Archive of SID

علوم و تکنولوژی محیط زیست ، دوره شانزدهم، شماره سه ، پاییز ۹۳

شناسایی و ارزیابی دامنه مقاومت درسویه های باکتریایی مقاوم به کادمیم طی پایش یک ساله از رودخانه کر

صدیقه ابوالاحرار*[۱]
t.abolahrar@gmail.com
فرشید کفیل زاده[۲]
محمد کارگر[۲]

تاریخ دریافت:۸۸/۳/۱۸ **تاریخ پذیرش:۸۸/۹/۱۷**

چکیده

مقدمه: رودخانه کر، تنها منبع تغذیه دریاچه بختگان، اهمیت زیست محیطی و اقتصادی ویژه ای دارد. آلاینده های کشاورزی، صنعتی، شهری و روستایی شامل فلزات سنگین این ناحیه را تهدید می کند. اهداف پژوهش حاضر، یافتن باکتری های مقاوم به کادمیم، تعیین دامنه مقاومت و سینتیک رشد باکتری های منتخب، بررسی وضعیت بهداشتی رودخانه از راه مطالعه چهار فصل با اندازه گیری فاکتورهای فیزیکوشیمیایی و زیستی بوده است.

مواد و روش ها: براساس سابقه آلودگی، پنج ایستگاه در زیر دست سد درودزن تا دریاچه انتخاب شد. نمونه های آب و رسوب هم زمان در دو گروه به منظور آنالیز فاکتورهای فیزیکوشیمیایی و زیستی و جداسازی باکتری های مقاوم به کادمیم، تهیه شدند. MIC ، MBC و سینتیک رشد باکتری (G+, G-) در محیط کشت بسته در دو حالت شوک با کنترل مقایسه گردید.

نتایج: آلودگی های فیزیکوشیمیایی به ویژه در ایستگاه های دو و سه می تواند مربوط به فعالیت های انسانی (آنتروپوژنیک) باشد. بیش تر باکتری های مقاوم، گرم منفی، کشیده و مربوط به رسوبات بودند. باکتری های *سراشیا مارسسنس* MT015 و *سودوموناس ائروژینوزا* ET017 تا شش میلی مولار به کادمیم مقاومت نشان دادند. سینتیک رشد باکتری دوم و *باسیلوس* OA017 مقاومت بالا و رشد مناسب را در حضور سه میلی مولار کادمیم نشان دادند.

نتیجه گیری: بومی بودن، عدم نیاز به دست ورزی های ژنتیکی همراه با مقاومت بالا به کادمیم از مزایای اصلی جدایه های این پژوهش می باشد. چنین باکتری هایی توانایی اصلاح زیستی پساب های آلوده به کادمیم و سایر آلاینده ها را دارند و برای کاربری در بیوفیلترها و یا "در محل" با ارزش هستند. یافته های تحقیق حاضر نشان می دهد که برخلاف محیط ناپایدارآب، رسوب شرایط مناسبی را برای تشکیل

۱- کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، گروه میکروبیولوژی، جهرم، ایران*(مسئول مکاتبات)
۲- دانشیار میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، گروه میکروبیولوژی، جهرم، ایران

www.SID.ir

Archive of SID

بیوفیلم و مقابله با استرس کادمیم فراهم می نماید. از دیگر ویژگی های این پژوهش، بررسی های چند جانبه برروی وضعیت رودخانه، شناسایی باکتری های مقاوم و ارزیابی چگونگی رشد آن ها در مقابل کادمیم می باشد.

واژه های کلیدی: باکتری مقاوم،کادمیم،آب و رسوب، پایش،رودخانه کر

مقدمه

افزایش فعالیت‌های صنعتی و اقتصادی همراه با افزایش جمعیت موجب گسترش طیف وسیعی از مواد آلاینده در محیط زیست و چرخه‌های مربوط به موجودات زنده شده است. به منظور رفع این گونه مشکلات در حال حاضر زمان و هزینه‌های زیادی صرف می‌گردد که متأسفانه گاه جواب گوی حجم عظیم آلودگی نیست. در مواردی آلاینده‌های ساخت دست بشر مانند پودرهای شوینده، رنگ‌های شیمیایی و سموم دفع آفات نباتی یا آلاینده‌های آلی مانند مشتقات نفتی، مستقیماً به آب و رسوبات تخلیه می‌گردد و گاه به طور غیرمستقیم ابتدا خاک را آلوده کرده و سپس آب‌های سطحی و زیرزمینی به تبع آن آلوده می‌شوند (۱). آلاینده های آلی تا حدودی تجزیه پذیرند و به ویژه توسط میکروارگانیسم ها غیر سمی می شوند درحالی که فلزات سنگین دراثر واکنش های شیمیایی، حرارت و فعالیت های میکروبی قابل تجزیه نیستند و همگی به خصوص کادمیم خاصیت تجمع در بافت ها و بزرگ نمایی زیستی را نیز دارند (۱ و ۲). استان فارس یکی از قطب‌های مهم کشاورزی و تولید محصولات زراعی در ایران است. اکثر مناطق زیر کشت در حاشیه رودخانه‌ها و کناره شهرها و روستاها واقع شده است، جایی که فعالیت‌های کشاورزی، زندگی شهری و روستایی و حتی فعالیت‌های صنعتی با هم آمیخته شده‌اند. تولید پساب‌های آلوده و خطرناک در چنین مناطقی قابل توجه است. رودخانه کر به عنوان تنها منبع تغذیه دریاچه بختگان از ارتفاعات زاگرس سرچشمه گرفته و در شرق استان فارس به این دریاچه می‌ریزد و ویژگی‌های یاد شده بالا را دارد. پساب هایی که به این ترتیب وارد رودخانه می شوند مقادیر زیادی از مواد آلی، فلزات سنگین و میکروب‌ها را با خود وارد آب و رسوبات رودخانه می‌نمایند که محیط زیست و حیات جانداران از جمله انسان را در این منطقه به مخاطره می‌اندازند. از سوی دیگر آب این رودخانه به واسطه سد درودزن حدود صد میلیون مترمکعب در سال مصارف آشامیدنی نیز دارد که خود بر اهمیت مطالعه پیرامون کیفیت آب این رودخانه می‌افزاید. همچنین باید درنظر داشت که دریاچه بختگان یکی از معدود دریاچه‌های دایمی ایران و محیط زیست بسیاری از جانداران و محل کوچ پرندگان کمیاب است که امروزه در خطر نابودی می باشد. متأسفانه آلودگی آب و خاک در مسیر رودخانه و دریاچه بارها باعث مرگ دست جمعی برخی از جانداران از جمله پرندگان شده‌است (۳ و ۴). کادمیم به عنوان یک فلز سنگین و جزو ده فلز برگزیده در لیست سیاه توافقنامه های حفاظت از محیط زیست و سازمان جهانی بهداشت است (۵، ۶ و ۷). طبق گزارش سال ۲۰۱۱ سازمان جهانی بهداشت مصارف عمده آن شامل ساخت انواع باطری مانند باطری های رایانه، رنگدانه های صنعتی، تثبیت کننده ها و تولید لعاب و روکش برای ممانعت از خوردگی فلزات است. همچنین کودهای فسفاته، برخی از قارچ کش ها و سموم دفع آفات نباتی، روغن موتور و اگزوز نیز دارای مقادیر قابل توجه از این فلز سمی می باشند. حاصل ورود بی‌رویه کادمیم در محیط زیست و چرخه‌های بیولوژیک برای انسان بیماری‌هایی از قبیل اسفنجی شدن استخوان، اختلالات کبدی و کلیوی، نارسایی ریوی، بیماری‌های خود ایمنی، تخریب گلبول‌های قرمز و برخی از سرطان‌ها می‌باشد (۷، ۸ و ۹). امروزه مطالعات زیست محیطی بر روی رودخانه‌ها به عنوان اکوسیستم‌هایی مهم و حیاتی برای انسان و سایر موجودات زنده حایز اهمیت است. علاوه بر این گرایش جهانی به کاربردی کردن علوم نوینی مانند بیوتکنولوژی زمینه‌های لازم را برای به کارگیری این علوم در حمایت از محیط زیست و حفظ سلامت انسان فراهم نموده است. فیلترهای زیستی از جمله فن آوری های نوینی هستند که برای تصفیه فاضلاب‌ها و پساب‌های شهری و صنعتی مورد استفاده قرار گرفته اند. توجه به سلامت انسان و سایر موجودات زنده از یک سو و حفاظت از

www.SID.ir

Archive of SID

محیط زیست و اکوسیستم‌های آبی و خاکی از سوی دیگر ما را بر آن می‌دارد تا به امکانات خدادادی و استفاده از میکروارگانیسم‌های با ارزشی مانند باکتری‌ها با هدف اصلاح زیستی توجه مبذول داریم. از طرفی ارزش اقتصادی فلزاتی مانند کادمیم دیدگاه ما را در جهت بازیافت بیولوژیک آن‌ها جلب می‌نماید (۱۰). مقدس در سال ۱۳۷۸ مقدار دو عنصر سرب و کادمیم را در آب، رسوب و ماهی های رودخانه هراز اندازه گیری نمود (۱۱). یوسفی و همکاران ماکروجلبک های جذب کننده کادمیم را از دریای خزر جداسازی کردند (۱۲). Vullo و همکاران دو سویه از باکتری *سودوموناس* را از رسوبات رودخانه ای در آرژانتین جدا و مقاومت آن ها را به نیم میلی مولار کادمیم بررسی نمودند. همچنین Raja و همکاران، Sinha و همکاران سویه هایی از *سودوموناس* مقاوم و حذف کننده کادمیم را شناسایی و گزارش نموده اند (۱۵-۱۳).

تاکنون در ایران مطالعه ای با طیف روش های انجام یافته در این مقاله، بر روی باکتری های مقاوم به کادمیم در آب شیرین و رسوبات رودخانه ای، مشاهده نشده است. اهداف این مطالعه برروی آب و رسوبات سطحی رودخانه کر شامل تعیین وضعیت آلاینده ها از طریق اندازه گیری فاکتورهای فیزیکوشیمیای و زیستی به صورت پایش(مانیتورینگ) در چهار فصل متوالی و همچنین جداسازی، شناسایی و تعیین دامنه مقاومت به کادمیم در باکتری های بومی این رودخانه و بررسی مقایسه ای سینتیک رشد دو باکتری برگزیده (G+, G-) می باشد. چنین باکتری های توانمندی در بیوفیلترها برای اصلاح زیستی پساب ها و حتی به فرم "در محل" قابل استفاده هستند (۱۰). علاوه بر این ها به تازگی از باکتری های مقاوم به کادمیم به عنوان "حسگر زیستی" برای نشان دادن آلودگی محیط به این فلز استفاده شده است (۱۶).

مواد و روش ها

انتخاب ایستگاه ها و نمونه برداری

در بالادست سد درودزن به دلیل شیب زیاد و اکسیژن گیری کافی آب با کم ترین آلودگی و کیفیت خوب وارد سد می گردد. تنها منبع آلودگی در این بخش مربوط به استفاده بی رویه از کودهای شیمیایی و سموم آفت کش است. در پایین دست سد تخلیه فاضلاب های خام و تصفیه شده شهری و صنعتی موجب افزایش آلودگی رودخانه شده (۳ و ۴) و لذا پنج ایستگاه مورد نظر در این تحقیق از زیر دست سد انتخاب شدند. مختصات این ایستگاه ها توسط موقعیت سنج ماهواره ای مدلاترکس ساخت چین ثبت گردید. به ترتیب ایستگاه یک پس از سد درودزن $(30^{\circ}12'144''N,52^{\circ}26'899''E)$، ایستگاه دو پل پتروشیمی $(29^{\circ}51'490''N,52^{\circ}45'809''E)$، ایستگاه سه پل خان $(29^{\circ}51'016''N,52^{\circ}46'254''E)$، ایستگاه چهار پل دوشاخ $(29^{\circ}46'118''N,53^{\circ}68'012''E)$و ایستگاه پنج ورودی بختگان $(29^{\circ}49418''N,53^{\circ}60'101''E)$که در زمان های نمونه گیری بسیار کم آب بود. ماه دوم از هر فصل برای نمونه برداری انتخاب شد (به ترتیب تابستان، پاییز، زمستان ۱۳۸۹ و بهار ۱۳۹۰). از هر ایستگاه در هر فصل دو نمونه آب و دو نمونه رسوب با سه بار تکرار جمع آوری گردید تا آزمایش های میکروبی و فیزیکوشیمیایی هم زمان انجام یابد. نمونه‌های آب از عمق پنجاه سانتی‌متری سطح آب و نمونه های رسوب از عمق سه تا چهار سانتی متری رسوبات هوازی و مطابق با استاندارد متدهای 9030,9060A-3010A,B انجام شد (۱۷). فاکتورهای دما و کلر توسط کیت سنجش کلر 4443D.P.D و اسیدیته توسط کیت سنجش دو واکنش گر هر دو ساخت شرکت کاریزاب در محل هر ایستگاه اندازه گیری شد.

روش های آزمایشگاهی

تمامی آزمایش های زیر بر طبق استاندارد متد مرجع و با سه بار تکرار انجام گرفت(۱۷).

اندازه گیری فاکتورهای فیزیکوشیمیایی

نمونه ها در ظروف پلی اتیلن اسید شور ذخیره و با حفظ شرایط استاندارد بلافاصله به آزمایشگاه ارسال گردیدند. نمونه های رسوب با اسید فلوئوریدریک و مخلوط یک به سه از اسید کلریدریک و اسید نیتریک هضم شده و سپس میزان

www.SID.ir

Archive of SID

کادمیم در نمونه های آب و رسوب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی مدل CTA3000 ساخت انگلستان اندازه گیری شد. اندازه‌گیری میزان نیترات، نیتریت، فسفات و ازت آمونیاکی نیز از طریق رنگ سنجی و تطابق رنگ و اسپکتروفتومتر انجام شد.

اندازه گیری فاکتورهای زیستی

مطابق با استاندارد متدهای 5210B,5220C بطری های شیشه ای مخصوص با مواد شوینده شسته، خشک و سپس برای نمونه برداری استفاده گردیدند. نمونه ها با حفظ شرایط استاندارد ۴ درجه سانتیگرادبلافاصله به آزمایشگاه ارسال گردید (۱۷).

این روش ها شامل اندازه گیری اکسیژن محلول[1]، اکسیژن مورد نیاز بیولوژیک پنج روزه[2]، اکسیژن مورد نیاز شیمیایی[3] در نمونه های آب و مواد کل آلی[4] به روش والکی-بلک[5] در نمونه های رسوب بوده و در دو فصل پاییز ۱۳۸۹ و بهار ۱۳۹۰ انجام یافت.

روش های میکروبی

هدف از انجام این مرحله جداسازی و شناسایی باکتری های قابل کشت و مقاوم به کادمیم در نمونه های آب و رسوب از پنج ایستگاه طی چهار فصل می باشد. نمونه ها در ظروف شیشه ای استریل تهیه و با حفظ شرایط ۴ درجه سانتی گراد بلافاصله به آزمایشگاه ارسال شد (۱۷).

غربالگری اول

ابتدا رقت های 10^{-5} – 10^{0} از نمونه های آب و رسوب تهیه، سپس از هر رقت بر روی محیط کشت نوترینت آگار ساخت مرک آلمان حاوی یک میلی مولار از نمک کلرید کادمیم و در مقابل محیط کنترل فاقد فلز کشت داده شد. محیط های کشت در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد انکوبه گردید و از ۴۸-۱۲۰ ساعت بررسی و باکتری های مقاوم جداسازی شدند. پس از شمارش کلنی ها در گروه شاهد و آزمون، با تهیه کشت خالص از هر باکتری، انجام رنگ آمیزی گرم و تست های افتراقی، هر باکتری در حد جنس و یا گونه بر اساس راهنمای باکتری شناسی برگی شناسایی گردید.

غربالگری دوم

به منظور ارزیابی توان رشد هر باکتری و یافتن مقاوم ترین باکتری ها در این مرحله به ازای هریک از باکتری های خالص سازی شده، پنج سری محیط کشت لوریا- برتانی براث حاوی غلظت های ۰، ۲، ۳، ۴ و ۵ میلی مولار از کلرید کادمیم تهیه و مطابق با استاندارد یک مک فارلند، یک میلی لیتر از سوسپانسیون باکتریایی به هر لوله افزوده شد. پس از ثبت OD_{600} اولیه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل شیمادزو) (Shimadzu ساخت ژاپن و گرم خانه گذاری به مدت ۷۲ ساعت، OD_{600} ثانویه نیز ثبت و غلظت صفر به معنی کنترل و دارای بالاترین OD_{600} در نظر گرفته شد.

غربالگری سوم

محاسبه حداقل غلظت بازدارنده رشد(MIC) و حداقل غلظت کشنده باکتری(MBC) روش هایی استاندارد برای تعیین حداکثر مقاومت یک باکتری می باشد (۱۸). روش های نام برده برای دو جدایه گرم منفی و دو گرم مثبت مطابق با پروتوکول"CLSI"[6] انجام پذیرفت. به ازای هر باکتری سوسپانسیون باکتریایی معادل با استاندارد یک مک فارلند تهیه و مقدار یک میلی لیتر از آن به لوله‌های حاوی غلظت‌های مختلف فلز تلقیح شد. یک محیط مایع تلقیح نشده به عنوان کنترل منفی و یک محیط مایع تلقیح شده و فاقد کادمیم به عنوان کنترل مثبت در کنار هر سری از رقت‌های فلزی اضافه شد. پس از گرم خانه گذاری شبانه[7] نخستین لوله‌ای که شفاف و فاقد رشد میکروبی بوده به عنوان کم ترین غلظت بازدارندهٔ رشد محسوب گردید و به دنبال آن از همان رقت و رقت‌های بعدی به اندازه ۰/۱ میلی لیتر در محیط جامد کشت شد و پس

1- Dissolved Oxygen
2- Biological Oxygen Demand 5
3- Chemical Oxygen Demand
4- Total Organic Matter
5- Walkley-Black

6- Clinical & Laboratory Standard Institute.
7- Overnight incubation

www.SID.ir

Archive of SID

از گرم خانه گذاری شبانه پلیت‌ها مورد بررسی قرار گرفت. غلظتی از فلز که هیچ کلنی در آن رشد نکرده یا تعداد کلنی‌ها نسبت به پلیت کنترل ۹۹/۹٪ کاهش یافته بود به عنوان حداقل غلظت کشنده باکتری، درنظر گرفته شد.

بررسی سینتیک رشد

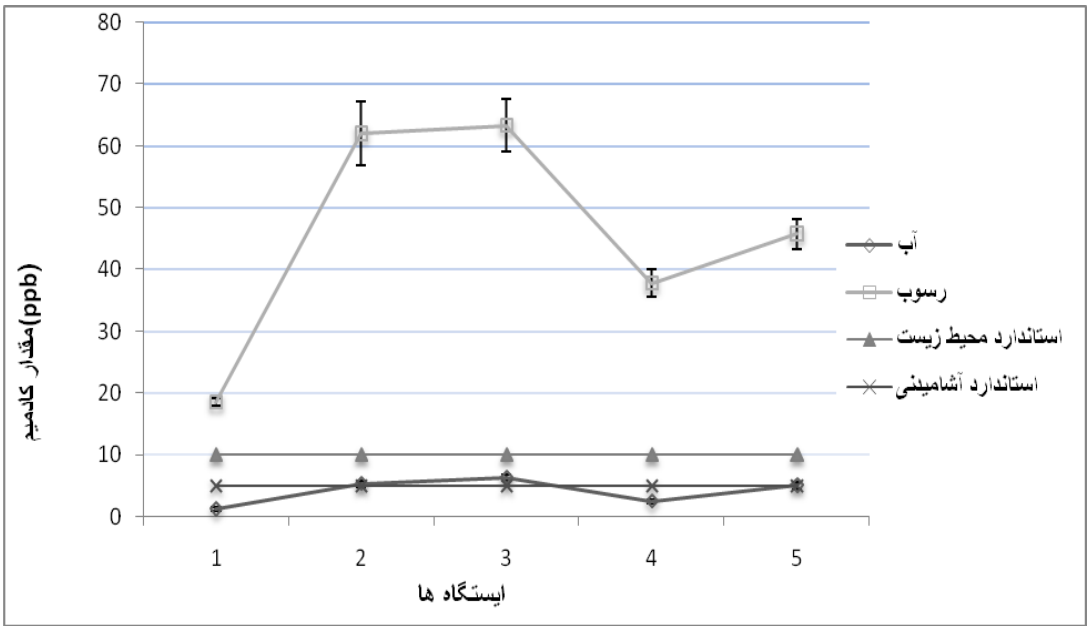
از بین باکتری های مقاوم، یک باکتری گرم منفی و یک گرم مثبت انتخاب شد و سینتیک رشد آن ها در سه حالت مورد بررسی قرارگرفت. اول باکتری مقاوم در محیط کشت کنترل و فاقد کادمیم دوم باکتری مقاوم در غلظت ۳ میلی مولار از نمک کلرید کادمیم که از ابتدا به محیط کشت اضافه شد و سوم باکتری مقاوم که پس از رسیدن به $OD_{600}=0/5$ غلظت سه میلی مولار از نمک فلزی را دریافت نمود. هدف از مورد سوم بررسی نحوه مقابله باکتری با حضور ناگهانی فلز در محیط است. ابتدا به ازای هر باکتری سه محیط لوریا برتانی براث به صورت کشت بسته تهیه و با غلظت یک مک فارلند از باکتری تلقیح گردید. پس از ثبت نوری OD_{600} محیط های کشت در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد به مدت دوازده ساعت در انکوباتور شیکردار و با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه قرار داده شده و به فاصله هر یک ساعت مجدداً OD_{600} ثبت گردید.

برآوردهای آماری در این پژوهش در نرم افزار S.PSS v.16 و مقایسه ایستگاه ها و فصـول از نظر میانگین تعداد باکتری های مقاوم، مقدار کادمیم و غیره با آزمون آنووا-دانکن انجام یافت.

نتایج

نتایج فاکتورهای فیزیکوشیمیایی و زیستی

در تمام ایستگاه ها و فصول مقدار کادمیم در رسوبات به طور معنی دار بیش از آب بود($P<0/001$). مقدار متوسط چهار فصل در نمودار ۱ گنجانده شده است. همچنین مقادیر فاکتورها طی چهار فصل در جدول ۱ آورده شده است. در هر ردیف از جدول، پارامترها به ترتیب تابستان، پاییز وزمستان ۱۳۸۹ و بهار ۱۳۹۰ ذکر گردیده است. به طور متوسط بیش ترین آلودگی از نظر میزان کادمیم در ایستگاه های دو و سه ($P<0/001$) به ویژه در فصل بهار مشاهده شد. کاهش نسبت BOD/COD درفصل بهار در دو ایستگاه آخر و افزایش فسفات در هر چهار فصل در سه ایستگاه آخر مشاهده شد.



نمودار ۱- میانگین مقدار کادمیم در آب و رسوب طی چهار فصل

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- نتایج میانگین اندازه گیری فاکتورهای فیزیکوشیمیایی و زیستی طی یک سال

پارامترها	ایستگاه های نمونه برداری					
	۱	۲	۳	۴	۵	
PH	۷/۹	۷/۹	۸/۴	۷/۸	۸/۳	نمونه آب
	۷/۹	۸/۰	۷/۹	۸/۱	۷/۸	
	۷/۸	۷/۸	۸/۱	۸/۰	۸/۰	
	۷/۹	۷/۹	۸/۰	۷/۸	۸/۱	
$T(c^{\circ})$	۲۹/۰	۲۸/۰	۲۸/۰	۲۶/۵	۲۶/۰	
	۲۲/۰	۲۲/۰	۲۳/۰	۲۲/۰	۲۱/۵	
	۱۶/۰	۱۶/۰	۱۶/۸	۱۷/۵	۱۷/۵	
	۱۹/۳	۲۰/۰	۲۰/۰	۲۱/۲	۲۱/۱	
$Ec(\mu mohs/cm)$	۴۴۵	۹۴۵	۱۱۵۷	۳۲۴۰	۳۵۶۰	
	۴۹۲	۸۹۵	۲۴۹۰	۳۳۶۰	۳۸۶۰	
	۴۴۹	۱۰۸۰	۱۱۸۰	۲۸۴۰	۴۰۳۲	
	۵۰۹	۱۲۶۱	۱۴۷۶	۳۰۱۲	۳۶/۸	
$NO_3^-(mg/L)$	۴/۰	۶/۰	۱۲/۰	۱۴/۰	۱۵/۰	
	۳/۰	۱۲/۰	۱۶/۰	۱۴/۰	۱۵/۰	
	۶/۰	۱۲/۰	۱۱/۰	۲۱/۰	۲۴/۰	
	۷/۰	۱۰/۰	۱۳/۰	۲۱/۰	۲۲/۰	
$NO_2^-(mg/L)$	۰/۰۱۶	۰/۰۳	۱/۴	۱/۲	۱/۹	
	۰/۰۲۵	۰/۰۵۵	۰/۰۷	۱/۲	۱/۴	
	۰/۰۲۵	۰/۰۳۵	۰/۳۵	۱/۲	۴/۵	
	۰/۰۱۲	۰/۰۴۵	۲/۱	۴/۸	۵/۲	
$Cl^-(mg/L)$	۵۷/۱	۱۳۶/۰	۲۲۴/۰	۹۳۰/۰	۱۴۸۰/۰	
	۶۰/۰	۱۴۹/۰	۴۴۸/۰	۸۱۸/۰	۱۵۴۴/۰	
	۵۷/۰	۱۰۵/۰	۱۹۸/۰	۶۲۸/۰	۱۵۹۷/۰	
	۵۴/۰	**۱۰۰/۰**	**۱۷۱/۲**	**۸۴۸/۰**	**۱۵۹۰/۰**	

www.SID.ir

Archive of SID

ادامه جدول ۱

پارامترها	ایستگاه های نمونه برداری					
	۱	۲	۳	۴	۵	
$PO^{3-}_4\ (mg/L)$	۰/۰۷	۰/۰۸	۰/۱۹	۰/۲	۰/۵	نمونه آب
	۰/۰۰۵	۰/۱۹	۰/۲۴	۰/۸	۰/۴	
	۰/۰۷	۰/۲۷	۰/۲۷	۰/۳۱	۰/۳	
	۰/۵۵	۰/۲۶	۰/۳۱	۰/۲۸	۰/۳	
$NH^{+}_4\ (mg/L)$	۰/۰۰۵	۰/۱۲	۰/۱۳	۰/۵	۰/۵	
	۰/۰۲	۰/۰	۰/۲۵	۰/۲۶	۰/۳۷	
	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۲۴	۰/۰۱	
	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۲۲	۰/۲۲	
$BOD_5\ (mg/L)$	۲/۷	۴/۸	۱۱/۲	۱۸	۱۸/۶	
	۰/۸	۲/۸	۱۲/۴	۱۳/۶	۱۶/۲	
$COD\ (mg/L)$	۱/۷	۱۳/۳	۳۳/۴	۶۲	۶۵	
	۱/۵	۳/۹	۳۶	۷۶	۸۱	
$DO\ (mg/L)$	۸/۴	۸/۳	۵/۸	۴/۲	۴/۲	
	۹/۲	۸/۷	۵/۱	۵/۰	۴/۹	
$Cd\ (ppb)$	۱	۶	۷	۲	۴	
	۱	۵	۵	۲	۶	
	۱	۴	۶	۳	۴	
	۲	۶	۷	۳	۶	
$Cd\ (ppb)$	۱۷	۶۰	۵۴	۳۸	۴۳	
	۱۹	۶۶	۷۰	۳۸	۴۷	نمونه رسوب
	۱۸	۴۹	۵۸	۳۲	۴۱	
	۲۰	۷۳	۷۱	۴۳	۵۲	
TOM (%)	۵/۴	۷/۵	۱۹/۰	۲۲/۵	۲۲/۰	
	۵/۱	**۶/۰**	**۱۹/۰**	**۲۱/۷**	**۲۱/۸**	

نتایج روش های میکروبی

غربالگری اول

میانگین شمارش باکتری ها در تمامی ایستگاه ها و فصول نشان می دهد که رسوبات در مقایسه با آب به طور معنی دار ($P< ۰/۰۰۱$) باکتری های مقاوم بیش تری دارند (نمودار۲).

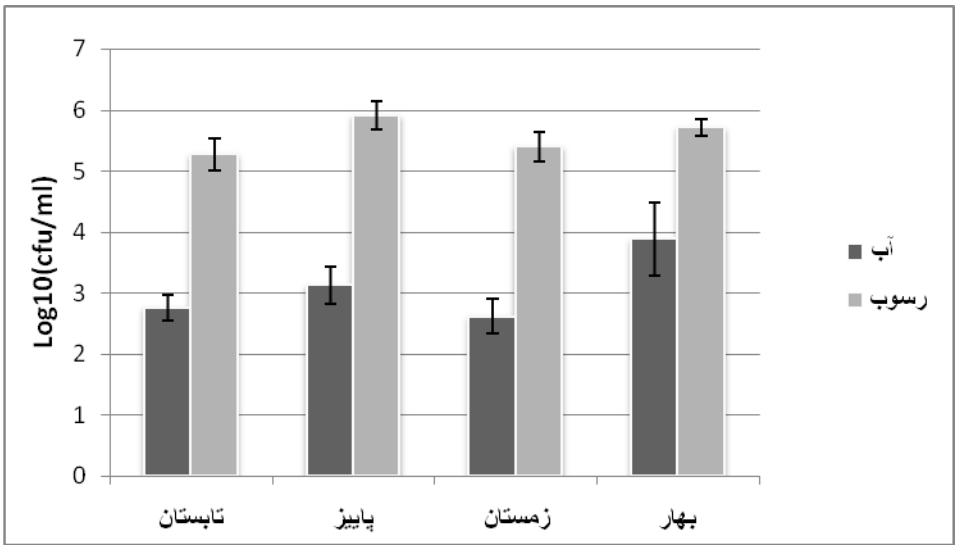
ازسوی دیگر میانگین شمارش باکتری ها در حضور یک میلی مولار از نمک کادمیم در مقایسه با کنترل فاقد فلـــز به طور معنی دار ($P< ۰/۰۰۱$)کاهش داشته است (نمودار ۳). سومین یافته در این بخش نشان می‌دهد که بیش ترین میانگین شمارش

www.SID.ir

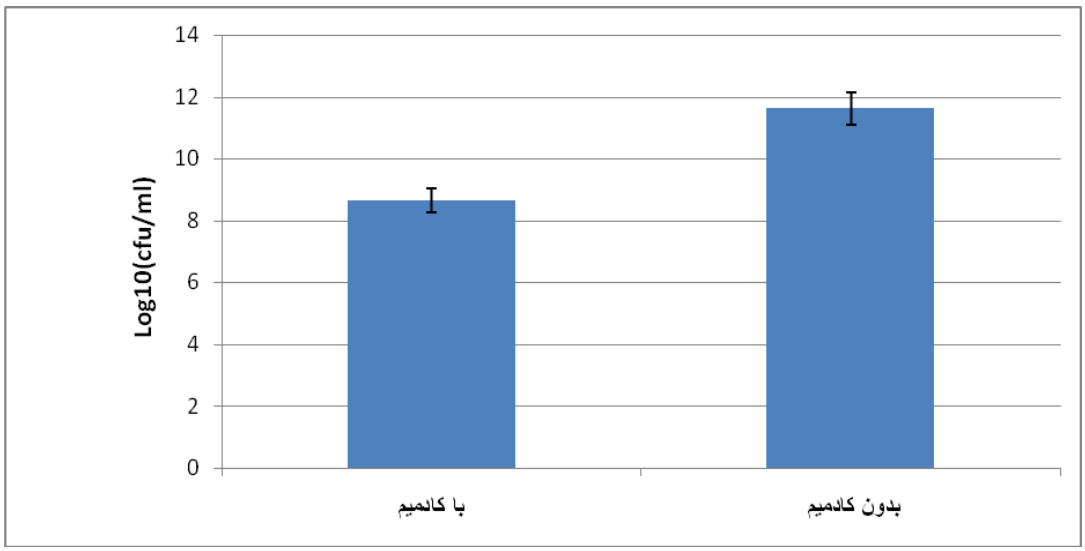
Archive of SID

باکتری های مقاوم در آب و رسوب مربوط به فصل بهار و کم ترین شمارش مربوط به زمستان (P< ۰/۰۰۱) است (نمودار ۲).

همچنین فراوان ترین جدایه در این تحقیق *سودوموناس*.Spp و کمیاب ترین آن ها *سیتروباکتر*.Spp بوده اند.



نمودار۲- میانگین شمارش باکتری ها در آب و رسوب طی چهار فصل



نمودار ۳- میانگین شمارش باکتری ها تحت تاثیر کادمیم

غربالگری دوم

باکتری هایی که در چهار فصل از پنج ایستگاه شناسایی شده و به دو تا پنج میلی مولار کادمیم مقاومت نشان دادند و همچنین بیش ترین کدورت و بهترین رشد را پس از ۷۲ ساعت در $OD_{۶۰۰}$ نشان دادند در جدول ۲ آورده شده اند. بیش ترین باکتـــری های مقاوم، گرم منفی، میلـه ای و مربوط به رسوبات می باشند.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- باکتری های منتخب در غربالگری دوم

غلظت فلز / باکتری	۰ (mM)	۲ (mM)	۳ (mM)	۴ (mM)	۵ (mM)
P. ET014(S)	۱/۴۰۱	۱/۳۸۲	۱/۰۸۰	۰/۶۸۱	۰/۰۴۱
P. OA015(W)	۱/۴۰۲	۱/۴۱۰	۰/۹۷۸	۰/۷۲۲	۰/۰۴۲
P. MT016(W)	۱/۳۷۷	۱/۲۹۱	۱/۲۰۲	۰/۸۹۴	۰/۰۴۲
P. AB017(S)	۱/۴۵۶	۱/۴۲۴	۱/۰۶۸	۸۰۳	۰/۰۴۷
P. MT017(S)	۱/۴۸۰	۱/۴۷۰	۱/۳۹۷	۱/۰۲۳	۰/۰۴۲
P. aeruginosa MT17(S)	۱/۵۰۱	۱/۴۲۱	۱/۱۰۳	۰/۶۶۴	۰/۰۴۴
P. aeruginosa ET017(S)	۱/۵۵۳	۱/۵۶۰	۱/۴۹۸	۱/۵۱۰	*۰/۸۶۰
F. ET014(S)	۱/۳۰۱	۱/۱۵۰	۱/۱۰۲	۱/۰۲۰	۰/۰۳۱
F. ET015(W)	۱/۰۸۲	۱/۰۱۰	۰/۹۰۱	۰/۷۸۱	۰/۰۴۲
F. AB015(S)	۱/۱۸۶	۱/۱۸۱	۰/۹۲۲	۰/۶۳۲	۰/۰۴۳
F. KH017(S)	۱/۰۹۳	۰/۰۸۴	۰/۹۸۳	۰/۸۷۶	۰/۰۴۱
C. OA014(W)	۰/۹۸۱	۰/۰۴۲	۰/۰۴۱	۰/۰۳۷	۰/۰۳۷
C. MT015(S)	۱/۱۳۱	۰/۰۵۰	۰/۰۴۰	۰/۰۳۸	۰/۰۳۹
C. ET016(S)	۰/۹۸۴	۰/۰۴۳	۰/۰۴۰	۰/۰۴۰	۰/۰۳۸
B. AB015(S)	۱/۱۰۲	۰/۸۸۷	۰/۰۵۵	۰/۰۳۸	۰/۰۴۰
B. MT015(S)	۱/۱۴۲	۱/۱۱۰	۰/۶۶۲	۰/۰۴۰	۰/۰۴۰
B. OA016(W)	۱/۰۸۳	۰/۸۲۰	۰/۶۱۸	۰/۰۴۲	۰/۰۴۱
B. OA017(S)	۱/۵۵۳	۱/۵۱۳	۱/۰۶۱	۰/۰۴۳	۰/۰۴۲
B. ET017(W)	۱/۱۸۰	۱/۰۶۲	۰/۹۱۸	۰/۰۴۳	۰/۰۴۱
S. aureus MT014(S)	۱/۰۱۱	۰/۰۴۱	۰/۰۴۱	۰/۰۴۰	۰/۰۴۱
S. aureus AB014(W)	۱/۰۹۱	۰/۰۴۸	۰/۰۴۳	۰/۰۴۲	۰/۰۴۲
S. marcescens OA014(W)	۱/۰۲۱	۱/۰۲۰	۱/۰۰۲	۰/۵۱۳	۰/۰۴۵
S. marcescens ET016(S)	۱/۰۸۰	۱/۰۵۱	۱/۰۲۸	۰/۳۱۲	۰/۰۴۲
S. marcescens MT015(S)	۱/۵۸۳	۱/۶۲۲	۱/۵۸۸	۱/۵۷۲	*۰/۷۹۷
S. marcescens MT017(S)	۱/۳۱۸	۱/۲۵۲	۱/۰۶	۰/۷۲۳	۰/۰۵۲

راهنمای جدول

سودوموناس(.P)، *فلاووباکتریوم*(.F)، *سیتروباکتر*(.C)، *باسیلوس*(.B)، جدا شده از آب (W)، جدا شده از رسوب (S)

* باکتری در ۵mM به خوبی رشد داشته است و می‌توان آن را به غلظت‌های بالاتر از فلز منتقل نمود.

- ثبت OD_{600} اولیه در تمام نمونه‌ها = ۰/۰۴۲ (معادل ۳×۱۰^{۸} CFU)

www.SID.ir

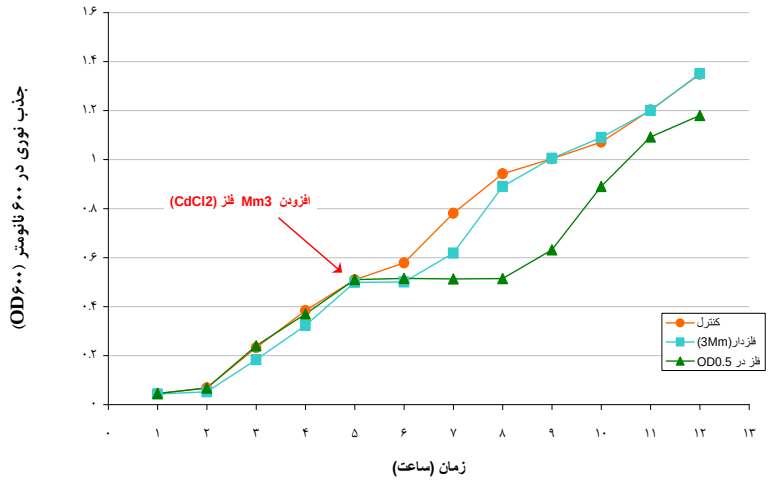
Archive of SID

غربالگری سوم

*سراشیا مارسسنس*MT015 از ایستگاه پنج در فصل پاییز و سود*موناس ائروژینوزا*ET017 از ایستگاه سه در فصل بهار هر دو با حداقل غلظت بازدارنده رشد برابر شش وحداقل غلظت کشنده باکتری برابر هفت و هشت میلی مولار بالاترین مقاومت را به کادمیم نشان داده‌اند. این دو شاخص برای *باسیلوس*OA017 به ترتیب چهار و پنج میلی مولار محاسبه شد. کم ترین مقاومت در باکتری *استافیلوکوکوس ارئوس*AB014 با حداقل غلظت بازدارنده رشد برابر دو و حداقل غلظت کشنده باکتری سه میلی مولار ثبت گردید.

رسم سینتیک رشد

با مقایسه رفتار و رشد دو باکتری مقاوم مشخص شد که سود*موناس ائروژینوزا*ET017 با فاز تاخیری کوتاه، به خوبی حضور فلز در محیط را تحمل کرده، اما با افزوده شدن ناگهانی فلز حدود سه ساعت وقفه در رشد نشان داد، در حالی که *باسیلوس*OA017 فاز تاخیری طولانی تری داشته اما سریع تر با شوک حضور فلز سازگار شده است (نمودارهای ۴ و ۵).



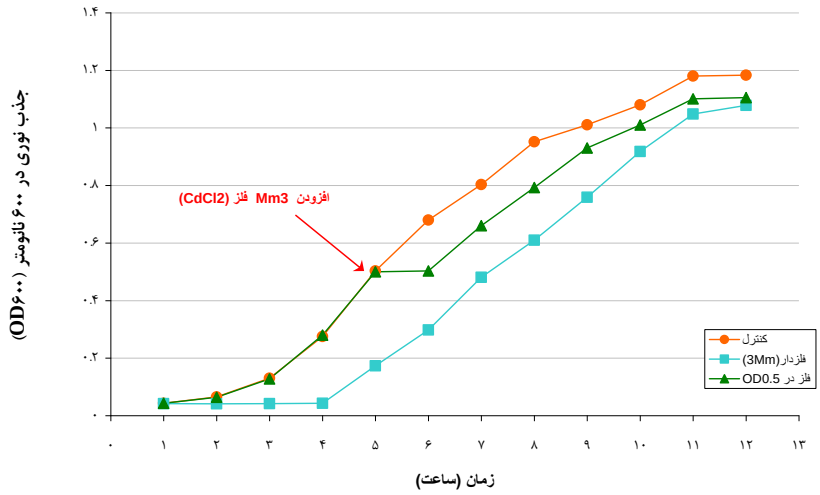
نمودار ۴- سینتیک رشد *P.aeruginosa* ET017 در سه حالت مختلف

***حداکثر انحراف استاندارد برای سه بار اندازه گیری مقدار**

۰.۰۰۱۵ محاسبه شد و به علت کوچک بودن در منحنی اعمال نگردیده است

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۵- سینتیک رشد *Bacillus* OA015 در سه حالت مختلف

***حداکثر انحراف استاندارد برای سه بار اندازه گیری مقدار ۰.۰۰۱۵ محاسبه شد و به علت کوچک بودن در منحنی اعمال نگردیده است**

بحث و نتیجه گیری

در بخش‌های مورد مطالعه، فعالیت های شهری، صنعتی و کشاورزی از عوامل اصلی آلودگی در رودخانه کر به شمار می آیند. از جمله این موارد پتروشیمی، مجتمع کارخانجات لوازم خانگی، کارخانه قند، پالایشگاه، کارخانجات کاشی و لعاب، شهرک صنعتی و زهکش های فاضلاب شهر مرودشت را می توان نام برد (۳ و ۴). چنین وضعیتی ضرورت پایش سالانه رودخانه را به وضوح نشان می دهد.

افزایش معنی دار کادمیم در رسوبات نسبت به آب از رودخانه‌های اوتاوا در کانادا (۱۹) و الچی در نیجریه (۲۰) نیز گزارش شده است. این مسئله به ویژه درفصول بارانی و هنگام طغیان رودخانه حایز اهمیت است؛ زیرا کادمیم بسیار بیش از فلزاتی مانند سرب، تحرک و توانایی بازگشت به فاز آبی را دارد و تا هفته ها پس از طغیان موجب آلودگی شدید آب و به تبع آن محصولات کشاورزی و دامی می گردد (۲۱ و ۲۲). کادمیم خاصیت انباشتگی زیاد به ویژه در گیاهانی مانند برنج، سیب زمینی و تنباکو و بافت های جانوری مانند کبد، کلیه ها و توان تخریب استخوان ها را دارد (۲ و ۴). استاندارد این فلز برای حیات آب زیان ۰/۰۰۶ یک قسمت در بیلیون قسمت[1] تعیین شده است که به لحاظ مقدار قابل نمایش در نمودار ۱ نمی باشد و در تمام ایستگاه ها و فصول مقدار کادمیم به طور معنی دار از این حد تجاوز نموده است. از سوی دیگر کادمیم آستانه آلودگی ندارد و منظور از "حداکثر مجاز" برای این فلز، مقدار مطلوب آن نمی باشد زیرا بر خلاف فلزاتی مانند آهن، مس، و حتی کروم، کادمیم (به جز در مورد یک نوع قارچ) در هیچ موجود زنده ای عنصر مورد نیاز به شمار نمی آید (۳ و ۵). در پژوهش حاضر آلودگی به کادمیم در پاییز بیش از زمستان گزارش شده است که می تواند با فعالیت های کشاورزی در این زمان مرتبط باشد؛ در حالی که در رودخانه لاس کاتوناس در آرژانتین برعکس این وضعیت مشاهده شده است (۱۴).

کاهش نسبت BOD/COD به کم تر از ۰/۳ دلیل بر افزایش بیش از حد ترکیبات آلی مقاوم به تجزیه است (۱).

1- part per billion (ppb)

www.SID.ir

Archive of SID

در رودخانه گومتی در هند (۲۳) این دو فاکتور در تابستان بیش از زمستان و در رودخانه گدیز در ترکیه (۲۴) عکس این وضعیت گزارش شده است. در حالی که در مطالعه حاضر وضعیت BOD و COD متغیر بوده است. بالا بودن مقدار آمونیوم و فسفات در برخی از ایستگاه ها و فصول نشان دهنده ورود پساب های صنعتی و فسفات شاخص غیرمستقیمی برای وجود کادمیم در آب و شبیه به وضعیت رودخانه پرل در چین می باشد (۲۵). همچنین لازم به یادآوری است که کودهای فسفاته خود منبع مهمی برای ورود کادمیم به آب و خاک هستند و اندازه‌گیری میزان فسفات می‌تواند به طور غیرمستقیم این آلودگی را نشان دهد. کنترل کمی و کیفی انواع آلاینده ها و پساب ها از مسایل مهم و مورد توجه در دنیای امروز است و در این راستا برتری روش های زیستی بر روش های فیزیکی و شیمیایی امری بدیهی به شمار می آید (۲۶). در تحقیقی که بر روی رودخانه اوتاوا صورت گرفت *باسیلوس ها* فراوان ترین باکتری در آب و رسوب و *سودوموناس* مقاوم ترین باکتری به کادمیم معرفی شده اند (۱۹). حال آن که در پژوهش حاضر *سودوموناس ها* نه تنها از تمامی ایستگاه ها و در تمامی فصول جداسازی شده ، بلکه به عنوان یکی از مقاوم ترین باکتری ها به کادمیم نیزشناخته شد. غربالگری اولیه پژوهش حاضر مطابق با مطالعات Sharma و همکاران (۸) نشان می دهد که شمارش باکتری ها در حضور کادمیم به طور معنی دار کاهش می یابد که خود بیانگر سمیت زیاد این فلز می باشد. علت بالا بودن معنی دار تعداد باکتری‌ها در رسوب نسبت به آب و همچنین یافت شدن اکثر باکتری‌های مقاوم به کادمیم در بین رسوبات را می‌توان به پایدار بودن محیط رسوب نسبت داد که در آن میکروارگانیسم ها به صورت لایه های مقاوم و بیوفیلم مستقر می‌شوند. در واقع تشکیل بیوفیلم به عنوان یک راهبرد توسط باکتری ها و برای مقابله با حضور مواد سمی و فلزات سنگین در محیط و عامل مهمی در بقای آنان به شمار می آید (۲۷).اگرچه دربرخی از مطالعات عکس این قضیه گزارش شده است(۲۸).

در غربالگری دوم و سوم بیش تر باکتری ها گرم منفی بوده و از رسوبات جدا شده اند. به نظر می رسد باکتری های گرم منفی به دلیل فرم کشیده و بار منفی سطحی و ساختار لیپو پلی ساکارید؛ در جذب کادمیم بهتر عمل می نمایند(۱). همچنین از دیدگاه مورفولوژی به جز *استافیلوکوکوس اورئوس*، سایر جدایه های مقاوم به کادمیم میله ای و کشیده هستند. این موضوع را می توان به بالا بودن نسبت سطح به حجم در باکتری های نام برده نسبت داد، به ویژه اگر باکتری سازنده پلی مر های خارج سلولی نیز باشد. دلیل دیگری که می تواند توجیهی برای ارتباط بین افزایش سطح و مقاومت به کادمیم باشد، وجود بار منفی فراوان در سطح باکتری های کشیده است که موجب جذب یون های مثبت مانند Cd^{+2} می گردد (۱). غربالگری سوم بر روی باکتری های منتخب نتایج با ارزشی را نشان می دهد که قابل مقایسه با سایر پژوهش های اخیر می باشد. برای باکتری *سودوموناس ائروژینوزا* در پژوهش های Hassen و همکاران، Harrison و همکاران و Raja و همکاران مقدار حداقل غلظت بازدارنده رشد برای کادمیم به ترتیب ۱/۵، ۴/۶ و ۲/۷ میلی مولار به دست آمده است (۱۳، ۲۸ و ۲۹) که در مقایسه، باکتری سودوموناس ائروژینوزاET017 در مطالعه حاضر با حداقل غلظت بازدارنده رشد برابر ۶ و حداقل غلظت کشنده باکتری معادل ۷ کارآمدی بهتری را ارائه نموده است. همچنین Hassen و همکاران حداقل غلظت بازدارنده رشد را برای باکتری *باسیلوس* برابر ۱/۲ و Richards و همکاران کم تر از ۰/۱ میلی مولار به دست آورده اند (۲۹ و ۳۰). *باسیلوس*OA017 با حداقل غلظت بازدارنده رشد ۴ و حداقل غلظت کشنده ۵ و *سراشیا مارسسنس* MT015 با حداقل غلظت بازدارنده رشد ۶ و حداقل غلظت کشنده ۸، باکتری های مقاوم و باارزشی محسوب می گردند. به ویژه رسم و بررسی سینتیک رشد دو باکتری منتخب این موضوع را تایید می نماید. مسئله مقاومت به کادمیم در باکتری *سراشیا مارسسنس* کم تر مورد مطالعه قرار گرفته است، در حالی که در این پژوهش شاهد مقاومت بسیار بالای این جدایه در حد شش میلی مولار بوده ایم. در مورد *باسیلوس*OA017 با وجود طولانی شدن فاز تاخیری در حضور کادمیم، باکتری با شوک ناشی از حضور ناگهانی فلز سازگاری بهتری نشان داد اما *سودوموناس*

www.SID.ir

Archive of SID

*ائروژینوزا*ET017، فاز تاخیری کوتاه تری داشته ولی مرحله شوک را با زمان بیش تری سپری نمود. در مجموع بررسی غربالگری های سه گانه و سینتیک رشد نشان می دهد که فلز کادمیم بر روند رشد و تکثیر باکتری های منتخب در این تحقیق اثر بازدارنده چندانی نداشته و به عنوان مقاوم محسوب می گردند.

امروزه باکتری های مقاوم به فلزات سنگین مانند کادمیم نه تنها به عنوان یک شاخص آلودگی محیطی و حسگر زیستی مطرح هستند(۱۶) بلکه به منظور اصلاح زیستی پساب ها و فاضلاب ها نیز با اهمیت می باشند. شیوع آلودگی های زیست محیطی، کمبود منابع آب شیرین (قابل شرب یا کشاورزی) و توجه ویژه به اصلاح الگوی مصرف، ما را بر آن می دارد تا وضعیت رودخانه کر و دریاچه بختگان به عنوان یک محیط چند-اکوسیستمی در استان فارس را بیش از گذشته مد نظر قرار دهیم. به همین منظور در پژوهش حاضر، بررسی یک ساله رودخانه کر از نظر فاکتورهای فیزیکو شیمیایی و زیستی و تعیین کیفیت آب در ایستگاه های پرخطر انجام یافت. به دلیل متغیر بودن وضعیت رودخانه و تصادفی بودن زمان نمونه برداری، تکرار این مطالعه در زمان های مختلف و ایستگاه های بیش تر پیشنهاد می گردد. ازنظر مطالعات میکروبی با بررسی های انجام یافته، تاکنون تحقیقات مشابهی از نظر بررسی های چند منظوره برروی وضعیت رودخانه در چهار فصل، شناسایی باکتری های مقاوم و چگونگی رشد آن هادر مقابل کادمیم برروی رودخانه کر گزارش نشده است. همچنین با توجه به مشکلات ناشی از تخلیه پساب ها به رودخانه، جدایه های معرفی شده برای کاربری در فیلترهای زیستی و اصلاح زیستی فاضلاب ها مفید هستند. تعیین شرایط بهینه برای چنین باکتری هایی از اهداف آتی نویسندگان می باشد. زیرا این موضوع از نظر طراحی فیلترهای زیستی و استفاده به فرم "در محل" با اهمیت است. برای حضور در محیط زیست، بومی بودن و عدم نیاز به دست ورزی ژنتیکی از مزایای عمده این جدایه ها می باشد. زیرا سازمان جهانی حفاظت از محیط زیست و بسیاری از محققان ورود باکتری های دست ورزی شده را به محیط زیست غیرمجاز و نامطلوب می دانند (۳۱). ازجمله کاربردهای با ارزش دیگر این باکتری ها، بازیافت زیستی فلزات باارزشی مانند کادمیم می باشد(۱۰).

تقدیر و تشکر

نگارندگان این مقاله وظیفه خود می دانند که از همکاری های مستمر و با ارزش بخش های آزمایشگاه و پژوهش دانشگاه آزاداسلامی واحد جهرم قدردانی نمایند.

منابع

1. Maier RM, Pepper IL, Gerba CP, Environmental Microbiology; San Diego: Academic press; 2000.
2. JohanssonM. A review of risks associated to Arsenic, Cadmium, Lead, Mercury and Zinc. In: Johansson M, Anheden M, Arrhenius E, Dahl J, Ericson SO, Hinderson A, et al. The market implication of integrated management for heavy metals flows for bioenergy use in the European Union. Appendix A of final report. Sweden: the University of Kalmar; 2002. 115.

۳. بیدختی ناصر،رخشنده‌رو غلامرضا. بررسی آلودگی رودخانه‌های کر و سیوند، انتشارات اداره کل محیط زیست استان فارس ، دانشگاه شیراز ،۱۳۷۹.

۴. جهانمیری عبدالحسین.مطالعات آلودگی به فلزات سنگین در رودخانه کر، دانشکده مهندسی دفتر همکاری‌های علمی مشاوره‌ای دانشگاه شیراز و اداره کل حفاظت از محیط زیست استان فارس ، ۱۳۷۴.

5. WHO .Cadmium in drinking- water. Background document for preparation of WHO, Guidelines for drinking-water quality. Geneva, World Health Organization; (WHO/SDE/WSH/03.04/80/Rev/1) 2011.
6. Bello IJ, Ijila PO. Exposure to heavy-metal in ICT and electronics

www.SID.ir

Archive of SID

equipment: Biochemical and Environmental Implication. Journal of Science and Science Education 2011; 3(1): 78-82.

7. Haq R, Zaidi SK, Shakoori R. Cadmium resistant Enterobacter cloacae and Klebsiella sp. isolated from industrial effluents and their possible role in cadmium detoxification. Word Journal of Microbiology and Biotechnology 1999; 15(2): 283-290.
8. Sharma PK, Balkwill DL, Frenkel A, Vairavamurthy MA. A new Klebsiella planticola strain (Cd-1) grows Anaerobically at high cadmium concentration and precipitates cadmium sulfide. Applied and Environmental microbiology 2000; 66(7) 3083-3087.
9. Available from http://www.Agancy for Toxic Substances and Disease Registry.cdc.gov/Toxicological profile for cadmium. Accessed September 14, 2012.
10. McCullough CD, Lund MA, May JM. Microcosm testing of municipal sewage and green waste for full-scale remediation of an acid coal pit lake in Semi-Aridtropical Australia. In: Barnhisle RI, proceeding of the 7th international conference on acid rock drainage (ICARD), Lexington, KY, USA, The American society of Mining and Reclamation (ASMAR); 2006.

۱۱. مقدس دانا. تعیین میزان عناصر سرب و کادمیم در آب، رسوبات معلق، رسوبات بستر، ماهی و کفزیان رودخانه هراز[پایان نامه]. تهران: دانشگاه تربیت مدرس ; ۱۳۷۸.

۱۲. یوسفی ذبیح اله، اکبرپور صفیه،ابراهیمی پونه. بررسی جذب دو فلز سنگین کادمیم و مس توسط ماکرو جلبک دریای خزر، مجموعه مقالات نهمین همایش ملی بهداشت محیط; ۱۳۸۵آبان ۱۸-۱۶، اصفهان، ایران. انتشارات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان ۱۳۸۵.

13. Raja CE, Anbazhagan K, Selvam GS. Isolation and characterization of a metal-resistant Pseudomonas aeruginosastrain. World Journal of Microbiology and Technology 2006; 22(6): 577-585.
14. Vullo D, Ceretti HM, Hughes EA, Ramirez S, Zalts A. Indigenous heavy metal multiresistant microbiota of Las Catonas stream, Environmental Monitoring and Assessment 2005; 105(1-3): 81-97.
15. Sinha S, Samir Kumar S, Mukherjee SK. Pseudomonas aeruginosa KUCD1: A possible candidate for cadmium bioremediation. Brazilian Journal of Microbiology 2009; 40(3): 655- 662.
16. Ron EZ. Biosensing environmental pollution, Current Opinion in Biotechnology 2007; 18(3): 252- 256.
17. Standard methods for the examination of water and wastewater. 21st. Ed. Washington DC, USA: American Public Health Association and American Water Works Association and Water Environment Federation (APHA AWWA WEF); 2005.
18. Amoroso M J, Oliver G, Castro G R. Estimation of growth inhibition by copper and cadmium in heavy metal tolerant actinomycetes. Basic Microbiology 2002; 42(4): 231-237.
19. Titus JA, Pfister R M. Bacteria and cadmium interaction in natural and laboratory model aquatic systems. Arch. Environ. Contam. Toxico 1984; 13(3): 271-77.

www.SID.ir

Archive of SID

20. Davies OA, Allison ME, Uyi HS. Bioaccumulation of heavy metals in water, sediment and periwinkle (Tympanotonusfuscatusvar radula) from the Elechi Creek, Niger Delta. African Journal of Biotechnology2006; 5(10): 968-973.
21. Caetano M, Madureira MJ, Vale C. Metal remobilization during resuspension of anoxic contaminated sediment: Short-term laboratory study. Water, Air, and Soil Pollution 2003; 143(1-4): 23-40.
22. Korfali SI, DaviesBE. Seasonal variations of trace metal chemical forms in bed sediments of Karstic River in Lebanon: implication for self-purification. Environmental Geochemistry and Health 2005; 27(5-6): 885-895.
23. Chen L, Jin T, Huang B, Nordberg G. Critical exposure level of cadmium for elevated urinary metallothionein: An occupational population study in China.Toxicology and applied pharmacology 2006; 215(1): 93-99.
24. Akcay H,Oguz A, Karapire, Study of heavy metal pollution and speciation in Buyak Menderes and Gediz river sediments. Water Research 2003; 37(4): 813-822.
25. Cheung KC, Poon BH, Lan CY, Wong MH. Assessment of metal and nutrient concentration in river water and sediment collected from the cities in the Pearl River delta, south China. Chemosphere 2003; 52(9): 1431-1440.
26. Low KS, Lee CK, Liew SC. Sorption of cadmium and lead from aqueous solutions by spent grain. Process biochemistry 2000; 36(1): 59-64.
27. Teitzel GM, Parsek MR. Heavy metal resistance of biofilm and planktonic Pseudomonas aeruginosa. Applied and Environmental Microbiology 2003. 69(4): 2313-2320.
28. Harrison JJ, Ceri H, Stremick CA, Turner RJ. Biofilm susceptibility to metal toxicity.Environmental Microbiology 2004; 6(12): 1220-1227.
29. Hassen A, saidi N, cherif M, Boudabous A. Effects of heavy metals on Pseudomonas aeruginosa and BacillusThuringiensis. Bioresource Technology 1998; 65(1): 73-82.
30. Richards JW, Krumholz GD, Chval MS, Tisa LS. Heavy metal resistance patterns of Frankiastrains.Applied and Environmental Microbiology 2002; 68(2): 923-927.
31. Davison J. Risk mitigation of genetically modified bacteria and plants designed for bioremediation.Journal of Industrial Microbiology Biotechnology 2005; 32(11-12): 639-650.

www.SID.ir