اثر فاکتورهای مختلف بر روی حذف تلوریت توسط باکتری نمک دوست نسبی *Salinicoccus* sp. strain QW6

محمد علی آموزگار*، مراحم آشنگرف، فریدون ملک زاده
گروه میکروبیولوژي، دانشکده زیست‌شناسی، پردیس علوم ، دانشگاه تهران، تهران، ایران
* مسئول مکاتبات- آدرس الکترونیکی: *alamoze@yahoo.com*
(دریافت: ۸۴/۲/۱۲ ؛ پذیرش:۸۴/۶/۲۳)

چکیده

غلظت‌هاي بالای تلوریوم محلول (تلوریت) داراي اثرات حاد و مزمن بر روي موجودات زنده مي باشد. با هدف توسعه يك روش بيولوژيكي بـراي حـذف تلوریت، اثرات پارامترهاي مختلف شامل pH ۵/۵ تا ۱۰/۵، دمای ۲۵تا ٤۵ درجه سانتی گراد، غلظت‌های مختلـف نمـک‌هـای سـدیم کلرایـد، پتاسـیم کلراید و سدیم سولفات (۰/۵ تا ٤ میلی مولار)، غلظت‌های مختلف سلنو اکسی آنیونها (۲ تا ۱۰ میلی مولار) و غلظت‌هـای مختلـف تلوریـت پتاسـیم (۰/۱ تا ۱ میلی مولار) روی حذف تلوریت در شرایط هوازی در کشت یک سویه باکتری گرم مثبت نمک دوسـت نسـبی جـدا شـده از پسـاب کارخانـه نساجی مرینوس قم مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس صفات شکلی، فیزیولوژی و بیوشیمیایي این سویه به طور موقت در جنس *Salinicoccus* قـرار داده شد. حداکثر حذف تلوریت در pH ۷/۵، دمای ۳۵ درجه سانتی گراد،غلظتهای ۱/۵ مولار سدیم کلراید، ۰/۵ مولار سدیم سولفات، ۱ مولار پتاسـیم کلراید، ٦ میلی مولار سدیم سلینت، مشاهده گردید. تحت شرایط بهینه بالا غلظت اکسی آنیون سمی پتاسیم تلوریت در سوپرناتانت کشت باکتری بعد ازشش روز انکوباسیون در مقایسه با نمونه شاهد، از ۰/۵ میلی مولاربه ۰/۰۰۵ میلی مولار کاهش پیدا می‌کند (تقریباً ۹۹% تلوریت حذف شـد). رنـگ سوسپانسیون سلولي بدلیل تشکیل تلوریوم عنصری سیاه گردیـد. کریسـتالهای عنصـری تشـکیل شـده در سیتوپلاسـم سـلول بـاکتری بـا اسـتفاده از میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM) مشاهده شده و با استفاده از آنالیز EDS تایید گردیدند.

واژه‌هاي‌كليدي: احیای تلوریت، حذف تلوریت، نمک دوست های نسبی، *Salinicoccus*.

مقدمه

درطی سه دهه گذشته از ترکیبات تلوریوم بطور وسیع درصـنایع مختلـف از جملـه صـنایع شـیمي کـاربردي، متـالوژي و صـنایع الکترونیك اسـتفاده شـده‌اسـت (Klevay 1996, Taylor 1999). براین اساس اکسي‌آنیون‌سمی تلوریـت درمقـادیر بـالا در زمینهـا وآبهاي آلوده به پسابهاي‌صنعتي این کارخانجات بوفور یافت مي-شـود (Taylor 1999). براسـاس اسـتاندارد کیفـي محیطـي کـه درکشور ژاپن درسال ۱۹۹۳ ارائـه گردیـده اسـت میـزان اکسـي آنیون سمي تلوریت درپسابهاي صنعتي آلوده به این اکسي آنیون سمي از ۰/۰٤ تا ۰/٦ میلي‌مولار متغیر مي‌باشد. اطلاعات زیـادي در مورد سمیت این اکسي‌آنیون در محیط‌هاي طبیعي وجود دارد (Sekine *et al.* 1991). تلوریت هـم بـراي سـلولهاي پسـتانداران (Wagener *et al.* 1995) و هم براي میکرو ارگانیسم‌ها (Turner 2001) در غلظت‌هاي بسیار پایین حـدود ٤ میکرومـولار بشـدت سمی می‌باشد.

مقاومت نسبت به اکسی‌آنیون‌سمی تلوریت بصورت ذاتی در برخی از باکتریهای‌گرم مثبت یافت شد (Summers & Silver 1978)، درحالیکه درباکتریهای‌گرم منفی مکانیسم مقاومت پلاسمیدی بوده و از مسیرهای‌مختلف شامل احیای‌تلوریت به تلوریوم عنصری، کاهش جذب و یا افزایش دفع تلوریت صورت می‌گیرد (L-Jornes *et al.* 1994, Turner *et al.* 1992, Walter & Taylor 1992).

شناسایي میکرواگانیسم‌های تحمل پذیر به غلظـت‌هـاي بـالاتر اکسي‌آنیونهاي سمي قدم اول درجهت انتخاب سویه‌های است کـه قادر به پاکسازي محیط زیست بوده و مي‌توانـد مـا را بـه انتخـاب سویه برتر جهت حذف این ترکیبات سمي کمك کننـد (Trevors *et al.* 1987, Burton *et al.* 1987). در ایـــن میـــان میکروارگانیسم‌هاي نمک دوست یك گزینه مناسب مي‌باشند چـرا که بطور طبیعي این میکروارگانیسم‌ها خود به غلظـت‌هـاي بـالاي آنیوني و کاتیوني نیاز دارند. بر خـلاف میکروارگانیسـم‌هـاي نمـک دوست میکروارگانیسم‌هاي معمولي این توانایي را ندارند و نه تنهـا اثر سمي این ترکیبات در این میکروارگانیسم‌ها لحاظ مي‌باشد بلکه بالا رفتن غلظت نمك این ترکیبات سمي نیز اثر مهـاري بـر رشـد دارد ولـي ایـن مـوارد را در باکتریهـاي نمـك دوسـت مشـاهده نمي‌کنیم.

در رابطه با حذف تلوريت بوسيله ميكروارگانيسم‌ها مطالعات محدودی صورت گرفته است كه در اين رابطه مي‌توان به مطالعه Yamada و همكارانش (1997) درمورد حذف تلوريت بوسيله باكتريهاي فتو سنتتيک دريايی اشاره نمود اما تا به حال در مورد حذف تلوريت بوسيله ميكروارگانيسم‌های نمک دوست مطالعه ايی صورت نگرفته است.

در اين مطالعه ما حذف تلوريت از محيط كشت باكتريايي را با استفاده از يك باكتري نمك دوست نسبي داراي مقاومت بالاي نسبت به پتاسيم تلوريت مورد ارزيابي قرار داده ايم. هدف از انجام اين مطالعه:

۱- ارزيابي ميزان حذف تلوريت در باكتري نمك دوست نسبي جدا شده از ايران و ۲- بررسي اثر فاكتورهاي مختلف برروی اين حذف بود.

در اين پژوهش برای اولين بار حذف تلوريت توسط يک باكتری نمک دوست نسبی گزارش شده است.

مواد و روشها

مواد شيميايي: معرف دي اتيل دی تيوكاربامات (DDTC)، تلوريت پتاسيم و سلنيت سديم از شركت سيگما خريداري گرديد (St. Louis, Mo.). سديم سلنات از شركت مرك خريداري گرديد (E. Merck, Darmstadt, Germany).

محلولهاي استوك در آب مقطر حل شده و بعد از فيلتراسيون بوسيله فيلترهاي ۰/۲۲ ميكرونی در دماي ۴ درجه سانتی‌گراد برای مدت پنج روز نگهداری شدند.

سويه‌ها وشرايط كشت: از بين ۹۰ سويه باكتريايي جدا شده از مناطق مختلف ايران (خاكهاي شور و پر شور، آبهای پرشور و پساب كارخانجات نساجي)، ٤٩ سويه باكتري نمك دوست نسبي انتخاب گرديده و ميزان مقاومت به اكسی آنيون سمی تلوريت در اين سويه‌ها تعيين گرديد.

باكتريهاي نمك دوست نسبي در يك محيط نوترينت برات نمكي با تركيبات زير رشد داده شدند:

NaCl 81, $MgCl_2$ 7, $MgSO_4$ 9.6, $CaCl_2$ 0.36, KCl 2, NaHCO3 0.06, NaBr 0.026 (Nieto *et al.* 1998).

حداقل غلظت بازدارنده تلوريت (MIC) براي باكتريهاي نمك دوست نسبي: روش رقت در آگار براي تعيين مقاومت باكتريايي به پتاسيم تلوريت استفاده گرديد (Washington *et al.* 1980). MIC براي تلوريت در اين باكتريهاي نمك دوست نسبي بعد از يك هفته انكوباسيون تعيين گشت. غلظت سلولهاي تلقيح شده برابر cfu/ml ۱۰۸×۱/۵ بود. پايين ترين غلظت پتاسيم تلوريت كه رشد باكتريها را بعد از يک هفته گرما گذاری در دماي ۳۴°C باز مي دارد تحت عنوان MIC تعريف گرديد.

حذف تلوريت: سلولهای باكتريايی بصورت هوازي در ارلن مايرهاي ۱۰۰ ميلی ليتری حاوي ۲۵ ميلی‌ليتری محيط كشت نوترينت براث حاوی ۱۰% سديم كلرايد و۰/۵ ميلی‌مول تلوريت پتاسيم كشت داده شدند. غلظت اوليه سلولهاي تلقيح شده به اين ارلن‌ها ۱cc /۰ معادل نيم مك فارلند (cfu/ml ۱۰۸×۱/۵) بود. محيط-های كشت تلقيح شده بر روي يك شيكر دوراني درrpm ۱۰۰ و در دماي ۳۵درجه سانتی گراد گرماگذاري شدند.

بعد از سه روز گرماگذاري سوسپانسيون سلولي سانتريفوژ گشت(rpm ٤۰۰۰ برای مدت ۳۰ دقيقه). از مايع رويي براي تعيين غلظت تلوريت بوسيله متد كالريمتريك با كمك معرف DDTC استفاده شد (Turner *et al*. 1992).

فاكتورهاي موثر روي حذف تلوريت: مطالعات روي حذف تلوريت در ارلن‌هاي ۱۰۰ميلی‌ليتری شامل ۲۵ميلی‌ليتر محيط كشت استريل دارای پتاسيم تلوريت انجام گرديد. همه آزمايشات سه بار متوالي انجام گرديد و ميانگين آنها در نظر گرفته شد. به هركدام از محيط كشتها سوسپانسيون سلولي به ميزان cc ۰/۱ نيم مك فارلند معادل ۱۰۸ × ۱/۵ باكتری تلقيح گشت و تحت شرايط يكسان در دمای ۳۵°C برای مدت سه روز انكوبه گرديد. بعد ازگرماگذاري محتويات ارلن‌ها براي سنجش ميزان تلوريت باقيمانده بوسيله روش‌كالريمتريك با استفاده از معرف DDTC مورد ارزيابي قرار گرفتند (Turner *et al.* 1992). بيشترين ميزان حذف تلوريت بعد از زمان گرما گذاری ١٤٤ ساعت مشاهده گرديد.

حذف تلوريت در شرايط pH (۵/۵ تا۱۰/۵) ، دمای (۲۵تا ٤٥ درجه سانتی‌گراد)، غلظت‌های مختلف نمک‌های سديم كلرايد، پتاسيم كلرايد و سديم سولفات (۵ /. تا ٤مولار)، غلظت‌های مختلف سلنواكسی آنيونها (۲تا ۱۰ميلی‌مولار) كه حاوی ۰/۵ ميلی مولار پتاسيم تلوريت بودند تخمين زده شد.

جهت ارزيابي اثر غلظت‌هاي اوليه پتاسيم تلوريت، حذف تلوريت در غلظت‌هاي مختلف تلوريت (۰/۱ تا ۱ ميلی‌مولار) سنجيده شد.

مشاهدات ميكروسكوپ الكتروني و آناليزEDS : براي تعيين حضور تلوريوم در سلول باكتريايي، ۱ ميلي مولار پتاسيم تلوريت به محيط كشت باكتريايي در مرحله mid-log (OD 1.2) اضافه گرديد. وقتيكه كشت باكتريايي سياه گرديد طبق روش هاي استاندارد اين ذرات عنصری با ميكروسكوپ الكتروني گذاره مشاهده گرديدند (Raynolds 1963).

يك ميكروسكوپ الكتروني از نوع نگـاره‌ای(Oxford, MV2300) مجهز به آنالیزور EDS براي تشـخيص و تاييـد ذرات تلوريـوم در سلول باكتريايي استفاده گرديد.

نتايج

جداسازي باكتري هاي نمك دوسـت نسـبي مقـاوم بـه تلوريـت: جداسازي باكتريهاي نمك دوست نسـبي مقـاوم بـه تلوريـت بـا استفاده از يک محيط كشت سريع الرشد (نوتريـنـت آگـار بعـلاوه ۱۰% w/v) نمك دريا (Solar Salt) انجام شد.

از بين ۹۰ سويه باكتريايي جدا شده از منـاطق مختلـف ايـران (خاكهاي شـور و پـر شـور، آبهـای پرشـور و پسـاب كارخانجـات نساجي) ۴۹ سويه باكتري نمك دوست نسبي انتخاب گرديـده و مقاومت ذاتی اين سويه‌ها نسبت به اكسی آنيون پتاسيم تلوريـت تعيين گرديد (جدول۱).

جدول۱- الگوی مقاومت به اکسی انیونهای سمی تلوریت، سلنیت و سلنات (برحسب میلی‌مولار) در سویه‌های نمک دوست نسبی جدا شده از مناطق مختلف ایران.

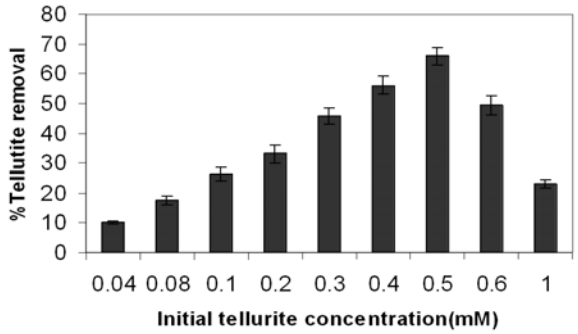
سویه باکتری	تلوریت پتاسیم (K_2TeO_3)	سلنیت سدیم (Na_2SeO_3)	سلنات سدیم (Na_2SeO_4)
QW6	۱۲	۸۰۰	<۱۰۰۰
QW5	۱۰	۲۵۰	<۱۰۰۰
MH8	۷	۴۰۰	۶۰۰
HB3	۶	۱۰۰	۲۵۰
CHW7	۵	۱۶۰	۲۰۰
سایر ۴۴ سویه	<۵	<۱۰۰	—

— تعیین نشده است.

بيشترين ميزان MIC براي تلوريـت در سـويه Qw6 مشـاهده گرديدكه معادل ۱۲ ميلـی‌مـولار بـود. سـويه باكتريـايي Qw6 از پساب نساجي مرينوس قم جدا گرديد. ايـن سـويه يـك بـاكتري گرم مثبت، كوكوس شكل و شديداً هوازي بود و بر طبق تستهاي فيزيولوژيكي وبيوشيميايي انجام شده، كتابهاي مرجـع و مقـالات منتشر شده در ارتباط با باكتريهاي نمك دوست نسبي مشـخص گرديدكه متعلق به جنس *Salinicoccus* مي‌باشد (داده‌هـا نشـان داده نشده است).

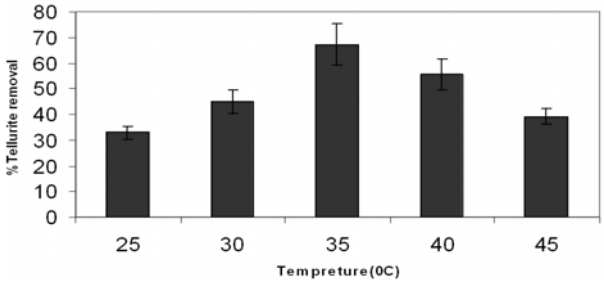
تعيين ميزان پتاسيم تلوريت باقی مانده در محيط كشت مايع: در بين سويه‌هاي مقاوم سويهQW6 بالاترين MIC را نسـبت بـه تلوريت نشان داد. اين‌سويه انتخاب گرديد و توانايي آن درحـذف تلوريت ازمحيط رشد و اثر پارامترهاي مختلف به روي اين حذف با استفاده از معرف DDTC مورد سنجش قرارگرفت. اين باكتري همچنين قابليت احياي تلوريت درمحيط كشت را درطـی سـه روز گرماگذاری در دماي۳۵ درجه‌سانتي‌گـراد دارا مـی‌باشـد. حـذف و احياي تلوريت درمحيط تلقيح نشده با باكتری مشـاهده نگرديـد و اين‌خود تاييدي برحذف و احيای تلوريت توسط اين سويه مي‌باشد.

اثر غلظت‌هاي اوليه تلوريت بر روي حذف آن: ميزان حذف تلوريت در غلظت‌هاي مختلف پتاسـيم تلوريـت سـنجش شـد و بيشـترين ميزان حذف در غلظت ۰/۵ميلی مولار مشاهده گرديد (شكل۱).

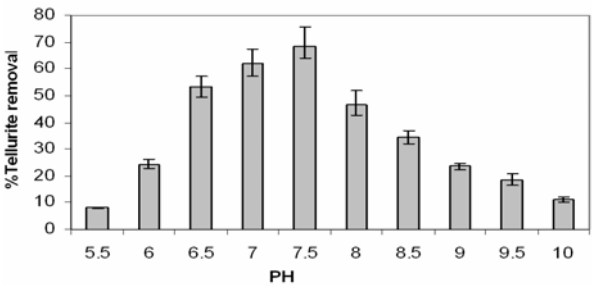


شكل۱- اثر غلظت‌های اوليه تلوريت پتاسيم بر روی حـذف آن دربـاكتری *Salinicoccus* سـويه QW6 در محـيط پايـه نوترينت براث داراي۱۰% سديم كلرايد ۷/۵= pH نتايج ارائه شده ميانگين سه بار آزمايش بوده و بار معـرف۱± انحـراف معيار می‌باشد.

اثرات pH و دما بر روي حـذف تلوريـت: ميـزان حـذف تلوريـت در دماهـاي ۲۵تـا ۴۵ درجـه سـانتی گـرادو pH هـاي۵ /۵ تـا ۱۰/۵ سنجيده شد. بيشترين ميزان حذف تلوريت در دماي°C ۳۵ و ۷/۵ pH مشاهده گرديد (شكلهاي ۲و۳).

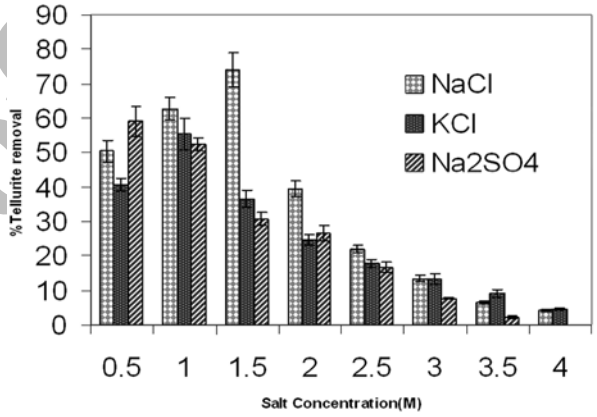


شكل۲- اثر دما روی حذف تلوريت پتاسيم در باكتری *Salinicoccus* سويه QW6 درمحيط پايه نوترينت برات دارای ۱۰% سديم كلرايد و ۵% ميلی‌مولارتلوريت پتاسيم (pH=۷/۵). نتايج ارايه شده ميانگين سه بار آزمايش بوده و بار معرف ۱± انحراف معيار می‌باشد.



شكل٣- اثر pH روی حذف تلوريت پتاسيم در باكترى *Salinicoccus* سويه QW6 درمحيط پايه نوترينت براث داراى ١٠% سديم‌كلرايد و ٥% ميلى مولار تلوريت پتاسيم. نتايج ارايه شده ميانگين سه بار آزمايش بوده و بار معرف ١± انحراف معيار مى‌باشد.

اثرات نمك بر روي حذف تلوريت: حـذف تلوريـت در حضـور برخـى از نمكها مورد ارزيابي قرار گرفت (شكل٤).

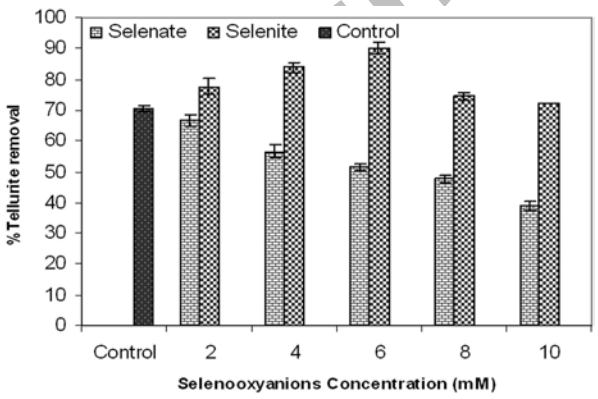


شكل٤- اثر نمكهاى سديم كلرايـد، پتاسـيم كلرايـد و سـديم سولفات روى حذف تلوريت پتاسـيم در بـاكترى *Salinicoccus* سويه QW6 محيط پايه نوترينت براث داراى ٥ % ميلـى مـولار تلوريت پتاسيم (pH=٧/٥). نتايج ارائه شده ميانگين سـه بـار آزمايش بوده و بار معرف ١ ± انحراف معيار مى‌باشد.

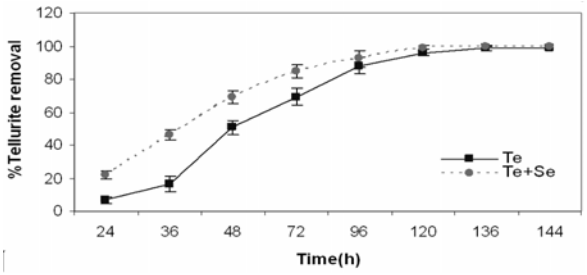
اثرغلظت‌هاى مختلف نمک‌هاى سديم كلرايد، پتاسيم كلرايـد و سديم سولفات (٥% تا ٤مولار) روى حذف تلوريت تعيين گرديد. بيشـترين ميـزان حـذف تلوريـت در حضـور ١/٥ مـولار NaCl مشاهده گرديـد. ايـن ايزولـه (جدايـه) همچنـين قابليـت حـذف تلوريت را درحضور سديم سولفات و پتاسيم كلرايد دارا مي‌باشد. با افزايش غلظت NaCl از٠/٥ مولار به ١/٥مولار غلظـت تلوريـت در سوپرناتانت تحت شرايطي كه محيط كشت حـاوي ٠/٥ ميلـي مولار تلوريت مي‌باشـد كـاهش پيـدا كـرده و تقريبـاً ٧٥% از آن حذف شد، تحت شرايط مشابه، افزايش غلظت KCl از ٠/٥ به ١ مولار سبب كاهش ٥٥ درصدي تلوريت در سوپرناتانت گرديد. اين درحالي است كه افـزايش غلظـت سـديم سـولفات از ٠/٥ بـه ٣/٥ مولار ميزان حذف تلوريت كاهش پيـدا كـرده و بيشـترين ميـزان حذف در غلظت ٠/٥ مولار سولفات سديم مشاهده گرديـد (تقريبـاً ٦٠% تلوريت حذف شد).

اثر سلنواكسي آنيونها روي حذف تلوريت: اكسي آنيونهاي مختلـف و يونهاي فلزي سـنگين اغلـب در پسـابهاي كارخانجـات صـنعتي همراه با تلوريوم محلول يافت مي‌شوند. بنابراين ما در اين پـژوهش حذف تلوريت را تحت وجود برخـي از ايـن اكسـي آنيونهـا همـراه تلوريت مورد بررسي قرار داديم.

اثر غلظت‌هاي مختلف سلنواكسي آنيونها (٢تا ١٠ميلـى مـولار) روي حذف تلوريت تعيين گرديد (شكل ٥). بيشترين ميزان حذف تلوريت در حضور٦ ميلي مولار سلنيت سديم تعيـين گرديـد. ايـن باكتري قابليت حذف تلوريـت را در حضـور سـلنيت و سـلنات دارا بود. با افزايش غلظت سلنيت سديم از ٢ ميلـي مـولار بـه ٦ ميلـي مـولار غلظـت تلوريـت در سـوپرناتانت كشـت باكتريـايي، تحـت شرايطي كه ٠/٥ ميلي مولار تلوريت بـه محـيط كشـت باكتريـايي اضافه شده بود كاهش پيداكرده و تقريبـا ٩٠% آن حـذف گرديـد. تحت شرايط مشابه، با افزايش غلظـت سـلنات سـديم از٢ بـه ١٠ ميلي مولار ميزان حذف تلوريت بوسيله اين سويه كاهش پيدا كرد و بيشترين ميزان حذف تلوريت در غلظـت ٢ميلـي مـولار مشـاهد گرديد (تقريباً ٦٦% حذف تلوريـت در عـرض سـه روز گرماگـذاري مشاهده گشت). اين نتايج نشان داد كه سلنيت مي‌تواند به عنـوان عامل كاهش دهنده سميت تلوريت محسوب گردد.



شكل٥- اثر سلنواكسي آنيونها روي حذف تلوريـت پتاسـيم در باكترى *Salinicoccus* سويه QW6 در محيط پايه نوترينت بـراث داراى ١٠% سديم كلرايـد و ٥ /. ميلـى مـولار تلوريـت پتاسـيم (pH=٧/٥). نتايج ارايه شده ميانگين سه بار آزمايش بوده و بـار معرف ١ ± انحراف معيار مى‌باشد.

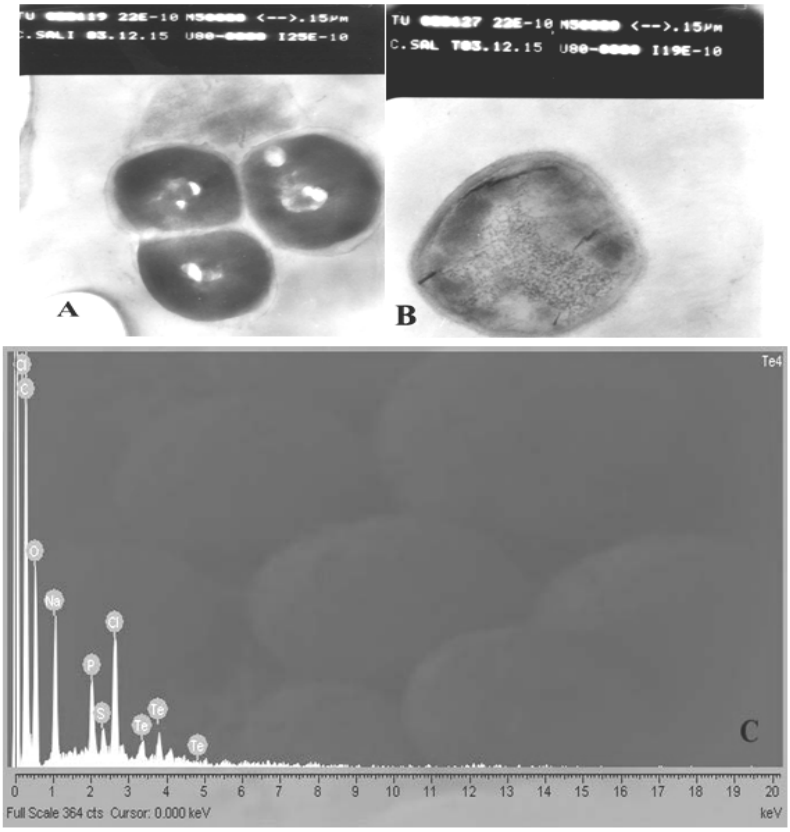


شکل٦- اثر زمـان انکوباسـیون بـر روي حـذف تلوریـت پتاسیم در باکتری *Salinicoccus* سـویه QW6 در محـیط پایه نوترینت برات دارای ١٠% سدیم کلرایـد و ٥ /. میلـی مولار تلوریت پتاسیم و یا به همراه ٦میلی مـولار سـلنیت سدیم (pH=٧/٥). نتایج ارایـه شـده میـانگین سـه بـار آزمایش بوده و بار معرف ١ ± انحراف معیار می‌باشد.

اثرات زمان انکوباسـیون روي حـذف تلوریـت: مـدت دوره حـذف تلوریت بوسیله سویه Qw6 در غلظت ٠/٥ میلي مـولار تلوریـت در شکل٦ نشان داده شده است. بیشـترین میـزان حـذف تلوریـت در ساعت ١٤٤ مشاهده گردید. این درحالي است که زمانیکه پتاسـیم تلوریت همراه با ٦ میلـي مـولار سـلنیت سـدیم اسـتفاده گردیـد. ماکزیمم حذف آن در ساعت ١٢٠ (تقریبـاً ١٠٠% تلوریـت حـذف شد) مشاهده گردید.

نتایج میکروسکوپ الکتروني وEDS: شـکل ٧A و ٧B نتـایج TEM مربوط به سویه Qw6 مي‌باشد. شکل٧A نمایانگر نمونه شاهد بـود که در آن سلولها کروي شکل، تقسیم بـه صـورت دوتـایي بـوده و ذرات تلوریوم در آن مشاهده نشده است. در حالیکه ذرات تلوریـوم در نمونه حاوي 1 mM تلوریت نشان داده شده است (شکل٧B).

آنالیز EDS نشان دهنده این موضوع مي‌باشد کـه ذرات داخـل سلولي همان تلوریوم عنصري مي‌باشند (شکل ٧C).



شکل٧- A- میکروگراف میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM) باکتری *Salinicoccus* سویه QW6 در محـیط پایـه نوترینـت برات دارای ١٠% سدیم کلراید. B - میکروگراف میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM)بـاکتری *Salinicoccus* سـویه QW6 در محیط پایه نوترینت براث دارای ١٠% سدیم کلراید و ١ میلی‌مولار تلوریـت پتاسـیم. C- آنـالیز ذرات عنصـری تلوریـوم بـا استفاده از یك میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM مجهز به آنالیزور EDS).

بحث

باكتري‌هاي نمك دوست نسبي از نظر فيلوژنتيكي گروه متنوعي از باكتري‌ها هستند كه از لحاظ رشدي سازگار با درصدهاي پايين نمكها مي‌باشند، اما اين توانايي را دارند كه تغييرات سريع در جهت تطبيق با غلظت‌هاي بالاي نمك داشته باشند (Ventosa *et al.* 1998). از اين باكتري‌ها ممكن است جهت پاكسازي محيط‌هاي آلوده به فلزات سمي استفاده كرد. در اين پژوهش برای اولين بار مقاومت در سطح بالا نسبت به اكسی آنيون تلوريت در باكتری‌های نمک دوست نسبی نشان داده شده است.

در اين راستا ۴۹ سويه باكتري نمك دوست نسبي از محيط-هاي مختلف در ايران جدا شدند و مقاومت آنها نسبت به اكسي-آنيون سمي پتاسيم تلوريت مورد ارزيابي قرار گرفت (جدول ۱). بالاترين ميزان MIC نسبت به تلوريت۱۲ ميلی مولار بود كه در سويه Qw6 مشاهده گشت. ميزان مقاومت سويه QW6 به تلوريت بسيار بالاتر از سويه *R. spharoides* 2.4.1 (Moore & Kaplan 1992, 1994) و *Natronococcus occultus* (Pearion & Jablonski 1999) و تقريباً ۲۰۰۰ برابر بيشتر از *Escherichia coli* (Jobling & Ritchie,1987) مي‌باشد.

سويه باكتريايي‌Qw6 كه در اين مطالعه مورد استفاده قرار گرفت از پساب نساجی مرينوس قم در ايران جدا گشت. بر اساس مطالعات مورفولوژيكي و فنوتيپي روشن گشت كه سويه QW6 متعلق به جنس *Salinicoccus* مي‌باشد.

در ادامه اين تحقيق براي اولين بار نشان داده شد كه مي‌توان يون تلوريت را از محيط رشد باكتري نمك دوست *Salinicoccus* sp. strain Qw6 حذف كرد. با استفاده از روش كالريمتريك و معرف DDTC ميزان حذف يون تلوريت و كاهش آن در محيط كشت باكتريايي نشان داده شد.

در راستاي توسعه روشهاي زيستي جهت حذف يون تلوريت، تاثير عوامل مختلف بر روي حذف تلوريت بوسيله *Salinicoccus* sp.strain QW6 مورد مطالعه قرار گرفتند كه منجر به تبديل يون سمي تلوريت به تركيبات غير سمي نا محلول تلوريوم مي شدند. بيشترين ميزان حذف تلوريت در شرايط زير مشاهده گرديد: pH 7.5, NaCl, 1.5M, Na_2SO_4, 1M و KCl, 1M و دما ºC ۳۵ و ميزان غلظت يون تلوريت در محيط كشت mM ۰/۵ مي‌باشد (شكل ۱تا ٤).

تحت شرايط بهينه بالا پس از ١٤٤ ساعت بيشترين ميزان حذف تلوريت مشاهده شد. پس از شش روز ميزان غلظت يون تلوريت در سوپرناتانت از ۰/۵ ميلی مولار به كمتر از۰/۰۰۵ ميلی مولار رسيد كه تقريباً ۹۹% از يون تلوريت حذف شده بود (شكل٦).

در ادامه اين تحقيق اثرات متقابل غلظت‌هاي مختلف اكسي-آنيون سلنيت (۲تا ۱۰ميلی مولار) بر افزايش حذف اكسي آنيون سمي پتاسيم تلوريت مورد ارزيابي قرار گرفت (شكل ۵). زماني كه ۰/۵ ميلی مولار از پتاسيم تلوريت همراه با سديم سلنيت استفاده شد ميزان حذف تلوريت در سويه QW6 بطرز چشمگيری كاهش پيدا كرد. كه می‌توان چنين استنباط نمود كه سلنيت سديم می‌تواند اثرات القايی بر روی آنزيم تلوريت ردوكتاز مسئول احيای تلوريت داشته باشد.

تبديل يون تلوريت محلول به تلوريوم مي تواند مكانيسم مهمي در جهت حذف اين تركيب در محيط‌هاي آلوده داراي درصد نمك بالا باشد. باكتري نمك دوست نسبي كه در اين آزمايش جدا گشت اين قابليت را داردكه به ميزان زياد آنيون سمي را به تلوريوم غير سمي تبديل كند.

مي‌توان اميدوار بود كه اين باكتري نامزد مناسبي براي حذف اكسي آنيون سمي تلوريت وساير اكسي آنيونها و فلزات سنگين از پساب‌هاي آلوده كه داراي درصد نمك بالا هستند باشد.

منابع:

Burton G.A., Gidding T.H., Debrine P., Fall R. 1987: High incidence of selenite-resistant bacteria from a site polluted with selenium. *Appl. Environ. Microbiol.* **53:** 185–188.

Jobling M.G., Ritchie D.A. 1987: Genetic and physical analysis of plasmid genes expressing inducible resistance of tellurite in *Escherichia coli*. *Mol. Genet.* **208:** 288–293.

Klevay L.M. 1976: Pharmacology and toxicology of heavy metals, tellurium. *Pharmacol. Ther.* **1:** 223–229.

L-Jornes G., Osborn A.M., Ritchie D.A., Strike P., Hobman J.L., Brown N.L., Rouch D.A. 1994: Accumulation and intracellular fate of tellurite- resistant *Escherichia coli*: A model for the mechanism of resistance. FEMS *Microbiol. Lett.* **118:** 113–120.

Moore M.D., Kaplan S. 1992: Identification of intrinsic-high-level resistance to rare–earth oxides oxyanions in members of the class proteobacteria: characterization of tellurite, selenite, and rhodium susquioxide reduction in *Rhodobacter sphaeroides*. *J. Bacteriol.* **174:** 1505–1514.

Moore M.D., Kaplan S. 1994: Members of the family Rhodospirillaceae reduce heavy-metal oxyanions to maintain redox poise during photosynthetic growth. *ASM News* **60:** 7-23.

Nieto J.J., Fernandez-Castillo R., Marquez M.C., Ventosa A., Quesada E., Ruiz-Berraquero F. 1989: Survey of metal tolerance in moderately halophilic eubacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **55:** 2385-2390.

Pearion C.T., Jablonski P.E. 1999: High-level intrinsic resistance of *Natronococcus occultus* to potassium tellurite, *FEMS Microbiol. Lett.* **74:** 19–23.

Raynolds E.S. 1963: The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque strain in electron microscopy. *J. Cell. Biol.* **17:** 208–212.

Sekine Y., Tsurmi K., Hashimoto Y. 1991: Tellurium concentration in soil: Relation to atomosphere aerosol. *Environ. Sci.* **1:** 47–56.

Summers A.O., Silver S. 1978: Microbial transformation of metals. *Ann. Rev. Microbiol.* **32:** 637–672.

Taylor D.E. 1999: Bacterial tellurite resistance. *Trends Microbiol.* **7:** 111–115.

Taylor D.E.,Walter E.G., Sherburne R., Bazett-jonnes D.P. 1998: Sructure and location of tellurium deposited in *Escherichia coli* cells harboring tellurite resistance plasmids. *J. Ultrastruct. Mol. Struct. Res.* **99:** 8–26.

Trevors J.T., Oddie K.M., Belliveau B.H. 1985: Metal resistance in bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* **32:** 39–54.

Turner R.J., Hou Y., Weiner J.H., Taylor D.E. 1992: The arsenical ATPase efflux pump mediates tellurite resistance. *J. Bacteriol.* **174:** 3092–3094.

Turner R.J. 2001: Tellurite toxicity and resistance in Gram-negative bacteria. *Recent Res. Dev. Microbiol.* **5:** 9–77.

Turner R., Weiner j., Taylor D. 1992: Use of diethylditiocarbamate for quantitative determination of tellurite uptake by bacteria. *Anal. Biochem.* 204–295.

Ventosa A., Nieto J.J., Oren A. 1998: Biology of moderately halophilic aerobic bacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **62:** 504–544.

Wagner M., Towes A.D., Morell P. 1995: Tellurium blocks cholesterol synthesis by inhibiting seualene metabolism: preferential vulanerability to this metabolicblock eads to peripheral nerous system demyelination. *J. Neurochem.* **57:** 1891–1901.

Walter E.G., Taylor D.E. 1992: Plasmid-mediated resistance to tellurite: exprssed and cryptic. *Plasmid.* **27:** 52–64.

Washington J.A., Sutter V.L. 1980: Dilution susceptibility test: agar and macro-broth dilution procedures. In Lennette E. H., Balows A., Hausler W. J. Jr. & Truant J. (eds), Manual of clinical microbiology. Pp. 453-458. American Society for Microbiology, Washington, D.C. 3rd ed.

Yamada A., Miyagishima N., Matsunaga T. 1997: Tellurite removal by marine photosynthetic bacteria. *J. Mar. Biotechnol.* **5:** 46–49.