نتایج تست‌های بیوشیمیایی سه گونه از سودوموناس جداسده

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

### ۲.۳. آزمایش‌های تجزیه 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 (جدول ۳). بیشترین جذب باکتری، در زمان ۴۸ ساعت بوده و پس از آن به صورت ثابت و یا اندکی کمتر بوده است (جدول ۴). نتایج تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که هیچ‌گونه اختلاف معناداری بین تغییرات حاصله در تجزیه 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 (۶۵/۴ درصد)، هپتاکلر (۶۱/۶ درصد)، آلدین (۵۸/۱ درصد)، اندرین

(۵۵/۱ درصد)، دی‌آلدین (۵۵/۸ درصد)، آندوسولفان (۵۸/۶ درصد) و DDT (۶۸/۲ درصد) بوده است.

نتایج آزمایش‌ها در نمونه کنترل (بدون باکتری) بیانگر کاهش آلفا هگزا کلروبنزن (۴۶/۱۱ درصد)، لیندن (۹/۸ درصد)، بتا هگزا کلروبنزن (۲۰ درصد)، هپتاکلر (۳/۱۳ درصد)، آلدین (۱۷ درصد)، اندرین (۳/۱۳ درصد)، دی‌آلدین (۳/۱۳ درصد)، آندوسولفان (۹/۱۹ درصد)، DDT (۳/۱۳ درصد) بوده است. بیشترین تجزیه خودبه‌خودی در بتا هگزا کلروبنزن و آندوسولفان و کمترین تجزیه نیز در اندرین، DDT و دی‌آلدین مشاهده شده است (جدول ۵).

جدول ۳. نتایج آزمایش‌های تجزیه 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
هیپتا کلر	۳۰	۲۶/۲۳	۲۰/۰۴	۱۴/۰۴	۱۱/۵
آلدین	۳۰	۲۳/۴۵	۱۷/۵۶	۱۳/۴۵	۱۲/۵۶
آندین	۳۰	۲۰/۷۶	۱۵/۳۵	۱۴/۳۵	۱۳/۴۵
دی‌آلدین	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)

جدول ۴. 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

جدول ۵. نتایج آزمایش‌های تجزیه بیولوژیک برخی سموم کلره در نمونه کنترل (بدون باکتری)

زمان (ساعت) نوع سم*	صفر	۲۴	۴۸	۵۴	۱۲۰
آلفا هگزا کلروبنزن	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
هیپتا کلر	۲۶	۲۶/۲	۲۷/۵۶	۲۹/۱	۳۰
آلدین	۲۴/۹	۲۵/۵	۲۷/۰۱	۲۷/۳۶	۳۰
آندین	۲۶	۲۶/۵۳	۲۸	۲۸/۵۶	۳۰
دی‌آلدین	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

به متابولیت‌های ساده‌تر تبدیل می‌شوند. تجزیه سموم کلره توسط گونه‌های سودوموناس با توجه به اینکه بیشترین تجزیه 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 تجزیه DDT سریع‌تر از لیندن بوده است. در نمونه

میکروارگانیزم‌ها از ترکیبات مختلف به منزله 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)

Crupta *et al.*, 2000; Deo *et al.*, 1998; Kim, )  
(1997).

غلظت سموم استفاده شده در این پژوهش ۳۰ میلی گرم بر لیتر بوده است. نتایج Rajkumar و Mononmani نشان داد که هنگام استفاده از ۱ میکروگرم بر میلی لیتر، حدود ۴۵-۶۰ درصد از DDT (۱۰ ppm) و هنگام استفاده از ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میکروگرم در میلی لیتر میزان تجزیه افزایش می یابد (۷۲ ساعت) و هنگام استفاده از ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر، میزان DDT به صفر می رسد (Rajkumar & Mononmani 2002). مطالعات Crupta و همکارانش در ارتباط با تجزیه لیندن نشان داد که هنگام استفاده از باسیلوس سیرکولانس<sup>۵</sup> و برویس<sup>۶</sup>، غلظت ۱ ppm لیندن پس از ۸ روز به صفر می رسد و غلظت ۵ ppm آن پس از ۸ روز به ۰/۲۶۸ (باسیلوس سیرکولانس) و ۰/۰۷۹۶ میلی گرم بر لیتر (ppm) (باسیلوس برویس) می رسد (Crupta *et al.*, 2000). با افزایش تعداد باکتری، زمان رسیدن به فاز رشد لگاریتمی سریع تر صورت می گیرد و از طرفی مقاومت باکتری به شرایط نامساعد محیطی بیشتر خواهد بود.

pH استفاده شده در این مطالعه برای تجزیه سموم کلره، ۷ بوده است. مطالعات انجام شده نشان می دهد که گونه های سودوموناس بهترین رشد را در pH خنثی دارند. pH خنثی، شرایط رشد را برای بیشتر میکروبها فراهم می کند و گونه های استفاده شده در این پژوهش نیز در این pH بهترین اثر را نشان داده اند. هر چند که گونه های استفاده شده، در pH های پایین تر یا بالاتر نیز رشد بطئی از خود نشان می دهند ولی pH اپتیمم آنها ۷ است. مطالعات Rajkumar و Mononmani نشان داد که با افزایش نسبی pH، رشد افزایش می یابد و در محدوده ۷-۷/۵ بیشترین کاهش DDT دیده می شود. بالاتر از این pH، رشد باکتری کاهش می یابد و از میزان تجزیه نیز کاسته می شود (Rajkumar & Mononmani 2002). PH

کنترل که هیچ گونه باکتری تلقیح نمی شد، میزان کاهش ۴ ppm بود که خود ناشی از فرایندهای دیگر نظیر اتواکسیداسیون، فتولیز بوده است. ساختمان شیمیایی لیندن ساده تر از DDT بود ولی بیشتر باکتری های استفاده شده، به دلیل داشتن آنزیم های دهالوژناز، DDT را به منزله منبع کربن اختصاصی انتخاب کردند و به هنگام استفاده از مخلوط باکتری ها، این اثر بهتر انجام گرفته که ناشی از اثر سینرژیسمی باکتری های استفاده شده بوده است (Amherst, 2000). نتایج مطالعات Rajkumar و Mononmani نشان داد که باکتری های گروه انتروباکتریاسه نظیر سراسیا<sup>۱</sup> توانایی تجزیه DDT را داشت و غلظت های ۵، ۱۰، ۱۵ میلی گرم در لیتر آن را به ترتیب پس از ۹۶، ۱۰۰، ۱۲۰ ساعت به صفر کاهش می دهد (Rajkumar & Mononmani 2002). مطالعات Aislabia و همکارانش بیانگر تجزیه DDT هنگام استفاده از مخلوط میکروارگانسیم است (Aislabia *et al.*, 1997).

اگر میکروب DDT را به منزله منبع اصلی کربن انتخاب کند، در غلظت های پایین نیز آن را استفاده می کند (Katayama *et al.*, 1993). تجزیه میکروبی توسط سایر باکتری ها از جمله آکالی ژنز<sup>۲</sup>، آئروباکتر<sup>۳</sup> و پلئوروتوس<sup>۴</sup> نیز گزارش شده است

(Martinez, 1997; Nedeau *et al.*, 1994). سودوموناس پوتیدا از جمله باکتری هایی است که توانایی بسیار بالایی برای تجزیه آلاینده های مختلف از جمله DDT را دارد (Subba Rao *et al.*, 1997). باکتری های مختلف نظیر باسیلوس ها، باکتری های احیاکننده سولفات و برخی باکتری های گرم منفی توانایی تجزیه لیندن را دارند که این امر به طیف آنزیمی و قدرت تجزیه کنندگی میکروارگانسیمها بستگی دارد

1. Serratia
2. Alcalijenes
3. Aerobacter
4. pleurotus

5. *Bacillus circulans*
6. *Bacillus brevis*

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

اسیدی شرایط را برای بیشتر باکتری‌ها محدود می‌کند ولی برخی قارچ‌ها قادر به تجزیه DDT در شرایط نسبتاً اسیدی هستند (Bumpus & Aust 1990). باکتری‌های تجزیه‌کننده لیندن، در دامنه وسیعی از pH قادر به رشد هستند و برخی از آن‌ها نظیر باسیلوس از pH ۵/۵ تا ۵/۷ قادر به رشد و تجزیه لیندن هستند و برخی دیگر مثل باکتری‌های احیاکننده سولفات و باکتری‌های متانوژن در pH اسیدی رشد و تکثیر و اقدام به تجزیه لیندن می‌کنند (Middeldorp *et al.*, 1996; Deo *et al.*, 1998; Bachmann, 1998; Alfred *et al.*, 1999; Awasthi *et al.*, 2000). دمایی که در این مطالعه برای تجزیه سموم کلره استفاده شد ۳۰ درجه بوده است. مطالعات انجام‌شده نشان می‌دهد که سودوموناس بهترین رشد را در دمای ۳۰ درجه داشته است. مطالعات

## REFERENCES

1. Aislabie, J. M., Richards, 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 hexachlorocyclohexane isomer in soil environment. *Crie Rev Microbiol;* 20(1):57-78.
10. Eichner, M., 1990. Residue determinations of organochlorine 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  $\delta$  ) 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 organochlorine 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. Laloe, 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  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  and  $\delta$ -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 contamination 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.