Archive of SID

مجله بیوتکنولوژی کشاورزی (دوره 5، شماره 1، بهار 1392)

ارزیابی برخی باکتری‌های بومی جداسازی شده در فرآیند تولید کمپوست

هلن پورمظاهری[1]، غلامرضا صالحی جوزانی*[2]، سید مجتبی خیام نکویی[2]، میثم طباطبایی[2]، رضا معالی امیری[3]، سعید سهیلی وند[2]، ابراهیم کریمی[2]، حسین قنواتی[4]، سید حسین میردامادیان[5]

1- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، پردیس کشاورزی ومنابع طبیعی دانشگاه تهران
2- اعضای هیئت علمی بخش تحقیقات بیوتکنولوژی میکروبی و ایمنی زیستی پژوهشکدهٔ بیوتکنولوژی کشاورزی ایران
3- عضو هیئت علمی گروه زراعت و اصلاح نباتات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
4- دانشجوی دکتری میکروبیولوژی دانشگاه اصفهان
5- مدیریت بیوتکنولوژی کشاورزی منطقه مرکزی کشور، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران

تاریخ دریافت: 1390/12/23، تاریخ پذیرش: 1391/4/17

چکیده

با توجه به نقش بسیار موثر ریزسازواره ها در فرایند تولید کمپوست از ضایعات شهری، شناسایی آنها و کاربرد آنها در فرایند می‌تواند نقش قابل توجهی در بهبود و غنی‌سازی کمپوست حاصل ایفا نماید. در تحقیق حاضر عوامل باکتریایی بومی موثر در فرایند تولید کمپوست از پسماندهای جامد شهری جداسازی و با استفاده از روش ژنومیکس مبتنی بر توالی‌های ریبوزومی شناسایی شدند. بدین منظور، نمونه‌برداری در طی فرایند تولید کمپوست در کارخانه کمپوست اصفهان صورت گرفته و عوامل باکتریایی به روش تهیه سری رقت جداسازی و خالص‌سازی شدند. جدایه‌های بدست آمده از نظر فعالیت آنزیمی سلولاز، زایلاناز، آمیلاز و پروتئاز به‌صورت کمی بررسی شدند. نتایج نشان داد که یازده جدایه دارای فعالیت آنزیمی متفاوت و متنوع بودند. جهت شناسایی جدایه‌ها، از تکثیر و توالی یابی قطعه 1500bp ژن *16SrDNA* استفاده شد. نتایج توالی‌یابی نشان داد که 8 سویه باکتریایی مزوفیل *Aneurinibacillus migulanus*، *Brevibacillus parabrevis*، *Brevibacillus agri*، *Pseudoxanthomonas suwonensis*، *Brevibacillus formosus*، *Bordetella petrii*، *Bacillus licheniformis* و سه سویه باکتریایی ترموفیل *Geobacillus thermodenitrificans*، *Geobacillus sp.*، *Thermoactinomyces intermedius* بودند. لذا با توجه به تنوع فعالیت آنزیمی سویه‌های جداسازی شده، امکان تولید و استفاده از این سویه‌ها به عنوان عامل تسریع‌کننده فرایند تولید کمپوست وجود دارد.

کلمات کلیدی: *باکتری، شناسایی مولکولی، فعالیت آنزیمی، کارایی، کمپوست.*

* نویسنده مسئول: غلامرضا صالحی جوزانی تلفن: 026-32701038 Email: gsalehi@abrii.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

در دنیای امروز، توجه زیادی به فرآیند کمپوست‌سازی معطوف شده است که این امر ناشی از اهمیت این پدیده به عنوان یکی از مهمترین فرآیندهای تبدیل مواد زائد به محصول ارگانیک و ثابت بوده است که به طور مستقیم مورد استفاده گیاه قرار می‌گیرد و می‌تواند به میزان زیادی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک را بهبود ببخشد (Adams and Frostick, 2008). از آنجا که یکی از مهمترین عوامل در فرآیند کمپوست‌سازی، جمعیت میکروبی موجود در فرآیند می‌باشد و نوع فلور میکروبی می‌تواند نقش بسیار مهمی در کیفیت کمپوست تولیدی داشته باشد، لذا تحقیقات متعددی در خصوص تعیین ریزسازواره‌های مهم در تبدیل پسماندها به کمپوست، انجام شده است که با تغییر در میزان جمعیت این گونه از ریزسازواره‌های مفید می‌توان به بهبود فرایند تولید کمپوست کمک کرد. فرآیند تولید کمپوست فرآیندی زیستی است که در آن ریزسازواره‌ها کلیدی‌ترین نقش را در پیشبرد و سرعت بخشیدن به آن بر عهده دارند. هرچه ریزسازواره‌های موجود از قدرت تجزیه کنندگی[1] آنزیمی قوی‌تری برخوردار باشند، مدت زمان فرآیند کوتاهتر شده که این موضوع از لحاظ اقتصادی حائز اهمیت است (Ryckeboer and Mergaert, 2003). فرآیند تولید کمپوست از سه مرحله مختلف تشکیل شده است در مرحله اولیه، فعالیت و رشد ریزسازواره‌های مزوفیلی منجر به افزایش دما و تجزیه مواد ساده‌تر می‌شود. در مرحله دوم، ریزسازواره‌های ترموفیلی به لحاظ شرایط اکولوژیکی غلبه می‌یابند و از رشد و فعالیت ریزسازواره‌های غیرترموفیل ممانعت به عمل می‌آورند. در مرحله پایانی که دوره رسیدگی و بلوغ نامیده می‌شود، میکروارگانیسم‌های مزوفیلی جدیدی مجددا شروع به رشد می‌کنند (Hassen *et al.*, 2001). تحقیقات متعددی در خصوص تعیین و شناسایی ریزسازواره‌های مهم در تغییر پسماندها به کمپوست با استفاده از روش‌های مبتنی بر کشت و روش‌های مولکولی انجام شده که با تغییر در میزان جمعیت ریزسازواره های کارآمد، بهبود و غنی سازی کمپوست تسریع می شود. استفاده از محیط‌های کشت اختصاصی[2]، خصوصیات بیوشیمایی و مرفولوژیک مثل قدرت تجزیه فسفولیپید اسیدهای چرب و یا تجزیه ترکیبات سلولزی و .. از روش های مختلف در جداسازی و شناسایی ریزسازواره ها بوده است (Forsyth and Webley, 1948). در روش کشت میکروبی، تنها بخشی از تنوع میکروبی در تجزیه ها وارد شده و بخش اعظمی از جامعه میکروبی از دست می‌رود و به تبع آن نیز نتایج حاصله نمی‌تواند تصویر جامعی از آنچه در محیط مورد بررسی رخ می‌دهد، به

[1] Degradation ability

[2] Culture

www.SID.ir

Archive of SID

حساب آید (Rappe and Giovannoni, 2003). راهکارهای جدیدی در شناسایی عوامل میکروبی موثر در فرایند تولید کمپوست به وجود آمده است که از آنها می‌توان به نشانگرهای مولکولی مختلف مثل RAPD[1]، ARDRA[2] (Singh *et al.*, 2011)، SSCP[3] (Sabine *et al.*, 2000)، T-RFLP[4] (Tiquia *et al.*, 2004)، ITS[5] (Ranjard *et al.*, 2001)، یا روش هایی که بر پایه آنالیز مستقیم توالی زیر واحد کوچک (SSU)[5] ژن ریبوزومی (rDNA) تکیه دارند همانند 18SrDNA[6] و 16SrDNA[7] (Blanc *et al.*, 1999) و به دنبل آن واکنش زنجیره ای پلیمراز[8] (PCR) ژن های اختصاصی با قابلیت های ویژه متابولیکی و یا توانایی تجزیه کنندگی سوبسترایی خاص که به طور گسترده در شنلسایی جوامع میکروبی کاربرد دارد و در نهایت توالی یابی DNA که در تجزیه و تحلیل اسید نوکلئیک به طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرند، اشاره نمود. با توجه به مشکلات موجود در تولید کمپوست در کشور از قبیل طولانی بودن زمان فرآیند تولید کمپوست و در نتیجه اقتصادی نبودن آن، هدف اصلی پژوهش حاضر جداسازی و شناسایی عوامل باکتریایی سازگار با فرآیند تولید کمپوست و موثر در تجزیه ترکیبات آلی موجود در کمپوست، به منظور استفاده های آتی آنها در تسریع فرآیند کمپوست بوده است.

مواد و روش ها

جدا سازی و خالص سازی سویه های باکتریایی

جهت جداسازی سویه های باکتریایی تجزیه کننده مواد آلی کمپوست، نمونه برداری از فرایند تولید کمپوست در کارخانه تولید کمپوست اصفهان صورت گرفت و جدا سازی به روش تهیه سری رقت طبق مراحل زیر انجام شد (Rastogi *et al.*, 2010). در استخراج عوامل باکتریایی از ذرات کمپوست، ابتدا نمونه های مختلف کمپوست الک شده تا فاقد هرگونه سنگ، چوب و ... شود. سپس 100 گرم از مخلوط کمپوستی به 500 میلی لیتر محلول سالین[9] افزوده شد و به مدت 3 ساعت بر روی شیکر مخلوط شد. پس از نشست فاز جامد، از فاز مایع رویی، در تلقیح محیط های کشت استفاده شد (Rastogi *et al.*, 2010). سپس به منظور غنی سازی ریزسازواره های تجزیه کننده، مقدار 10 میلی لیتر از عصاره فوق به 100 میلی لیتر محیط های کشت مختلف (پایه سلولز، زایلن، نشاسته، پروتئین) اضافه شد. محیط های فوق به مدت یک هفته درون انکوباتور شیکردار با دور 140 دور در دقیقه و محدوده دمایی 42 درجه

[1] Random Amplified Polymorphic DNA
[2] Amplified rDNA Restriction Analysis
[3] Single Strand Conformation Polymorphism
[4] Terminal – Restriction Fragment Length Polymorphism
[5] Small sub unit
[6] 18S ribosome DNA
[7] 16S ribosome DNA
[8] Polymerase Chain Reaction
[9] Salin solution

www.SID.ir

Archive of SID

سانتی گراد (به منظور جداسازی باکتری های های مزوفیل[1] تجزیه کننده) و 62 درجه سانتی گراد (به منظور جداسازی باکتری های ترموفیل تجزیه کننده) تیمار گردید. پس از آن پنج میلی لیتر از هر محیط به 100 میلی لیتر محیط کشت جدید همان ماده اضافه شد و مجدداً تحت شرایط قبلی و پس از یک هفته گرمخانه گذاری[2]، یک میلی لیتر آن به محیط جدید منتقل شد. این کار، چندین بار تکرار شده تا کدورت[3] ایجاد شده توسط اضافه کردن محیط قبلی به محیط جدید که ناشی از ذرات خاک بوده از بین رفته و محیط جدید در اثر رشد ریزسازواره ها کدر شود (Rastogi *et al.*, 2010). از آخرین محیط کشت فرآیند غنی سازی، رقت‌های مختلف تهیه گردید و رقت مناسبی از هر محیط به صورت خالص روی محیط کشت جامد (آگار دار) همان ماده کشت داده شد. جدایه های مختلف تجزیه کننده هر یک از مواد بر اساس اختلاف در شکل کلنی باکتری ها، جداسازی گردید و کلنی های منحصر ایجاد شده بر محیط‌های کامل آگار غذایی[4] خالص سازی شد. در نهایت با کشت مجدد هر یک از سویه های خالص شده در محیط مایع غذایی[5]، توانایی رشد هر یک از این باکتری ها ثابت شد. این جدایه‌ها در بانک ژن پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران جهت نگهداری طولانی مدت و ادامه مطالعات ذخیره شدند.

اندازه گیری و مقایسه توانایی فعالیت آنزیمی باکتری های جداسازی شده

پس از جدا سازی و خالص سازی باکتری‌ها، توانایی تجزیه کنندگی و فعالیت آنزیمی آنها شامل زایلاناز، پروتئاز، سلولاز و آمیلاز بررسی شد. بدین منظور، با استفاده از کیت های مخصوص آنزیم های اشاره شده، طبق دستورالعمل مربوطه شرکت (Invitrogen Corporation,USA) مقایسه نسبی سویه ها از نظر تولید آنزیم انجام شد و در نهایت در دستگاه پلیت ریدر مورد ارزیابی کمی قرار گرفتند.

شناسایی مولکولی باکتری ها

ماده ژنتیکی باکتری های مزوفیل با استفاده از کیت شرکت BioNeer طبق دستورالعمل مربوطه استخراج شد. DNA ژنومی باکتری های ترموفیل که همگی گرم مثبت بودند با استفاده از روش CTAB استخراج شدند. جهت بررسی کیفیت نمونه‌های استخراج شده DNA، از ژل آگارز یک درصد استفاده شد. DNA های با الگوی نواردهی پررنگ جهت انجام آزمایشات انتخاب شدند. از دستگاه نانودراپ نیز جهت بررسی کمیت DNA استفاده شد. واکنش زنجیرهای پلیمراز با استفاده از

[1] Mesophile
[2] Incubate
[3] Turbidity
[4] Nutrient agar
[5] Nutrient broth

www.SID.ir

Archive of SID

آغازگرهای PAF (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') و PAR (5'-AAGGAGGTGATCCAGCCGCA-3') باکتری‌ها و به کمک دستگاه ترموسایکلر Bio-Rad در 40 چرخه با اندکی تغییرات انجام شد (Zakaria *et al.*, 2010). پس از انجام PCR، محصول PCR بر روی ژل آگارز یک درصد مشاهده و تجزیه شد. نمونه های تکثیر شده DNA به مرکز توالی یابی Seqlab آلمان ارسال شده و به منظور شناسایی گونه‌ها و تهیه دندروگرام، از نرم افزارهای Chromas، Bioedit، DNAstar ، Blast و MEGA5 استفاده شد.

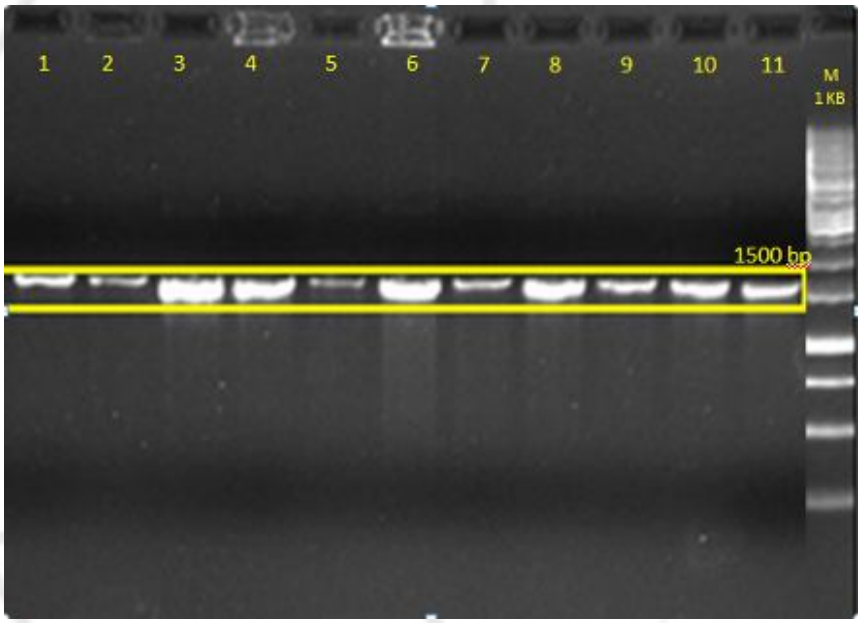
نتایج و بحث

در نتیجه جداسازی سویه های باکتریایی از مراحل مختلف فرآیند تولید کمپوست، یازده سویه باکتریایی با نام‌های ABRII1 تا ABRII11 جداسازی شدند. نتایج شناسایی مولکولی باکری-های جداسازی شده حاکی از وجود 8 سویه باکتریایی مزوفیل *Aneurinibacillus migulanus*، *Brevibacillus parabrevis*، *Brevibacillus agri*، *Pseudoxanthomonas suwonensis*، *Brevibacillus formosus*، *Bordetella petrii*، *Bacillus licheniformis* با قابلیت رشد در دماهای بین 30 تا 37 درجه سانتی گراد و سه سویه باکتریایی ترموفیل *Geobacillus thermodenitrificans*، *Geobacillus sp.*، *Thermoactinomyces intermedius* با دمای بهینه رشد 60-50 درجه سانتی گراد می باشد (شکل 1). در این مطالعه سویه‌های باکتریایی دخیل در فرآیند تولید کمپوست ضایعات شهری با روش مولکولی مبتنی بر توالی‌های ریبوزومی شناسایی شدند. استفاده از این ژن‌ها در شناسایی باکتری‌ها توسط محققین مختلف گزارش شده است (Hatamoto *et al.*, 2008; Tiquia, 2005). پس از استخراج DNA از سویه های قارچی و الکتروفورز در ژل یک درصد آگارز نتایج به دست آمده در تایید کیفیت و استخراج مطلوب مورد بهره برداری قرار گرفت. سپس محصولات حاصل از واکنش زنجیره ای پلیمراز بر روی ژل آگارز یک درصد مشاهده شدند و باندها مورد نظر با نشانگر اندازه 1000 bp مقایسه شد، قطعه 1500bp برای ژن *16S rDNA* در همه سویه‌ها شناسایی شد (شکل 1) و همگی در پایگاه اطلاعاتی داده National Center for Biotechnology Information (NCBI) ثبت شدند وبه هر توالی وارد شده شماره[1] تعلق گرفت (جدول 1).

[1] Accession number

www.SID.ir

Archive of SID



شکل 1- الکتروفورز محصول PCR حاصل از ژن *16S rDNA* برای قطعه **1500 bp** در یازده سویه جدا شده ABRII. چاهک های **1** تا **11** معرف ABRII1 تا ABRII11 و نشانگر اندازه **1 Kb (M)**.

Figure 1- Electrophoresis of PCR products of *16SrDNA* gene for 1500 bp fragment in eleven isolated strains. The wells 1-12 introduced ABRII1-ABRII11 and 1 Kb ladder (M).

جدول 1- نتایج ثبت در پایگاه اطلاعاتی (NCBI).

Table 1- Results of Submission in NCBI.

Species and Subspecies	Strains	Accession No.
Bacterial strains		
Aneurinibacillus migulanus	ABRII1	JN252029
Brevibacillus parabrevis	ABRII2	JN315628
Pseudoxanthomonas suwonensis	ABRII3	JN315629
Brevibacillus formosus	ABRII4	JN315630
Bordetella petrii	ABRII5	JN315631
Bacillus licheniformis	ABRII6	JN315632
Bacillus licheniformis	ABRII7	JN315633
Geobacillus thermodenitrificans	ABRII8	JN315634
Geobacillus sp.	ABRII9	JN315635
Thermoactinomyces intermedius	ABRII10	JN315636
Brevibacillus agri	ABRII11	JN604902

www.SID.ir

Archive of SID

بررسی کمی فعالیت آنزیمی جدایه های مذکور نشان داد که این سویه ها از نظر فعالیت آنزیمی سلولاز، زایلاناز، آمیلاز و پروتئاز متفاوت می باشند (جدول 2). ارزیابی های کمی سویه های باکتریایی نشان داد که در میان سویه ها، سویه های ABRII1، ABRII2، ABRII3، ABRII4، ABRII5، ABRII8 دارای بیشترین (تقریبا 4/5 واحد بر میلی لیتر) و سویه‌های ABRII6، ABRII9، ABRII10، ABRII11 دارای کمترین فعالیت پروتئازی و سویه ABRII7 فعالیت متوسطی را بین دو مقدار بیشترین و کمترین نشان دادند (جدول 2).

از نظر میزان تولید آنزیم سلولاز، سویه ABRII10 بیشترین تولید (0/11 میلی واحد بر میلی لیتر)، و سویه های ABRII1، ABRII4، ABRII6 و ABRII11 کمترین میزان تولید آنزیم سلولاز (0/04 میلی واحد بر میلی لیتر) را نشان دادند. مابقی سویه ها بطور متوسط این آنزیم را تولید نمودند. سویه ABRII10 (163/78 واحد بر میلی لیتر) آنزیم تجزیه کننده نشاسته (آمیلاز) را به میزان قابل توجهی تولید نمود و پس از آن سویه ABRII8 (32/54 واحد بر میلی لیتر) و ABRII2 (18/3 واحد بر میلی لیتر) به ترتیب بیشترین میزان تولید را نشان دادند و سایر سویه ها بطور متوسط این آنزیم را تولید نمودند و کمترین میزان آنزیم آمیلاز به ترتیب توسط سویه ABRII11 (12/03 واحد بر میلی لیتر) و ABRII9 (8/67 واحد بر میلی لیتر) تولید شد. در تولید آنزیم زایلاناز، بیشترین فعالیت را سویه ABRII11 (133/31 میلی واحد بر میلی لیتر) نشان داد و پس از آن سویه ABRII10 (130/30 میلی واحد بر میلی لیتر) قرار گرفت. کمترین میزان این آنزیم را سویه ABRII2 (62/66 میلی واحد بر میلی لیتر) تولید نمود و سایر سویه ها به میزان کمتری نسبت به سویه ABRII11 و به میزان متوسط تولید زایلاناز نمودند (جدول 2). این نتایج نشان می دهد که سویه های باکتریایی مورد مطالعه، بازه متفاوتی از فعالیت آنزیمی (پروتئاز، سلولاز، زایلاناز و آمیلاز) را در بر می گیرند و لذا با بکارگیری آنها به عنوان مخلوط میکروبی؛ به صورت مکمل میکروبی قوی چند آنزیمه عمل کرده و کلیه مواد بستره ای آلی را مورد تجزیه قرار می دهند که علاوه بر کاهش مدت زمان انجام فرآیند تولید کمپوست می توان ضایعات موجود در بستر پسماندها را به خوبی تجزیه و سبب افزایش کیفیت کمپوست حاصله شد (Raut *et al.*, 2008).

با توجه به نتایج بدست آمده در این پژوهش مبنی بر توان تولید چندگانه آنزیمی سویه های بدست آمده، این سویه ها می توانند در صورت استفاده در فرایند تولید کمپوست نقش بسزایی در تجزیه انواع مواد بستره ای آلی موجود در کمپوست داشته و همچنین در کوتاه کردن فرآیند و افزایش کیفیت محصول نهایی تاثیر شایان توجهی داشته باشند. استفاده از روش های مولکولی مبتنی

www.SID.ir

Archive of SID

بر نواحی حفاظت شده، علاوه بر افزایش سرعت شناسایی، تکرار پذیری، ارزان بودن و قابلیت اجرای ساده، روش مطمئنی در شناسایی فلور میکروبی کمپوست هستند. شناسایی گونه‌های باکتریایی با درجه بالای تجزیه کنندگی مواد بستره ای آلی از یک سو و تولید انبوه آنها به عنوان مایه تلقیح و بوستر (شتاب دهنده) در فرایند تولید کمپوست از سوی دیگر می تواند در بهبود فرایند جاری و مرسوم در کارخانه های تولید کمپوست حایز اهمیت باشد.

جدول 2- سنجش کمی فعالیت آنزیمی در سویه های باکتریایی جداسازی شده.

Table 2- Quantitative evaluation of enzyme activities in isolated bacterial strains.

تیمارها Treatments				سویه ها Strains
سلولاز Cellulase (Unit/ml)	آمیلاز Amylase (mUnit/ml)	زایلاناز Xylanase (mUnit/ml)	پروتئاز Protease (Unit/ml)	
0.04 ^{b}	13.15 ^{c,d,e}	121.94 ^{a,b,c}	4.31 ^{a}	ABRII1
0.05 ^{a,b}	18.3 ^{c}	62.66 ^{e}	4.50 ^{a}	ABRII2
0.05 ^{a,b}	12.77 ^{c,d,e}	95.94 ^{d}	4.53 ^{a}	ABRII3
0.04 ^{b}	18.09 ^{c,d}	110.89 ^{c,d}	4.16 ^{a}	ABRII4
0.05 ^{a,b}	13.89 ^{c,d,e}	96.75 ^{d}	4.63 ^{a}	ABRII5
0.04 ^{b}	17.9 ^{c,d}	112.35 ^{c,d}	2.34 ^{b}	ABRII6
0.05 ^{a,b}	13.05 ^{c,d,e}	114.62 ^{b,c}	4.03 ^{a,b}	ABRII7
0.05 ^{a,b}	32.54 ^{b}	114.95 ^{b,c}	4.42 ^{a}	ABRII8
0.05 ^{a,b}	8.67 ^{e}	124.78 ^{a,b,c}	2.24 ^{b}	ABRII9
0.11 ^{a}	163.78 ^{a}	130.30 ^{a,b}	2.24 ^{b}	ABRII10
0.04 ^{b}	12.03 ^{d,e}	133.31 ^{a}	2.25 ^{b}	ABRII11

اعداد جدول میانگین سه تکرار است/ تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک در سطح پنج درصد (P<0/05) با یکدیگر تفاوت آماری معنی داری ندارند.

Number of tables are mean of three replication/ Values followed by the same letters are not significantly different at P≤0.05 Duncan multiple range test.

تقدیر و تشکر

این پژوهش در قالب پروژه پژوهشی مشترک بین پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران و شهرداری اصفهان انجام پذیرفت. از کلیه همکاران بخش تحقیقات بیوتکنولوژی میکروبی و ایمنی زیستی پژوهشکده بخصوص سرکار خانم مهندس مریم موسیوند و همچنین همکاران شهرداری اصفهان و کارخانه کمپوست شهرداری اصفهان که

www.SID.ir

Archive of SID

همکاری صمیمانه ای در اجرای این پژوهش
داشتند تشکر و قدردانی می شود.

منابع

Adams JD, Frostick LE (2008). Analysis of bacterial activity, biomass and diversity during windrow composting. Waste Management 29(2): 598-605.

Blanc M, Marilley L, Beffa T, Aragno M (1999). Thermophilic bacterial communities in hot composts as revealed by most probable number counts and molecular (*16S rDNA*) methods. Microbiology Ecology 28(2): 141–149.

Forsyth W, Webley M (1948). The microbiology of composting. a study of the aerobic themophilic bacterial flora developing in grass composts. journal of Applied Microbiology 11(1): 34-39.

Hassen A, Belguith K, Jedidi N, Cherif A, Cherif M, Boudabous A, (2001). Microbial characterization during composting of municipal solid waste. Bioresource Technology 80(3): 217-225.

Hatamoto M, Tanahashi T, Murase J, Matsuya K, Hayashi M, Kimura M, Asakawa S (2008). Eukaryotic communities associated with the decomposition of rice straw compost in a Japanese rice paddy field estimated by DGGE analysis. Biology and fertility of soils 44(3): 527-532.

Ranjard L, Poly F, Lata J.C, Mougel C, Thioulouse J, Nazaret S (2001). Characterization of Bacterial and Fungal Soil Communities by Automated Ribosomal Intergenic Spacer Analysis Fingerprints: Biological and Methodological Variability. Applied and Environmental Microbiology 67(10): 4479-4487.

Rappe M, Giovannoni S (2003). The uncultured microbial majority. Annual Reviews in Microbiology 57(1): 369-394.

Rastogi G, Bhalla A, Adhikari A, Bischoff K, Hughes S, Christopher L, Sani R (2010). Characterization of thermostable cellulases produced by Bacillus and Geobacillus strains. Bioresource Technology 101: 8798–8806.

Raut M, William P, Bhattacharyya J.K, Chakrabarti T, Devotta S (2008). Microbial dynamics and enzyme activities during rapid composting of municipal solid waste – A compost maturity analysis perspective. Bioresource Technology 99 (14): 6512-6519.

Ryckeboer, J, Mergaert J, (2003). Microbiological aspects of biowaste during composting in a monitored compost bin. Joumal of Applied Microbiology 94(1): 127-137.

Sabine P, Koschinsky s, Schwieger F, Tebbe C (2000). Succession of Microbial Communities during Hot Composting as Detected by PCR–Single-Strand-Conformation Polymorphism-Based Genetic Profiles of Small-Subunit rRNA Genes. Applied and Environmental Microbiology 66(3): 930-936.

Singh A, Sharma A, Johri B (2011). Phylogenetic profiling of culturable bacteria associated with early phase of mushroom composting assessed by amplified rDNA restriction analysis. Annals of Microbiology 10: 304-308

Tiquia S. M, Ichida J. M, Keener H. M, Elwell D. L, Burtt E. H, Michel F. C (2004). Bacterial community profiles on feathers during composting as determined by terminal restriction

www.SID.ir

Archive of SID

fragment length polymorphism analysis of 16S rDNA genes. Applied Microbiology and Biotechnology 67(3): 412-419.

Tiquia S. M (2005). Microbial Community Dynamics in Manure Composts Based on 16S and 18S rDNA T-RFLP Profiles. Environmental Technology 26(10): 1101-1114.

Zakaria M R, Tabatabaei M, Ghazali F.M, Abd-Aziz S, Shirai Y, Hassan M.A

(2010). Polyhydroxy alkanoate production from anaerobically treated palm oil mill effluent by new bacterial strain Comamonas sp. EB172. World J Microbiol Biotechnol 26: 767–774.

www.SID.ir

Archive of SID

مجله بیوتکنولوژی کشاورزی (دوره 5، شماره 1، بهار 1392)

Evaluation of Some Native Bacteria Isolated From Composting Process

Poormazaheri H.[1], Salehi Jouzani Gh.[2*], Khayam nekoui S.M.[2], Tabatabaei M.[2], Maali Amiri R.[3], Soheilivand S.[2], Karimi E.[2], Ghanavati H.[4], Mirdamadian S.H.[5]

1- M.Sc. Student, Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran.
2- Scientific Board Members of Microbial Biotechnology and Biosafety Department, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII).
3- Scientific Board Member of Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran.
4- PhD student, College of Sciene, Isfahan University.
5- Agricultural Biotechnology Central Region Branch (Isfahan), Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran.

Abstract

During the composing process, microorganisms involved in degradation of agricultural and municipal waste are of great importance. Therefore, identification of beneficial microorganisms could play an important role in improving the quality of the produced compost. Bacteria play an effective role in degradation of organic matter, So the objective of the present study was isolation and characterization of important bacterial strains during composting process. The bacteria were isolated from mature compost in Isfahan Compost manufacture using serial dilution method. The enzymatic activities (amylase, cellulose, xylanase and protease) of the isolates were measured by quantitative methods. Eleven isolates with enzyme activity were isolated and used for more detailed studies. The isolated bacterial strains showed a wide range of different enzymatic activities. Molecular identification of the selected strains was performed based on PCR amplification and sequencing of a 1500 bp fragment of bacterial *16SrDNA* using PAF and PAR primers. Molecular studies revealed that 8 isolated bacterial strains were classified in the class of mesophilic bacteria, including *Aneurinibacillus migulanus, Brevibacillus parabrevis, Brevibacillus agri, Pseudoxanthomonas suwonensis, Brevibacillus formosus, Bordetella petrii* and *Bacillus licheniformis* ,and 3 isolates were placed in the class of thermophilic bacteria including *Geobacillus thermodenitrificans, Geobacillus sp., and Thermoactinomyces intermedius* which are commonly exist in the composting process. Because of the municipal solid wastes are enriched cellulosic, starchy and protein compounds, these strains have high potential to degrade these wastes and accelerate the composting process.

Keywords: Compost, Bacteria, Efficiency, Enzyme Activity, Molecular identification.

* Corresponding Author: Salehi Jouzani Gh. Tel: 09125683017 Email: gsalehi@abrii.ac.ir

www.SID.ir