Archive of SID

مجله دنیای میکروب‌ها
سال دهم شماره اول (پیاپی ۳۰) بهار ۱۳۹۶
صفحات ۴۸-۳۷

Original Article

جداسازی باکتری *اسیدووراکس* مقاوم به فلزات سنگین از خاک های کشاورزی و بهینه سازی جذب فلزی

مریم قانع*[۱]

[۱] استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اسلامشهر، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی، اسلامشهر، ایران.

چکیده

سابقه و هدف: پاکسازی زیستی کارآمدترین روش برای حذف فلزات از خاک‌های آلوده است. این مطالعه با هدف جداسازی باکتری‌های مقاوم به فلزات سنگین و تعیین شرایط مناسب برای حذف فلزات انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مقطعی، نمونه گیری از خاک‌های کشاورزی مناطق مختلف شهرستان اسلامشهر صورت گرفت. غربالگری سویه‌های مقاوم با کشت باکتری‌ها بر روی محیط کشت محتوی غلظت ۱ میلی مولار هر یک از فلزات کادمیوم، روی و مس انجام گرفت. حداقل غلظت ممانعت کننده رشد با روش رقیق سازی در آگار و میزان حذف فلزات با استفاده از دستگاه جذب اتمی بررسی شد. متغیرهای مختلف برای حذف فلز مانند اسیدیته، غلظت اولیه فلز و زمان تماس بررسی گردید. شناسایی سویه‌ها بر مبنای توالی ژن *16S rRNA* انجام گرفت.

یافته‌ها: از مجموع ۱۰۰ باکتری جدا شده از ناحیه مورد پژوهش، جدایه BRH3 به هر ۳ فلز مقاوم بود. حداقل غلظت ممانعت کننده رشد مس، کادمیوم و روی برای جدایه به ترتیب ۳، ۲ و ۳ میلی مولار و میزان حذف فلزات به ترتیب ۳۲/۵، ٤٨ و ٥٦/٨ درصد بود. بیشینه جذب روی و کادمیوم در اسیدیته ٦، زمان تماس ٤ ساعت و غلظت اولیه فلز به میزان ۱۵۰ میلی گرم در لیتر به ترتیب ٦٩ و ٥٩ درصد و برای مس در همان شرایط به جز اسیدیته بهینه ٥، به میزان ٤٨ درصد به‌دست آمد. جدایه به عنوان *اسیدووراکس* سویه HM_AH 13 با شماره دسترسی JN676128 در بانک جهانی ژن ثبت گردید.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که باکتری‌های مقاوم به فلزات سنگین در خاک‌های کشاورزی وجود دارد و سویه جداسازی شده در این مطالعه می‌تواند کاندید مناسبی برای حذف فلزات سنگین از محیط‌های آلوده باشد.

واژگان کلیدی: جذب زیستی، فلزات سنگین، خاک های آلوده، *اسیدووراکس*.

دریافت مقاله: آذر ماه ۹۵ پذیرش برای چاپ: بهمن ماه ۹۵

مقدمه

آلودگی خاک با فلزات سنگین گسترش وسیعی دارد. بسیاری از فعالیت های کشاورزی و صنعتی منتهی به آلودگی محیط زیست با یون های فلزی می شود. سمیت هر یک از فلزات سنگین بسته به نوع فلز متفاوت است. غلظت‌های پایین فلزاتی مانند کبالت، مس، نیکل و روی برای بسیاری از فرآیندهای سلولی در باکتری‌ها مورد نیاز است. با این وجود غلظت های بالای این فلزات اغلب سمی است. سایر فلزات سمی مانند کادمیوم، جیوه، سرب، نقره و کروم هیچ تاثیر مفیدی بر روی باکتری نداشته و حتی در غلظت های پایین سمی هستند (۱). مطالعات نشان داده که فلزات سنگین نه تنها فعالیت میکروب های خاک را تحت تاثیر قرار داده و تولید محصول را کاهش می‌دهند، بلکه تهدیدکننده سلامت انسان از

*) آدرس برای مکاتبه: اسلامشهر، دانشگاه آزاد واحد اسلامشهر، گروه زیست شناسی.
تلفن: ۰۹۱۲۵۱۳۳۸۱۵ پست الکترونیک: ghane@iiau.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

طریق ورود به زنجیرهٔ غذایی هستند (۲). سمیت فلزات سنگین در زنجیرهٔ غذایی، به دلیل تجمع زیستی و عدم تجزیه پذیری آن است که سبب مخاطراتی چون آسیب به ریه، کلیه، کبد، پانکراس و اختلالات عصبی می‌شود (۳).

روش های متداول حذف فلزات رسوب شیمیایی، تصفیه، روش های الکتروشیمیایی، تعویض یونی، اسمز معکوس است (٦-٤). اما در سال های اخیر روش های جذب زیستی برای حذف فلزات سنگین به عنوان یک روش موثرتر، ارزان تر و دوست دار محیط زیست مورد توجه قرار گرفته است.

میکروارگانیسم ها برای جذب زیستی فلزات کاملاً مناسب هستند. دلیل این امر توانایی آن ها در جذب یون های فلزی، مناسب بودن برای محیط های طبیعی و هزینه کمتر است (۷). انواع مختلفی از میکروارگانیسم ها مانند باکتری ها (۸ و ۹)، قارچ ها (۱۰)، مخمرها (۱۱ و ۱۲) و جلبک ها (۱۳ و ١٤) به عنوان جاذب زیستی برای حذف فلزات سنگین به کار می‌روند. جذب زیستی فرایندی غیر فعال، سریع و اغلب قابل برگشت و غیر وابسته به متابولیسم است که بیشتر در دیواره سلولی رخ می‌دهد (۱۵).

ترکیب دیواره سلولی یکی از مهم‌ترین عواملی است که خواص جذب کنندگی باکتری را تحت تاثیر قرار می‌دهد. دیواره سلولی دارای گروه های عملکردی مانند گروه های کربوکسیل، هیدروکسیل، فسفات، آمید و سولفات هستند که مسئول اتصال یون‌های فلزی بر اساس جذب در باکتری‌ها می باشند (۱۵).

گزارش های زیادی در زمینه جذب زیستی فلزات توسط باکتری‌ها به منظور پاکسازی آب و خاک‌های آلوده به فلزات در دنیا و در ایران وجود دارد. به عنوان نمونه، جذب زیستی کادمیوم و نیکل توسط باکتری های جدا شده از خاک های کشاورزی آبیاری شده با لجن، توسط محمدزاده (Mohammad zadeh) و همکاران مورد بررسی قرار گرفته است (١٦). قانع (Ghane) و همکاران باکتری *کوماموناس* (*Comamonas.sp*) که دارای قدرت حذف ۸۰ درصد کروم بود را از پساب های صنایع آبکاری جداسازی نمودند (۱۷). همچنین جذب زیستی مس و روی توسط اسیدی *تیوباسیلوس تیو اکسیدانس* (*Acidithiobacillus thiooxidans*) با هدف بهینه سازی شرایط جذب مورد بررسی قرار گرفته است و نشان داده شده که بهینه سازی شرایط جذب موجب افزایش جذب زیستی هر دو فلز می‌گردد (۱۸). شاهسونی (Shahsavanei) و همکاران جذب زیستی نقره را توسط باکتری‌های جدا شده از کارگاه نقره کاری در اصفهان بررسی کردند (۱۹). همچنین مطالعات نشان داده است که *باسیلوس سرئوس* (*Bacillus cereus*) جدا شده از خاک‌های مربوط به صنایع آب فلزکاری، توانایی جذب زیستی کادمیوم به میزان ۸۲ درصد را دارا می باشند (۲۰).

خاک های کشاورزی به دلیل استفاده دراز مدت از کودهای فسفاته و لجن فاضلاب به غلظت های کم تا متوسط فلزات سنگین از جمله کادمیوم آلوده است. میکروب های بومی این خاک‌ها، از طریق روش های مختلفی به این فلزات سازگار شده و مکانیسم‌های مقاومت به این فلزات را کسب نموده اند. این باکتری‌ها به عنوان جاذب‌های زیستی دارای توانایی نهفته حذف فلزات سنگین از محیط‌های آلوده می باشند.

با توجه به اهمیت باکتری ها در پاکسازی محیط های آلوده به فلزات سنگین، هدف از این مطالعه جداسازی باکتری‌های مقاوم به فلزات سنگین از خاک‌های کشاورزی و بررسی توانایی جذب زیستی فلزات توسط آنها بود.

مواد و روش ها

الف) نمونه برداری و جداسازی سویه ها: نمونه گیری از خاک‌های کشاورزی مناطق مختلف شهرستان اسلامشهر صورت گرفت. نمونه‌های خاک از عمق ۵ سانتی متری سطح تهیه و در لوله های استریل جمع آوری شدند. میزان فلز در نمونه ها با روش هضم اسیدی و به وسیلهٔ دستگاه جذب اتمی (Philips, PU 9100X) اندازه گیری شد (۲۱).

میزان کادمیوم، مس و روی در نمونه های جمع آوری شده به ترتیب ۲۰±۵ ، ٤٥±٥ و ۹۸±۱۱ میلی گرم در هر کیلوگرم خاک تعیین گردید. به منظور جداسازی سویه های مقاوم، ۱ گرم از خاک با ۹ میلی لیتر از سرم فیزیولوژی استریل مخلوط شد. پس از تهیه رقت های متوالی به پلیت‌های حاوی محیط کشت لوریا

www.SID.ir

Archive of SID

برتانی آگار (Luria Bertani Agar) (مرک، آلمان) منتقل شد و به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۰ درجه سلیسیوس گرما گذاری گردید. ۱۰۰ کلنی منفرد متفاوت از نظر مورفولوژی انتخاب شد و پس از تهیه کشت خالص، در محیط لوریا برتانی براث دارای ۱۵٪ گلیسرول، در دمای ۲۰- درجه سلیسیوس نگهداری گردید (۲۲).

ب) غربالگری سویه های مقاوم به فلز و تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده رشد: محلول ذخیرهٔ ۱ مولار هر یک از فلزات مورد آزمایش شامل کلرید کادمیوم، سولفات روی و سولفات مس، با حل نمودن هر یک به طور جداگانه در آب مقطر تهیه گردید و با استفاده از صافی های ۰/۲۲ میکرون استریل شدند. برای غربالگری باکتری‌های مقاوم به فلز، هر یک از سویه‌های جدا شده در محیط کشت لوریا برتانی آگار با غلظت نهایی ۱ میلی مولار هر یک از فلزات، کشت داده شدند. به منظور تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد، سویه‌های دارای توانایی رشد در پلیت های لوریا برتانی آگار با غلظت‌های ٤-۱ میلی مولار از هر فلز کشت داده شدند. پلیت ها به مدت ٤۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سلیسیوس گرما گذاری شدند. سویه‌ای که حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد بالاتری را نسبت به تمام فلزات مورد بررسی نشان داد به عنوان مقاوم‌ترین سویه برای مطالعات بعدی انتخاب گردید (۲۳).

ج) تاثیر غلظت‌های مختلف فلزات سنگین: در ابتدا محیط کشت لوریا برتانی براث با غلظت‌های ۳-۱ میلی مولار از هر یک از فلزات و نیز محیط کشت بدون فلز (کنترل) در فلاسک تهیه گردید. از کشت باکتری‌ها در مرحله لگاریتمی با نسبت ۱:۲۰ به هر یک از فلاسک‌ها تلقیح و به مدت ۷۲ ساعت در ۳۰ درجه سلیسیوس در انکوباتور شیکر دار با هوادهی ۱۵۰ دور بر دقیقه گرماگذاری شدند. رشد باکتری ها هر ۲ ساعت با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Beckman) در طول موج ٦۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. تمام آزمون ها با ۳ بار تکرار انجام گرفت (۲۰).

د) بررسی جذب فلز: برای مطالعه توانایی جذب هر یک از فلزات سنگین توسط سلول‌های زنده، از باکتری کشت شبانه در محیط لوریا برتانی براث تهیه گردید. سپس ۱٪ از سوسپانسیون باکتری در فلاسک های ۱۰۰ میلی لیتر دارای ۲۰ میلی لیتر محیط کشت لوریا برتانی براث با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر از هر یک از فلزات مورد آزمایش تلقیح شد. در هر بررسی، ۲۰ میلی لیتر محیط کشت لوریا برتانی براث با غلظت ۱۰۰ میلی گرم در لیتر از هر یک از فلزات نیز به عنوان محیط کشت کنترل تهیه شد. فلاسک ها در دمای۳۰ درجه سلیسیوس و هوادهی ۱۵۰ دور در دقیقه به مدت ۷۲ ساعت گرماگذاری شدند. سپس به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند تا توده سلولی کاملاً از مایع رویی جدا گردد. مایع روماند به منظور اندازه گیری میزان فلز به ظرف دیگری منتقل شد.

برای اندازه‌گیری میزان فلز در توده سلولی، ابتدا توده سلولی یک بار با آب مقطر شستشو داده شد و به مدت یک شب در ۱۰۵ درجه سلیسیوس قرار گرفت تا به صورت توده خشک درآید. سپس با اسید نیتریک غلیظ مخلوط و حجم آن با آب مقطر استریل به ۵ میلی لیتر رسانده شد. میزان فلز در نمونه‌ها به وسیلهٔ دستگاه جذب اتمی (Philips, PU 9100X) اندازه گیری شد.

ظرفیت جذب (q_e)، مقدار فلز جذب شده در هر گرم از ماده جاذب (توده زیستی) بر حسب میلی گرم در گرم وزن خشک را می‌توان با فرمول زیر محاسبه کرد (۱۳):

$$qe = \frac{(C0 - Ce) \times V}{m}$$

C_0 غلظت اولیه یون‌های فلزی در محلول بر حسب میلی‌گرم در لیتر، Ce غلظت نهایی یون‌های فلزی در محلول بر حسب میلی گرم در لیتر، V معرف حجم محلول فلزی بر حسب لیتر و m وزن خشک توده زیستی بر حسب گرم می باشد.

همچنین جذب زیستی فلز را می توان با درصد حذف فلز از محلول فلزی از طریق فرمول زیر محاسبه نمود (۱۳).

$$\text{درصد حذف فلز} = 100 \times \frac{(C0 - Ce)}{C0}$$

شایان یادآوری است که تمامی‌های آزمون های جذب اتمی با دو بار تکرار انجام گرفت و در نهایت میانگین آن‌ها به صورت

www.SID.ir

Archive of SID

عدد نهایی جذب گزارش گردید.

ه) بررسی اثر اسیدیته بر جذب فلز: به منظور تعیین اثر اسیدیته بر جذب هر یک از فلزات توسط سویه منتخب، محلول فلزی ۱۰۰ میلی گرم در لیتر هر یک از فلزات به طور جداگانه با مقادیر اسیدیته مختلف ۸-۲ تهیه شد. سپس به هر یک از فلاسک های ۱۰۰ میلی لیتری حاوی ۲۵ میلی لیتر محلول هر یک از فلزات مورد آزمایش، میزان ۰/۵ گرم از توده زیستی سویه منتخب اضافه شد و به مدت ۹۰ دقیقه در انکوباتور شیکر دار با هوادهی ۱۵۰ دور بر دقیقه و در دمای ۳۰ درجه سلیسیوس گرما گذاری گردید (۲٤).

و) بررسی اثر غلظت فلز در میزان جذب: به منظور بررسی اثر غلظت اولیه محلول فلزی در جذب هر یک از فلزات مورد آزمایش، غلظت های مختلف محلول فلزی (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر) با اسیدیته بهینه به دست آمده برای جذب هر یک از فلزات توسط توده زیستی باکتری، مورد ارزیابی قرار گرفت. پس از گذشت ۹۰ دقیقه گرماگذاری در ۳۰ درجه سلیسیوس با هوادهی ۱۵۰ دور در دقیقه، میزان جذب محاسبه گردید (۲٤).

ز) بررسی اثر زمان تماس سویه با فلز در میزان جذب: اثر زمان تماس توده زیستی باکتری با محلول هر یک از فلزات مورد آزمون با غلظت ۱۵۰ میلی گرم در لیتر (غلظت بهینه) و اسیدیته بهینه برای هر یک از فلزات مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور در ۳ فلاسک ۲۵۰ میلی لیتری، در هر یک میزان ۱۰۰ میلی لیتر از غلظت ۱۵۰ میلی گرم در لیتر هر یک از فلزات تهیه شد و به میزان ۲ درصد از توده زیستی تر باکتری تلقیح شد. سپس در انکوباتور شیکردار با هوادهی ۱۵۰ دور در دقیقه و درجه حرارت ۳۰ درجه سلیسیوس گرماگذاری شد و در زمان های ۳۰، ٦۰، ۹۰ و ۱۲۰ و ۲٤۰ دقیقه از فلاسک های مربوطه نمونه برداری شده و میزان حذف فلز بررسی شد (۲٤).

ح) تعیین هویت بیوشیمیایی و مولکولی: شناسایی سویه BRH3 با استفاده از ویژگی های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مطابق با جداول کتاب برگی صورت گرفت (۲۵).

ویژگی های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی از جمله محدودهٔ اسیدیته و دمای بهینه رشد و تحمل غلظت‌های مختلف نمک و مصرف منابع کربن مختلف و نیز آزمایشات کاتالاز، اکسیداز، ژلاتیناز و آمیلاز برای سویه منتخب انجام شد (۲٦).

برای تهیه DNA الگو یک کلنی منفرد از سویه جدا شده در ۵ میلی لیتر محیط کشت لوریا برتانی براث در دمای ۳۰ درجه سلیسیوس به صورت شبانه کشت داده شد (۲۲). سپس استخراج DNA بر اساس دستور کار شرکت سازندهٔ کیت (Promega) صورت گرفت. شناسایی مولکولی با روش تکثیر ژن *16S rRNA* انجام شد. برای این کار از پرایمرهای یونیورسال F1:5'-AGAGTTTGATCATGGCTC-3' و R1:5'-AAGGAGGTGATCCAACC-3' استفاده شد (۲۷).

واکنش زنجیره ای پلی مراز (Polymerase Chain Reaction) (PCR) مطابق با روش های استاندارد با استفاده از ۵ میکرولیتر از بافر PCR (10X)، ۱ میکرولیتر dNTPs mixed، ۱/۵ میکرولیتر $MgCl_2$، ۱ میکرولیتر از هر یک از پرایمرها، ۱ میکرولیتر DNA الگو (۵۰ نانو گرم) و ۰/۵ میکرولیتر از آنزیم DNA پلیمراز Taq (سینا کلون) انجام شد. واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر PeQlab (آلمان) با شرایط دمایی ۵ دقیقه واسرشت شدن ابتدایی در دمای ۹۵ درجه سلیسیوس و در ادامه ۳۰ چرخه شامل واسرشت شدن در دمای ۹۰ درجه سلیسیوس به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال در دمای ٤۵ درجه سلیسیوس به مدت ٦۰ ثانیه، گسترش در دمای ۷۲ درجه سلیسیوس به مدت ٦۰ ثانیه و در نهایت گسترش نهایی در دمای ۷۲ درجه سلیسیوس به مدت ۵ دقیقه انجام شد (۲۲). سپس محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱٪ الکتروفورز گردید و پس از رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید (سیگما، آمریکا) با استفاده از دستگاه ژل داک (Geldoc) (Uvitech) مورد بررسی قرار گرفت (۲۲).

محصول PCR پس از خالص سازی، از روی ژل با استفاده از کیت خالص سازی محصول PCR (فرمنتاز، تایلند)، توسط شرکت ماکروژن (کره جنوبی) توالی یابی شد. توالی های ژن *16S rRNA* با استفاده از نرم افزار (Blast) (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Blast) با اطلاعات موجود در بانک جهانی ژن (GenBank) مقایسه شدند.

www.SID.ir

Archive of SID

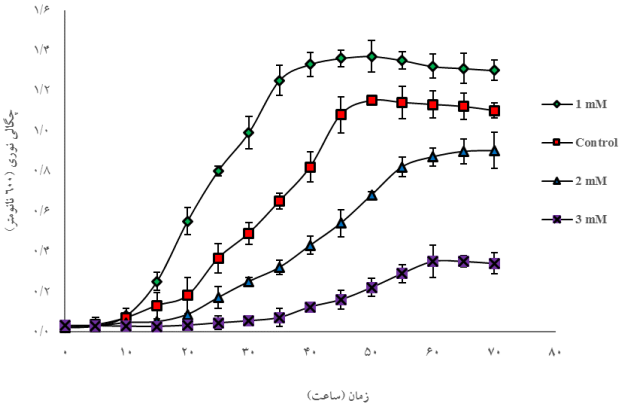
ط) تجزیه و تحلیل داده‌ها: برای این منظور از نسخه بیستم نرم افزار *SPSS* و آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) استفاده شد. مرز معنی داری بر روی P < ۰/۰۵ قرار داده شد.

یافته ها

الف) غربالگری سویه‌های مقاوم به فلز و تعیین حداقل غلظت مهاری فلزات: در میان ۱۰۰ باکتری جدا شده، ۱۰ سویه در محیط کشت لوریا برتانی آگار دارای ۳ میلی مولار مس، ۲ سویه در محیط کشت لوریا برتانی دارای ۲ میلی مولار کادمیوم و ۳ سویه در محیط کشت لوریا برتانی دارای ۲ میلی مولار روی رشد کردند. در نهایت سویه BRH3 که مقاومت بالایی را نسبت به روی، مس و کادمیوم داشت برای مطالعات بعدی انتخاب گردید. میزان سمیت فلزات روی و مس بر روی سویه BRH3 یکسان بود. اما کادمیوم سمیت بالاتری داشت.

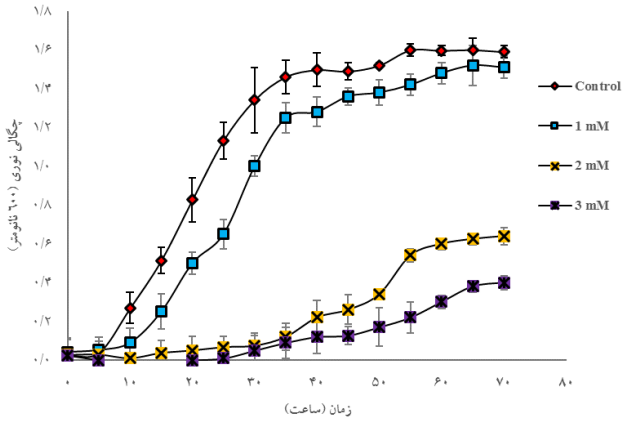
ب) رشد در حضور غلظت های مختلف هر یک از فلزات سنگین: نتایج حاصل از رشد سویه BRH3 در حضور هر یک از فلزات سنگین در نمودار ۱ آمده است. رشد این سویه در محیط کشت لوریا برتانی براث دارای ۱ میلی مولار مس بیش از رشد آن در محیط فاقد مس (کنترل) بود. این ارتباط از نظر آماری معنی دار بود.

در حضور غلظت‌های بالاتر مس مرحله تاخیری افزایش یافته و میزان رشد با کاهش همراه بود. کاهش رشد به ویژه در غلظت ۳ میلی مولار مس چشمگیرتر بود (P<۰/۰۵).



نمودار ۱: منحنی رشد سویه BRH3 در حضور غلظت‌های مختلف مس. مقادیر نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار ۳ آزمون مستقل است.

رشد سویه BRH3 در حضور غلظت های مختلف روی در نمودار ۲ نشان داده شده است. رشد سویه در حضور غلظت ۱ میلی مولار روی مشابه رشد این سویه در محیط لوریا برتانی براث بدون روی، دارای یک مرحله تاخیری و لگاریتمی مشابه بود. اختلاف معنی داری بین رشد سویه در محیط کشت فاقد روی و محیط کشت با غلظت ۱ میلی مولار روی مشاهده نشد. منحنی رشد این سویه در غلظت های ۲ و ۳ میلی مولار روی مشابه بود. اما میزان چگالی نوری در حضور غلظت ۳ میلی مولار روی کمتر گزارش شد (P<۰/۰۵).



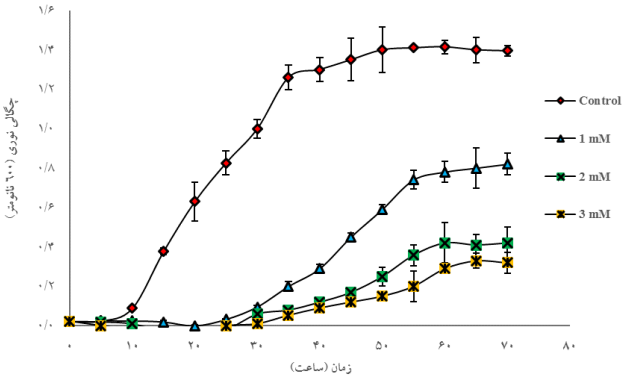
نمودار ۲: منحنی رشد سویه BRH3 در حضور غلظت‌های مختلف روی. مقادیر نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار ۳ آزمون است.

رشد سویه در محیط کشت حاوی فلز کادمیوم نسبت به محیط فاقد کادمیوم به طور معنی داری کاهش داشت (P<۰/۰۵). این مساله نشان دهنده سمیت بالای کادمیوم برای این سویه است (نمودار ۳). پس از ۱۰ ساعت مرحله تاخیری، رشد در محیط واجد کادمیوم کاهش داشت. اما پس از ۲۰ ساعت افزایش رشد مشاهده گردید.

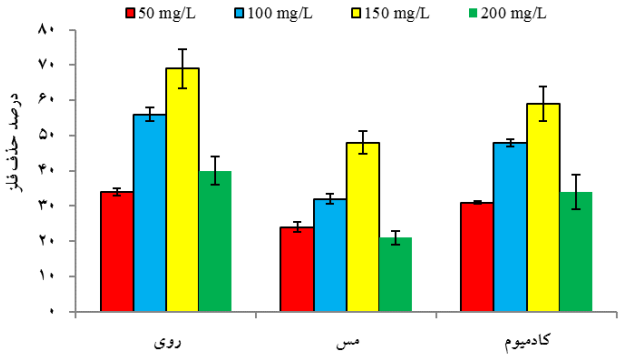
ج) جذب فلز توسط سویه BRH3: در این مطالعه از میان فلزات مورد بررسی، روی بیشترین (۵۶/۸ درصد) و مس کمترین (۳۲/۵ درصد) حذف فلزی را دارا بودند. در نمودار ٤، تاثیر اسیدیته بر حذف هر یک از فلزات نشان داده شده است. جذب روی در اسیدیته ۲ و ٤ ناچیز بود. اما با افزایش اسیدیته میزان جذب افزایش می یافت و جذب بیشینه در اسیدیته ٦

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار۳: منحنی رشد سویه BRH3 در حضور غلظت‌های مختلف کادمیوم. مقادیر نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار ۳ آزمون مستقل است.



نمودار ۵: نمودار مقایسه غلظت اولیه فلزات در میزان جذب فلزات توسط سویه BRH3. مقادیر نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار ۲ آزمون مستقل است.

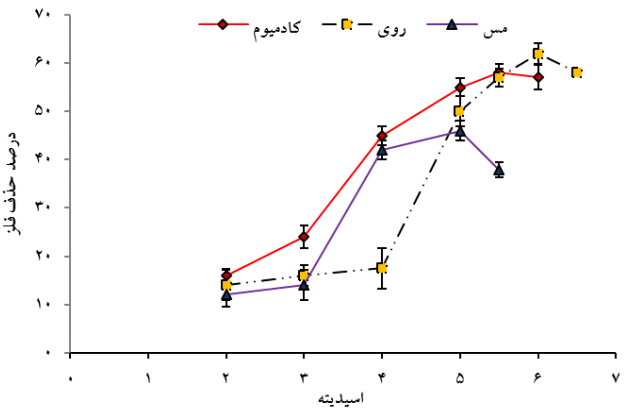
مشاهده شد.

مقادیر اسیدیته بهینه به دست آمده برای جذب مس ٤ و ٥ بود، همچنین جذب ناچیز در اسیدیته ۲ و رسوب سولفات مس در اسیدیته ٦ مشاهده شد. مشابه نتایجی که در مورد جذب روی مشاهده شد. ظرفیت جذب مس با افزایش اسیدیته افزایش یافت. اما این افزایش به اندازه روی معنی دار نبود. میزان حذف کادمیوم نیز با افزایش اسیدیته افزایش یافت و ماکزیمم جذب در اسیدیته ٥/٥ و ٦ مشاهده گردید.

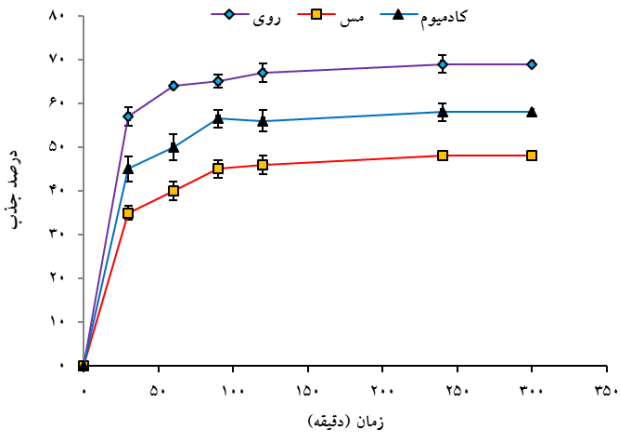
در نمودار ٥، تاثیر غلظت هر یک از فلزات بر میزان جذب نشان داده شده است. همان گونه که ملاحظه می‌شود، افزایش غلظت از ٥٠ تا ١٥٠ میلی گرم در لیتر هریک از فلزات، افزایش میزان جذب فلز را به دنبال داشت.

در نمودار ٦، نتایج حاصل از بررسی زمان تماس باکتری با هر یک از فلزات سنگین آمده است. همان گونه که مشاهده می‌شود در ۳۰ دقیقه اول به ترتیب ٥٧، ۳٥ و ٤٥ در صد از روی، مس و کادمیوم موجود در محلول به سرعت جذب و پس از آن تا ۱۲۰ دقیقه سرعت جذب کاهش داشت و به ترتیب به ٦٧ ، ٥٦ و ٤٦ درصد رسید و در نهایت پس از گذشت ٤ ساعت، میزان جذب هر سه فلز به حد ثابت رسید.

د) شناسایی سویه BRH3: شناسایی سویه جدا شده با استفاده از ویژگی های مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی صورت گرفت. سویه جدا شده توانایی رشد در دمای ٤٥-١٠ درجه سلسیوس را داشت. به طوری که بهینه رشد در ۳۰ درجه سلسیوس تعیین گردید. همچنین سویه یاد شده در محدودهٔ اسیدیته ۹-٦ رشد نمود، اما اسیدیته بهینه رشد ۷ بود.



نمودار ٤: جذب هر یک از فلزات توسط سویه BRH3 در شرایط اسیدیته مختلف. مقادیر نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار ۲ آزمون مستقل است.



نمودار ٦: بررسی تاثیر زمان اثر بر جذب هر یک از فلزات. مقادیر نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار ۲ آزمون مستقل است.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱: برخی ویژگی‌های سویهٔ BRH3

ویژگی ها	نتایج	ویژگی ها	نتایج
رنگ آمیزی گرم	–	آرابینوز	+
مورفولوژی	باسیل	مانیتول	+
اسپور	–	مالتوز	+
حرکت	+	احیای نیترات به نیتریت	+
کاتالاز	+	مصرف سیترات	+
اکسیداز	+	هیدرولیز:	
تولید رنگدانه	–	اسکولین	+
ایندول	–	ژلاتین	+
مانوز	+	کازئین	–
گلوکز	+	اوره	–

برخی از ویژگی های سویه BRH3 در جدول ۱ خلاصه شده است.

تعداد ۱۲٦٤ نوکلئوتید از توالی ژن *16S rRNA* سویه جدا شده توالی یابی شد. مقایسه توالی های به دست آمده با توالی های موجود در بانک جهانی ژن نشان داد که سویه BHR3 متعلق به جنس *اسیدووراکس* است. این سویه با نام HM_AH 13. در بانک ژن ثبت شد (شماره دسترسی JN676128). مقایسه توالی به دست آمده با سایر توالی های موجود با استفاده از نرم افزار بلاست نشان داد که سویه جدا شده ۹۹ درصد با *اسیدووراکس تمپرانس* (*Acidovorax temperans*) سویه OTU-d24 شباهت دارد.

بحث

در این مطالعه برای جداسازی باکتری های مقاوم به فلزات سنگین، نمونه گیری از خاک های کشاورزی صورت گرفت. استفاده از کودها و آفت کش‌ها در زمین‌های کشاورزی منجر به آلودگی خاک های کشاورزی با فلزات سنگین می شود. این امر در نهایت می تواند منجر به گزینش و انتخاب باکتری‌هایی شود که به غلظت های بالای فلزات مقاوم بوده و احتمالا توانایی حذف فلزات را داشته باشند.

بررسی رشد سویهٔ BRH3 در حضور فلزات سنگین کادمیوم، مس و روی تفاوت در سمیت هر یک از فلزات را برای سویهٔ مورد نظر نشان می داد. به ویژه غلظت های ۳-۲ میلی مولار کادمیوم به طور معنی داری مانع رشد سویه گردید.

در مورد فلز روی غلظت‌های پایین‌تر (۱ میلی مولار) تاثیر کمی بر روی رشد سویه داشت. اما غلظت های بالاتر (۳-۲ میلی مولار)، موجب افزایش مرحله تاخیری و کاهش توده زیستی گردید. این یافته که غلظت ۱ میلی مولار مس باعث افزایش رشد سویه BRH3 می شود، با اغلب گزارش هایی که نشان می دهد افزایش غلظت مس باعث کاهش رشد باکتری ها می‌شود، تناقض دارد. در سایر پژوهش ها نشان داده شده که غلظت ۱۰ میلی گرم در لیتر مس (۰/۱۷۵ میلی مولار) موجب افزایش رشد و غلظت‌های بیش از ۵۰ میلی گرم در لیتر (۰/۷۸۷ میلی مولار) منجر به کاهش رشد میکروبی می‌شود (۱). مقدار به دست آمده در این تحقیق که موجب افزایش رشد می شود (۱۱۲/٤ میلی گرم در لیتر) بالاتر از مقادیر گزارش شده در مطالعات قبلی است.

نتایج مطالعات بر مبنای ژن *16S rRNA* نشان داد که جدایه متعلق به خانواده *کومامونادا*سه (*Comamonadaceae*) و از اعضای جنس *اسیدووراکس* است. خواص فیزیولوژی و بیوشیمیایی جدایه به دست آمده در مطالعه حاضر با خواص فیزیولوژی و بیوشیمیایی گزارش شده با جنس *اسیدووراکس*

www.SID.ir

Archive of SID

مطابقت دارد (۲۵). جنس *اسیدووراکس* در سال ۱۹۹۰ توسط ویلمز (Willems) و همکاران به عنوان جنس جدیدی از *سودوموناس دلافیلدی* (*Pseudomonas delafieldii*) و *سودوموناس فاسیلیس* (*Pseudomonas facilis*) معرفی شد (۲۸). اعضای این جنس به دو گروه محیطی و پاتوژن گیاهی تقسیم می شوند. سویهٔ جدا شده در این تحقیق دارای شباهت ۹۹ درصدی با *اسیدووراکس تمپرانس* جدایه OTU-d24 بود.

گزارش های زیادی مبنی بر جداسازی اعضای این خانواده از مناطق آلوده به فلزات سنگین وجود دارد. *اسیدووراکس دلافیلدی* و *اسیدووراکس آونه* (*Acidovorax avenae*) از ریزوسفر گیاه *آلیسوم مورال* (*Alyssum murale*) در خاک های غنی از نیکل جدا شده است. مطالعات نشان داد که این سویه‌ها نیز مشابه سویه جدا شده در این تحقیق، به کادمیوم مس و روی مقاوم بودند (۲۹).

استوت (Stout) و همکاران با ارزیابی تنوع زیستی باکتری‌های موجود بر سطح ریشه دو گیاه آبزی در شرایط حضور و فقدان کادمیوم، تغییر جمعیت میکروبی ریزوسفر در حضور کادمیوم را مشاهده نمودند. محققین یاد شده نشان دادند که در این شرایط *اسیدووراکس* یکی از سویه های غالب است (۳۰). به علاوه *اسیدووراکس* از معادن اورانیوم و خاک های آلوده به اورانیوم نیز جدا شده است (۳۱). بنابراین می توان نتیجه گرفت که اعضای این جنس دارای مکانیسم هایی برای مقاومت در برابر فلزات سنگین می‌باشند.

مطالعات نشان داده که حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد کادمیوم و مس برای *اسیدووراکس آونه* جدا شده از نواحی اطراف ریشه گیاه *آلیسوم مورال*، ۲/۵ میلی مولار می باشد که تقریبا مشابه نتایج حاصل از این تحقیق است (۲۹).

سویه جدا شده نه تنها نسبت به فلزات مورد آزمایش مقاوم بود، بلکه توانایی جذب فلزات را نیز داشت. بالاترین میزان جذب در مورد فلز روی مشاهده شد. همچنین جذب زیستی هر ۳ فلز در اسیدیته ۲ پایین بود و با افزایش اسیدیته میزان جذب افزایش می‌یافت.

غلظت یون هیدروژن یکی از مهم ترین فاکتورهایی است که جذب زیستی فلزات از محلول های آبی را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۳۲).

ارتباط اسیدیته با جذب زیستی فلز وابسته به خواص اسید- باز گروه های عملکردی (کربوکسیل، فسفات و آمینو) در سطح باکتری و شیمی فلز است. ناچیز بودن جذب هر سه فلز در اسیدیته ۲ به دلیل درجه پایین تر یونیزاسیون گروه های عملکردی توده زیستی است (۳۳ و ۳٤). از آنجایی که جذب زیستی به جایگاه‌های در دسترس اتصال به فلز در سطح توده زیستی بستگی دارد؛ بنابراین برای جذب، گروه های با شارژ منفی مورد نیاز است. در اسیدیته پایین غلظت H^+ بالاست و پروتون ها اغلب جایگاه های اتصال روی سطح میکروارگانیسم را اشغال می کنند (۳۲). در نتیجه جایگاه های اتصال پروتونه شده و شارژ منفی لازم برای اتصال کاهش می‌یابد. جذب بسیار پایین فلز در اسیدیته ۲ به دلیل غلظت بالای H_3O^+ موجود در محلول است که به صورت رقابتی با یون فلزی عمل می کند (۳۵). بدین ترتیب یون های هیدرونیوم به لیگاندهای دیواره سلول متصل شده و با نیروی دافعه، یون‌های فلزی را از سطح باکتری دور می کند (۳٦).

در اسیدیته میانه، چگالی شارژهای منفی روی سطح سلول به دلیل دپروتونه شده جایگاه‌های اتصال افزایش می‌یابد و امکان اتصال یون فلزی را فراهم می‌کند. این اسیدیته حلالیت فلز و حالت یونیزاسیون گروه‌های عملکردی (گروه های کربوکسیل، فسفات و آمینو) را تحت تاثیر قرار می‌دهد.

گروه‌های کربوکسیل و فسفات دارای شارژ منفی شده و اجازه اتصال فلز را می دهند. در اسیدیته های بالاتر از ٤، جذب هر سه فلز افزایش می یافت. زیرا در این اسیدیته، دسترسی شارژهای منفی بیشتر بود و تسهیل در جذب انجام می شود (٦). با افزایش اسیدیته از ٤ تا ٦، افزایش در درجه تفکیک گروه‌های عملکردی روی سطح توده زیستی رخ می‌دهد و در نتیجه برهم کنش الکترواستاتیک افزایش می‌یابد (۳۳).

در اسیدیته ٦ سطح توده زیستی بیش از بیش منفی شده و جذب بارهای مثبت فلزی آسان تر می شود. در این اسیدیته گروه های عملکردی سطح سلول مانند گروه های کربوکسیل،

www.SID.ir

Archive of SID

فسفات و آمینو دیپروتونه می‌شوند (۵). در اسیدیته‌های بالاتر هیدروکسیدهای فلزی نامحلول ایجاد می شود و در نتیجه دسترسی باکتری به فلزات کاهش یافته و میزان جذب کاهش می‌یابد (۵ و ٦).

نتایج نشان داد با افزایش غلظت هر سه فلز مس، کادمیوم و روی، میزان جذب افزایش می‌یابد. این افزایش می‌تواند به دلیل بر هم کنش های الکترواستاتیک (وابسته به میانکنش های کووالانسی) باشد. میزان جذب در غلظت ۲۰۰ میلی گرم در لیتر نسبت به ۱۵۰ گرم در لیتر کاهش نشان می‌دهد. این امر می‌تواند ناشی از اشباع سریع مکان‌های اتصال فلزی جاذب زیستی باشد (۳۷).

زمان تماس نیز تاثیر زیادی در حذف فلزات دارد. بیشترین میزان جذب در ۳۰ دقیقه اول تماس صورت گرفت که به دلیل آزاد بودن جایگاه‌های اتصال بر روی باکتری می‌باشد (۲۰). پس از ٤ ساعت میزان جذب ثابت شد که این امر می‌تواند به دلیل اشباع شدن جایگاه‌های اتصال باشد. بیشینه جذب روی و کادمیوم در اسیدیته ٦، زمان تماس ٤ ساعت با غلظت اولیه فلز به میزان ۱۵۰ میلی گرم در لیتر به ترتیب ٦۹ و ۵۹ درصد (۲۵ و ۲۲ میلی گرم در هر گرم) و برای مس در همان شرایط به استثنای اسیدیته بهینه ۵، به میزان ٤۸٪ (۱٦ میلی گرم در لیتر) به دست آمد. با وجود این که در pH ٦ به دلیل منفی‌تر شدن سطح باکتری باید میزان جذب فلز افزایش یابد، اما در مورد فلز مس ماکزیمم جذب در pH ۵ مشاهده شد که دلیل آن رسوب سولفات مس در pH ٦ است (۱۸).

نتیجه گیری

با توجه به نتایج به دست آمده، به نظر می‌رسد که سویه جدا شده در این تحقیق گزینه مناسبی برای حذف زیستی فلزات سمی، به ویژه کادمیوم و روی می‌باشد. از این رو می توان امیدوار بود که این سویه نامزد مناسبی برای تولید جاذب‌های زیستی به منظور حذف فلز از خاک و آب‌های آلوده باشد.

تشکر و قدردانی

نویسنده این مقاله از حوزه معاونت پژوهشی واحد اسلامشهر به دلیل فراهم آوردن امکانات لازم برای اجرای این پژوهش کمال امتنان را دارد.

References

1. Nies DH. Metals and their compounds in the environment. Part II. In: Anke K, Ihnat M, Stoeppler M, editor. The elements: essential and toxic effects on microorganisms, 2nd ed. New York. Wiley VCH; 2004: 257-262.
2. Mazej Z, Al Sayegh-Petkovšek S, Pokorny B. Heavy metal concentrations in food chain of Lake Velenjsko jezero, Slovenia. An artificial lake from mining. Arch Environ Contam Toxicol. 2010; 58: 998-1007.
3. Torab-Mostaedi M, Asadollahzadeh M, Hemmati A, Khosravi A. Equilibrium, kinetic, and thermodynamic studies for biosorption of cadmium and nickel on grapefruit peel. J Taiwan Inst Chem Eng. 2013; 44: 295-302.
4. Fu F, Wang Q. Removal of heavy metal ions from wastewaters: a review. J Environ Manage. 2011; 92: 407-418.
5. Xiao X, Luo S, Zeng G, Wei W, Wan Y, Chen L, Guo H, Cao Z, Yang L, Chen J, Xi Q. Biosorption of cadmium by endophytic fungus (EF) *Microsphaeropsis* sp. LSE10 isolated from cadmium hyper accumulator *Solanum nigrum* L. Bioresour Technol. 2010; 101: 1668-1674.
6. Rathinam A, Maharshi B, Janardhanan SK, Jonnalagadda RR, Nair BU. Biosorption of cadmium metal ion from simulated wastewaters using *Hypnea valentiae* biomass: a kinetic and

www.SID.ir

Archive of SID

thermodynamic study. Bioresour Technol. 2010; 101: 1466-1470.

7. Nakajima A, Electron spins resonance study for copper biosorption by bacteria. Water Res. 2002; 36: 2091-2097.

8. Carpio IE, Machado-Santelli G, Sakata SK, Ferreira Filho SS, Rodrigues DF. Copper removal using a heavy-metal resistant microbial consortium in a fixed-bed reactor. Water Res. 2014; 1(62): 156-166.

9. Marzan LW, Hossain M, Mina SA, Akter Y, Chowdhury AM. Isolation and biochemical characterization of heavy-metal resistant bacteria from tannery effluent in Chittagong city, Bangladesh: Bioremediation viewpoint. Egypt J Aquatic Res. 2017; 43: 65-74.

10. Mishra A, Malik A. Novel fungal consortium for bioremediation of metals and dyes from mixed waste stream. Bioresour Technol. 2014; 171: 217-226.

11. Ruta LL, Kissen R, Nicolau I, Neagoe AD, Petrescu AJ, Bones AM, Farcasanu IC. Heavy metal accumulation by *Saccharomyces cerevisiae* cells armed with metal binding hexapeptides targeted to the inner face of the plasma membrane. Appl Microbiol Biotechnol. 2017; 101(14): 5749-5763.

12. Machado MD, Soares EV, Soares HM. Removal of heavy metals using a brewer's yeast strain of *Saccharomyces cerevisiae*: Chemical speciation as a tool in the prediction and improving of treatment efficiency of real electroplating effluents. J Hazardous Materials. 2010; 180: 347-353.

13. Ghoneim M, El-Desoky H, El-Moselhy KM, Amer A, Abou El-Naga E, Mohamedein L, Al-Prol A. Removal of cadmium from aqueous solution using marine green algae, *Ulva lactuca.* Egypt J Aquatic Res. 2014; 40: 235-242.

14. Figueira P, Henriques B, Teixeira A, Lopes CB, Reis AT, Monteiro RR, Duarte AC, Pardal MA, Pereira E. Comparative study on metal biosorption by two macroalgae in saline waters: single and ternary systems. Environ Sci Pollut Res. 2016; 23: 11985-11997.

15. Vijayaraghavan K, Yun YS. Bacterial biosorbents and biosorption. Biotechnol Adv. 2008; 26: 266-291.

16. Mohammadzadeh KR, Chorom M, Motamedi H, Kianpoor KY, Oustan S. Biosorption of Cd and Ni by inactivated bacteria isolated from agricultural soil treated with sewage sludge. Ecohydrol Hydrobiol. 2012; 12(3): 191-198.

17. Ghane M, Tabandeh F, Bandehpour M, Ghane M. Isolation and characterization of a heavy metal resistant *Comamonas* sp. from industrial effluents. J Sci Technol. 2013; 2: 173-179.

18. Liu HL, Chen BY, Lana YW, Cheng YC. Biosorption of Zn (II) and Cu (II) by the indigenous *Thiobacillus thiooxidans*. Chem Eng J. 2004; 97: 195-201.

19. Shahsavanei GM, Ahadi AM, Douri M. Biosorption of silver by *Srenitrophomonas maltophila* strain MS8 isolated from wastewater of silversmiths workshop in Isfahan. J Microb World. 2015; 8(2): 158-167. [In Persian]

20. Arivalagan P, Singaraj D, Haridass V, Kaliannan T. Removal of cadmium from aqueous solution by batch studies using *Bacillus cereus*. Ecolog Eng. 2014; 71: 728-735.

21. Yazdi M, Behzad M. Geochemical contamination in Seyab river, Islam Shahr, Iran. Environ Sci. 2009; 6(4): 55-64.

22. Sambrok J, Russell DW, Maniatis T. Molecular cloning a laboratory manual. 4th ed, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2001.

www.SID.ir

Archive of SID

23. Hassan SH, Abskharon RN, El-Rab SM, Shoreit AA. Isolation, characterization of heavy metal resistant strain of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from polluted sites in Assiut city, Egypt. J Basic Microbiol. 2008; 48(3): 168-176.
24. Wei G, Fan L, Zhu W, Fu Y, Yu J, Tang M. Isolation and characterization of the heavy metal resistant bacteria CCNWRS33-2 isolated from root nodule of *Lespedeza cuneata* in gold mine tailings in China. J Hazard Mater. 2009; 162(1): 50-56.
25. Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT, Garrity GM. Bergey's manual of systematic bacteriology, 2nd ed. Springer-Verlag, New York; 2005.
26. Perscott H. Laboratory exersices in microbiology. 5nd ed. Mc Graw-Hill; 2005.
27. Muyzer G, de Waal EC, Uitterlinden AG. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for *16S rRNA*. Appl Environ Microbiol. 1993; 59: 695-700.
28. Willems A, Falsen E, Pot B, Jantzen E, Hoste B, Vandamme P. *Acidovorax*, a new genus for *Pseudomonas facilis*, *Pseudomonas delafieldii*, E. Falsen (EF) group 13, EF group 16, and several clinical isolates, with the species *Acidovorax facilis* comb. nov., *Acidovorax delafieldii* comb. nov., and *Acidovorax temperans* sp. nov. Int J Syst Evol Microbiol. 1990; 40(4): 384-398.
29. Abou-Shanab RAI, Berkum PV, Angle JS. Heavy metal resistance and genotypic analysis of metal resistance genes in gram-positive and gram-negative bacteria present in Ni-rich serpentine soil and in the rhizosphere of *Alyssum murale*. Chemosphere. 2007; 68: 360-367.
30. Stout LM, Nu¨sslein K. Shifts in rhizoplane communities of aquatic plants after cadmium exposure. Appl Environ Microbiol. 2005; 2484-2492.
31. Akob DM, Mills HJ, Kostka JE. Metabolically active microbial communities in uranium-contaminated subsurface sediments. FEMS Microbiol Ecol. 2007; 59: 95-107.
32. Vimala R, Das N. Biosorption of cadmium (II) and lead (II) from aqueous solutions using mushrooms: a comparative study. J Hazard Mater. 2009; 168: 376-382.
33. Bulgariu D, Bulgariu L. Equilibrium and kinetics studies of heavy metal ions biosorption on green algae waste biomass. Bioresour Technol. 2012; 103: 489-493.
34. Özdemir S, Kılınc E, Poli A, Nicolaus B. Biosorption of heavy metals (Cd^{2+}, Cu^{2+}, Co^{2+}, and Mn^{2+}) by thermophilic bacteria, *Geobacillus thermantarcticus* and Anoxy *bacillus amylolyticus*: equilibrium and kinetic studies. Bioremed. 2013; 17: 86-96.
35. Zhou W, Wang J, Shen B, Hou W, Zhang Y. Biosorption of copper (II) and cadmium (II) by a novel exopolysaccharide secreted from deep-sea mesophilic bacterium. Colloids Surf B: Biointerfaces. 2009; 72: 295-302.
36. Ding Y, Jing D, Gong H, Zhou L, Yang X. Biosorption of aquatic cadmium (II) by unmodified rice straw. Bioresour Technol. 2012; 114: 20-25.
37. Tunali S, Cabuk A, Akar T. Removal of lead and copper ions from aqueos solutions by bacterial strain isolated from soil. Chem Eng J. 2006; 115: 203-211.

www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Microbial World
Volume 10, No. 1, April 2017

Original Article

Isolation of heavy metal resistant *Acidovorax* sp. from agricultural soil and optimization of metal biosorption

Maryam Ghane [1]

[1]Assistant Professor, Department of Biology, Islamic Azad University, Islamshahr branch, Islamshahr, Iran.

Abstract

Background & Objectives: Bioremediation is the most efficient method for removal of heavy metals from contaminated soils. The aim of this study was the isolation of heavy metal resistant bacteria and optimization of removal conditions.

Material & Methods: In this cross sectional study, sampling was carried out from agricultural soils of different areas of Islamshahr. Screening of resistant strains was carried out in medium containing 1 mM of metals including cadmium, zinc, and copper. The minimum inhibitory concentration (MIC) of metals was investigated by agar dilution method. Metal removal was carried out by atomic absorption spectroscopy. Various removal parameters such as pH, initial metal concentration, as well as contact time were investigated. Identification of strains was performed based on *16S rRNA* gene sequences.

Results: Among all 100 bacterial isolates, BRH3 was resistant to all 3 metals. The MIC of copper, cadmium, and zinc were 3 mM, 2 mM, and 3 mM, respectively. The isolate was able to remove 32.5%, 47.0%, and 56.8% of Cu, Cd, and Zn, respectively. The maximum biosorption of zinc and cadmium were obtained 69%, and 59% at pH 6, contact time of 4 hours, and an initial metal concentration of 150 mg/L. The maximum biosorption for copper was 48% in the same condition, except for optimal pH which was 5. The isolate was called as *Acidovorax* sp. HM_AH 13, and was deposited as JN676128 in GenBank.

Conclusion: Results showed that heavy metal resistant bacteria are present in agricultural soils, and the isolated strain could be a good candidate for heavy metal removal from polluted environment.

Keywords: Biosorption, Heavy metals, Polluted soils, *Acidovorax* sp.

Correspondence to: Maryam Ghane

Tel: +98 9125133815

E-mail: ghane@iiau.ac.ir

Journal of Microbial World 2017, 10(1): 37-48.

www.SID.ir