Archive of SID

محیط شناسی، سال سی و ششم، شمارهٔ ۵۶ ، زمستان ۸۹، صفحهٔ ۷۵-۸۶

تعیین آستانه تحمل باکتری‌ها به سرب، روی و کادمیوم در سه نوع فاضلاب صنعتی

آزاده نصرآزادانی[1*]، آرزو طهمورث‌پور[2]، مهران هودجی[3]

۱-کارشناس ارشد مهندسی کشاورزی خاک‌شناسی، عضو باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان

۲- استادیار میکربیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان atahmoures@khuisf.ac.ir

۳- دانشیار خاک‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان m_hoodaji@khuisf.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۸/۱/۲۹ تاریخ پذیرش:۸۹/۳/۲۹

چکیده

جذب زیستی فلزات سنگین یکی از مؤثرترین فناوری‌ها در انتقال فلزات سنگین از مکان‌های آلوده بوده که در دهه اخیر استفاده شده است. جمعیت و فعالیت میکربی در آبهای آلوده با فلزات سنگین تغییر یافته و کاهش می‌یابد. از طرف دیگر میکروارگانیسم‌های مقاوم به این آلاینده‌ها، سازوکارهای مقاومتی را ایجاد می‌کنند که منجر به ایجاد گونه‌های مقاوم با توانایی تحمل سمی‌بودن فلزی می‌شوند. پایین‌ترین غلظت فلز که از رشد باکتری‌ها جلوگیری کند، حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد باکتری در نظر گرفته شده است. در این مطالعه به منظور ارزیابی آستانه مقاومت باکتری‌های مقاوم به فلزات سنگین سرب، روی و کادمیوم در سه نمونه پساب صنعتی، ۰/۵ میلی‌لیتر از هر نمونه ، در سه رقت و دو تکرار، در محیط کشت پایه فلز، با غلظت ۰/۵ میلی‌مول فلز، به روش انتشار بر پلیت کشت شد. پس از جداسازی باکتری‌های مقاوم به فلز، حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد تعیین شد. میانگین حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد برای فلز سرب در پساب‌ها به ترتیب ۲/۵۷، ۲/۲ و ۱/۵ میلی‌مول بر لیتر، به‌دست آمد. میانگین حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد، در مورد فلز روی در پساب‌های مختلف، به ترتیب ۲، ۰ و ۱/۴۶ میلی‌مول بر لیتر بوده و ۱۰۰٪ باکتری‌های مقاوم به کادمیوم، میانگین حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد برابر با ۰/۵ میلی‌مول بر لیتر داشتند. بر اساس نتایج به دست آمده اکثر باکتری‌های مقاوم، از نوع گرم مثبت بودند. هدف این مقاله تعیین آستانه مقاومت باکتری‌ها به فلزات سنگین است که موجب دستیابی به بازده بالاتر در تصفیه پساب‌های صنعتی با استفاده از باکتری‌ها می‌شود.

کلید واژه

باکتری‌های مقاوم، فلزات سنگین، حداقل غلظت ممانعت کننده، پساب صنعتی، میکروارگانیسم

سرآغاز

فلزات سنگین می‌توانند در پساب‌های حاصل از صنایع فلزی، آبکاری، استخراج معادن، کارخانه‌های تولید باتری، آلیاژسازی و ذوب فلز وجود داشته باشند و همراه با پساب این صنایع وارد آبهای زیر آلوده رودخانه‌ها شده و از جنبه‌های مختلف زیست محیطی و بهداشتی، بر آنها اثر بگذارند. شناسایی و ارزیابی غلظت انواع مختلف آلاینده‌های موجود در آنها ضروری بوده و این عمل باید قبل از تخلیهٔ آنها به آبهای جاری انجام گیرد (Kurniawan, et al., 2006). بسیاری از محققان آثار شدید آلودگی فلزات سنگین بر جمعیت میکربی را اثبات کرده‌اند (Ilham, et al., 2004). میکروارگانیسم‌ها و از جمله باکتری‌ها برای رشد به برخی از فلزات احتیاج دارند، اگرچه اغلب این فلزات سمی‌اند ولی در مقادیر کم برای حیات لازم و ضروری محسوب می‌شوند (Canovas, et al., 2003). در پاسخ به سمی‌بودن فلزی، تعداد کل جامعهٔ میکربی و گوناگونی آنها کاهش می‌یابد و البته تأثیر این فلزات و آلاینده‌ها بر میکروارگانیسم‌ها، تابع غلظت آنها در محیط است. در دههٔ اخیر آلودگی و حضور بیش از حد فلزات سنگین خطر جدی را در زیستگاههای طبیعی به‌وجود آورده است. فلزات به دلیل ماهیت سمی، مثل مواد آلی در محیط پاکسازی نمی‌شوند و خصلت عنصری خود را حفظ کرده، در محیط باقی می‌مانند و جایگزین فلزات ضروری موجود در جایگاههای اتصال می‌شوند و به این ترتیب از طریق تخریب DNA، RNA، مهار سنتز پروتئین، ممانعت از

نویسنده مسئول: تلفن: ۰۹۱۳۲۱۰۵۴۴۷

E-Mail: azadeh.nasr@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

فرایندهای آنزیمی و مهار تقسیم سلولی، به سلول و فرایندهای سلولی آسیب می‌رسانند. جمعیت و فعالیت میکربی در خاک و آبهای آلوده با فلز تغییر یافته و کاهش می‌یابد، ولی از طرف دیگر میکروارگانیسم‌های مقاوم به این آلاینده‌ها، سازوکارهای مقاومتی را ایجاد می‌کنند که منجر به ایجاد گونه‌های مقاوم با توانایی تحمل سمی‌بودن فلزی می‌شوند (Maier, et al., 2000).

نتایج مطالعات مختلف نشان داده که فلز سرب به صورت ترکیبات متعددی وجود دارد. سمی‌بودن این ترکیبات تا حدودی به عوامل و شرایط محیطی وابسته است. موارد متنوعی از جمله pH بر جذب و سمی‌بودن سرب تأثیر دارند.

برای نمونه سرب در طبیعت به صورت عادی برای بازیافت، بین ۲۲۰–۵۰۰۰ سال زمان لازم دارد. به همان نسبت که غلظت سرب بر کیفیت جامعهٔ میکربی مؤثر است، بر کمیت‌هایی نظیر رشد، مرفولوژی، فعالیت‌های بیوشیمیایی نیز اثر دارد و در نتیجه باعث کاهش تعداد و تنوع گونه‌ای می‌شود. البته با وجود سمی‌بودن قابل توجه سرب، میکروارگانیسم‌ها سازوکارهای متنوعی را برای مقابله دارند و با عکس‌العمل‌هایی نظیر تبخیر، رسوب در بیرون سلول و جلوگیری از وارد شدن فلز، یا اتصال در سطح سلول و تجزیهٔ درون سلولی، همچنان در حضور فلز به حیات خود ادامه می‌دهند.

جذب سرب به صورت داخل، یا برون سلولی و با سازوکارهای متعددی صورت می‌گیرد. شرایط محیطی که به نحوی بر حلال‌بودن سرب اثر دارند، جذب و شدت سمیت سرب را تحت تأثیر قرار می‌دهند. pH، بایومس میکربی، دما و زمان از جمله عوامل مهم در جذب سرب به شمار می‌آیند (Veglio, et al., 2003). در مورد فلز روی نیز مانند سرب، فاکتورهای محیطی به طور گسترده بر فراوانی و قابلیت دسترسی با تغییر غلظت‌های مناسب در موقعیت‌های مختلف تأثیر می‌گذارد (Choudhury and Srivastava, 2001).

میکروارگانیسم‌ها برای بقاء باید محیط خود را تحت نظر داشته باشند و ورود فلزات به سیتوپلاسم خود را کنترل و تا آنجا که می‌توانند مقادیر کافی از فلزات ضروری را کسب کرده و همچنین از تجمع سمی فلز جلوگیری کنند. یون‌های فلز ضروری از طریق ناقلان اختصاصی و غیراختصاصی به سلول وارد می شوند. از دو سیستم جذب موجود، سیستم غیراختصاصی سریع و بر اساس شیب غلظت از طریق غشای سیتوپلاسمی باکتری‌هاست. سیستم دیگر جذب، جذب اختصاصی بوده که نسبتاً کند و فقط در زمان نیاز، گرسنگی، یا موقعیت متابولیکی خاص، انجام می‌شود (Choudhury and Srivastava, 2001).

عوامل محیطی نظیر رشد، وضعیت باکتری، چگونگی و مقدار سمی‌بودن فلز سنگین به طور مستقیم بر توان جذب میکروارگانیسم‌ها در آب، سیستم‌های فاضلاب، یا خاک مؤثر است. برخی از محققان، جذب کادمیوم را در سلول‌های مرده و زندهٔ باکتری‌ها بررسی کردند و دریافتند که میزان جذب نه فقط به حیات میکروارگانیسم، بلکه به زیستگاه میکربی هم مرتبط است.

روشهای مناسب و تا حد امکان کامل و البته با صرفه و کم‌هزینه در این راستا و به‌منظور حذف این آلاینده‌های پایدار شناسایی شده، چراکه تصفیهٔ پساب‌های صنعتی بخصوص در اقلیم‌های خشک و نیمه‌خشک با منابع کم آبهای سطحی و زیرزمینی، اهمیت زیادی دارد (Al-yaqout, 2003). یکی از روشهای مؤثر برای این منظور را می‌توان تصفیه بیولوژیک پساب با باکتری‌ها و به طور کلی میکروارگانیسم‌ها نام برد. بسیاری از میکرب‌ها به فلزات متعدد مقاومت پیدا کرده‌اند و قادر به جذب درون، یا برون سلولی آنها هستند و البته تأثیر این فلزات و آلاینده‌ها بر میکروارگانیسم‌ها، تابع غلظت آنها در محیط است. از این رو سعی می‌شود تا از طریق این میکرب‌ها، آلودگی فلزات را در محیط کاهش دهند.

سازوکارهای مقاومتی باکتری‌ها به فلزات سنگین شامل تجزیه فلزات و کمپلکس‌ها، تبدیل فلز به نوع کمتر سمی و انتشار و جریان مستقیم فلز به درون سلول است. اکثر فلزات سنگین در داخل سلول بر روی گرانولهای پلی‌فسفات قرار گرفته، و یا از طریق باند شدن با پروتئین‌های با وزن مولکولی کم به‌نام متالوتیونئین و فیتوژلاتین، بر آنها قرار می‌گیرند (Lefcort, et al., 2002).

گروههای مختلف باکتری‌های مقاوم به کادمیوم وجود دارند که از طریق سازوکارهای متفاوت مقاومت، به سطوح مختلف کادمیوم، مقاومت نشان می‌دهند (Roan and Pepper, 2000). نتایج تحقیقی نشان داد که جذب زیستی فلزات از طریق روشهای ساده فیزیکی و بدون صدمه زدن به ساختار جذب‌کنندهٔ فلز، انجام می‌شود (Ilham, et al., 2004).

جذب زیستی نیز روشی ساده و کم‌هزینه است که طی واکنش‌های تعادلی و از طریق باند کردن و جذب فلزات روی گروههای عاملی سطح سلول، فلزات را از محلول‌های آبی استخراج می‌کند (Chojnacka, et al., 2005).

www.SID.ir

Archive of SID

از آنجا که اغلب فلزات سنگین به فرمهای محلول و قابل حل در پساب‌ها هستند، روشهای مذکور نمی‌توانند نتایج آنچنان رضایت‌بخشی داشته باشند و به‌خصوص زمانی که فلزات در مقادیر کم باشند، استفاده از روشهای زیستی می‌تواند نیروی بالایی داشته باشد. لازم به ذکر است که توان روشهای زیستی تصفیه فلزات سنگین و کاربرد باکتری‌های مقاوم به این آلاینده‌ها، به حد مقاومت و توان کاهش آثار سمی این ترکیبات سمی، به باکتری‌ها بستگی دارد. انواع مختلف باکتری‌ها آستانه مقاومت متفاوتی به فلزات سنگین از خود نشان می‌دهند که این مسئله علاوه بر نوع باکتری، به غلظت فلز موجود در محیط و در تماس با پیکرهٔ میکربی نیز وابسته است (Hussein, et al., 2004).

به این ترتیب و بر اساس نتایج تحقیقات مختلف، به‌دلیل سمی‌بودن و حضور گستردهٔ فلزات در محیط، میکرب‌ها راههای عجیب و بی‌مانندی برای مقابله با فلزات ایجاد می‌کنند و انواع مختلف سازوکارهای مقاومتی در حضور فلزات سنگین از خود نشان می‌دهند. فلزات به‌طور مستقیم، و یا غیرمستقیم بر رشد و متابولیسم میکرب‌ها اثر می‌گذارند به‌طوری‌که در حضور این آلاینده‌ها، میکروارگانیسم‌ها آنها را به‌طور فعال (جذب زیستی)[۱] و یا به‌صورت غیرفعال (تجمع زیستی)[۲] جذب می‌کنند که این روش برتری‌هایی نسبت به روشهای معمول فیزیکی- شیمیایی به‌کارگرفته شده، ایجاد می‌کند (Nies, 2003).

کاربرد جذب‌کننده‌های بیولوژیکی در دهه‌های اخیر، به‌عنوان راهکاری امیدبخش برای مدیریت فلزات سنگین در محیطهای آبی، معرفی شده است. فرایند جذب زیستی نسبت به تجمع زیستی کاربرد بیشتری دارد. زیرا سیستم‌های زنده (جذب فعال) اغلب به افزودن عناصر غذایی و افزایش اکسیژن‌خواهی بیولوژیکی[۳] و شیمیایی[۴] در فاضلاب نیاز دارند.

جذب زیستی فلزات سنگین به‌منزلهٔ روشی بالقوه برای بازیابی فلزات سنگین از پساب‌های صنعتی معرفی شده است. بسیاری از محققان جذب زیستی را برای انتقال فلزات سنگین از پساب‌های صنعتی، میکروارگانیسم‌های رشدکرده در محیط‌های آزمایشگاهی، یا بایومس تولید شده از صنایع داروسازی و تولید غذا و یا واحدهای تصفیه پساب استفاده کرده‌اند که فلزات سنگین بر سطح، یا در داخل ساختار میکروارگانیسم‌ها جذب می‌شوند (Lucho-Constantino, et al., 2005). در مطالعات مختلفی که توسط محققان انجام شده، تأثیر غلظت فلزات بر حد مقاومت میکربی، و افزایش آن با افزایش غلظت در محیط ثابت شده است. محققان حصول سطوح بالای مقاومت و تحمل وسیع به فلز را در گونه‌هایی که شناسایی کرده بودند، به وجود مقادیر بالای غلظت فلز نسبت دادند. بررسی جمعیت باکتری مقاوم به فلز در این تحقیق و مقایسهٔ آن با غلظت‌های فلزی وارد شده به محیط کشت، همبستگی مثبت معنی‌داری را بین غلظت فلز و مقاومت فلزی در باکتری‌ها نشان می‌دهد. این نتیجه در مورد تمامی فلزات مورد بررسی در این تحقیق صادق بوده است و مؤید ارتباط مثبت غلظت آلاینده‌های فلزی، با ظهور مقاومت میکربی در باکتری‌هاست (Abou-Shanab, et al., 2003_b).

در شرایط اپتیمم از نظر شاخص‌های مؤثر در رشد، باکتری‌ها حداکثر رشد و تکثیر را می‌توانند داشته باشند و محیط نامساعد می‌تواند به کاهش رشد آنها منجر شود (Pradhan and Rai, 2001). ولی باکتری‌ها زمانی که برای مدتی طولانی در شرایط غیرنرمال از نظر این عوامل محیطی قرار می‌گیرند، از طریق توانایی‌های جدیدی که می‌توانند منشاء ژنتیکی و یا ساختاری داشته باشند، خود را با شرایط موجود وفق می‌دهند. از جمله این موارد، غلظت‌های فلزی در محیط زیست باکتری و حصول مقاومت به آنهاست که در این مقاله بررسی می‌شود.

به این ترتیب با توجه به ارتباط حد مقاومت باکتری‌ها با غلظت فلزات سنگین، که در مطالعات زیادی به آن پرداخته و اثبات شده، اطلاع از آستانه مقاومت باکتری‌های مقاوم به این آلاینده‌ها، قبل از کاربرد آنها به منظور تصفیهٔ بیولوژیکی فلزات، می‌تواند به پاکسازی موفق‌تر فلزات سنگین از محیط منجر شده و این مسئله به منظور دستیابی به بازده بالاتر و توجیه اقتصادی بیشتر، دارای اهمیت است (Aleem, et al., 2003).

مواد و روشها

به منظور این مطالعه سه نمونه پساب صنعتی انتخاب و پس از انتقال به آزمایشگاه و بررسی برخی خصوصیات شیمیایی و بیولوژیکی، جمعیت کل باکتریهای هتروتروف موجود در این پساب‌ها به روش پورپلیت[۵]، در محیط کشت نوترینت آگار[۶] تعیین شد. همچنین نمونه‌های پساب در محیط کشت پایه فلزی(PHG) با غلظت ۰/۵ میلی‌مولار فلزات سرب، روی و کادمیوم، به طور جداگانه، به روش انتشار بر پلیت[۷]، در سه رقت و دو تکرار کشت داده شدند. کلونی‌های رشد یافته در محیط کشت PHG آگار، در محیط کشت PHG برات، با همان فلز و همان غلظت محیط اولیهٔ غنی‌سازی شده و سپس به روش انتشار بر پلیت، به محیط کشت

www.SID.ir

Archive of SID

PHG آگار حاوی ۱ میلی‌مولار فلز، کشت داده شده و در صورت رشد به ترتیب به محیط‌های کشت حاوی غلظت بالاتر فلز مورد نظر انتقال داده شدند.

پس از رشد باکتری‌ها، براساس رشد بر غلظت و عدم رشد بر غلظتی دیگر، غلظتی مابین هم در نظر گرفته شده و پس از تهیهٔ سوسپانسیون میکربی مناسب، رشد بر آن غلظت نیز بررسی شد. درنهایت حداقل غلظت جلوگیری‌کننده از رشد باکتری (MIC[8]) و نیز حداقل غلظت نابودکننده باکتری (MBC[9])، تعیین شد. به‌منظور شناسایی باکتری‌های مقاوم به فلزات سنگین، کلونی‌های رشدیافته در محیط کشت PHG آگار، که از نظر ظاهر به هم شباهت داشتند انتخاب شده، از آنها به منظور غنی‌سازی در لوله‌های حاوی محیط کشت PHG برات، با همان فلز و همان غلظت محیط اولیه استفاده شد. این لوله‌ها به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار داده شده و پس از ایجاد کدورت به منظور خالص‌سازی باکتری‌ها به روش Streak Plate Method بر محیط کشت PHG آگار، با همان غلظت فلزی، کشت داده شدند. از کلونی خالص تهیه شده، گسترش میکربی تهیه و در نهایت رنگ‌آمیزی گرم، برای شناسایی نوع باکتری انجام شد.

در روش رنگ‌آمیزی گرم، پس از تهیهٔ گسترش میکربی و فیکس‌کردن باکتری بر سطح لامل، به ترتیب محلول‌های کریستال ویوله، الکل استون و لوگل برای مدت ۱ دقیقه، ۳ تا ۴ ثانیه و ۱ دقیقه بر روی نمونه ریخته شده و در پایان هر مرحله، سطح نمونه با آب مقطر شسته شد.

پس از خشک شدن، نمونه با استفاده از میکروسکوپ نوری مشاهده و نوع باکتری شناسایی شد. در پایان، تجزیه‌و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار رایانه‌ای MSTAT-C انجام و رسم نمودارها در نرم افزار Excel انجام شد.

نتایج

خصوصیات شیمیایی، بیولوژیکی و غلظت فلزات سنگین بررسی شده در پساب‌ها، به ترتیب در جداول شمارهٔ (۱ و ۲) ذکر شده است. نتایج حاصل از شمارش کل جمعیت میکربی به روش پورپلیت، در محیط کشت نوترینت آگار، در پساب‌های بررسی شده در این تحقیق، وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪ بین جمعیت هتروتروف موجود در سه پساب مذکور را نشان می‌دهد که می‌تواند به خصوصیات فیزیکی و شیمیایی و ترکیبات متفاوت این پساب‌ها نسبت داده شود.

جدول شمارهٔ (۱): برخی از خواص شیمیایی و بیولوژیکی در پساب‌های مورد مطالعه

پساب	EC (dS/m)	pH	TDS	BOD_5 (mg/l)	COD
۱(صنعتی سمی)	۲/۱	۷/۴	۱۳۴۸	۲۱	۳۴۵۸
۲(ابتدای‌زهکش)	۲/۱	۷/۸	۱۳۷۷	۲۹/۴	۲۵۴
۳(صنعتی عادی)	۰/۷۵	۸/۶	۴۷۹	۳۲/۴	۱۶۹/۵

جدول شمارهٔ (۲): غلظت فلزات سنگین مورد بررسی در پساب‌های مورد مطالعه

پساب	Pb	Zn	Cd
	(µg/l)		
۱	۱۴۰	۳۶	۱۸
۲	۳۰	۱۵	۱۲
۳	۳۶	۱۷	۲۰

نتایج نشان داد که از نظر میانگین حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد باکتری‌های مقاوم به فلزات در هر پساب، اختلاف معنی‌داری در سطح ۱٪ مشاهده می‌شود (جدول شمارهٔ ۳).

جدول شمارهٔ (۳): نتایج تجزیهٔ واریانس میانگین حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد باکتری‌ها در پساب‌های مورد مطالعه

منابع تغییر	درجهٔ آزادی	میانگین مربعات		
		پساب ۱	پساب ۲	پساب ۳
تیمار	۲	۷/۵۸۴**	۱/۲۱۵**	۰/۱۰۶**
خطا	۶	۰/۰۲۷	۰/۰۲۴	۰/۰۰۵
کل	۸	۱۵/۳۳۲	۲/۵۷۴	۰/۲۴۰
CV%		۸/۷۸	۱۰/۶۹	۵/۵۳

** معنی‌دار در سطوح ۱ درصد

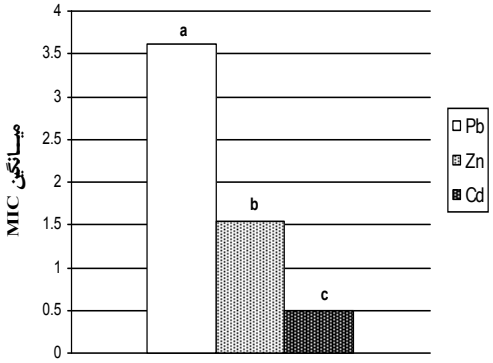
نمودار شمارهٔ (۱)، مقایسهٔ میانگین‌های حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد باکتری‌های مقاوم به فلزات را در پساب ۱، نشان می‌دهد.

در این پساب، بین حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد باکتری‌های مقاوم به سرب، روی و کادمیوم، اختلاف معنی‌داری در سطح ۱٪ وجود دارد. دلیل حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد بالاتر برای فلز سرب در پساب ۱ را می‌توان به غلظت بالاتر این عنصر در این پساب، نسبت داد.

وجود حداقل درصد مقاومت و حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد در مورد کادمیوم نیز به دلیل غلظت ناچیز این عنصر در پساب است.

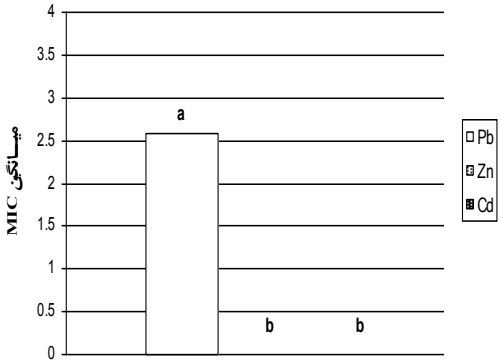
www.SID.ir

Archive of SID



نمودار شمارهٔ (۱): میانگین MIC باکتری‌های مقاوم به فلزات مختلف در پساب ۱(mM/l)

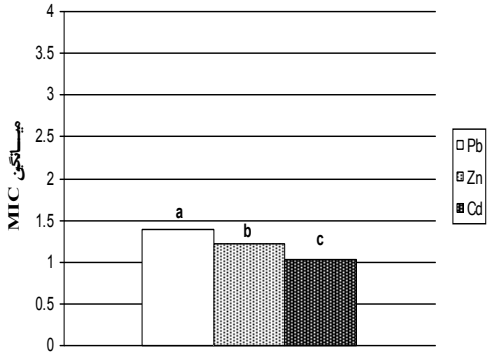
نمودار شمارهٔ (۲)، میانگین حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد باکتری‌های مقاوم در پساب ۲ را نشان می‌دهد. در این پساب، از نظر MIC، روی و کادمیوم تفاوت معنی‌داری با هم ندارند. در این پساب هیچ باکتری مقاوم به روی و کادمیوم شناسایی نشده است.



نمودار شمارهٔ (۲): میانگین MIC باکتری‌های مقاوم به فلزات مختلف در پساب ۲(mM/l)

نمودار شمارهٔ (۳)، مقایسه میانگین حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد باکتری‌های مقاوم به فلزات را در پساب ۳، نشان می‌دهد.

بین MIC باکتری‌های مقاوم به سرب، روی و کادمیوم در پساب ۳، اختلاف معنی‌داری مشاهده شده است. در این نمونه پساب نیز به دلیل وجود غلظت متفاوت این فلزات، آستانهٔ مقاومت متفاوتی در باکتری‌ها مشاهده شده است.



نمودار شمارهٔ (۳): میانگین MIC باکتری‌های مقاوم به فلزات مختلف در پساب ۳(mM/l)

جداول شمارهٔ (۴، ۵ و ۶) به ترتیب مقادیر MIC و MBC را برای باکتری‌های مقاوم به Pb، Zn و Cd، در پساب‌های مختلف نشان می‌دهند. میانگین MIC برای فلز سرب در پساب‌های مختلف در این تحقیق (به ترتیب در پساب ۱، ۲ و ۳)، ۲/۵۷، ۲/۲ و ۱/۵ میلی‌مول بر لیتر، به‌دست آمده است. حداقل و حداکثر MIC در مورد سرب، به ترتیب ۰/۵ و ۶ میلی‌مول بر لیتر و حداقل غلظت نابودکننده باکتری ۸ میلی‌مول بر لیتر بود. میانگین MIC در مورد فلز روی در پساب‌های مختلف، به ترتیب ۲، ۰ و ۱/۴۶ میلی‌مول بر لیتر بوده است. حداقل غلظت نابودکننده باکتری برای این فلز ۸ میلی‌مول بر لیتر به‌دست آمد. همچنین نتایج مربوط به MIC و MBC باکتری‌های مقاوم به کادمیوم در نمونه‌های مختلف پساب، در جدول شمارهٔ (۶) ارائه شده است. حداکثرMIC به‌دست آمده در مورد فلز Cd ، ۰/۵ میلی‌مول بر لیتر بوده که می‌تواند به‌دلیل غلظت پایین این عنصر در پساب و اثر سمی آن به عنوان یک آلاینده مهم باشد. از نظر مرفولوژی و واکنش گرم، نتایج نشان داد که از بین کل باکتری‌های هتروتروف موجود در پساب‌های مورد بررسی، ۳۵٪ باسیل گرم مثبت، ۲۵٪ کوکسی گرم مثبت، ۲۲٪ باسیل و ۱۸٪ کوکسی گرم منفی بودند. همچنین به طور کلی بیشترین درصد مقاومت به فلز، به ترتیب در باسیل‌های گرم مثبت، کوکسی‌های گرم مثبت، باسیل‌های گرم منفی و در نهایت کوکسی‌های گرم منفی مشاهده می‌شود و بدون در نظر گرفتن نوع باکتری از نظر باسیل و کوکسی، باکتری‌های گرم مثبت نسبت به گرم منفی، درصد بالاتری از کل باکتری‌های مقاوم شناسایی شده را به خود اختصاص داده‌اند.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول شمارهٔ (۴): نتایج MIC باکتری‌های مقاوم به سرب در پساب‌های مورد مطالعه

پساب	شماره باکتری	غلظت فلزPb (mM/l) / نوع باکتری	۱	۲	۴	۸	MIC	MBC
۱	۱	باسیل گرم مثبت	+	+	+	–	۴	۸
	۲	باسیل گرم مثبت	+	–	–	–	۱	۲
	۳	باسیل گرم مثبت	+	–	–	–	۱	۲
	۴	باسیل گرم مثبت	–	–	–	–	۰/۵	۱
	۵	باسیل گرم مثبت	+	+	+	–	۶	۸
	۶	باسیل گرم منفی	–	–	–	–	۰/۵	۱
	۷	باسیل گرم منفی	+	+	+	–	۵	۶
۲	۸	باسیل گرم مثبت	–	–	–	–	۰/۵	۱
	۹	باسیل گرم منفی	+	+	–	–	۳	۴
	۱۰	کوکسی گرم مثبت	+	+	–	–	۳	۴
	۱۱	باسیل گرم مثبت	+	+	–	–	۳	۴
	۱۲	باسیل گرم منفی	–	–	–	–	۰/۵	۱
	۱۳	باسیل گرم مثبت	–	–	–	–	۰/۵	۱
	۱۴	باسیل گرم مثبت	+	+	+	–	۶	۸
	۱۵	باسیل گرم منفی	+	+	–	–	۳	۴
	۱۶	باسیل گرم منفی	–	–	–	–	۰/۵	۱
۳	۱۷	کوکسی گرم ثبت	–	–	–	–	۰/۵	۱
	۱۸	کوکسی گرم مثبت	+	–	–	–	۱	۲
	۱۹	کوکسی گرم مثبت	+	–	–	–	۱	۲
	۲۰	کوکسی گرم مثبت	–	–	–	–	۰/۵	۱
	۲۱	کوکسی گرم مثبت	+	–	–	–	۱	۲
	۲۲	کوکسی گرم منفی	–	–	–	–	۰/۵	۱
	۲۳	کوکسی گرم مثبت	+	–	–	–	۱	۲
	۲۴	کوکسی گرم منفی	–	–	–	–	۰/۵	۱
	۲۵	کوکسی گرم مثبت	+	+	–	–	۳	۴
	۲۶	کوکسی گرم منفی	+	+	–	–	۳	۴
	۲۷	کوکسی گرم منفی	–	–	–	–	۰/۵	۱
	۲۸	کوکسی گرم منفی	+	+	+	–	۴	۶
	۲۹	کوکسی گرم مثبت	+	–	–	–	۱	۲
	۳۰	کوکسی گرم مثبت	+	–	–	–	۱	۲
	۳۱	کوکسی گرم منفی	+	+	+	–	۴	۶

www.SID.ir

Archive of SID

جدول شمارهٔ (۵): نتایج MIC باکتری‌های مقاوم به روی در پساب‌های مورد مطالعه

پساب	شماره باکتری	غلظت فلز Zn (mM/l) / نوع باکتری	۱	۲	۴	۸	MIC	MBC
۱	۱	کوکسی گرم مثبت	+	+	−	−	۳	۴
	۲	کوکسی گرم مثبت	+	−	−	−	۱	۲
	۳	باسیل گرم منفی	+	+	−	−	۲	۴
۳	۴	کوکسی گرم منفی	−	−	−	−	۰/۵	۱
	۵	کوکسی گرم منفی	−	−	−	−	۰/۵	۱
	۶	کوکسی گرم مثبت	+	+	+	−	۲	۴
	۷	کوکسی گرم منفی	−	−	−	−	۰/۵	۱
	۸	کوکسی گرم منفی	−	−	−	−	۰/۵	۱
	۹	کوکسی گرم مثبت	−	−	−	−	۰/۵	۱
	۱۰	کوکسی گرم منفی	−	−	−	−	۰/۵	۱
	۱۱	کوکسی گرم مثبت	−	−	−	−	۰/۵	۱
	۱۲	کوکسی گرم مثبت	+	+	+	−	۵	۶
	۱۳	کوکسی گرم مثبت	−	−	−	−	۰/۵	۱
	۱۴	کوکسی گرم منفی	+	+	+	−	۶	۸
	۱۵	کوکسی گرم مثبت	−	−	−	−	۰/۵	۱
	۱۶	کوکسی گرم منفی	−	−	−	−	۰/۵	۱
	۱۷	کوکسی گرم مثبت	−	−	−	−	۰/۵	۱

جدول شمارهٔ (۶): نتایج MIC باکتری‌های مقاوم به کادمیوم در پساب‌های مورد مطالعه

پساب	شماره باکتری	غلظت فلز Cd (mM/l) / نوع باکتری	۱	۲	۴	۸	MIC	MBC
۱	۸	باسیل گرم مثبت	−	−	−	−	۰/۵	۱
	۹	باسیل گرم مثبت	−	−	−	−	۰/۵	۱
۳	۴۳	کوکسی گرم منفی	−	−	−	−	۰/۵	۱
	۴۴	کوکسی گرم منفی	−	−	−	−	۰/۵	۱
	۴۵	کوکسی گرم منفی	−	−	−	−	۰/۵	۱
	۵۰	باسیل گرم مثبت	−	−	−	−	۰/۵	۱

نتیجه‌گیری و بحث

به گفته محققان اکثر روشهای فیزیکی و شیمیایی که برای حذف یون‌های فلزی از پساب‌ها استفاده می‌شوند، هزینهٔ بالایی دارند و نیز مشکل و وقت‌گیر هستند بنابراین ترکیب روشهای زیستی (ماهی، آب، باکتری) به طور فزاینده‌ای در قالب وسایل اکوتوکسیکولوژی به منظور کسب اطلاع بهتر در ارتباط با نیروی خطرهای مرتبط با دفع پساب صنعتی پیچیده در محیط توصیه می‌شود (Rengaraj, et al., 2005). روشهای مختلف برای انتقال فلزات سنگین از پساب‌های صنعتی وجود دارد که از جمله می‌توان به تبادل یونی، اکسیداسیون شیمیایی، رسوب شیمیایی، فولکوله‌سازی،

www.SID.ir

Archive of SID

استفاده از کربن فعال اشاره کرد. از آنجا که اغلب فلزات سنگین به فرم‌های محلول و قابل حل در پساب‌ها هستند، روشهای مذکور نمی‌توانند نتایج آنچنان رضایت بخشی داشته باشند و بخصوص زمانی که فلزات در مقادیر کم باشند، استفاده از روشهای زیستی می‌تواند نیروی بالایی داشته باشد.

به منظور افزایش بازده کابرد میکروارگانیسم‌ها و باکتری‌ها برای استخراج فلزات سنگین از محیطهای طبیعی، تعیین میانگین حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد بسیار راهگشاست و امکان مدیریت بهتر و کارایی بالاتری را در این زمینه فراهم می‌سازد.

به‌طورکلی مطالعات زیادی در رابطهٔ با میانگین حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد میکروارگانیسم‌ها انجام شده است.

در تحقیقی که بر روی یک خاک آلوده با نیکل انجام دادند، ۵۵/۵، ۹/۱، ۳/۳۱، ۱/۲۸، ۲۰، ۱/۱۳، ۶/۱۱، ۶/۶۳٪ از باکتری‌های مقاوم به فلزات نیکل، کروم، روی، کادمیوم، جیوه، آرسنیک، سرب، مس و کبالت، میانگین حداقل غلظت ممانعت کننده از رشدی به ترتیب برابر با ۱۵، ۵، ۱۰، ۵، ۰/۵، ۲۰، ۱۵، ۱۵ و ۱۰ میلی‌مول بر لیتر داشته‌اند، که سطوح بالای غلظت‌های فلزی، باعث حصول چنین MIC بالایی در گونه‌های مقاوم شده است (Abou-Shanab, et al., 2007).

در تحقیق دیگری از بین گونه‌های میکربی مقاوم به فلز، که از خاکی صنعتی جدا شده بودند، مقادیر حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد، برای فلزات مس، کادمیوم، روی، نیکل، سرب، کروم سه و شش ظرفیتی بیش از ۲۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای فلز جیوه برابر با ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، گزارش شد (Mali, et al., 2002).

میانگین حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد به‌عنوان، حداقل غلظتی از مادهٔ ضد میکربی است، که توانایی مهار رشد باکتری‌ها را پس از یک شب انکوباسیون دارد (Andrews, 2001). در مطالعهٔ دیگری که در ۴۳ زمین کشاورزی در غرب بنگال انجام شد، مشاهده شد که ۲۵٪ باکتری‌های مقاوم به Hg، غلظت‌های بالای ۲۷/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر فلز را تحمل می‌کنند (Gachni, 1989 ,.et al).

مقادیر این فاکتور برابر با ۳۲، ۲۰۰، ۴۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، به ترتیب برای جیوه، کادمیوم، روی، مس، نیکل و سرب، در بین باکتری‌های جدا شده از خاک، گزارش شد (Ansari and Malik, 2006).

در پساب ۱، ۲۸/۵٪ از باکتری‌های مقاوم به سرب، میانگین MIC برابر ۰/۵ و همین درصد میانگین MIC برابر ۱، میلی‌مول بر لیتر داشته‌اند و MIC برابر با ۴، ۵ و ۶ میلی‌مول بر لیتر نیز هر کدام در ۱۴/۳٪ از باکتری‌های مقاوم به سرب، دیده شده است. در پساب ۲، ۴۴/۴٪ از باکتری‌های مقاوم، میانگین MIC برابر با ۰/۵ میلی‌مول بر لیتر، ۴۴/۴٪ ، میانگین MIC برابر با ۳ میلی‌مول بر لیتر و ۱۱/۱٪ میانگین MIC ، ۶ میلی‌مول بر لیتر داشته‌اند ودر نهایت در پساب۳، ۳۳/۳٪ میانگین MIC برابر ۰/۵ میلی‌مول بر لیتر، ۴۰٪ میانگین MIC برابر ۱ میلی‌مول بر لیتر و میانگین MIC برابر ۳ و ۴ میلی‌مول بر لیتر نیز هر کدام در ۱۳/۳٪ از باکتری‌های مقاوم به سرب مشاهده شده است.

در بررسی توکلی(۱۳۷۸)، ۶۰ درصد باکتری‌های مقاوم به سرب، MIC بین ۴ تا ۸ میلی‌مول بر لیتر داشتند. در تحلیلی که طهمورث‌پور(۱۳۸۳)، برای فلز سرب در پساب اکریلیک+ انسانی و پساب اکریلیک خام، انجام داد به ترتیب ۱۲/۸ و ۱۵/۲ میلی‌مول بر لیتر به‌دست آمد که با وجود غلظت بالای فلز سرب در این پساب‌ها (به ترتیب ۱۵۷۵ و ۶۵۰ میکروگرم بر لیتر)، حصول چنین MIC بالایی، طبیعی به نظر می‌رسد.

در پساب ۱، MIC برابر ۱، ۲ و ۳ میلی‌مول هر کدام در ۳۳/۳ درصد از باکتری‌های مقاوم به فلز روی دیده شده است و پساب ۳، ۸۷/۵۷، ۷/۱، ۷/۱ و ۷/۱ درصد از باکتری‌های مقاوم به فلز روی، به ترتیب MIC برابر ۰/۵، ۴، ۵ و ۶ میلی مول بر لیتر داشتند.

میزان MIC روی را در یک پساب صنعتی، بین ۰/۰۶ تا ۴ میلی‌مول بر لیتر گزارش شد (Teitzel and Parsek, 2003) و یا در بررسی دیگری میزان این فاکتور برای پساب دباغی بین ۰/۳ تا ۱/۵ محاسبه شد (Verma, et al., 2001).

در بررسی دیگری MIC روی بین ۱/۵ تا ۲/۵ میلی‌مول بر لیتر گزارش شده است (Sabry, et al., 1997) که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. میزان MIC برای فلز کادمیوم که در یک بررسی عنوان شد، ۰/۱ تا ۱/۵ بوده است (Hassen ,et al., ,1998). در تحقیق دیگری که در پساب شهری صنعتی انجام شد، مقدار MIC برای این فلز۲ تا ۴ میلی‌مول بر لیتر به‌دست آمد (Fillali, et al., 2000). حداکثر مقدار این فاکتور را در پساب دیگری که بررسی شد، بین ۰/۵ تا ۱/۲ گزارش شد (Roan and Kellog, 1995).

همچنین مقادیر MIC برابر با ۳۲، ۲۰۰، ۴۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، به ترتیب برای Hg، Cd، Zn، Cu، Ni

www.SID.ir

Archive of SID

و Pb، در بین باکتری‌های جدا شده از خاک، ارائه شد(Ansari and Malik, 2006). نتایج حاصل از این مطالعه، با نتایج تحقیقات سایر محققان در این زمینه نیز، مشابه بوده است(Malik and Jaiswal, 2000).

در این تحقیق ۱۰۰٪ باکتری‌های مقاوم به Cd، MIC برابر با ۰/۵ میلی‌مول بر لیتر داشتند. در پساب‌های بررسی شده توسط طهمورث‌پور (۱۳۸۳)، ۷۰٪ باکتری‌های مقاوم به Cd، میانگین MIC برابر ۸ میلی‌مول بر لیتر داشتند، که این تفاوت قابل توجه می‌تواند به‌دلیل غلظت بالای کادمیوم (۱۲۵ و ۲۵۰ میکروگرم بر لیتر، به ترتیب در پساب اکریلیک+ انسانی و اکریلیک خام) در پساب مذکور، و البته غلظت ناچیز این عنصر در پساب صنعتی بررسی شده در این مطالعه، باشد.

در تحقیقی که توسط جمعی از محققان انجام شد، میانگین MIC برای فلزات Zn و Cd در گونه‌های مقاوم شناسایی شده، به ترتیب ۴۰ و ۲۰ میلی‌مول بر لیتر به‌دست آمد (Sprocati, et al., 2006).

باکتری‌های گرم مثبت به دلیل ساختار دیوارهٔ سلولی ساده‌تر، کنترل کمتری نسبت به ورود مواد خارجی نشان می‌دهند، در صورتی‌که باکتری‌های گرم منفی دیوارهٔ سلولی، ساختار پروتئینی پیچیده‌تری داشته و بنابراین ورود و جذب آلاینده‌های معدنی موجود در محیط بیرونی این باکتری‌ها، از جمله فلزات سنگین، با کنترل بیشتر و به میزان کمتری صورت می‌گیرد (رحیم‌زاده و همکاران، ۱۳۷۸).

غشای سلولی در سلول‌های گرم مثبت نسبتاً ساده و از دو تا سه لایه تشکیل شده است، در حالی‌که در باکتری‌های گرم منفی، این پوشش بسیار پیچیده و چند لایه است.

غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی ماهیت لیپیدی داشته که باعث می‌شود مولکول‌های آبدوست از آن دور نگه داشته شوند. البته مولکول‌های با وزن مولکولی کم در این نوع از باکتری‌ها با پروتئین‌های پورین به داخل سلول وارد می‌شوند ولی مولکول‌های بزرگ به آهستگی و کمتر به آنها نفوذ کرده و بنابراین مقاومت بالایی به آنها نشان می‌دهند (رحیم‌زاده و همکاران، ۱۳۷۸).

به‌طورکلی میکروارگانیسم‌ها به واسطه واکنش‌های بین یون‌های فلزی و سطوح باردار منفی میکربی، به فلزات اتصال می‌یابند و در این بین، باکتری‌های گرم مثبت تمایل بیشتری برای اتصال به این یون‌ها دارند (امتیازی، ۱۳۷۹).

با توجه به این مطالب و نتایج به‌دست آمده، می‌توان تحمل بیشتر انواع باکتری‌های گرم مثبت به فلزات را به توانایی بالاتر آنها در جذب، و به‌دنبال آن حصول مقاومت در طول زمان، نسبت داد. همان‌طورکه نتایج عنوان شد، بیشترین درصد مقاومت به فلز، به ترتیب در باسیل‌های گرم مثبت، کوکسی‌های گرم مثبت، باسیل‌های گرم منفی و در نهایت کوکسی‌های گرم منفی مشاهده شد که در تحقیقی مشابهی که توسط حکمی‌فرد (۱۳۸۴) در یک پساب صنعتی انجام داد، درصد مقاومت به ترتیب برابر با ۵۰٪، ۲۵٪ و ۲۵٪ برای باسیل‌های گرم مثبت، کوکسی‌های گرم منفی و استافیلوکوکوس اورئوس، به‌دست آمد.

مقایسهٔ مقادیر حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد به‌دست آمده در این مطالعه با سایر مطالعات و تحقیقات انجام شده، و با توجه به غلظت‌های ناچیز فلزات در پساب‌های مورد بررسی، نقش غلظت در حدود مقاومت حاصل شده در میکروارگانیسم‌ها و ارتباط این دو فاکتور را با هم، نشان می‌دهد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با همکاری صمیمانه شرکت سهامی ذوب آهن اصفهان و راهنمایی استادان راهنما و مشاور اینجانب محقق شد که لازم می‌دانم کمال تشکر را از ایشان به عمل آورم.

پیشنهادها

بر اساس نتایج به‌دست آمده در این مطالعه و نتایج پژوهش‌های سایر محققان در این زمینه، با توجه به این مطلب که روش تصفیه زیستی فلزات سنگین، روشی مؤثر و کم‌هزینه در حذف این آلاینده‌ها از محیط‌های طبیعی است، پیشنهاد می‌شود، ابعاد مختلف آن مورد بررسی دقیق قرار گرفته، انواع گونه‌های مقاوم شناسایی شده و تکثیر شوند و در نهایت با در نظر گرفتن آستانهٔ مقاومت گونه‌های مقاوم، از آنها در حذف فلزات سنگین در محیط‌های با آلودگی فلزی، در حد مقاومت آنها استفاده شود.

یادداشت‌ها

1- Biosorption
2- Bioaccumulation
3- Biological Oxygen Demand (BOD)
4- Chemical Oxygen Demand (COD)
5- Pour Plate
6- Nutrient Agar
7- Spread Plate Method
8- Minimum Inhibitory Concentration (MIC)
9- Minimum Bactericidal Concentration (MBC)

www.SID.ir

Archive of SID

منابع مورد استفاده

امتیازی، گ. ۱۳۷۹. میکربیولوژی و کنترل آلودگی آب، هوا و پساب. انتشارات مانی.

توکلی، آ. ۱۳۷۸. جداسازی و شناسایی میکروارگانیسم‌های مقاوم به برخی از کاتیون‌ها، آنیون‌ها و آنتی بیوتیک‌ها. پایان‌نامهٔ کارشناسی ارشد میکربیولوژی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم.

حکمی‌فرد، ا. ۱۳۸۴. مطالعهٔ باکتری‌های مقاوم به برخی از فلزات سنگین و آنتی بیوتیک‌ها در پساب کارخانهٔ ذوب‌آهن اصفهان. پایان نامهٔ کارشناسی ارشد میکربیولوژی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم.

رحیم‌زاده، پ.، ف. نورائی و ن. خطیبی(ترجمه). ۱۳۷۸. میکروب شناسی پزشکی جاوتز. جلد اوّل. انتشارات سماط. ص:۲۲-۵۰.

طهمورث‌پور، آ. ۱۳۸۳. مطالعهٔ باکتری‌های مقاوم به برخی از فلزات سنگین در پساب‌ها. پایان‌نامهٔ کارشناسی ارشد میکربیولوژی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات.

Abou-Shanab,R.A.I., P.V., Berkum and J.S., Angle. 2007. Heavy metal resistance and genotypic analysis of metal resistance genes in gram-positive and gram-negative bacteria presenting Ni-rich Serpentine soil and in the rhizosphere of *Alyssum murale.* Chemosphere, 68. pp: 360-367.

Abou-Shanab,R.A.I., et al.2003_b. Phenotypic characterization of microbes in rhizosphere of *Alyssum murale*. Int. J. Phytorm, 5. pp: 367-380.

Aleem,A., J., Isar and A.,Malik. 2003. Impact of long-term application of industrial wastewater on the emergence of resistance traits in *Azotobacter chroococcum* isolated from rhizospheric soil. Biores. Technol, 86. pp: 7-13.

Al-yaqout,A. F. 2003. Assessment and analysis of industrial liquid waste and sludge disposal at unlined landfill sites in arid climate. Waste management, 23. pp: 817-824.

Andrews,J.M. 2001. Determination of minimum inhibitory concentration. J. Antimicro. Chem, 48. supp1. S1. pp: 5-16.

Ansari,M.I and A., Malik. 2006. Biosorption of nickel and cadmium by metal resistant bacterial isolates from agricultural soil irrigated with industrial wastewater. Bioresource Technology.

Canovas,D., C.,Iidefonso and V.,Delovenzo. 2003. Heavy metal tolerance and metal homeostasis in Ps. Putida as revealed by complete genome analysis. Environmental Microbiology.

Chojnacka,K., A.,Chojnacki, and H., Gorecka. 2005. Biosorption of Cr^{2+}, Cr^{3+} and Cu^{2+} ions by blue green algae *spirulina sp*: kinetics, equilibrium and the mechanism of the process. Chemosphere, 59. pp: 75-84.

Choudhury,R and S.,Srivastava. 2001. Zinc resistance mechanisms in bacteria. Current Science, 81(7). pp: 768-775.

Fillali,B.K., et al. 2000. Wastewater baterial Isolates resistant to heavy metals and antibiotics. Current Microbiology, 41. pp: 151-156.

Gachhni,S., et al. 1989. Ecological study of mercury resistance in soil bacteria. Ind. J. Microboil, 29. pp: 151-156.

www.SID.ir

Archive of SID

Hassen,A., et al. 1998. Resistance of environmental bacteria to heavy metals. Bio resource technology, 67. pp: 7.

Hussein,H.S.F.I., K., Kandeel and H., Moawad. 2004. Biosorption of heavy metals from waste water using *Pseudomonas sp.* Environmental Biotechnology, Vol. 7, No. 1.

Ilhan,S., et al.2004. Removal of chromium, lead and copper ions from industrial wastewaters by *S.Sarpo phiticus*. Turkish electronic jurnal @ biltechnology J. Chem. Technol. Biotechnol, 62. pp: 279-288.

Kurniawan,T.A., et al. 2006. Comparison of low-cost adsorbent for treating wastewater ladenwith heavy metals. Science of the Total Environment, 366. pp: 409-426.

Lefcort,H., et al. 2002. Indirect effects of heavy metal on parasites may cause shifts in snail species composition. Arch. Environ.Contam. Toxicol, 43. pp: 34-41.

Lucho-Constantino,CA., et al. 2005. A multivariate analysis of the accumulation and fraction of major and trace elements in Agricultural soils in Hidalgo state, Mexico irrigated with raw wastewater. Environment International, 31. pp: 313-323.

Malik,A., I.F., Khan and A.,Aleem. 2002. Plasmid incidence in bacteria from agricultural and industrial soils. World J. Microbiol. Biotechnol, 18. pp: 827-833.

Malik,A and R., Jaiswal. 2000. Metal resistance in Pseudomonas strains isolated from soil treated with industrial wastewater. World J. Microbiol. Biotechnol, 16. pp: 177-182.

Maier,R.M., L.L.,Papper and C.P.,Gebra. 2000. Environmental Microbiology. ACADEMIC Press. Chapter, 17. pp: 403-423.

Nies,D.H. 2003. Efflux-medital heavy metal resistance in prokaryotes. FEMES Microbiol. Rev, 22. pp: 313-339.

Nuzhat,A., B.,Uzma and S.,Raihan. 2001. Resistance and accumulation of heavy metals by indigenous bacteria: bioremediation. In: Nuzhat, A, FM. Qureshi. O. Khan and Y. Khan. editors. Industrial and enrvironmental biotechnology. Wymondham, UK: Horizon scientific press. pp: 81-102.

Pradhan,S and L.C., Rai. 2001. Biotechnological potential of *Microcystis sp.* In Cu, Zn and Cd biosorption from nsingle and multimetallic systemes. Biometals, 14. pp: 67-74.

Roan,T.M and I.L.,Pepper. 2000. Microbial responces to environmentaly toxic cadmium. Microb Ecol, 38. pp: 358-364.

Roan,T.M and S.T.,Kellog. 1995. Characterization of bacterial communities in heavy metal contaminated soils. Canadian Journal of Microbiology, 42. pp: 593-603.

Sabry,S.A., H.A.,Ghozian and D.M.,Abou-zeid. 1997. Metal tolerance and antibiotic resistance patterns of a bacterial population isolated from sea wate. Journal of applied Microbiology, 82. pp: 245-252.

Sneat,P.H., et al. 1989. Bergeys manual of systematic bacteriology. Vol. 2. Williams and Wilkins.

www.SID.ir

Archive of SID

Sprocati,A.R., et al. 2006. Investigation heavy metal resistance, bioaccumulation and metabolic profile of a metalophile microbial consortium native to an abandoned mine. Science of the Total Environment, 366. pp: 649-658.

Teitzel,G.M. and M.R.,Parsek. 2003. Heavy Metal resistance of biofilm and planktonic pseudomonas aeruginosa. Applied and Environmental Microbiology, 69(4). pp: 2313-2330.

Veglio,F., A.,Esposito and A.P.,Reverberi. 2003. Standardisation of heavy metal bilsorption tests: equilibrium and modelling study. Process Bilchemistry, 38. pp: 953-961.

www.SID.ir