Archive of SID

[DOI: 10.29252/sjimu.26.6.79]
Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir at 14:32 IRDT on Monday May 20th 2019

بررسی اثرات آرسنیک بر آنزیم لاکاز باکتری باسیلوس سوبتیلیس در شرایط آزمایشگاهی

امیرحسین مومن[1*]، سعید شالباف[2]، صفورا صلاحی[3]

۱) گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد همدان، دانشگاه آزاد اسلامی، همدان، ایران
۲) گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
۳) گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساوه، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، ساوه، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۳/۲۴ **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۲۵**

چکیده

مقدمه: یکی از مشکلات مهم محیط زیست در جامعه جهانی گسترش عناصر سنگین حاصل از توسعه صنایع می باشد. این عناصر نه تنها سلامت انسان را تهدید می نمایند بلکه وضعیت طبیعی اکوسیستم را با تغییراتی همراه می سازند. هدف از این تحقیق تاثیر عنصر سنگین آرسنیک بر فعالیت آنزیم لاکاز در سوش باکتری باسیلوس سوبتیلیس می باشد.

مواد و روش ها: باکتری باسیلوس سوبتیلیس، از فاضلاب صنعت کاغذ و خمیر استان هرمزگان از عمق ۵۱ سانتی متری زیر سطح زمین جداسازی گردید و جهت غربالگری، سویه مورد نظر تحت آزمون های بیوشیمیایی و مورفولوژی قرار گرفت. پس از اندازه گیری شرایط بهینه رشد میزان فعالیت آنزیم لاکاز باکتری در غلظت های مختلف آرسنیک از ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی گرم اندازه گیری شد. میزان فعالیت آنزیمی سویه های مورد نظر در هر غلظت با روش سینتیک و با استفاده از بافر سیترات ۲۵ میلی مولار با pH=۴/۵ به عنوان سوبسترا با استفاده از اسپکتوفتومتر در طول موج ۶۳۴ نانومتر سنجیده شد.

یافته های پژوهش: حداکثر فعالیت آنزیم لاکاز در سوش باکتری باسیلوس سوبتیلیس در غلظت ۵ میلی گرم بر لیتر آرسنیک با حداکثر رشد باکتری در نمونه شاهد و حداکثر رشد باکتری در غلظت ۲۰ میلی گرم بر لیتر تفاوت محسوسی نداشت. این در حالی است که با افزایش غلظت آرسنیک موجود در محیط کشت رشد باکتری در نمونه شاهد به استثنای حداکثر رشد آن در غلظت ۲۰ میلی گرم بر لیتر با سایر غلظت ها تفاوت معنی داری($P\leq0.05$) را نشان می دهد.

بحث و نتیجه گیری: یافته ها نشان می دهد آرسنیک می تواند سبب کاهش روند رشد باکتری و هم چنین فعالیت آنزیم لاکاز در سوش باکتری باسیلوس سوبتیلیس شود.

واژه های کلیدی: آرسنیک، آنزیم لاکاز، باکتری باسیلوس سوبتیلیس، فلزات سنگین

* نویسنده مسئول: گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد همدان، دانشگاه آزاد اسلامی، همدان، ایران

Email:amomen89@gmail.com

Copyright © 2018 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/sjimu.26.6.79]
Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir at 14:32 IRDT on Monday May 20th 2019

مقدمه

فلزها یکی از مهم ترین آلاینده های آب هستند. در شرایط خاص زیستی میزان فلزات به حد سمی رسیده و باعث آسیب های زیستی شده است. فلزاتی مانند آرسنیک، جیوه، روی، کادمیوم و کرومیوم به عنوان ترکیبات سمی و میزان بالای آن ها در محیط زیست نامطلوب است. یکی از مهم ترین عناصر سمی در طبیعت آرسنیک است که به صورت آلی و غیرآلی حضور دارد. فلزات به گونه ای گسترده در صنعت به کار می روند. به همین دلیل یکی از متداول ترین منابع آلوده کننده آبی و خاکی و هوا محسوب می شوند. اگر این فلزات با غلظت های بالاتر از حد استاندارد به محیط رانده شوند موجب مشکلات زیست محیطی بسیاری می شوند که بر موجودات چرخه زیستی و البته نهایتاً بر انسان ها اثر می گذارد(۱). در حال حاضر تحقیقات بسیار گسترده ای در سراسر دنیا برای جداسازی انواع میکروارگانیسم های تولیدکننده این آنزیم و استفاده از آن ها در صنعت انجام می شود(۲). مطالعات نشان می دهد آنزیم لاکاز یک پلی فنل اکسیداز حاوی چندین اتم مس است و در بسیاری از گیاهان، قارچ ها، حشرات و میکروارگانیسم ها یافت شده است(۳).

باسیلوس سوبتیلیس یک باکتری هوازی، گرم مثبت و فاقد کپسول است که جزء فراوان ترین باکتری های موجود در پساب می باشد که می تواند نقش به سزایی در اکوسیستم داشته باشد. توزیع فراوان ژنوم این آنزیم در این باکتری آن را به عنوان یک شاخص مهم در مطالعه تجزیه زیست محیطی آلاینده ها معرفی می کند(۴).

آنزیم ها از جمله ترکیبات موجود در میکروارگانیسم ها هستند که به کاهش غلظت این آلاینده ها کمک شایانی می کنند. هم چنین دارای اهمیت در بیوتکنولوژی و کاربردهای فراوان آن در صنعت است(۵). این مطالعه به منظور ارزیابی میزان ترشح آنزیم لاکاز در باکتری باسیلوس سوبتیلیس در مجاورت آرسنیک در شرایط آزمایشگاه صورت گرفته است هم چنین امید است در صورت دستیابی به یک نتیجه مطلوب امکان فراهم کردن شرایط مطلوب در محیط های زیستی مختلف بررسی شود.

مواد و روش ها

در این مطالعه مقطعی، باکتری باسیلوس سوبتیلیس از فاضلاب صنعت کاغذ و خمیر استان هرمزگان جداسازی گردید و به مجتمع آزمایشگاهی پارک علم و فناوری استان همدان انتقال داده شد.

جداسازی و غربالگری سویه باکتری ها: ۱۰ گرم از نمونه خاک، باگاس و فاضلاب کارخانه کاغذ به یک ارلن ۲۵۰ میلی لیتری منتقل شد و با ۱۰۰ میلی لیتر محلول استریل شده سالین مخلوط گردید(۶). سپس ۱ میلی لیتر از آن به ۹ میلی لیتر از محلول استریل سالین اضافه شد و رقت های(10^{-1}–10^{-9}) تهیه شد. به این پلیت ها mg/m ۴–۲ آمفوتریسین B (شرکت سیگما آلمان) اضافه شد. کلنی باکتری ها در سطح پلیت آگار حاوی ۰/۵ میلی مولار گایاکول(شرکت مرک آلمان) به منظور تشخیص فعالیت آنزیم لاکاز غربالگری شدند(۷). این پلیت ها در دمای ۳۳–۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ۹۶ ساعت انکوبه شوند. روش جداسازی و غربالگری چندین بار برای به دست آوردن نمونه خالص که فقط تولید یک سویه که حاوی آنزیم های لاکاز است صورت پذیرفت.

در ابتدا برای سنجش رشد باکتری m ۱ از سوسپانسیون باکتری که از قبل و مطابق با کدورت نیم مک فارلند تهیه شده بود به ۲۰m محیط کشت TSB (شرکت مرک آلمان) تلقیح گردید. سپس نمونه ها در انکوباتور شیکردار در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و در شرایط هوازی قرار گرفتند. سنجش رشد باکتری در فواصل زمانی ۱ تا ۱۰ روز با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل ۲۱۵۰ کمپانی unico آمریکا در طول موج ۶۲۰ nm با ۳ بار تکرار اندازه گیری شد(۸).

بررسی میزان رشد باکتری در دماهای مختلف: با تلقیح m ۱ از سوسپاسیون باکتری به ۲۰ml از محیط کشت TSB میزان رشد باکتری در دماهای مختلف ۲۵، ۳۰، ۳۵، ۴۰ و ۴۵ اندازه گیری شد و میزان رشد باکتری ها طی ۵ روز متوالی با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۰۰nm مورد سنجش قرار گرفت(۹).

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/sjimu.26.6.79]
Downloaded from sjimu.mediliam.ac.ir at 14:32 IRDT on Monday May 20th 2019

تاثیر غلظت های مختلف سولفات مس بر تولید لاکاز: در مطالعات مختلف تاثیر غلظت های متفاوت سولفات مس بر تولید لاکاز صورت پذیرفته در این تحقیق غلظت ها در مقادیر مختلف mM ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳، ۰/۴، ۰/۵ و یک نمونه شاهد که فاقد مس سولفات بود در دما و pH بهینه به مـــدت ۵ روز گرمخانه گذاری شده و مورد بررسی قرار گرفتند. سپس میزان OD آنزیم تولید شده و در طول موج ۴۳۶ نانومتر توسط سوبسترا ABTS اندازه گیری شد(۱۰).

تاثیر غلظت های مختلف آرسنیک بر رشد باکتری باسیلوس سوبتیلیس: در این مرحله تغییرات غلظت فلز آرسنیک از ppm ۵ تا ۲۰۰ بر روی روند رشد باکتری طی ۱۰ روز اندازه گیری شد و OD آن بر روی نمودار کشیده شد. به این ترتیب که ۱ میلی لیتر از سوسپانسیون باکتری را به ۲۰ میلی لیتر از محیط کشت TSB حاوی غلظت های ۵، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ تلقیح کرده و یک محیط عاری از فلز آرسنیک به عنوان شاهد نیز در نظر گرفته شد. تمامی محیط ها درون شیکر انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد با دور rpm ۱۵۰ گذاشته شد و OD آن ها روزانه یک بار به مدت ۱۰ روز خوانده شد(۱۱).

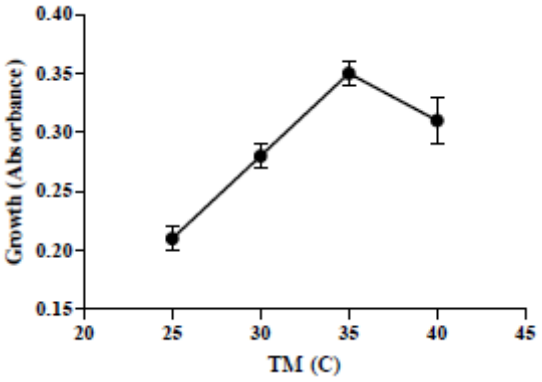
تاثیر غلظت های مختلف آرسنیک برفعالیت آنزیم لاکاز: پس از به دست آوردن محدوده غلظتی که در آن مرگ باکتری را نداریم هم اکنون یک بازه غلظتی از ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی گرم بر لیتر از فلز آرسنیک را در محیط کشت ها درست کرده و باکتری را در آن تلقیح می کنیم. یک محیط عاری از Cuso4 نیز به عنوان کنترل برای اندازه گیری فعالیت لاکاز مورد استفاده قرار رفت. روزانه یک بار جذب نوری باکتری را به مدت ۱۰ روز اندازه گیری می کنیم. برای خوانش میزان جذب نوری، ابتدا OD=1 را در طول موج ۴۳۶ نانومتر خوانده سپس بعد از ۳ دقیقه OD=2 را خوانش می کنیم و در فرمـــول زیر برای محاسبه میزان فعالیت آنزیم به کار می بریم(۱۱،۱۲).

مقدار جذب قرائت شده×۶۰×(مقدار آنزیم/۱۱۵۰)× ۰/۳۷۱

تجزیه و تحلیل داده ها: آزمایشات و نتایج میانگین سه بار تکرار گردید. برای آنالیز آماری نتایج حاصله، از نسخه ۲۱ نرم افزار SPSS استـــفاده شـــد. میانگین داده های کمی با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه(One- way ANOVA) مقایسه شدند. روابطی که مقادیر کوچک‌تر از ۰/۰۵ داشتند، معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته های پژوهش

بررسی میزان رشد باکتری در دماهای مختلف: نتایج نشان داد باکتری باسیلوس سوبتیلیس بهترین میزان رشد را در دمـــای ۳۵ درجه سانتـــی گراد دارا می باشد و دوره لگاریتمی طولانی تری دارد. بیشترین میزان جذب نوری برابر با ۰/۳۵ بود هم چنین کمترین میزان رشـــد، در دمای ۲۵ درجه سانـــتی گراد اندازه گیری شد(نمودار شماره ۱).



نمودار شماره ۱. نمودار رشد باکتری باسیلوس سوبتیلیس در دماهای مختلف

نتایج بررسی حداکثر رشد باکتری باسیلوس سوبتیلیس در دماهای مورد مطالعه نشان داد که بین حداکثر رشد باکتری در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد با حداکثر رشـــد باکتری در دمای ۲۵ و ۳۵ درجه

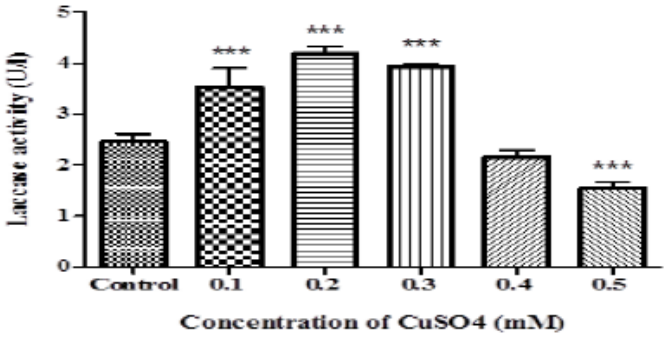
www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/sjimu.26.6.79]
Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir at 14:32 IRDT on Monday May 20th 2019

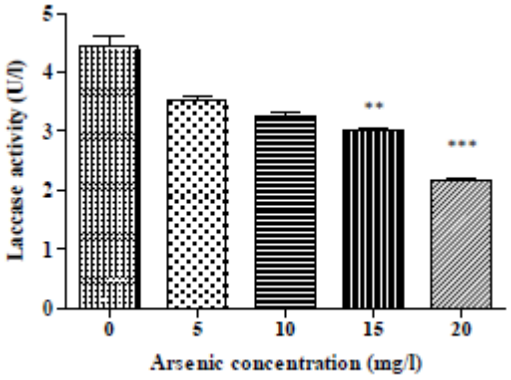
سانتی گراد تفاوت معنی داری وجود دارد. این در حالی است که بین حداکثر رشـــد آن در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تفاوت قابل توجهی مشاهده نشد($P\geq0.05$).

اثر غلظت های مختلف سولفات مس در تولید لاکاز در نمودار شماره ۲ نشان داده شده است که در غلظت ۰/۲ بیشترین فعالیت لاکاز مشاهده شد.



نمودار شماره ۲. تاثیر غلظت های مختلف مس سولفات بر فعالیت آنزیم لاکاز در باکتری باسیلوس سوبتیلیس

تاثیر غلظت‌های مختلف آرسنیک بر رشد باکتری باسیلوس سوبتیلیس: طبق نمودار شماره ۳ رشد باکتری در غلظت های مختلف آرسنیک و بررسی های انجام تست آنالیز واریانس و مقایسه ستون ها مشخص شد که در غلظت ۱۱۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر لیتر از غلظت آرسنیک تفاوت یک طرفه مـــعنی داری از رشد باکتری در مقایسه با نمـــونه شاهـــد صفر دیده می شود.



نمودار شماره ۳. تاثیر غلظت های مختلف فلز آرسنیک بر رشد باکتری باسیلوس سوبتیلیس

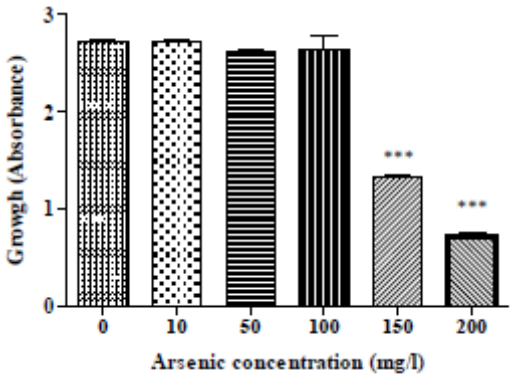
اثرات غلظت های مختلف فلز آرسنیک بر فعالیت آنزیم لاکاز: در نمودار شماره ۴ با افزایـــش غلـــظت آرسنیک میزان فعالیت آنزیم کاهش یافته به طـــوری که در غـــلظت ۳۰ میـــلی گـــرم میـــزان فـــعالیت به نصف کـــاهش یـــافته است.

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/sjimu.26.6.79]

Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir at 14:32 IRDT on Monday May 20th 2019



نمودار شماره ٤. تاثیر غلظت های مختلف فلز آرسنیک بر فعالیت آنزیم لاکاز در سوش باکتری باسیلوس سوبتیلیس

بحث و نتیجه گیری

یکی از فاکتورهای موثر بر رشد و فعالیت میکروارگانیسم جهت تولید آنزیم لاکاز در محیط، وجود مس می باشد. در مطالعه حاضر میزان فعالیت آنزیم لاکاز در این سوش باکتری در دمای ۳۵ درجه به مدت ۱۰ روز با غلظت های مختلف مس سولفات اندازه گیری شد. بالاترین فعالیت آنزیم در غلظت ۰/۲ میلی مولار است.

در مطالعه ایی دیگر، باکتری باسیلوس سوبتیلیس با استفاده از غلظت های مختلف مس سولفات در محیط کشت نمکی طی ۱۰ روز انکوبه گذاری شد. نتایج نشان داد بالاترین فعالیت آنزیم لاکاز در این سویه در غلظت ۰/۲ میلی مولار می باشد(۱۲). در این پژوهش توانایی رشد باکتری باسیلوس سوبتیلیس در دماهای ۲۵، ۳۰، ۳۵ و ۴۰ درجه سانتی گراد به منظور دستیابی به بهینه شرایط برای کشت مورد بررسی قرار گرفت. افزایش رشد باکتری با ایجاد کدورت در محیط کشت و بالا رفتن میزان جذب نوری همراه بود. وجود فاز تاخیر در دمای بالاتر از دمای مطلوب جهت رشد باکتری می‌تواند به دلیل از دست رفتن فعالیت متابولیکی سلول در دماهای بالاتر باشد که این موضوع باعث به تاخیر افتادن فرآیند تقسیم سلولی می گردد تا زمانی که رشد باکتری خود را با شرایط دمایی موجود سازگار کرده و رشد خود را مجدداً آغاز کند. این در حالی است که در مطالعه ای شرایط دمایی بهینه توسط اسپور گونه باسیلوس سوبتیلیس جدا شده از محل نیز ۳۵ درجه سانتی‌گراد اندازه گیری شد که فعالیت لاکاز اسپور در این دما برابر ۲/۵۵ u/ml بود(۱۳).

در مطالعه حاضر با استفاده از اعمال غلظت های مختلف آرسنیک میزان رشد باکتری تعیین شد. با افزایش غلظت فلز آرسنیک میزان فعالیت آنزیم لاکاز به شدت کاهش می یابد.

در مطالعه ای فلزات مختلفی برای یافتن اثرشان بر روی تولید لاکاز توسط گونه B16 باسیلوس استفاده گردید. بر اساس نتایج به دست آمده K^+ بیشترین القای تولید لاکاز با توجه به فعالیت بالای ۱۴/۸ u/ml را داشت. به علاوه $Mn2^+$ و $Zn2^+$ تاثیر بازدارنده قابل توجهی در رشد باکتری دارند که با نظریه وانگ و همکاران مطابقت دارد(۱۴).

افزایش فلزات سنگین در محیط زیست غیر قابل اغماض می باشد و توسعه و ورود آن به زنجیره غذایی تهدید بزرگی برای سلامت انسان و سایر موجودات زنده می باشد. آنزیم لاکاز به عنوان یک شاخص مهم در تجزیه زیست محیطی معرفی شده و در حال حاضر نیز دارای کاربردهای بیوتکنولوژیکی متعددی می باشد(۱۶).

لاکازها(پارا دی فنل: اکسیژن اکسید و ردوکتاز) پروتئین هایی حاوی چند اتم مس هستند که برای اکسید کردن ترکیبات آروماتیک ۵۰ و غیرآروماتیک با واسطه رادیکال ها، از اکسیژن مولکولی استفاده می کنند. طیف وسیعی از ترکیباتی که توسط لاکاز اکسید می شوند شامل فنل ها، پلی فنل ها، آنیلین ها، آریل دی آمیدها، هیدروکسی ایندول ها، بنزن تیول ها

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/sjimu.26.6.79]

Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir at 14:32 IRDT on Monday May 20th 2019

و ترکیبات فلزی آلی و غیرآلی، نمایانگر پتانسیل بالای این آنزیم به عنوان کاتالیست زیستی برای کاربردهای بیوتکنولوژی می باشد(۱۶-۱۴).

با توجه به اهمیت و نقش باکتری باسیلوس سوبتیلیس در اکوسیستم و نظر به این که آنزیم لاکاز نقش مهمی درعملکرد بیولوژیک این باکتری ایفا می کند، در این مطالعه اثرات آرسنیک به عنوان یک آلاینده محیطی بر فعالیت آنزیم لاکاز در این گونه باکتری مورد بررسی قرار گرفت که مشخص شد این فلز سنگین در غلظت های پایین یک میلی گرم بر لیتر نیز روند کاهشی بر میزان فعالیت آنزیم لاکاز موجود در باکتری باسیلوس سوبتیلیس دارد و با افزایش این میزان غلظت به ۲۰ میلی گرم بر لیتر میزان فعالیت در مقایسه با نمونه کنترل که هیچ غلظتی به کار برده نشده به نصف میزان کاهش می یابد(۱۷).

References

1.Amini M, Younesi H, Bahramifar N. [Biosorption of nickel II from aqueous solution by Aspergillus niger]. RSMJ Chemosphere 2009; 75: 1483-91. (Persian)

2.Kiiskinen LL, Ratto M, Kruus K. Screening for novel laccase producing microbes. J Appl Microbiol 2004; 97:640-6. doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02348.x

3.Thurston CF. The structure and function of fungal laccases. Microbiology 1994; 140:19-26. doi: 10.1099/13500872-140-1-19

4.Koschorreck K, Schmid RD, Urlacher VB. Improving the functional expression of a Bacillus licheniformis laccase by random and site directe mutagenesis. BMC Biotechnol 2009; 9:12-21. doi.org/10.1186/1472-6750-9-12

5.Couto SR, Tocaherrera JL. Industrial and biotechnological applications of laccase. J Biotechnol Adv 2006; 24:500-13. doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.04.003

6.Badoeidalfard A, Khajeh K, Soudi MR, Naderimanesh H, Ranjbar B, Hassansajed R. [Isolation and biochemical character-ization of laccase and tyrosinase activities in a novel melanogenic soil bacterium]. J EMT 2006; 39:1409-16. (Persian)

7.Bains J, Capalash N, Sharma P. Laccase from a nonmelanogenic alkalotolerantc-proteobacterium JB isolated from industrial wastewater drained soil. Biotechnol Lett 2003;25:155-09.

8.Shirdam R, Khanafari A, Tabatabaee A. [Cadmium nickel and vanadium accumulation by three strains of marine bacteria.] IJB 2006;4:180-07. (Persian)

9. Wang CL, Zhao M, Lu L, Wei XD, Li TL. Characterization of spore laccase from Bacillus subtilis WD23 and its use in dye decolorization. Af J Biotechnol 2011; 10: 2186-92.

10. Baldrian P, Gabriel J. Copper and cadmium increase laccase activity in Pleurotus ostreatus. FEMS Microbiol Lett2002; 69-74. doi.org/10.1111/j.1574-6968.2002.tb10988.x

11. Mirstajic A. Effect of copper and manganese ions on activities of laccase and peroxidases in three pleurotus species grown on agricultural wastes. Appl Biochem Biotechnol 2005; 2: 23-09.

12. Masudhossain Sk, Anantharaman N. Studies on bacterial growth and arsenic III biosorption using bacillus subtilis. Chem Biochem Eng 2006; 20: 209-16.

13. Sheikhi F, Roayaeiardekani M, Enayatizamir N, Ghezelbash Gh. [Isolation and identification Two producing fungi and rhizosphere of sugar cane bagasse laccase]. JCM 2014; 27; 12. (Persian)

14. Viswanath B, Chandra MS, Kumar KP, Rajasekharreddy B. Production and purification of laccase from Stereum ostrea and its ability to decolorize textile dyes. DBPBMB 2008; 2; 19-25.

15. Nahilshukur Y. Determination of optimal conditions for the production of laccase enzyme by local isolate of Bacillus sp. Iraqi J Sci 2015; 56 ; 132-09.

16. Wan YY, Lu R, Xiao L, Du YM, Miyakoshi T, Chen CL, Knill CJ, Kennedy JF. Effects of organicsolvents on the activity of free and immobilized laccase from Rhus vernicifera. Int J Biol Macromole 2010; 47; 488-95. doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2010.07.003

17. Zafar S, Aqi F, Ahmad I. Metal tolerance and biosorption potential of filamentous fungi isolated from metal contaminated agricultural soil. Bio Technol 2007; 98; 25-57. doi.org/10.1016/j.biortech.2006.09.051

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/sjimu.26.6.79]
Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir at 14:32 IRDT on Monday May 20th 2019

Effects of Arsenic on Laccase Enzyme Activity in Strains of Bacillus Subtilis in Vitro

Momen A[1], Shalbaf S[2], Salahi S[3]*

(Received: June 14, 2017 Accepted: January 15, 2018)

Abstract

Introduction: One of the important environmental problems in the international community is contamination with heavy metals from industrial development. Not only do these elements threaten human health but they also make changes in the natural state of the ecosystem. The purpose of this study was to investigate the effect of the heavy arsenic element on lactate enzyme activity in the Bacillus subtilis bacteria.

Materials & Methods: Bacillus subtilis bacteria were isolated from the wastewater of paper and pasteboard industry of Hormozgan province from a depth of 51 cm below the surface of the soil and the strain was subjected to biochemical and morphological tests for screening. After determining the optimum growth conditions, the activity of the bacteria laccase enzyme in different concentrations of arsenic was measured from (5, 10, 15, and 20 mg.) was measured. The enzymatic activity of the strains was measured by the kinetic method at each concentration using a spectrophotometer at 634 nm using a 25 mM citrate buffer with pH 4.5 as a substrate.

Findings: Maximum laccase enzyme activity in Bacillus subtilis bacteria was not significantly different at concentration of 5 mg/L of arsenic from maximum growth of bacteria in control sample and maximum growth of bacteria at concentration of 20 mg/L. However, by increasing the concentration of arsenic in the culture medium, the growth of the bacteria in the control sample, with the exception of its maximum growth in concentration of 20 mg/L, showed a significant difference with other concentrations ($P<0.05$.)

Discussion & Conclusions: The results show that arsenic can decrease bacterial growth rate and lactate enzyme activity in Bacillus subtilis bacteria.

Keywords: Arsenic, Laccase enzyme, Bacillus subtilis bacteria, Heavy metals

1. Dept of Microbiology, Faculty of Sciences, Islamic Azad University, Hamedan Branch, Hamedan, Iran
2. Dept of Microbiology, Faculty of Sciences, Islamic Azad University, Research and Sciences Branch, Tehran, Iran
3. Dept of Microbiology, Faculty of Sciences, Islamic Azad University, Saveh Branch, Young Researchers Club, Saveh, Iran
** Corresponding author Email: amomen89@gmail.com*

www.SID.ir