Archive of SID

تاثیر مقادی‌ر مختلف سرب و روی برفعالیت جمعیت باکتریایی خاک

دکتر محمد رضا مهراسبی[۱]، زهره فرهمند کیا[۲]

خلاصه

سابقه و هدف: *با توجه به روند رو به رشد فعالیت‌های صنعتی و آثار تخری‌بی آلای‌نده های ناشی از آن بر اکو سیستم‌های مختلف و عدم اطلاع از اثرات مضر مقادی‌ر سرب و روی بر فعالیت می‌کروبی خاک، این تحقیق به منظور تعی‌ی‌ن تاثیر مقادی‌ر مختلف سرب و روی بر فعالیت جمعیت میکروبی خاک‌های منطقه‌ی زنجان از طریق تعیین غلظت بازدارندگی ۵۰ درصد در سال ۱۳۸۲ انجام شد.*

مواد و روش‌ها: *تحقی‌ق با طراحی تجربی بر روی ۲۸ تی‌مار آلوده به سرب و روی انجام شد که جهت خوگیری به مدت ۸ ماه در ظروف جداگانه در معرض ۳ غلظت سرب و ۳ غلظت روی قرار گرفته بودند. یک نمونه‌ی خاک نیزبه عنوان شاهد با همان شرایط در معرض هیچ نوع فلز سنگینی قرار نگرفت. پس از جدا سازی میکروارگانیسم‌ها، هر جمعیت میکروبی جداسازی شده با ۱۰ غلظت روی (۰/۵ تا ٤٥ می‌لی مول بر کی‌لو گرم خاک) و ۱۰ غلظت سرب (۰/۵ تا ٤٥ می‌لی مول بر کی‌لو گرم خاک) در ظروف جداگانه آلوده شدند و پس از ٦ هفته، آزمون های شمارش میکروبی و فعالیت آنزیم دهیدروژناز انجام شد. با استفاده از نتایج به دست آمده منحنی های دوز ـ پاسخ رسم و سپس غلظت باز دارندگی ۵۰ درصد محاسبه و تحلیل شد.*

یافته‌ها: *بهترین مدل برای رسم منحنی‌های دوز ـ پاسخ مدل لجستیک بود. در کلیه‌ی تیماران غلظت بازدارندگی ۵۰ درصد همراه بود با افزایش غلظت فلز سنگین در مرحله‌ی خوگیری همراه بود. در تیماران کنترل غلظت بازدارندگی ۵۰ درصد سرب و روی به ترتیب حدود ١٦ و ۸ میلی مول بر کیلوگرم بود و در تیمارانی که قبلاً با سرب و روی آلوده شده بودند این غلظت در سرب از ۲۰/٦ تا ۲۷/٤ و در روی از ۱۳/۷ تا ٤٤ میلی مول بر کیلوگرم بسته به نوع و غلظت فلز اضافه شده به خاک در مرحله‌ی خوگیری متغیر بود.*

نتیجه گیری و توصی‌ه ها: *وجود شرایط خوگیری با فلز سنگی‌ن، کنترل غلظت بازدارندگی ۵۰ درصد سرب و روی را در میکروارگانیسم‌های خاک بالا می‌برد و در این میان فلز روی نسبت به سرب سمی تر و اثرات بازدارندگی شدیدتری در جمعیت باکتریایی خاک دارد در نظر گرفتن غلظت حدود ۱ و ۰/۵ می‌لی مول بر کی‌لو گرم به ترتیب برای سرب و روی به عنوان غلظت‌های آستانه در تدوین پیش نویس‌های استاندارد توصیه می‌شود.*

واژگان کلیدی: جمعیت میکروبی، غلظت بازدارندگی ۵۰ درصد (IC50) ، خاک، زنجان.

مقدمه

ی‌کی از نگرانی‌های اکولوژی‌ست‌ها و متخصصی‌ن محی‌ط زی‌ست، آلودگی‌های زی‌ست محیطی و به وی‌ژه آلودگی خاک می‌باشد. در اثر فعالیت های مختلف انسانی به خصوص فعالیت‌های صنعتی مقادی‌ر بسیار زیادی از مواد آلی گوناگون در محی‌ط زی‌ست منتشر می‌شوند. بخشی از ای‌ن آلاینده‌ها به طور مستقی‌م وارد منابع آبی شده، بخشی در سطح ی‌ا اعماق خاک تخلی‌ه می‌شوند و بخش دی‌گری از آلاینده‌ها به صورت گاز ی‌ا بخار در آتمسفر زمی‌ن پخش می‌شوند که از طری‌ق نزولات جوی دوباره وارد منابع آبی و خاکی می‌شوند. آلودگی خاک از ی‌ک سو موجبات آلودگی مواد غذایی را سبب شده و از سوی دی‌گر با توجه به عبور آب از تشکیلات زی‌رزمی‌نی موجبات آلودگی آب را نی‌ز فراهم می‌کند. تغییر و تبدیل گوگرد و فسفر، تثبیت ازت، احیاء و انتقال نیترات، تشکیل ترکیبات آلی کربن دار در خاک و معدنی کردن مواد آلی کربن دار در خاک توسط میکروارگانیسم‌ها انجام می شود (۱).

فلزات سنگین مثل سرب، روی، جیوه و کادمیوم و ... دسته‌ای

[۱] دکترای بهداشت محیط، استادیار دانشگاه علوم پزشکی زنجان

[۲] کارشناس شیمی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان

www.SID.ir

Archive of SID

از آلاینده‌ها هستند که در اثر فعالیت‌های صنعتی انسان به محیط خاک وارد می شوند. به دلیل وجود اختلاف در خصوصیات بیولوژیکی و شیمیایی خاک‌های مناطق مختلف و با توجه به این‌که تا کنون گزارشی از مقادیر مضر این دو عنصر برای فعالیت میکروبی خاک ارائه نشده است، لازم است در مورد اثرات این آلاینده‌ها بر فعالیت میکروبی خاک تحقیقات مختلفی صورت گیرد (۳،۲) تحقیقات انجام شده نشان دهنده‌ی اثرات سمی فلزات سنگین بر فعالیت بخش میکروبی خاک می باشند (٤). این فلزات در غلظت‌های بالا اثرات جدی بر ساختار بیومس وفعالیت جمعیت میکروبی خاک می گذارند (٥). شای وهمکاران غلظت بازدارندگی ۵۰ درصد (IC50)[1] کرم و سرب را به ترتیب ۲/۵ و۰/۰۱ گزارش کرده اند(٦). در تحقیق دیگری که توسط موتزارت و همکاران انجام گرفته است اثرات نیکل، روی، مس، سرب و کادمیوم بر فعالیت میکروبی خاک مطالعه و مشخص شده که کادمیوم سمی ترین فلزات مورد مطالعه بوده است. در تحیقق مذکور مقادیر IC50 در میکروارگانیسم‌های خو داده نشده در مقابل این فلزات، بر حسب لگاریتم غلظت و بر اساس آزمون شمارش بشقابی برای مس، کادمیوم، روی، نیکل و سرب به ترتیب ۳/۸٤، ٥/۲۹، ٤/۳٦، ۳/۸۳ و ۳/۰۵ بوده است (۷). تحقیق دیگری نشان داد که کادمیوم و جیوه در غلظت های ۱۰ تا ۱۰۰ پی پی ام فعالیت آنزیم‌های لیگنینولیتیک خاک را به حد معنی داری کاهش می‌دهند(۸). هم چنین گزارش شده است که بیومس میکروبی در خاک‌های آلوده به سرب نسبت به خاک‌های بدون سرب کاهش معنی‌داری دارد و سرب باعث ۱۰ درصد کاهش در تولید بیومس می‌شود (۹). مطالعات نشان داده‌اند که تجزیه‌ی بیولوژیکی ۲- کلروفنل ۳- کلروبنزوآت توسط باکتری‌های بی‌هوازی وقتی محیط به غلظت های بالاتر از ۰/۰۱ پی پی ام جیوه، کرم، مس و کادمیوم آلوده بوده است کاهش معنی داری داشته و به عنوان مثال کادمیوم در غلظت ۲ پی پی ام باعث توقف تجزیه‌ی بیولوژیکی شده است. این اتفاق در غلظت ۲ تا ۵ پی پی ام مس نیز رخ داده ولی جیوه اثرات منفی محسوسی نداشته است (۱۰). بنابراین با توجه به روند رو به رشد فعالیت‌های صنعتی و آثار تخریبی آلاینده‌های ناشی از آن بر اکوسیستم‌های مختلف و عدم اطلاع از اثرات مضر مقادیر مختلف سرب و روی بر فعالیت میکروبی خاک این تحقیق، به منظور تعیین این مقادیر از طریق تعیین IC_{50} انجام شد.

در تحقیق حاضر اثرات سرب و روی بر فعالیت آنزیم دهیدروژناز و تعداد باکتری‌ها در واحد جرم خاک مورد مطالعه قرار گرفته و هدف مطالعه تعیین IC_{50} یا غلظتی است که در آن ۵۰ درصد بازدارندگی مشاهده می‌شود.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به روش تجربی انجام شده است. در مرحله‌ی اول جهت انجام تحقیق از زمین‌های بایر (از شعاع ۵ کیلومتری معدن سرب و روی دندی زنجان) که هیچ فعالیت انسانی روی آن‌ها صورت نگرفته است نمونه‌های خاک از سطح زمین و اعماق ۲۰ و ۵۰ سانتی‌متری از منطقه ای به مساحت حدود ۳۱/۵ کیلومتر مربع برداشت شدند. تعداد نمونه‌های خاک ۱۷۵ نمونه بود که از هر کیلومتر مربع ٦ نمونه برداشت شد. نمونه‌های خاک پس از اختلاط کامل و جداسازی باقی‌مانده‌های گیاهان، با سرند ۲ میلی متری سرند شدند. در هر یک از ۷ ظرف ۲۵۰ میلی لیتری استریل ۲۰۰ گرم خاک ریخته و ظرفیت نگه‌داری آب در خاک‌ها روی ٤۰ درصد تنظیم شد. از آنجا که به ترتیب ۳۲ و ١٦ میلی مول بر کیلوگرم از سرب و روی به میزان ۵۰ درصد ATP خاک را کاهش می‌دهند (۱۱،٤) در این تحقیق در ظروف ۱ تا ۳، غلظت سرب در خاک مقادیر ١٦، ۳۲ و ٦٤ میلی مول

[1] Inhibition Concentration

www.SID.ir

Archive of SID

بر کیلوگرم و در ظروف ٤ تـا ٦ غلظـت روی بـه ترتیـب در مقادیر ۸ ، ١٦ و٣٢ میلی مول بر کیلـوگرم تنظـیم شـد.ظـرف شماره‌ی ۷ به عنوان ظرف کنترل در نظر گرفته شد و هیچ نوع فلز سنگین به آن اضـافه نگردیـد. ایـن خـاک دارای حـداقل آلودگی بود چون در محـی‌ط زی‌ـست نمـی‌تـوان خـاکی را تصور نمود که غلظت سرب وروی در آن صفر باشـد (٥،٤). هم‌چنین برای تنظیم غلظت سرب و روی از سولفات روی و نیترات سرب استفاده شد و غلظت فلزات با احتساب غلظـت سرب و روی موجود در خاک تنظیم گردید. ایـن ظـروف بـه مـدت ۸ مـاه بـا هـدف ایجـاد شـرایط خـوگیری در دمـای آزمایشگاه نگه‌داری شدند. در این مدت با انجام وزن سـنجی به طور منظم میزان رطوبت خاک‌هـا تنظـیم مـی‌شـد. پـس از گذشت ۸ ماه میکروارگانیسم‌های موجود در خاک هر ظـرف به طور مجزا، جداسـازی شـدند و اسـتخراج بـه روشـی کـه مارجزین و هم‌کاران ارائه نموده‌اند (١٣،١٢،٥) صورت گرفت. در مرحلـه‌ی دوم ابتـدا خـاک بـه مقـدار مـورد نیـاز (از همان نمونه های خـاک کـه در مرحلـه‌ی اول مخلـوط و سرند شده بودند) استریل شد به این صورت که ابتـدا خـاک، درون سینی های فلزی پخش شد و درون کوره‌ای با حـرارت ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت و سپس در حـرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤ ساعت درون گرم‌خانـه قـرار داده شدند. این دو مرحله‌ی حرارت دهی و کشت ۳ بار تکرار شد تا میکروارگانیسم های موجود در خاک کاملا نابود شدند (١٤،٦). سپس ١٤٠ لولـه آزمـایش ٤٠ میلـی لیتـری بـا درب تلفـونی انتخـاب و اسـتریل شـدند. بـرای کـشت میکروارگانیسم‌های جداسازی شده از هر ظرف مرحله‌ی اول (۷ ظرف) در محیط خاک، ۲۰ لوله آزمایش در نظر گرفته شد. به لوله ها ۲۰ گرم خاک اضـافه شـد و غلظـت‌هـای ۰/۵، ۵، ١٠،١٥،٢٠،٢٥،٣٠،٣٥ ،٤٠ و٤٥ میلی مول در کیلـوگرم سـرب به ۱۰ لوله و معادل همین غلظت‌ها به ۱۰ ظرف دیگـر، روی اضافه شد. پس از تلقیح میکروارگانیسم های جدا سازی شده از ظروف مرحله‌ی اول به لوله ها، ظرفیـت نگـه‌داری آب در خاک‌ها همان ٤٠ درصد تعیین و نسبت های کربن به نیتروژن، نیتروژن به فسفر و فـسفر بـه پتاسـیم بـه ترتیـب ١٠/١ ،٥/١، ۰/۵/۱ تنظیم شد (١٥،٩، ٦).

پس از گذشت ٦ هفته آزمـون شـمارش باکتریـایی بـه روش نمایش بشقابی روی محیط کشت آگار حاوی تریپتوژ (TSA)[2] و آزمون اندازه گیری فعالیت آنزیم دهیدروژناز بـه عنـوان دو شاخص ارزیابی فعالیت میکروبی خاک انجام شد (١٧،١٦).

هر آزمایش ۳ بار تکرار، انحـراف معیـار محاسـبه و میـانگین نتایج ثبت شد. جهت شمارش باکتری‌هـای خـاک یـک گـرم نمونه برداشت و با آب مقطر استریل شد. عمل ترقیق متـوالی انجام و سپس یک میلی لیتر از رقت مورد نظر در پلیت هـای حاوی محیط آگار حاوی تریپتوز (که قبلا به مدت ٢٤ ساعت در حرارت ۳۷ درجه‌ی سـانتی‌گـراد جهـت اطمینـان از عـدم آلودگی انکوبه شده بود) کشت داده شد. پـس از ٤٨ سـاعت شمارش کلنی انجام شد. فقط پلیت هایی که حاوی ۲۰ تا ۸۰ کلنی بودند شمارش شدند و نتایج بر حـسب واحـد تـشکیل کلنی در هر گرم خاک (CFU/g) ثبت شدند (١٦).

اندازه گیری فعالیت آنزیم دهیـدروژناز بـه روش تـری فنیـل تترازولیوم کلراید انجام شد. در این تحقیـق حـلال اسـتخراج استن بود کـه بـه همـراه تـری فنیـل تراازولیـوم کلرایـد بـه نمونه های خاک اضافه شـد. پـس از ٢٤ سـاعت محلـول در تکان دهنده قرار گرفته و پس از صاف کردن میزان جذب نور محلول قرمز رنگ (که رنـگ آن ناشـی از تولیـد تـری فنیـل فور مازان بود) در طول موج ٥٤٦ نانومتر توسط یک دسـتگاه اسپکتروفتومتر نور مرئی- فرابنفش (LKB) اندازه گیری شد و بـا توجـه بـه منحنـی کالیبراسـیون از غلظـت‌هـای مختلـف تری فنیل فورمازان رسم شده (r^2= ۰/۹۹)، و معادله‌ی حاصل از خط رگرسیون، فعالیت آنزیم بـر حـسب میکروگـرم تـری فنیل فورمازان در هر گرم خاک محاسبه و ثبت شد (١٧).

[2]Triptose Soy Agar

www.SID.ir

Archive of SID

کلیه‌ی مواد به کار رفته ساخت کارخانه‌ی مرک و از نوع آنالیتیکال بودند و تمامی آزمایشات در آزمایشگاه دانشکده‌ی بهداشت انجام شد. در این تحقیق در واقع میکروارگانیسم‌هایی که در مقابل یک فلز سنگین مرحله‌ی خوگیری راگذرانده بودند هم در مقابل همان فلز و هم در مقابل آلودگی با فلز دیگر مورد آزمون قرار گرفتند. بنابراین ۱٤ تیمار مختلف که از نظر نوع و غلظت فلز سنگین در مرحله‌ی خوگیری و نوع فلز سنگین (در غلظت های ۱۰ گانه) در مرحله‌ی دوم با یکدیگر متفاوت بودند مورد مطالعه قرار گرفتند.

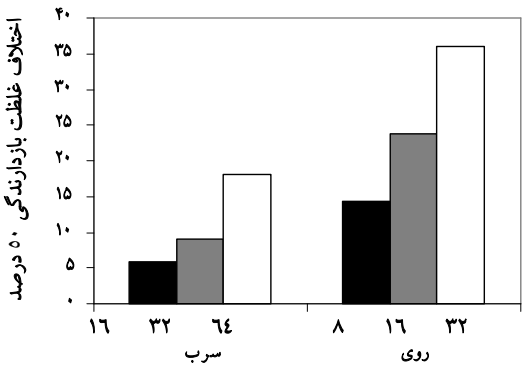
منحنی‌های دوز ـ پاسخ بر این اساس رسم شدند که محور افقی غلظت‌های ۱۰ گانه‌ی فلز سنگین و محور عمودی درصد کاهش شاخص فعالیت میکروبی (شمارش میکروبی یا فعالیت آنزیمی) نسبت به مقدار شاخص در تیمارهای کنترل بودند، جهت تحلیل نتایج و رسم منحنی های دوز ـ پاسخ از نرم افزار Curve Expert استفاده گردید و مدل‌های ریاضی مختلف جهت ترسیم منحنی ها آزمون شدند. ملاک آزمون ضریب تعیین (r^2) بود. بهترین مدل ریاضی مدل لجستیک با فرمول زیر بود (۷،٦).

$$Y=\frac{a}{1+\exp b(x-c)}$$

در این معادله Y درصد کاهش شاخص، x غلظت فلز آلاینده، c,b,a پارامترهای معادله هستند که در هر تیمار توسط نرم افزار تعیین شدند. منحنی‌های دوز پاسخ هم بر اساس نتایج حاصل از آزمون شمارش میکروبی و هم بر اساس آزمون فعالیت آنزیم رسم شدند. جهت محاسبه‌ی IC_{50} در نقطه‌ای که Y برابر ۵۰ درصد است غلظت مربوطه تعیین شد. هم چنین جهت تجزیه و تحلیل نتایج مقادیر ΔIC_{50} (اختلاف غلظت بازدارندگی پنجاه درصد) در خاک‌های آلوده با IC_{50} خاک‌های کنترل محاسبه شدند. رگرسیون خطی بین مقادیر ΔIC_{50} غلظت فلزات سنگین نیز برقرار شد. در این تحقیق هم چنین ارتباط بین مقادیر تری فنیل فورمازان و واحد تشکیل کلنی در تیمارهای شاهد وقتی با سرب و روی آلوده شده‌اند به روش همبستگی تعیین شد.

یافته‌ها

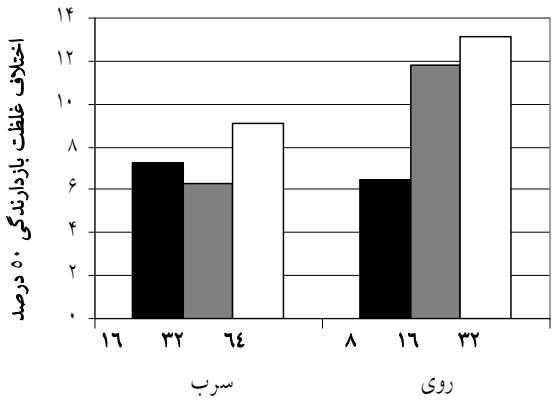
در ۱٤ تیمار بررسی شده ۲۸ سری داده (با توجه به دو شاخص میکربی) تحلیل شد که با احتساب دو شاخص فعالیت میکروبی، ۲۸ سری داده تحلیل شدند، فقط در دو سری از داده‌ها معادله‌ی لجستیک جواب مناسب نداد و از بین معادلات لگاریتمی، رشد و ... معادله‌ی درجه‌ی دوم بهترین نتیجه را ارائه داد. در مجموع ۲۸ منحنی دوز ـ پاسخ رسم شد. پس از رسم منحنی‌های دوز پاسخ میزان IC_{50} در کلیه‌ی تیماران با داده‌های هر دو شاخص محاسبه شد نتایج نشان داد که در خاک‌هایی که باغلظت‌های مختلف فلزات سنگین مرحله‌ی خوگیری را گذرانده‌اند نسبت به خاک‌های کنترل در هر آزمون مقادیر IC_{50} بسیار بالاتر بود.مقادیر IC_{50} میکروارگانیسم‌هایی که با سرب خوگیری شده‌اند، از ۱۸/۵ میلی‌مول بر کیلوگرم در تیمار کنترل به حداکثر ۲٤/۹ میلی مول بر کیلوگرم در آزمون شمارش میکروبی و از ۱٤/۳



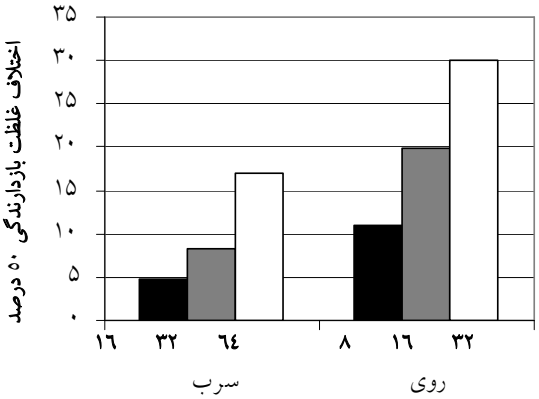
نمودار ۱ ـ توزیع مقادیر اختلاف غلظت بادارندگی حاصل از آزمون آنزیم دهیدروژناز تیمارهای روی در خاک‌های خو داده شده با غلظت‌های مختلف سرب و روی در مقایسه با تیمار و شاهد، زنجان ۱۳۸۲

www.SID.ir

Archive of SID

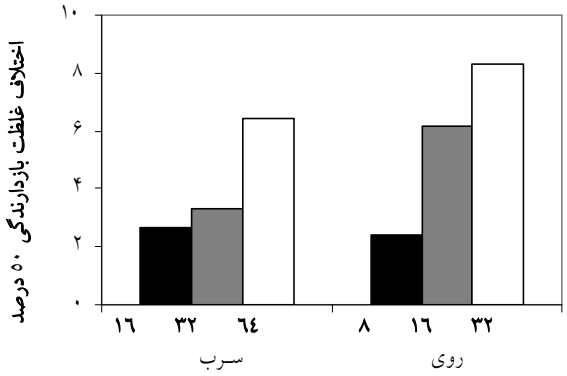


نمودار ۲ ـ توزیع مقادیر اختلاف غلظت بادارندگی حاصل از آزمون آنزیم دهیدروژناز تیمارهای سرب در خاک‌های خو داده شده با غلظت‌های مختلف سرب و روی در مقایسه با تیمار و شاهد، زنجان ۱۳۸۲



نمودار ٤ ـ توزیع مقادیر اختلاف غلظت بادارندگی حاصل از آزمون کشت میکروبی تیمارهای روی در خاک‌های خو داده شده با غلظت‌های مختلف سرب و روی در مقایسه با تیمار و شاهد، زنجان ۱۳۸۲

در تیمار کنترل به حداکثر ۲۳/۳ میلی مول بر کیلوگرم در آزمون فعالیت آنزیمی رسید. IC_{50} روی در همین میکرو ارگانیسم‌ها از ۸/۹ میلی مول بر کیلوگرم در تیمار شاهد به حداکثر ۲۵/۹ میلی مول بر کیلوگرم در آزمون شمارش میکروبی و از ۸/۱ در تیمار کنترل به حداکثر ۲٦/۱٦ میلی مول بر کیلوگرم در آزمون فعالیت آنزیمی رسید.



نمودار ۳ ـ توزیع مقادیر اختلاف غلظت بادارندگی حاصل از آزمون کشت میکروبی تیمارهای سرب در خاک‌های خو داده شده با غلظت‌های مختلف سرب و روی در مقایسه با تیمار و شاهد، زنجان ۱۳۸۲

میزان IC_{50} روی در میکروارگانیسم‌هایی که با غلظت‌های مختلف روی، مرحله‌ی خوگیری را گذرانده‌اند از ۸/۹ میلی مول بر کیلوگرم در تیمار کنترل به حداکثر ۳۸/۹ میلی مول بر کیلوگرم در آزمون شمارش میکروبی و از ۸/۱ به حداکثر ٤٤ میلی‌مول بر کیلوگرم در آزمون فعالیت آنزیمی رسیده است. همین میکروارگانیسم‌ها وقتی به سرب آلوده شده‌اند میزان IC_{50} از ۱۸/۵ در تیمار کنترل به حداکثر ۲٦/۸ میلی‌مول بر کیلوگرم در آزمون شمارش میکروبی و از ۱٤/۳ به حداکثر ۲۷/٤ میلی مول برکیلوگرم در آزمون فعالیت آنزیم رسیده است. در نمودارهای (۱)تا (٤) مقادیر ΔIC_{50} های به دست آمده جهت بررسی اثر غلظت فلز سنگین در مرحله‌ی خوگیری در بالا رفتن میزان تحمل باکتری‌ها و بالا رفتن IC_{50} نشان داده شده است. در کلیه تیمارها با افزایش غلظت فلز در مرحله‌ی خوگیری ΔIC_{50} افزایش داشته است. مقادیر ضریب همبستگی بین ΔIC_{50} تیمارهای مختلف و غلظت فلز سنگین درمرحله‌ی خوگیری محاسبه شد.

به غیر از یک مورد در بقیه‌ی موارد ضریب تعیین بالاتر از ۰/۸ است. در محاسبات رگرسیون، معادله‌ی خطوط مربوطه نیز به دست آمد. در صورتی که در معادله‌ی خطوط رگرسیون Y را

www.SID.ir

Archive of SID

مساوی صفر قرار دهیم(یعنی ΔIC_{50} معادل صفر باشد) x برابر غلظت آستانه خواهد بود یعنی غلظتی که اولین تغییرات در IC_{50} و به عبارت دیگر در فعالیت میکروبی به وجود می‌آید که می‌تواند نمایانگر شدت سمیت فلز باشد. بر این اساس غلظت آستانه‌ی سرب ۰/۸٤ و غلظت آستانه‌ی روی ۰/۵ میلی مول بر کیلو گرم خاک به دست آمد.

همبستگی بین نتایج حاصل از دو شاخص میکروبی در تیمارهای شاهد که به روی آلوده شده‌اند (منظور تیمارهایی که در مرحله‌ی خوگیری در معرض هیچ‌نوع فلز قرار نگرفته اند اما در مرحله‌ی دوم برای تعیین IC_{50} در غلظت‌های مختلف سرب و روی آزمون شده‌اند) نشان داد که ضریب همبستگی در این دو تیمار به ترتیب ۰/۸۸ و۰/۹۹ بوده است.

بحث

نتایج تحقیق نشان داد روی نسبت به سرب سمی تر و اثرات بازدارندگی شدیدتری در جمعیت باکتریایی خاک دارد و هم‌چنین مدل لجستیک بهترین مدل ریاضی است و بهترین منحنی را بر روی داده‌های دوز- پاسخ رسم می‌کند.

بررسی تغییرات به وجود آمده در مقادیر IC_{50} در غلظت‌های مختلف مرحله‌ی خوگیری نشان می‌دهد که غلظت فلز سنگین بر بالا رفتن مقادیر IC_{50} اثر مثبت داشته است و هر چه غلظت بیشتر می‌شود IC_{50} نیز افزایش می‌یابد. ضریب تعیین بالا در رگرسیون‌های خطی محاسبه شده بین IC_{50} و غلظت فلز سنگین در مرحله‌ی خوگیری نیز نشان دهنده‌ی اثرات مثبت افزایش غلظت فلز در مرحله‌ی خوگیری بر افزایش IC_{50} است. در نتایج به دست آمده مشخص شد که وقتی میکروارگانیسم‌ها در مقابل یکی از فلزات روی یا سرب مرحله‌ی خوگیری را گذرانده باشند تحمل آن‌ها در مقابل فلز دیگر نیز افزایش می‌یابد یعنی وقتی باکتری‌ها با روی خوگیری شده‌اند IC_{50} آن‌ها نسبت به زمانی که با سرب خوگیری شده‌اند بالاتر است.

دالمن و هانسترا(۱۹۹۷) دریافتند که در طی دو سال، باکتری‌هایی که در معرض سرب بوده‌اند قادر شده‌اند غلظت ۱۵۰۰ میکروگرم سرب در هر گرم خاک را تحمل نمایند(۳). در صورتی که در تحقیق ما نیز زمان خوگیری از ۸ ماه به ۲ سال افزایش می یافت احتمال افزایش میزان تحمل باکتری‌ها نیز افزایش می‌یافت.

در مطالعه‌ی مونتسرات و همکاران (۱۹۹٤) نیز بالا رفتن میزان تحمل باکتری‌ها در مقابل فلزات سنگین وقتی در مقابل انواع دیگر فلزات سنگین خوگیری شده باشند، نشان داده شده است. نتایج تحقیق حاضر نیز با تحقیق مذکور مطابقت دارد (۷).

محاسبات مربوط به غلظت آستانه نشان می‌دهد که کمترین مقدار غلظت آستانه‌ی مربوط به تیمارهای گروه خوگیری یافته با روی و آلوده شده با سرب در آزمون فعالیت آنزیم بوده است، که نشان می‌دهد سرب در این آزمون بالاترین اثر سمیت را داشته است ولی چون مقدار غلظت آستانه‌ی به دست آمده در دو آزمون در مقایسه با یکدیگر اختلافات زیادی دارند، نمی‌توان تفسیر قطعی نمود، چون در بقیه‌ی تیمارها غلظت‌های آستانه در دو آزمون اختلاف کمی دارند. در تیمارهای گروه خوگیری یافته و آلوده شده با روی کمترین غلظت آستانه را در هر دو آزمون داریم که برابر ۰/۵۵ و۰/۵۱ به ترتیب در آزمون‌های شمارش میکروبی و فعالیت آنزیمی بوده‌اند که اختلاف آن‌ها نیز حداقل (۰/۰٤) است که نشان دهنده‌ی آن است که در این تحقیق روی سمی‌تر از سرب بوده است و نتایج حاصل از تحلیل غلظت آستانه، نتایج حاصل که از تحلیل مقادیر IC_{50} را تأیید می‌نماید.

مقادیر r^2 بالا در رگرسیون خطی بین مقادیر تری فنیل فورمازان و واحد تشکیل کلنی در تیمارهای کنترل آلوده شده با روی و سرب ۰/۹۹ و ۰/۸۸ نشان می‌دهد که می توان از آزمون فعالیت آنزیم به عنوان یک شاخص فعالیت میکروبی استفاده نمود. آزمون فعالیت آنزیم سریع‌تر انجام می‌گیرد، خطای چشمی که در آزمون شمارش باکتری وجود دارد در این روش وجود ندارد و از همه مهم‌تر در آزمون شمارش

www.SID.ir

Archive of SID

میکروبی فقط باکتری‌های کشت‌پذیر شمارش می‌شوند در حالی‌که فعالیت آنزیم مربوط به کل باکتری‌ها است.

با توجه به گسترش صنایع وابسته به سرب و روی در استان زنجان و انتشار آلودگی‌های حاصله، لازم است که ابتدا تحقیقات جامعی در خصوص میزان فلزات سنگین در منابع زیست محیطی استان انجام گیرد وسپس با توجه به نتایج تحقیق حاضر وپژوهش‌های که در مقایسه بزرگترجهت تعیین غلظت‌های آستانه‌ای این فلزات انجام می‌شود، اقدامات کنترلی جهت پیشگیری از انتشار فلزات سنگین در محیط زیست به عمل آید.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی زنجان به لحاظ تقبل هزینه‌ی این طرح پژوهشی تقدیر و سپاس‌گزاری می‌نماید.

منابع

1 – Mckane L, Kandel J. ***Microbiology, Essential and Applications***. New York: Mc Grawhill; 1996: 703-5.

2 – Roane TM, Josephson KL, Pepper IL. Dual-bioaugmentation strategy to enhance remediation of cocontaminated. ***Soil Appl Envir Microbiol*** 2001; 67: 3208-15.

3 - Doelman P, Haanstra L. Effects of lead on the soil bacterial microflora. ***Soil Biology & biochem*** 1997; 11: 487-91.

4 - Kumar Sani R, Brent M, Peyton LT, Brown T. Copper-induced inhibition of growth of desulfuvibrio desulfuricans G20. ***Applied & Envir Microbiol*** 2001;67:4765-72.

۵ ـ علی اصغر زاده ناصر. ***در ترجمه‌ی میکروبیولوژی و بیوشیمی خاک***، پاول و کلارک (مولفین). چاپ اول، تبریز: انتشارات دانشگاه تبریز ۱۳۷۶، صفحات ۱۰۰-۱.

6 – Shi W, Becker J, Bischoff M, Turco RF, Konopk AE. Association of microbial community composition and activity with lead, chromium, and hydrocarbon contamination. ***Applied & Envir Microbiol*** 2002; 68: 3859-66.

7 - Montserrat D, Earland B, Asa F. Multiple heavy metal tolerance of soil bacterial communities and its measurment by a thymidine incorporation Technique. ***Appli & Envir Microbiol*** 1994; 60: 2238-47.

8 - Peter B, Carstoin W, Jeri G. Influence of cadmium and mercury on degredation of PAHs by plurutus ostereatus in Soil. ***Appli & Envir microbio*** 2000; 66: 2471-8.

9 – Konopka A, Zakharovi T, Oliver L. Microbial biomass and activity in lead contaminated. ***Soil Appl & Envir Microbiol*** 1999; 65:2256-59.

10 - Chun W, Barbara R, sharak g. effect of added heavy metals on biodegrdation of 2-chloro phenol and 3-Chloro banzene. ***Appl & Envir Microbiol*** 1996; 62: 2317-23.

11 - Frostegard A, Eearland B. phospholipid fattyacid Composition, biomass and activity of microbial Communities from two Soil types experimentally exposed to different metals. ***Appli & Envir Microbiol*** 1993; 5 q: 3605-17.

12- Margesin R, Walder G, Schinner F. The Impact of hydrocarbon remediation on enzyme aetivity and microbial properties of soil. ***Acta Biotechnology*** 2000; 20: 313-33.

13 – Ellis RJ, Morgan P, Weightman AJ, Fry JC. Cultivation-dependent and-independent approaches for determining bacterial diversity in heavy-metal-contaminated. ***Soil Appl & Envir Microbiol*** 2003; 69: 3223-30.

www.SID.ir

Archive of SID

14 - Gail M, Parsek TR, Parsek MR, Heavy metal resistance of biofilm and planktonic pseudomonas aeruginosa. ***Appl & Envir Microbiol*** 2003; 69: 2313-20.

15 - Nakatsu KH, Torsvik V, Overas L. Soil community analysis using denaturing gradient gel electrophoresis profiles of 16Sr DNA PCR products. ***Soil Sciense*** 2000; 64:1382-8.

16 - Alef k. ***Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry.*** London; Academic press; 1995: 275-300.

17 – Lai KM, Ye Dy, Wong JWC. Enzyme activities in a sandy soil amended with sewage sludge and coal fly ash. ***Water Air & Soil Pollution*** 1999; 113: 261-72.

www.SID.ir