جداسازی و شناسایی باکتری *Bacillus firmus* از رسوبات دریایی بندر امام خمینی(ره) و مطالعه توانایی آن در جذب زیستی فلز سرب

علیرضا صفاهیه[۱]، راضیه لموچی[۲*]، نگین سلامات[۳]، هاجر آبیار[۴]

۱- استادیار گروه زیست دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، پست الکترونیکی: safahieh@hotmail.com
۲- دانش آموخته رشته آلودگی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، پست الکترونیکی: raziehlamoochi@yahoo.com
۳- استادیار گروه زیست دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، پست الکترونیکی: neginsalamat@yahoo.com
۴- کارشناس ارشد آلودگی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، پست الکترونیکی: hajarabyar@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۱/۹/۱۹ * نویسنده مسوول تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۲/۱۲

© نشریه علمی ـ پژوهشی اقیانوس‌شناسی ۱۳۹۳، تمامی حقوق این اثر متعلق به نشریه اقیانوس‌شناسی است.

چکیده

استفاده از جاذب‌های زیستی جهت کنترل و حذف آلاینده‌ها از محیط در مقایسه با روش‌های فیزیکوشیمیایی، روشی مقرون به صرفه و مناسب به‌شمار می‌آید. در این مطالعه با نمونه‌برداری از رسوبات سطحی بندر امام خمینی (ره)، باکتری بومی منطقه که به فلز سرب مقاوم بود، جداسازی و شناسایی گردید. باکتری جداسازی شده *Bacillus firmus* با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی شناسایی و رشد آن در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر این فلز بررسی شد. حداکثر رشد باکتری در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر این فلز بود. همچنین این باکتری قادر به رشد در غلظت‌های بالای سرب تا ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بود که این موضوع بیانگر مقاومت بالای این باکتری به فلز سرب است. توانایی جذب زیستی سرب توسط باکتری *B. firmus* در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر این فلز بررسی گردید و نتایج نشان داد که این باکتری قادر به حذف ۹۵ درصدی سرب از محیط است. از این‌رو این باکتری جهت پاکسازی رسوبات آلوده به فلز سرب خصوصا مناطق آلوده به این فلز در بندر امام خمینی(ره) پیشنهاد می‌گردد.

کلمات کلیدی: *سرب، جذب زیستی، Bacillus firmus، بندر امام خمینی(ره).*

۱. مقدمه

ورود فلزات سنگین به دریا ناشی از فعالیت‌های انسانی نظیر سرعت بالای صنعتی شدن و شهرسازی، تخلیه پساب‌های خانگی، صنعتی و تردد کشتی‌ها، خطری برای سلامت محیط‌های آبی محسوب می‌شود. فلزات سنگین از جمله آلاینده‌های زیست محیطی هستند که به‌واسطه پایداری و تجزیه ناپذیری از اهمیت خاصی برخوردارند و به‌دلیل امکان ورود و تجمع در زنجیره غذایی، رهاسازی آنها به محیط‌های آبی بدون تصفیه مناسب تهدید مهمی برای سلامت عمومی انسان به‌شمار می‌روند (صفاهیه و همکاران، ۱۳۹۰). تاکنون مطالعات گسترده‌ای در مورد روش‌های پاکسازی محیط از فلزات سنگین صورت گرفته است،

که در این بین استفاده از جاذب‌های زیستی نسبت به روش‌های فیزیکوشیمیایی نظیر تبادل یونی، اسمز معکوس و رسوب‌دهی شیمیایی به‌دلیل اقتصادی بودن، بالا بودن سرعت نسبی فرآیند حذف، قابلیت بازیابی فلزات و عدم تولید لجن گزینه مناسب‌تری است (Volesky, 2001).

در میان جاذب‌های زیستی، می‌توان به جلبک دریایی *Sargassum natans* (Romera et al., 2006)، باکتری *Pseudomonas putida* (Uslu and Tanyol, 2006)، قارچ *Aspergillus niger* (Dursun , 2003) و مخمر *Saccharomyces cerevisiae* (Vianna et al., 2000) اشاره کرد که قادرند غلظت یون‌های فلزی را در محلول از سطح ppt به ppb کاهش دهند (Vijayaraghavan and Yun, 2008). در این میان باکتری‌ها به‌دلیل اندازه‌ی کوچک، نسبت بالای سطح به حجم، سرعت تکثیر بالا و برخورداری از سایت‌های فعال جذبی از جمله کربوکسیل، هیدروکسیل، آمین و سولفیدریل جاذب‌های زیستی مناسب‌تری هستند (Igwe and Abia, 2006).

منطقه‌ی محصور شده خور موسی واقع در شمال غربی خلیج فارس به‌علت موقعیت خاص جغرافیایی، مجموعه‌ای از صنایع و بنادر در اطراف آن ایجاد گردیده است. بندر امام خمینی(ره) واقع در مجاورت این خور یکی از بنادر بزرگ ایران است و تردد فراوان کشتی در این بندر و همچنین وجود صنایع مختلف پتروشیمی در اطراف آن سبب تخلیه انواع آلاینده‌ها از جمله فلزات سنگین به این خور می‌شود (جاوید و صمدیار، ۱۳۸۶). خور موسی از یک سو محل مناسبی جهت تخم‌ریزی و گذراندن دوره لاروی گونه‌های مهم شیلاتی است و از سوی دیگر مکان مهمی برای صید آبزیان خوراکی محسوب می‌شود و با توجه به اینکه خورموسی راه ارتباطی محدودی با خلیج فارس دارد، ورود فلزات سنگین به این خور می‌تواند منجر به آلوده شدن آبزیان و در نهایت انسان‌ها گردد. بنابراین شناسایی گونه‌های باکتریایی بومی با هدف حذف زیستی آلاینده‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در این زمینه تاکنون مطالعات متعددی در ایران صورت گرفته است، نظیر جداسازی باکتری مقاوم به فلز سرب *Bacillus circulans* از رسوبات تالاب انزلی (Khanafari et al., 2008)، باکتری *Bacillus* sp. (KAH1) از پساب پتروشیمی (کریم سلمانی و همکاران، ۱۳۹۰) و باکتری‌های *Pseudomonas* جداسازی شده از پسماند کارخانجات صنعتی کرمان که به فلزات روی و مس مقاوم هستند (شکیبایی و همکاران، ۱۳۸۷)، اما مطالعات اندکی بر روی قابلیت باکتری‌های دریایی جنوب کشور صورت گرفته است. از جمله مطالعات انجام شده در این زمینه در خلیج فارس می‌توان به جداسازی ۳۵ باکتری مقاوم به فلزات روی، مس، سرب و کادمیوم توسط Zolgharnein و همکاران (۲۰۰۷) اشاره کرد. Abyar و همکاران (۲۰۱۱) با جداسازی باکتری *Pseudomonas putida* از رسوبات بندر امام خمینی(ره) نشان دادند که این گونه قادر است ۵۹ درصد از فلز مس موجود در محیط کشت را طی مدت زمان ۱۲۰ دقیقه جذب نماید. گونه‌ی مذکور قادر به تجزیه ۹۱ درصد از نفتالن وارد شده به محیط کشت نیز بود. در مطالعه دیگری در بندر امام خمینی(ره) مشخص شد که باکتری *P. aeruginosa* با استفاده از نفتالن به‌عنوان تنها منبع کربن، ۹۶ درصد این ترکیب را در مدت زمان ۱۲۰ دقیقه از طریق تجزیه زیستی حذف کرده است. مطالعه Safahieh و همکاران (۲۰۱۲) نیز نشان داد که باکتری *Pseudomonas* sp. جداسازی شده از رسوبات بندر امام خمینی(ره) علاوه بر توانایی در جذب زیستی مس (۷۰/۳۰ درصد) از محیط واجد این فلز، قادر است به خوبی در حضور فنانترن رشد کرده و طی مدت ۱۲۰ ساعت ۹۶/۵۲ درصد این آلاینده را حذف کند.

از آنجایی‌که اطلاعات چندانی در مورد گونه‌های باکتریایی مقاوم به فلز سرب در آب‌های جنوبی کشور و توانایی آنان در جذب زیستی این فلز در دست نیست، لذا این مطالعه با هدف جداسازی و شناسایی گونه باکتریایی مقاوم به فلز سرب از بندر امام خمینی(ره)، بررسی قابلیت رشد آن در غلظت‌های مختلف فلز و مطالعه توانایی باکتری جداسازی شده در حذف فلز سرب پایه گذاری شد.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. نمونه‌برداری و جداسازی باکتری

با توجه به‌میزان آلودگی سرب در رسوبات بندر امام خمینی(ره) (دهقان، ۱۳۸۶) سه ایستگاه جهت نمونه‌برداری انتخاب شد. نمونه‌برداری در مهرماه ۱۳۹۰ از لایه سطحی رسوب با استفاده از گرب ون وین و با سه تکرار صورت گرفت. نمونه‌ها به‌سرعت همراه با یخ به آزمایشگاه منتقل شدند. پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه نمونه‌های مربوط به هر ایستگاه با هم

مخلوط و یک گرم از آن به ۱۰ میلی‌لیتر محلول کلرید سدیم ۰/۸۵ درصد اضافه گردید. سپس عمل رقیق‌سازی تا رقت 10^{-3} انجام شد (Dzairi et al., 2004).

از هر رقت ۰/۱ میلی‌لیتر بر روی سطح محیط کشت نوترینت آگار حاوی غلظت‌های ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر فلز سرب کشت داده شد. سپس نمونه‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳ روز در انکوباتور گرماگذاری شدند (Leung et al., 2000). با ظهور کلنی‌ها بر سطح نوترینت آگار، باکتری‌هایی که در محیط کشت حاوی بالاترین غلظت فلز سرب رشد کرده بودند جهت خالص‌سازی انتخاب شدند. به‌منظور به‌دست آوردن کلنی‌های خالص، این مرحله از آزمایش ۲ تا ۳ بار تکرار گردید (Chovanova et al., 2004).

۲-۲. *شناسایی باکتری*

شناسایی گونه‌ی باکتری با استفاده از خصوصیات ماکروسکوپی (رنگ و شکل کلنی) و میکروسکوپی (ریخت‌شناسی، رنگ آمیزی گرم و تایید آن با تست KOH)، تست‌های بیوشیمیایی و کتاب راهنمای برجی انجام شد (Woodland, 2004; Brenner et al., 2005; Tang and Stratton, 2006).

۲-۳. *مطالعه رشد باکتری*

به‌منظور مطالعه رشد باکتری ابتدا سوسپانسیون حاوی باکتری به شرح زیر تهیه گردید:

محیط کشت LB broth (باکتوتریپتون ۱٪، مایع مخمر ۰/۵٪، NaCl ۱٪ و pH=۷) حاوی باکتری به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور شیکردار با دمای ۳۰ درجه سانتی گراد و دور ۱۶۰ rpm قرار داده شد. پس از رشد باکتری در محیط کشت مذکور، ۱۰ میلی‌لیتر از محیط کشت LB broth حاوی باکتری به مدت ۲۰ دقیقه در سرعت ۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ گردید تا توده باکتری در ته لوله سانتریفیوژ ته نشین گردد. سپس مایع رویی را از توده باکتری جدا کرده و پس از شستشو، توده باکتری برجا مانده جمع آوری گردید (Kim et al., 2007).

برای تعیین میزان رشد باکتری، یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون تهیه شده در مرحله فوق به ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت LB broth حاوی غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر فلز سرب اضافه شد. نمونه‌های شاهد فاقد فلز نیز جهت مقایسه در نظر گرفته شدند. سپس نمونه‌ها در انکوباتور شیکردار در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. سنجش رشد باکتری در فواصل زمانی ۱۲ ساعت به مدت ۵ روز با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر قرائت گردید (Shirdam, 2006).

۲-۴. *سنجش توانایی باکتری در حذف سرب*

بدین‌منظور یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری به ۱۰۰ میلی لیتر محلول فلزی با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر فلز اضافه شد و میزان فلز باقی مانده در محلول در فواصل زمانی ۳۰ دقیقه‌ای و به‌مدت ۱۵۰ دقیقه با استفاده از دستگاه جذب اتمی مدل Savanta AA∑ سنجش شد و برای هر غلظت یک نمونه شاهد نیز تعیین گردید (Kim et al., 2007; Azza et al., 2009). حد تشخیص دستگاه از طریق حاصل‌ضرب انحراف معیار نمونه‌های شاهد در عدد ۳، تقسیم بر شیب خط معادله منحنی کالیبراسیون برای فلز سرب محاسبه شد و عدد یک میلی‌گرم بر لیتر به‌دست آمد. سنجش نمونه‌ها با ۳ تکرار انجام شد و با کسر میانگین فلز باقیمانده در محلول از میزان اولیه فلز و مقایسه با نمونه شاهد، توانایی باکتری در حذف فلز سرب تعیین گردید.

۲-۵. *پردازش داده‌ها*

نرمال بودن داده‌ها از لحاظ پراکنش با استفاده از آزمون Shapiro - Wilk بررسی گردید. برای بررسی وجود تفاوت در رشد باکتری در غلظت‌های متفاوت فلز از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One way ANOVA) استفاده شد. در صورت وجود اختلاف معنی‌دار، برای جدا کردن گروه‌های مختلف از آزمون توکی استفاده گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۱۱/۵ صورت گرفت و نرم افزار Excel برای رسم نمودارها به‌کار رفت.

۳. نتایج

جمعا ۸ کلنی متفاوت از باکتری‌های مقاوم به فلز سرب از رسوبات منطقه جداسازی شدند که در این بین گونه‌ای که

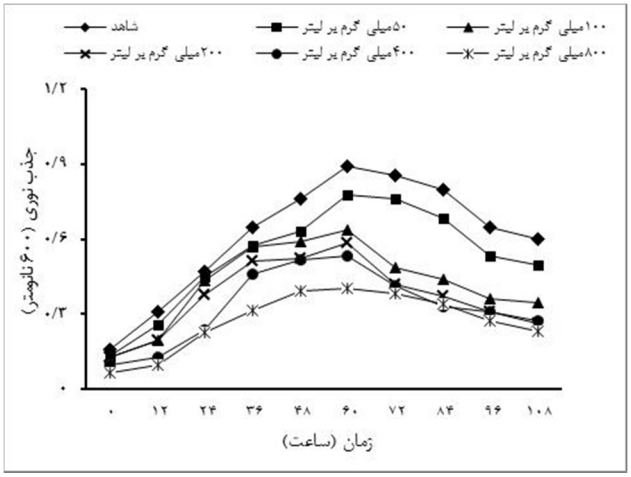
بیشترین میزان رشد را در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سرب نشان داد، برای آزمایش‌های بعدی انتخاب شد. نتایج حاصل از رنگ آمیزی گرم و تست KoH نشان داد که گونه‌ی جداسازی شده یک باسیل گرم مثبت است که با توجه به نتیجه تست‌های بیوشیمیایی مندرج در جدول ۱، گونه‌ی آن *B. firmus* تشخیص داده شد.

سنجش رشد باکتری در نمونه‌ی فاقد سرب (کنترل مثبت) نشان داد که باکتری بدون تاخیر وارد مرحله‌ی لگاریتمی شده و بعد از رسیدن به حداکثر رشد خود وارد مرحله‌ی رکود می‌گردد. مقایسه‌ی رشد باکتری در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سرب نشان داد که باکتری در محیط کشت حاوی ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سرب، بالاترین میزان رشد را داشته است. در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سرب، باکتری به‌سرعت وارد مرحله‌ی لگاریتمی می‌شود و بعد از گذشت ۶۰ ساعت به نهایت رشد خود می‌رسد. این در حالی است که در غلظت‌های ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، باکتری با تاخیری ۱۲ ساعته شروع به رشد کرد (شکل ۱).

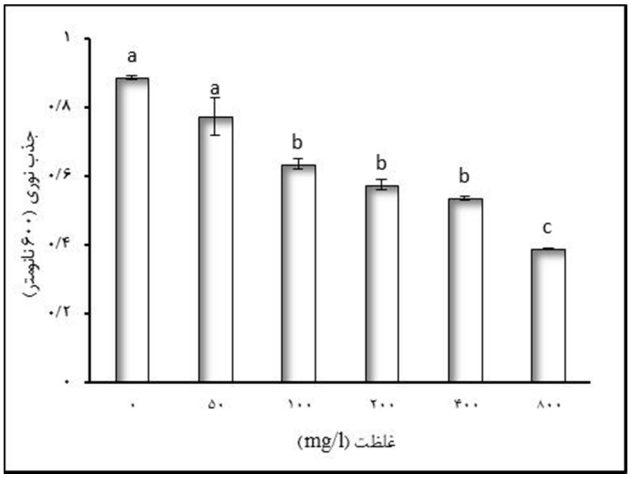
جدول ۱: ویژگی‌های بیوشیمیایی گونه‌ی جداسازی شده در مطالعه حاضر

تست بیوشیمیایی	*Bacillus firmus*
رنگ آمیزی	+
شکل کلنی	میله‌ای
KoH	–
اکسیداز	+
کاتالاز	+
لاکتوز	–
اوره	–
اندول	–
حرکت	+
تولید گاز	–
TSI	+
سیترات	–
مکانکی	–
لایزین	–
MR	+
VP	–
PD	–

نتایج حاصل از بررسی رشد باکتری در غلظت‌های مختلف فلز سرب نشان داد که با افزایش غلظت فلز در محیط، میزان رشد باکتری کاهش می‌یابد. بدین‌ترتیب حداکثر رشد باکتری در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سرب ظاهر گردید. بین رشد باکتری در گروه شاهد و غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سرب تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در عین حال بین غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سرب تفاوت معنی‌داری نبود ($P>0/05$). سرانجام کمترین میزان رشد باکتری در محیط واجد ۸۰۰ میلی گرم بر لیتر سرب ظاهر شد. رشد باکتری در این غلظت در حدود ۵۰ درصد نسبت به گروه شاهد کاهش داشت که از این نظر با سایر غلظت‌ها تفاوت معنی‌دار داشت (شکل ۲).



شکل ۱: منحنی رشد باکتری در غلظت‌های مختلف فلز سرب در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در مدت ۱۰۸ ساعت

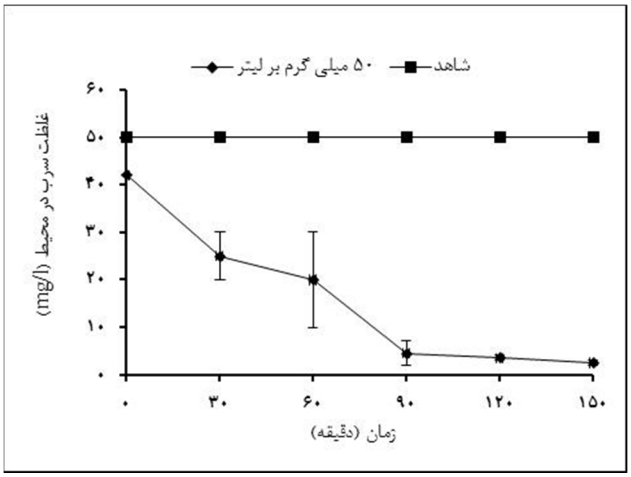


شکل ۲: نمودار مقایسه‌ای رشد باکتری در غلظت‌های مختلف فلز سرب

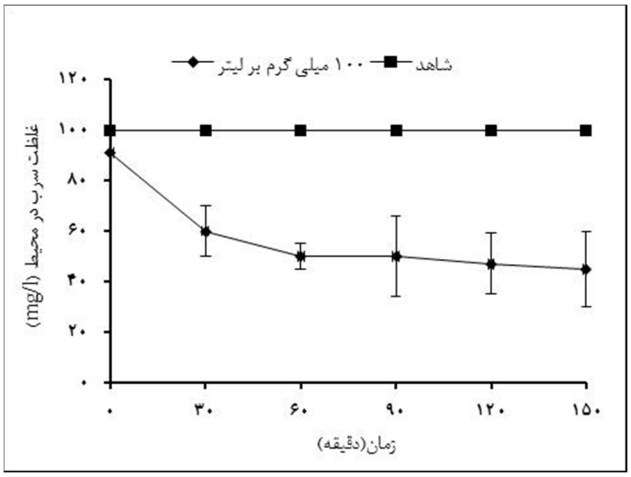
جذب سرب از محیط کشت حاوی این فلز توسط باکتری *B. firmus* در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سرب مورد مطالعه قرار گرفت و نتایج به‌دست آمده حاکی از آن بود که با افزایش غلظت سرب در محیط، میزان جذب آن توسط باکتری افزایش می‌یابد. به‌طوری که بالاترین میزان جذب توسط باکتری در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سرب به ثبت رسید. علاوه بر آن، بیشترین مقدار جذب در زمان‌های نخستین پس از در معرض قرارگیری با فلز سرب مشاهده شد

که در هر سه غلظت مذکور، حداکثر میزان فلز در ۳۰ دقیقه آغازین توسط باکتری از محلول جذب شد. لازم به ذکر است که مقدار سرب در نمونه‌های شاهد در هر سه غلظت تغییر قابل توجهی را نشان نداد (شکل ۳).

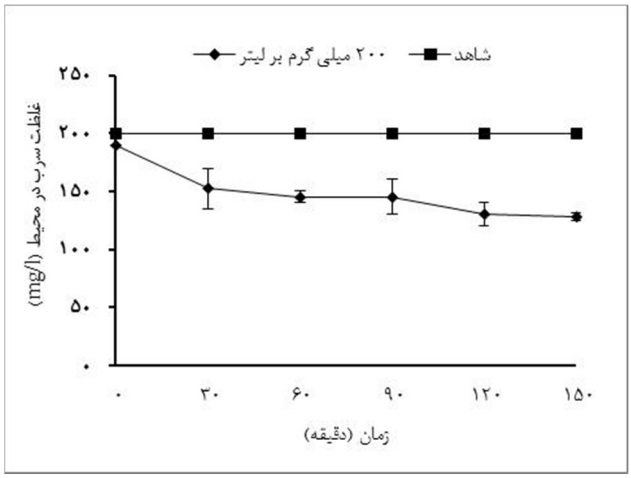
بررسی درصد جذب فلز توسط باکتری جداسازی شده از رسوبات بندر امام خمینی (ره) مبین این نکته بود که با افزایش غلظت فلز در محیط، درصد جذب کاهش می‌یابد. به‌طوری‌که در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سرب، باکتری قادر به جذب ۹۵ درصدی فلز بود و زمانی که غلظت فلز در محیط افزایش یافت، درصد جذب روند نزولی را طی کرد. باکتری مورد نظر در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سرب به‌ترتیب قادر به حذف ۵۵ درصد و ۳۶ در صدی این فلز بود (شکل ۴).



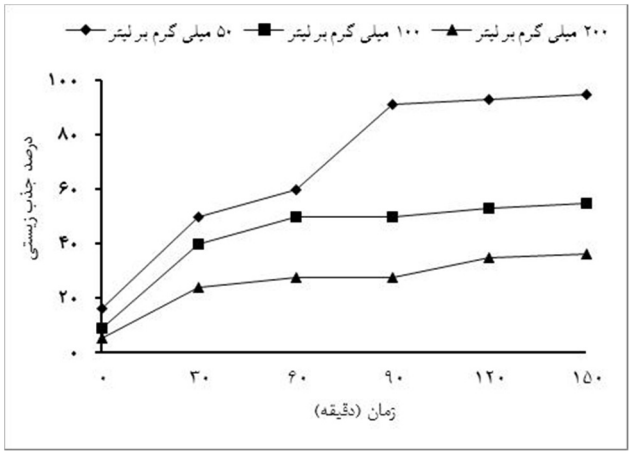
شکل ۳ الف: نمودار جذب سرب توسط باکتری *B. firmus* از محلول ۵۰ میلی گرم بر لیتر سرب



شکل ۳ ب: نمودار جذب سرب توسط باکتری *B. firmus* از محلول ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر سرب



شکل ۳ ج: نمودار جذب سرب توسط باکتری *B. firmus* از محلول ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر سرب



شکل ۴: نمودار درصد جذب زیستی سرب توسط باکتری *B. firmus* در غلظت‌های مختلف فلز سرب

۴. بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به سرعت گسترش فعالیت‌های صنعتی و تخلیه پساب‌های حاوی آلاینده‌ها از جمله فلزات سنگین به محیط دریاها، استفاده از روش‌های کارآمد نظیر جذب زیستی جهت کاهش میزان فلزات سنگین در محیط لازم و ضروریست (Wang and Chen, 2009). در مطالعه‌ی حاضر باکتری *B. firmus* به‌عنوان گونه مقاوم به فلز سرب، از رسوبات آلوده به این فلز در بندر امام خمینی (ره) جداسازی و شناسایی گردید. در همین زمینه Nurbakhsh و همکاران (۲۰۰۲) باکتری *Bacillus* sp. را از پساب حاوی فلزات سنگین، Kim و همکاران (۲۰۰۷) باکتری *Bacillus* spp. CPB4 را

از خاک‌های آلوده به این فلزات، khanafari و همکاران (۲۰۰۸) باکتری *B. circulans* را به‌عنوان گونه‌ی مقاوم به فلز سرب و کروم از رسوبات آلوده تالاب انزلی جداسازی نمودند. به‌طور طبیعی جمعیت و فعالیت میکروارگانیسم‌ها در مناطق آلوده به فلزات سنگین نسبت به مناطق غیر آلوده کمتر است و باکتری‌هایی که از این مناطق جداسازی می‌شوند، گونه‌هایی مقاوم به فلزات هستند که قادرند غلظت‌های بالای فلزات سنگین را تحمل کنند (Malik, 2004). میزان رشد باکتری در حضور فلزات سمی، از جمله عوامل موثر بر توانایی این میکروارگانیسم در جذب فلزات سنگین از محیط است. همچنین غلظت فلز و درجه سمیت آن نیز بر رشد باکتری و در نهایت بر توانایی آن در حذف فلزات سنگین اثرگذار است. از اینرو مطالعه‌ی رشد باکتری درحضور غلظت‌های مختلف فلز لازم است. بررسی رشد باکتری *B. firmus* در غلظت‌های مختلف فلز سرب نشان داد اگرچه باکتری در غلظت‌های پایین فلز، رشد بهتری داشته و سریع‌تر وارد مرحله‌ی لگاریتمی خود می‌شود، ولی در غلظت‌های بالای سرب تا ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیز قادر به رشد است. این در حالی است که باکتری در غلظت‌های ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر این فلز بعد از گذراندن مرحله‌ی تاخیر وارد مرحله‌ی لگاریتمی می‌شود و رشد کمتری نسبت به غلظت‌های پایین‌تر سرب دارد. مطالعه Khanfarai و همکاران (۲۰۰۸) نیز نشان داد که باکتری *B. circulans* مانند گونه‌ی مورد مطالعه در این تحقیق از مقاومت بالایی در برابر فلز سرب برخوردار است. به‌طوری‌که قادر به تحمل غلظت بالای سرب تا ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر بوده و در این غلظت رشد خود را با تاخیری ۱۰ ساعته آغاز می‌کند. همچنین Edward raja و همکاران (۲۰۰۶) با قرار دادن باکتری *P. aerugionsa* در معرض غلظت‌های مختلف فلزات سرب، کادمیوم، کروم، آرسنیک و جیوه و بررسی رشد آن متوجه شدند که با افزایش غلظت فلزات، سرعت رشد کاهش یافته و باکتری رشد خود را با تاخیر آغاز می‌کند که تاییدی بر نتایج مطالعه حاضر است. وجود مرحله‌ی تاخیر در آغاز رشد باکتری در غلظت‌های بالای فلز ممکن است به دو دلیل باشد. اول اینکه باکتری جهت ترمیم ضایعات ناشی از مواجهه شدن با فلز سرب و دوم به‌دلیل سازگاری با شرایط محیطی جدید مدت زمانی را به‌شکل فاز تاخیر سپری می‌کند (Garni, 2005).

بر اساس مطالعات صورت گرفته به نظر می‌رسد گونه‌های جنس باسیلوس توانایی قابل توجهی جهت حذف فلزات سنگین از محیط را دارند (Kim et al., 2007; Ray et al., 2005; Khanafari et al., 2008). باکتری‌های متعلق به این جنس، باکتری‌های گرم مثبت، هوازی و تولید کننده اسپور هستند که به‌خاطر ساختار خاص دیواره سلولی و وجود سایت‌های اتصال Teichoic acids و Teichronic در دیواره‌ی سلولی خود نسبت به باکتری‌های گرم منفی، جاذب‌های بهتری برای فلزات سنگین هستند (Garni, 2005). در مطالعه‌ی حاضر نیز مشخص شد باکتری *B. firmus* قادر است در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر سرب، این فلز را به‌ترتیب به میزان ۹۵، ۵۵ و ۳۶ درصد در مدت زمان ۲/۵ ساعت کاهش دهد. این در حالی است که با افزایش غلظت فلز در محیط، میزان جذب آن توسط باکتری افزایش می‌یابد، به‌طوری که، بالاترین میزان جذب توسط باکتری در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سرب بود که طی ۱۵۰ دقیقه به ۳ ± ۱۲۸ میلی‌گرم بر لیتر رسید. Green-Ruiz (2006) با بررسی حذف جیوه توسط باکتری *Bacillus* sp. نشان داد زمانی که غلظت جیوه در محیط از ۰/۲۵ تا ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر افزایش می‌یابد، میزان جذب نیز توسط باکتری افزایش و درصد جذب فلز کاهش می‌یابد. بالا بودن درصد جذب در غلظت‌های پایین‌تر فلز احتمالا به این دلیل است که در این غلظت‌ها تعداد یون‌های فلزی نسبت به سایت‌های جذبی موجود در سطح سلول کمتر هستند، از اینرو درصد جذب بیشتر خواهد شد و با افزایش غلظت فلز و تعداد یون‌های فلزی و کاهش سایت‌های جذبی، درصد جذب نیز کاهش می‌یابد (King et al., 2006).

نتایج حاصل از جذب فلز توسط باکتری در مدت زمان ۱۵۰ دقیقه حاکی از آن بود که حداکثر جذب فلز در زمان‌های ابتدایی پس از تلقیح باکتری صورت می‌گیرد، به‌گونه‌ای که باکتری در ۳۰ دقیقه نخست، بیشترین میزان فلز را از محیط حذف نمود. در همین راستا مطالعات Tunali و همکاران (۲۰۰۶)، با بررسی جذب زیستی دو فلز سرب و مس توسط باکتری باسیلوس نشان دادند که جذب سطحی سریع یون‌های سرب و مس در ۱۵ و ۳۰ دقیقه ابتدایی انجام می‌شود و با گذشت زمان، تغییر قابل توجهی در میزان جذب صورت نمی‌گیرد. همچنین Green-Ruiz (2006)، با بررسی روند حذف فلز جیوه توسط باکتری *Bacillus* sp. نشان داد که میزان قابل توجهی از فلز در ۲۰ دقیقه ابتدایی سنجش توسط باکتری جذب گردید، که به‌نظر می‌رسد با افزایش غلظت یون‌های فلزی، سایت‌های جذبی روی سطح دیواره سلولی باکتری به سرعت اشغال شده و با گذشت زمان به علت اشباع شدن آنها جذب متوقف می‌شود (Tunali et al., 2006). همچنین

پس از جذب یون‌های فلزی بر جایگاه‌های اتصال در سطح سلول، نیروی دافعه بین یون‌های جذب شده بر سطح سلول و یون‌های فلزی محلول در محیط باعث توقف جذب بیشتر یون‌های فلزی می‌گردد (Hussain et al., 2009).

از آنجایی‌که صنعت به دنبال روش‌های مناسب برای حذف آلاینده‌ها از محیط است، استفاده از میکروارگانیسم‌های بومی و مقاوم به فلزات سنگین که از مناطق آلوده جداسازی می‌گردند، گزینه‌ای مناسب جهت کنترل و حذف فلزات از محیط به‌شمار می‌آید. مطالعه حاضر نشان داد که باکتری *Bacillus firmus* جدا شده از رسوبات بندر امام خمینی (ره) قادر است در غلظت‌های بالای فلز سرب تا ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر رشد نماید که این موضوع بیانگر مقاومت بالای آن به فلز سرب است. همچنین *B. firmus* قادر به حذف ۹۵ درصدی فلز سرب از محلول، در مدت زمان ۲/۵ ساعت بود، لذا به‌نظر می‌رسد در آینده بتوان از توانایی این باکتری در جذب زیستی فلز سرب به‌منظور پاکسازی مناطق آلوده دریایی بهره برد.

منابع

جاوید، ا. ح.؛ صمدیار، ح.، ۱۳۸۶. مدل سازی تاثیر تغییر pH در انتقال فلزات سنگین (نیکل و کادمیوم) ناشی از فعالیت‌های پتروشیمی بندر امام خمینی در خلیج فارس (خور موسی). علوم و تکنولوژی محیط زیست. ۴(۹): ۱-۱۳.

دهقان مدیسه، س.، ۱۳۸۶. شناسایی مناطق حساس و تحت اثر در خوریات خوزستان با استفاده از شاخص‌های اکولوژیک و بیولوژیک. پایان نامه دکتری دانشگاه دوره دکتری رشته بیولوژی دریا، دانشگاه علوم دریایی خرمشهر، ۱۴۶ صفحه.

شکیبایی، م.ر.؛ خسروان، آ.؛ فرهمند، آ.؛ زارع، س.، ۱۳۸۷. حذف فلزات سنگین مس و روی از پسمان‌های صنعتی یکی از کارخانجات صنعتی کرمان توسط باکتری‌های مقاوم جهش یافته جذب کننده فلز. مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۱۶(۱): ۱۳-۲۴.

صفاهیه، ع.؛ فرهاد، م.؛ نبوی، ب.؛ غانمی، ک.؛ موحدی‌نیا، ع.؛ داراب‌پور، م.، ۱۳۹۰. تجمع فلزات سنگین نیکل، وانادیوم، مس و سرب و دوکفه‌ای *Crassostrea gigas* در بندر امام خمینی (ره). اقیانوس شناسی ۲(۸): ۴۵-۵۹.

صفاهیه، ع.؛ موجودی، ف.؛ ذوالقرنین، ح.، ۱۳۹۰. ارزیابی و مقایسه توانایی باکتری‌های سودوموناس بومی منطقهٔ خورموسی در حذف ترکیبات آروماتیک حلقوی. محیط شناسی. ۳۷(۵۸): ۱۴۹-۱۵۸.

کریم سلمانی، ب.؛ آموزگار، م.ح.؛ حامدی، ج.، ۱۳۹۰. جذب زیستی سرب توسط باکتری های جداشده از پساب های صنایع پتروشیمی. علوم و تکنولوژی محیط زیست. ۱۳(۲):۴۱-۵۴.

Abyar, H.; Mojodi, F.; Safahieh, A.; Zolgharnein, H.; Zamani, I., 2011. The role of *Pseudomonas putida* in bioremediation of naphthalene and copper. World Journal of Fish and Marine Sciences, 5: 444-449.

Azza, A.A.; Wesam, A.H.; Hedayat, M.S.; Ghada, A.A.F., 2009. Biosorption of some heavy metal ions using bacterial species isolated from agriculture waste water drains in Egypt. Journal of Applied Sciences Research, 4: 372-383.

Brenner, D.J.; Krieg, N. R.; Staley J. T., 2005. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Sec edition. Springer. 2: (283, 298-313) and (318- 321) pp.

Chovanova, K.; Sladekova, D.; Kmet, V.; Proksova, M.; Harichova, J.; Puskarova, A.; Polek, B.; Ferianc, P., 2004. Identification and characterization of eight cadmium resistant bacterial isolates from a cadmium-contaminated sewage sludge. Biological Bratislava, 6: 817-827.

Dursun, A.Y., 2003. The effect of pH on the equilibrium of heavy metal biosorption by *Aspergillus niger*. Fresenius Environ Bulletin. 12: 1315–22.

Dzairi, F.Z.; Zeroual, Y.; Moutaouakkil, A.; Taoufik, J.; Talbi, M.; Loutfi, M.; Lee, K.; Blaghen, M., 2004. Bacterial volatilization of mercury bye immobilized bacteria in fixed and fluidized bed bioreactors. Annals of Microbiology, 54(4): 353-364.

Edward Raja, Ch.; Anbazhagan, K.; Sadasivam Selvam, G., 2006. Isolation and characterization of a metal-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strain, World Journal of Microbiology and Biotechnology, 22: 577-585.

Garni, S., 2005. Biosorption of lead by gram-ve capsulated and non-capsulated bacteria. Water SA. 3:

Wastewater on *Bacillus* sp. Chemical Engineering Journal, 85: 351-355.

Ray, L.; Paul, S.; Bera, D.; Chattopadhyay, P., 2005. Bioaccumulation of Pb (II) from Aqueous Solutions by *Bacillus cereus* M16. Journal of Hazardous Substance Research, 5: 1-21.

Romera, E.; Gonzalez, F.; Ballester, A.; Blazquez, M.L.; Munoz, J.A., 2006. Biosorption with algae: a statistical review. Critical Reviews Biotechnology, 26: 223-35.

Safahieh, A.; Abyar, H.; Roostan, Z.; Zolgharnein, H.; Mojodi, F., 2012. Isolation and characterization of *Pseudomonas resistant* to heavy metals and poly aromatics hydrocarbons (PAHs) from Persian Gulf sediments. African Journal of Biotechnology, 11(19): 4418-4423.

Shirdam, R.; Khanafari, A.; Tabatabaee, A., 2006. Cadmium, nickel and vanadium accumulation by three strains of marine bacteria. Iranian Journal of Biotechnology, 3: 180-187.

Tang, Y.W.; Stratton, C.W (Editor)., 2006. Advanced techniques in diagnostic microbiology, 3-517 pp.

Tunali, S.; Cabuk, A.; Akar, T., 2006. Removal of lead and copper from aqueous solutions by bacterial strain isolated from soil. Chemical Engineering Journal, 115: 203-211.

Uslu, G.; Tanyol, M., 2006. Equilibrium and thermodynamic parameters of single and binary mixture biosorption of lead (II) and copper (II) ions onto *Pseudomonas putida*: effect of temperature. Journal of Hazard Mater, 135: 87–93.

Vianna, L.N.L.; Andrade, M.C.; Nicoli JR., 2000. Screening of waste biomass from *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus oryzae* and *Bacillus lentus* fermentations for removal of Cu, Zn and Cd by biosorption.World Journal of Microbiol Biotechnol. 16: 437–40.

Vijayaraghavan, K.; Yun, Y., 2008. Bacterial biosorbents 345-349.

Green-Ruiz, C, 2006. Mercury (II) removal from aqueous solutions by nonviable *Bacillus* sp. from a tropical estuary. Bioresource Technology, 97: 1907-1911.

Hussain, M.A.; Salleh, A.; Milow, P., 2009. Charachterization of the adsorption of the lead (II) by the nonliving biomass *Spirogyra neglecata* (Hasall) Kutzing. American Journal of Biochemistry and Biotechnology, 2: 75-83.

Igwe, J.C.; Abia, A.A., 2006. A bioseparation process for removing heavy metals from waste water using biosorbrnts. African Journal of Biotechnology, 5(12): 1167-1179.

Kim, S.U.; Cheong, Y.H.; Seo, D.C.; Hur, J.S.; Heo, J.S.; Cho, J.S., 2007. Characterisation of heavy metal tolerance and biosorption capacity of bacterium strain CPB4 (*Bacillus* spp.). Water Science and Technology, 55(1-2): 105-111 pp.

King, P.; Rakesh, N.; Beenalahari, S.; Kumar, Y.P.; Prasad, V.S.R.K., 2006. Removal of lead from aqueous solution using *Syzgium cumini* L. equilibrium and kinetic studies. Environmental Pollution Control Engineeting, 27: 340-347.

Khanafari, A.; Eshghdoost, S.; Mashinchian, A., 2008. Removal of lead and chromium from aqueous solution by *Bacillus circulans* biofilm. Iran Journal Environmental Health Science Engineering, 5(3): 195-200.

Leung, W.C.; Wong, M.F.; Chua, H.; Lo, W.; Yu, P.H.F.; Leung, C.K., 2000. Removal and recovery of heavy metals by bacteria isolated from activated sludge treating industrial effluents and municipal wastewater. Water Science and Technology, 14(12): 233-240.

Malik, A., 2004. Metal bioremediation through growing cells. Environment International, 30: 261-278.

Nourbakhsh, M.N.; Kilicarslan, S.; Ilhan, S., Ozdag H., 2002. Biosorption of Cr^{2+} and Cu^{2+} Ions in Industrial

Woodland, J., 2004. Bacteriology. Chapter 5. 2th Edition, 1-44 pp.

Zolgharnein, H.; Mohd Azmi, M.L.; Saad, M.Z.; Mutalib, A.R.; Mohamed, C.A.R., 2007. Detection of plasmids in heavy metal resistance bacteria isolated from the Persian Gulf and enclosed industrial areas. Iranian Journal of Biotechnology, 5(4): 232-239.

and Biosorption. Journal of biotechnology Advances, 26: 266-291.

Volesky, B., 2001. Detoxification of metal-bearing effluents: biosorption for the next century. Hydrometallurgy, 59: 203–16.

Wang, J.L.; Chen, C., 2009. Biosorbents for heavy metals removal and their future. Biotechnology, 27: 195–226.