پژوهشی

تأثیر سالیسیلات بر جمعیت باکتریهای تجزیه کننده نفتالین در آزمایشگاه و خاک

* دکتر روحا کسری کرمانشاهی

** دکتر اشرف السادات نوحی

*** دکتر مجید میرمحمد صادقی

**** زهرا اسدی

کلمات کلیدی:

سالیسیلات، تجزیه زیستی، نفتالین، پسودوموناس پسودومالئی، نفتالین، اکسیژناز، پلاسمید، آلودگی محیط.

چکیده:

در بررسی تأثیر سالیسیلات بر تعداد باکتریهای تجزیه کننده نفتالین و باکتریهای هتروتروف در یک نمونه خاک آلوده به هیدروکربن های حلقوی، دو غلظت ۱۶ و ۱۶۰ میکروگرم این ماده در هر گرم خاک به مدت ۳۰ روز اتوگذاری شد. در غلظت $\mu g / gr$ ۱۶۰ سالیسیلات دانسیته باکتریهای تجزیه کننده نفتالین و باکتریهای هتروتروف هوازی برای مدت ۳۰ روز افزایش نشان داد. در نمونه های خاک تیمار شده با ۱۶ میکروگرم سالیسیلات در خاک تغییری در جمعیت باکتریهای موردنظر مشاهده نشد. فعالیت نفتالین اکسیژناز که برای متابولیسم نفتالین لازم است، در سویه پسودوموناس پسودومالئی بعد از اتوگذاری با سالیسیلات اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که فعالیت نفتالین اکسیژناز به وسیله سالیسیلات افزایش می یابد.

* دانشیار میکروبیولوژی، دانشکده علوم دانشگاه اصفهان، گروه زیست شناسی.

** استاد میکروبیولوژی، دانشکده علوم دانشگاه تهران، گروه زیست شناسی.

*** دانشیار شیمی، دانشکده علوم دانشگاه اصفهان، گروه شیمی.

**** کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشکده علوم دانشگاه تهران، گروه زیست شناسی.

سرآغاز

به علت وفور نفتالین در محیط زیست و خصوصاً در مناطق پیرامون کارخانجات صنعتی و خاکهای آلوده به مواد نفتی (کرمانشاهی و دیگران ۱۳۷۵ ;Barnsley, 1975) و با توجه به اینکه این ماده در فهرست آلاینده ترین ترکیبات آلوده کننده محیط زیست اعلام شده است، لذا بررسی عواملی که بر تجزیه و سرعت آن در این ماده در محیط مؤثر بوده، بسیار مهم و با اهمیت می باشد. در سال (۱۳۷۵ و 1986) کرمانشاهی و Rebm and Reed این امر را نشان دادند. در این راستا (1989) Shiaris و Ensley و همکارانش(1974) سرعت تغییر و تبدیلات نفتالین را در رسوبات سطحی یک منطقه آلوده، در طی یک دوره پانزده ماهه و با استفاده از مواد رادیواکتیو مورد بررسی قرار دادند. در این بررسی گزارش شده که با افزایش غلظت نفتالین، سرعت تغییر و تبدیلات افزایش می یابد. معدنی شدن نفتالین در کلیه نقاط در ارتباط مستقیم با فصل گزارش شده است. زمان تغییر و تبدیل نفتالین در رسوبات، کمتر از آب مشاهده شده که به علت غلظت نفتالین و یا تعداد باکتریهای موجود است که در هر دو مورد در رسوبات به میزان بیشتری وجود دارند. در سال Bauer, 1985 و Capone نیز تجزیه زیستی نفتالین C_{14} را توسط فلورمیکروبی رسوبات در آزمایشگاه مورد ارزیابی قرار دادند.

در سال Hetikamp, 1987 و همکارانش تجزیه زیستی هیدروکربن های چند حلقه ای را در رسوبات و آب سه اکوسیستم که در معرض آلودگی با مواد شیمیایی بودند، مورد بررسی قرار دادند. در این گزارش نیمه عمر معدنی شدن نفتالین در این اکوسیستم ها بین ۴/۹-۲/۳ هفته اعلام شده است.

در سال Jerina, 1971 و همکارانش از حمله اولیه به حلقه نفتالین توسط یک دی اکسیژناز دور محیط کشت یک سویه پسودوموناس پوتیدا گزارش نمودند.

در سال 1974 هم چنین Ensley و همکارانش سیستم آنزیمی نفتالین دی اکسیژناز را در یک گونه از پسودوموناس مورد بررسی قرار دادند. از اینرو، در این تحقیق تأثیر سدیم سالیسیلات بر تراکم جمعیت باکتریهای هتروتروف هوازی کشت پذیر و هم چنین باکتریهای تجزیه کننده نفتالین در خاک مورد بررسی قرار گرفت و اثر این ماده بر مصرف نفتالین و هم چنین فعالیت آنزیم نفتالین اکسیژناز مورد مطالعه قرار گرفت.

روش کار

برای بررسی اثرات سالیسیلات بر تعداد باکتریهای تجزیه کننده نفتالین و باکتریهای هتروتروف هوازی کشت پذیر خاک، از آنجا که سالیسیلات القاء کننده اپرون کاتابولیک نفتالین می باشد (Ogunseitan et al, 1991) ، از اینرو اثر این ماده بر تغییرات تعداد باکتریهای تجزیه کننده نفتالین و کل باکتریهای هتروتروف هوازی کشت پذیر خاک در خاک مجاور مخزن زیرزمین واحد قطران بدون آب واقع در بخش کک سازی – ذوب آهن اصفهان، بررسی شد. مقادیر ۱۶۰۰ و ۱۶۰ میکروگرم سالیسیلات به ازای هر گرم خاک در حجم نهائی یک میلی لیتر، به ۳۰ گرم از خاک اضافه و در فواصل زمانی ۰، ۳، ۷، ۱۵، ۲۰ و ۳۰ روز، یک گرم از خاک مورد آزمایش در شرایط استریل برداشت و به ۱۰ میلی لیتر آب مقطر استریل وارد شد. پس از تهیه رقت های چندگانه، به منظور شمارش باکتریهای تجزیه کننده نفتالین بر روی محیط کشت با پایه معدنی + نفتالین + آگار(NapA) و به منظور شمارش باکتریهای هتروتروف هوازی کشت پذیر، بر سطح آبگوشت غذایی آگار دار(N.A) ، کشت داده شد. تعداد باکتریها بر حسب تشکیل کلنی از یک گرم خاک ($cfug^{-1}$) گزارش شده است. نتایج مربوطه در جداول ۳، ۲، ۱ آمده است. لازم به توضیح است که اعداد جدول (۳) از تقسیم اعداد جدول (۲) به جدول (۱) در غلظت و زمان مربوطه به اثر سالیسیلات به دست آمده است. یادآوری می شود خاک مورد آزمایش دارای pH اسیدی (حدود ۶) و دمای آن ^{o}C ۵ ± ۲۵ درجه سانتی گراد بوده و طی آزمایش، پارامترهای یاد شده ثابت بوده اند.

برای بررسی اثر سالیسیلات بر سرعت مصرف نفتالین توسط باکتریهای تجزیه کننده نفتالین از کشت ۲۴ ساعته باکتری تجزیه کننده نفتالن (پسودوموناس پسودومالئی) در محیط NapA ، سوسپانسیون سلولی با غلظت ۷، ۱ X ۱/۵ باکتری در هر میلی لیتر تهیه شد. ۲ میلی لیتر از آن به ۲۰۰ میلی لیتر از محیط SMM (محیط معدنی پایه + ۰/۲ درصد سدیم سوکسینات) افزوده شد. در ابتدای فاز لگاریتمی رشد (OD = ۰/۱)، محلول ۰/۰۵ درصد سدیم سالیسیلات به محیط افزوده و پس از یک ساعت، سلولها توسط سانتریفوژ برداشت و سه بار با بافر فسفات با pH = ۷ ، شستشو شدند. سپس با استفاده از این سلولهای شسته شده، سه سوسپانسیون با جذب نوری(OD) ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ در بافر فسفات تهیه گردید. به سه میلی لیتر از هر یک از

سوسپانسیونها ۰/۰۲ میلی لیتر از محلول ۱۰ میلی مولار نفتالین در اتانول اضافه و کاهش جذب در ۲۷۶ نانومتر در مقابل شاهد (محلول بلانک) سوسپانسیون باکتری، نسبت به زمان سنجیده شد. با محاسبه شیب قسمت های خطی هر منحنی و مقایسه مقادیر به دست آمده، بهترین غلظت از باکتریهای القاء شده و شسته شده به منظور آزمایشات بعدی انتخاب گردید. نتیجه در شکل (۱) آمده است.

در اندازه گیری وزن خشک باکتری کشت باکتری ها درحجم های کم و محیط کشت مایع انجام گردید. سپس بعد از رشد لازم آنها را سه بار توسط سانتریفوژ شستشو داده و بعد در کاغذ صافی که قبلا توزین شده و وزن آن مشخص گردیده بود، رسوب باکتریها قرار داده شد. آنگاه آن را وزن نموده (وزن اولیه) و سپس به مدت ۲۴ ساعت در اتو ^{o}C ۸۰ قرار داده و مجددا آن را مانند حالت اول توزین و حاصل از وزن اولیه کسر گردید. بدین ترتیب وزن خشک باکتریها محاسبه شده است.

برای شناسایی اسید سالیسیلیک در روزهای مختلف از محیط کشت تلقیح شده با باکتری و حاوی نفتالین ابتدا از روش کروماتوگرافی لایه نازک (T.L.C) استفاده گردید. در این سیستم از سیستم حلال گذاری (۸۵٪) کلروفرم، (۱۰٪) اسید استیک و (۱۰٪) استون بکار رفت. در کشت ۹ ساعته تنها اسید سالیسیلیک (Rf = ۰/۸۳) دیده شد. حضور این ماده تا ۱۵ ساعت ادامه یافت و پس از ۲۴ ساعت، اسید سالیسیلیک از بین رفت. به منظور تأیید شناسایی این ماده و سایر موادی که از تجزیه نفتالین به دست آمده بود با روشهای طیف سنجی جرمی، HNMR و FTIR مورد آزمایش قرار گرفتند (نتایج به علت طولانی بودن در مقاله دیگری آمده است).

برای بررسی اثر سالیسیلات بر فعالیت ویژه آنزیم نفتالین اکسیژناز پس از کشت باکتری در محیط SMM و افزودن سدیم سالیسیلات در غلظت ۰/۰۵ درصد در ابتدای فاز لگاریتمی، سلولها در مقاطع زمانی مختلف برداشت شد. آنگاه سانتریفوژ و شستشو شده و سپس با بهترین غلظت سلولی به دست آمده از آزمایش قبل، سوسپانسیون سلولی تهیه و ۰/۰۲ میلی لیتر محلول ۱۰ میلی مولار نفتالن در اتانول اضافه و کاهش جذب در ۲۷۶ نانومتر اندازه گیری شد. فعالیت ویژه آنزیم برحسب میکرومول نفتالین مصرف شده در واحد زمان (دقیقه) و در واحد وزن خشک باکتری(mg) و طبق دستورالعمل Shamsuzzaman and Barnsley (1974) محاسبه گردید. فعالیت آنزیم در غیاب سالیسیلات و در حضور نفتالین اندازه گیری شد. هم چنین از دو شاهد بدون نفتالین و بدون باکتری نیز استفاده شده است. نتایج در شکل (۲) آمده است.

غلظت نفتالین مصرف شده را از دو طریق می توان محاسبه نمود:

یکی با استفاده از کار Shamsuzzaman و همکارش و دیگری با استفاده از منحنی استاندارد که از سوسپانسیون باکتری غیرفعال شده با حرارت، با OD منتخب به دست می آید. در این شیوه مقادیر مختلفی از نفتالین در اتانول به آن افزوده شده و جذب آن ۲۷۶ نانومتر تعیین و منحنی استاندارد بر حسب میلی مولار نفتالن و جذب نوری رسم می گردد (شکل ۳). محلول بلانک حاوی سوسپانسیون باکتری است.

یافته ها

بررسی تأثیر سدیم سالیسیلات بر تراکم جمعیت باکتریهای تجزیه کننده نفتالن و باکتریهای هوازی کشت پذیر هتروتروف در خاک:

جدول های ۲ و ۱ اثر سدیم سالیسیلات بر تراکم جمعیت باکتریهای هتروتروف هوازی و نیز باکتریهای تجزیه کننده نفتالین در طی یک دوره ۳۰ روزه را نشان می دهند. دانسیته اولیه جمعیت هتروتروف های هوازی در این نمونه خاک، $۷/۶۲ \times ۱۰^{۸}$ $cfug^{-1}$ می باشد، در صورتیکه دانسیته جمعیت تجزیه کنندگان نفتالن $۷/۴ \times ۱۰^{۶}$ $cfug^{-1}$ شمارش شد. در غیاب سالیسیلات، در پایان دوره ۳۰ روزه، تراکم جمعیت تجزیه کنندگان نفتالن به $۳/۸۵ \times ۱۰^{۸}$ $cfug^{-1}$ و جمعیت باکتریهای هتروتروف هوازی قابل کشت به $۲/۸۴ \times ۱۰^{۶}$ $cfug^{-1}$ کاهش می یابد. در این راستا، آنچه حائز اهمیت است نسبت باکتریهای تجزیه کننده نفتالن به کل باکتریهای هتروتروف است که تا روز سوم ثابت، در روز هفتم از افزایش نسبی و سپس از کاهش بطئی برخوردار است (جدول ۳). افزودن ۱۶ میکروگرم سالیسیلات به هر گرم خاک، اثر تحریک کنندگی پایداری در نگهداری سویه های تجزیه کننده نفتالین (جدول ۲) و هم چنین دانسیته کل باکتریها ندارد (جدول ۱). با توجه به جدول ۳ مشاهده می شوند که نسبت درصد تجزیه کنندگان نفتالین به کل باکتریهای هتروتروف در غیاب سالیسیلات بیش از حضور غلظت ۱۶ میکروگرم در گرم است.

در حضور ۱۶۰ میکروگرم سالیسیلات در هر گرم خاک، تعداد باکتریها در هر دو مورد به مدت حداقل ۳ روز افزایش می یابد. چنین تأثیری در مورد کل باکتریهای هتروتروف پس از ۷ روز و در مورد باکتریهای تجزیه کننده نفتالین پس از ۲۰ روز برطرف می گردد.

در این میان، نسبت درصد باکتریهای تجزیه کننده نفتالین کل باکتریهای هتروتروف در طی این دوره ۳۰ روزه مرتباً در حال افزایش است.

تاثیر سالیسیلات بر سرعت مصرف نفتالین

چنانچه بیان شد، در این آزمایشات از سلولهای کامل شسته شده باکتریهای پسودوموناس پسودومالئی به منظور بررسی اثر سالیسیلات بر مصرف نفتالین و نیز اندازه گیری فعالیت آنزیم نفتالین اکسیژناز به روش اسپکتروفتومتریک استفاده شد.

مصرف نفتالین توسط غلظت های مختلف از سوسپانسیون سلولی باکتری پسودوموناس پسودومالئی که قبلاً با سالیسیلات القاء شده بود، در شکل (۱) مشاهده می شود. سوسپانسیون سلولی القاء شده با سالیسیلات با OD = ۰/۱ در عرض ۷ دقیقه ابتدای واکنش، ۵۳٪ از نفتالین موجود در محیط را به مصرف رساند. هم چنین سوسپانسیونهای مشابه با OD = ۰/۲، ۰/۳ و ۰/۴ به ترتیب پس از ۱۳ دقیقه، ۷۲/۴٪، ۶/۴٪ و ۳۱/۳٪ از نفتالین را به مصرف می رساندند. با محاسبه شیب مناطق خطی هر یک از منحنی های تهیه شده در شکل (۱)، بهترین غلظت سلولی به منظور بررسی فعالیت آنزیم نفتالین اکسیژناز، OD = ۰/۲ انتخاب شد. در بالای این غلظت، به علت واکنش های غیرخطی ایجاد شده، محاسبه فعالیت آنزیم نفتالین اکسیژناز مواجه با اشکال خواهد شد.

همانگونه که در شکل (۲) ملاحظه می شود، فعالیت آنزیم نفتالین اکسیژناز از ۰/۲۰۲ میلی مول نفتالین مصرف شده در دقیقه به ازای هر گرم وزن خشک سلول (درست پس از افزودن سالیسیلات)، به ۰/۲۶۶، ۰/۳۶ و ۰/۳۸۶ به ترتیب در فواصل زمانی ۱ و ۲ و ۳ ساعت، پس از افزودن سالیسیلات به محیط کشت افزایش می یابد. در طول فاز ثابت رشد از فعالیت آن کاسته و به ۰/۳۷۳ میکرومول در دقیقه بر وزن خشک سلول تقلیل می یابد. حداکثر فعالیت این آنزیم در انتهای فاز لگاریتمی رشد دیده می شود.

بحث و نتیجه گیری

زدودن کامل ترکیبات حلقوی از مناطق آلوده هوازی دقیقاً شناخته شده نیست. به منظور بهبود کارآیی تیمار بیولوژیک مناطق آلوده، سه روش قابل استفاده است:

۱. آزاد سازی کل باکتریهای تجزیه کننده به محیط های آلوده
۲. تحریک اختصاصی جمعیت باکتریهای autochthonous با نیترات، فسفات و اکسیژن.
۳. استفاده از القاکنندگان اختصاصی اپرون های کاتابولیک به منظور افزایش تجزیه مواد سمی.

استفاده از روش سوم به دو دلیل ارجح است:

نخست، افزایش جمعیت تجزیه کننده ماده سمی موردنظر، به صورت اختصاصی صورت می گیرد.

دوم، از آنجا که مسیر مشخص تحریک شده، واسطه ها و محصولات نهایی قابل پیش بینی هستند (Shiaris, 1989).

سالیسیلات (۲- هیدروکسی بنزوات)، یکی از واسطه های مسیر تجزیه نفتالین بوده و در پلاسمید NAH7، القا کننده اپرون بالایی(nah) و اپرون پائینی(sal)، که به ترتیب مسئول تجزیه نفتالین و سالیسیلات می باشند، هست (Rebm and Reed, 1986). بنابراین استفاده از این ماده، به منظور تیمار بیولوژیک مناطق آلوده به نفتالین، مفید به نظر می رسد. این تحقیق نیز، از یک طرف اثر سالیسیلات را به عنوان یک القاء کننده در بیان ژنتیکی اپرون های کاتابولیک، بر روی فنوتیپ تجزیه کنندگان نفتالین در خاک، مورد مطالعه قرار داده و از طرف دیگر، تأثیر این ماده را در سرعت مصرف نفتالین و القاء آنزیم نفتالین اکسیژناز در یک باکتری تجزیه کننده نفتالین، ارزیابی نموده است.

تاثیر سالیسیلات بر تعداد تجزیه کنندگان نفتالین

نمونه خاک مورد آزمایش در این بررسی، به مدت طولانی تحت تأثیر انواع مواد آروماتیک چند حلقه ای بوده است. بنابراین در این خاک، باکتریهای تجزیه کننده نفتالین بسیار زیادند. بدون اضافه کردن سالیسیلات، تعداد باکتریهای هوازی و کشت پذیر خاک، در طی یک دوره ۳۰ روزه، تقریبا 10^8 $cfug^{-1}$ بود. افزودن سالیسیلات در غلظت ۱۶ میکروگرم در گرم خاک، رشد هتروتروفیک خاک را کمی افزایش داد، لیکن بر روی فرآیند

تجزیه نفتالین بی تأثیر است. به نظر می رسد که از چنین غلظتی از سالیسیلات، به عنوان یک غلظت القاء کننده اپرون کاتابولیک نفتالین نمی توان استفاده کرد. افزایش جمعیت با کتریهای هتروتروف خاک، به هنگام افزودن ۱۶۰ میکروگرم در گرم سالیسیلات، به علت مصرف این ماده به عنوان یک منبع کربن ساده است. لیکن نسبت درصد تجزیه کنندگان نفتالین به کل باکتری های هتروتروف، گویاترین نمایش تأثیر غلظت این ماده بر روی جمعیت تجزیه کننده نفتالین می باشد.. این نسبت مرتباً در حال افزایش بوده و نشانگر این مطلب است که سالیسیلات در محدوده این غلظت، به طور اختصاصی، موجب افزایش جمعیت تجزیه کننده نفتالین در اکوسیستم خاک می شود (جدول‌های ۳ و ۲و ۱).

Ogunseitan و همکارانش (1991) نیز در ضمن یک بررسی مشابه در یک نمونه خاک آلوده، جمعیت تجزیه کنندگان نفتالن را بیش از ۶۰ درصد جمعیت هتروتروف خاک، محاسبه نموده اند. تراکم باکتریایی نمونه خاک مورد بررسی این محقق، 10^{6} $cfug^{-1}$ گزارش شده که تحریک اختصاصی تجزیه کنندگان نفتالین نسبت به کل جمعیت باکتریایی پس از ۱۵ روز شروع به کاهش می کند. در حالیکه در این آزمایش، این تحریک اختصاصی تا پایان دوره ۳۰ روزه، همچنان ادامه یافته است.

به طور کلی داده های ارائه شده در بررسی ها (جدول ۳)، نشان می دهد که باکتریهای تجزیه کننده نفتالین، نسبت به سالیسیلات که یک القاء کننده شناخته شده اپرون nah است، واکنش مثبت نشان می دهند. بنابراین سالیسیلات را می توان در یک غلظت مشخص به خاک آلوده اضافه و فعالیت باکتریایی که پتانسیل تجزیه نفتالین را در محل دارند، حفظ نمود. این روش، احتمالاً یک وسیله مؤثر در پاک سازی محیط زیست، مخصوصاً در مکانهایی که باکتریهای تجزیه کننده، به طور طبیعی وجود دارند، می باشد.

تأثیر سالیسیلات بر فعالیت آنزیم نفتالین اکسیژناز

در این بررسی به منظور تعیین اثر سالیسیلات بر فعالیت آنزیم نفتالین اکسیژناز، از سلولهای کامل القاء شده و شسته شده سویه پسودوموناس پسودومالئی و روش اسپکتروفتومتریک (مطابق با روش Shamsuzzaman and Barnsley (1974) استفاده شد. در اکثر موارد، سرعت اولیه واکنشها، متناسب با غلظت باکتری موجود در سلول اسپکتروفتومتر بوده و حداکثر غلظت (OD) در پسودوموناس پسودومالئی برابر ۰/۲ اندازه گیری شد. فراتر از این غلظت، در این روش پی گیری اکسیداسیون نفتالین به علت واکنش غیرخطی در ۲۷۶ نانومتر مشکل است. در این باکتری، پس از حداکثر کاهش جذب در ۲۷۶ نانومتر (یعنی در فاصله زمانی یک ساعت)، تولید اسید سالیسیلیک مشاهده نشد. با توجه به اینکه دو دانشمند Barnsley و Shamsuzzaman (1974, 1975) سرعت ناپدید شدن نفتالین را اندازه گیری صحیحی از میزان فعالیت آنزیم نفتالین اکسیژناز می دانند، نتایج به دست آمده در بررسی حاضر، دقیقاً القاء فعالیت نفتالین اکسیژناز را توسط سدیم سالیسیلات ۰/۰۵ درصد در این باکتری نشان می دهد. از آنجا که این آنزیم، اولین مرحله اکسیداسیون نفتالن را به عهده دارد، عدم تولید اسید سالیسیلیک که متابولیت ششم چنین متابولیسمی است، در عرض یک ساعت، بدیهی به نظر می رسد. تولید اسید سالیسیلیک توسط این سلولهای القاء شده در مجاورت نفتالین، پس از ۴ ساعت بر روی ژل کروماتوگرافی لایه نازک مشاهده شد، که نسبت به سلولهای القاء نشده که تولید اسید سالیسیلیک پس از ۹ ساعت دیده می شود، قابل ملاحظه است.

حداکثر فعالیت آنزیم در باکتری پسودوموناس پسودومالئی، در انتهای فاز لگاریتمی رشد (۶ ساعت پس از افزودن سالیسیلات) مشاهده شد (شکل ۲). الگوی کاهش و سپس افزایش غلظت نفتالین به علت واکنشهای جذب و دفع است (شکل ۱).

جدول شماره (۱): اثر سالیسیلات بر جمعیت باکتریهای هتروتروف هوازی کشت پذیر خاک

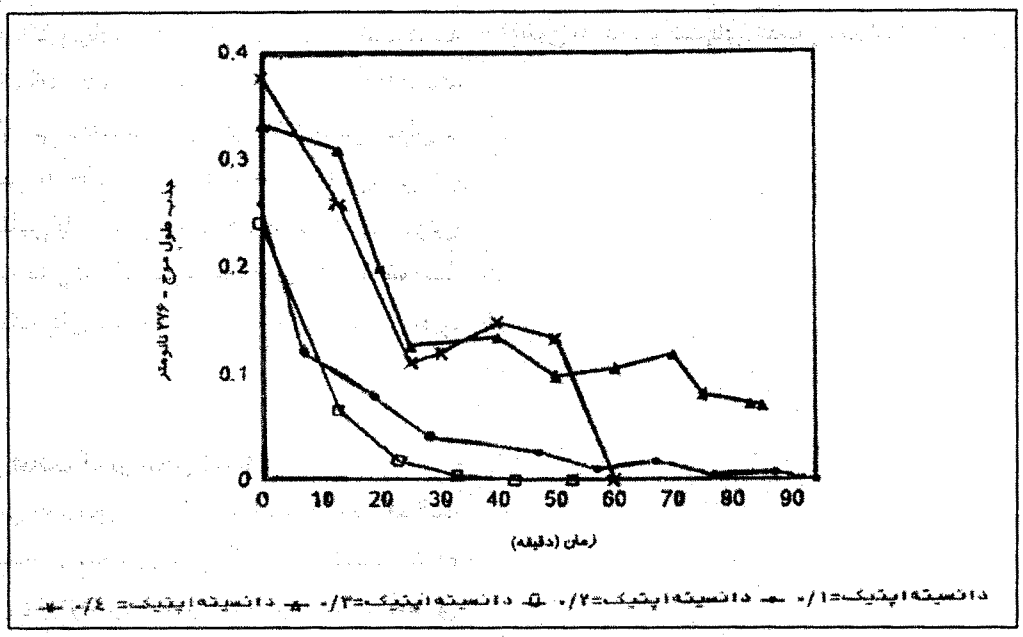
زمان بر حسب ساعت / غلظت سالیسیلات $\mu g / g$	۰	۳	۷	۱۵	۲۰	۳۰
۰	$۷/۶۲ \times ۱۰^{۸}$	$۷/۹ \times ۱۰^{۸}$	$۴/۱۶ \times ۱۰^{۸}$	$۴/۰۱ \times ۱۰^{۸}$	۳×۱۰^{۸}	$۲/۸۵ \times ۱۰^{۸}$
۱۶	$۷/۷۴ \times ۱۰^{۸}$	$۹/۱۹ \times ۱۰^{۸}$	$۷/۲ \times ۱۰^{۸}$	$۳/۷۱ \times ۱۰^{۸}$	$۷/۶۴ \times ۱۰^{۸}$	$۳/۲ \times ۱۰^{۸}$
۱۶۰	$۷/۴ \times ۱۰^{۸}$	$۴/۴۱ \times ۱۰^{۹}$	$۲/۱۹ \times ۱۰^{۹}$	$۱/۹۸ \times ۱۰^{۹}$	$۱/۰۳ \times ۱۰^{۹}$	$۰/۹۲ \times ۱۰^{۹}$

جدول شماره (۲): اثر سالیسیلات بر جمعیت باکتریهای تجزیه کننده نفتالین در خاک

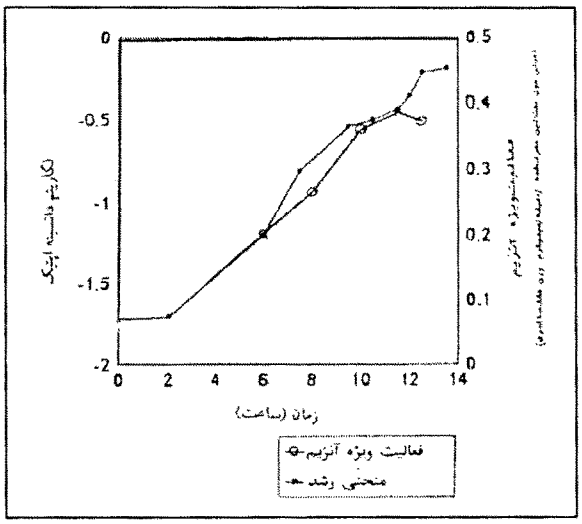
زمان بر حسب ساعت / غلظت سالیسیلات $\mu g / g$	۰	۳	۷	۱۵	۲۰	۳۰
۰	$۷/۴ \times ۱۰^{۶}$	$۸/۱۵ \times ۱۰^{۶}$	$۶/۷۱ \times ۱۰^{۶}$	$۵/۷ \times ۱۰^{۶}$	$۴/۳ \times ۱۰^{۶}$	$۳/۸۵ \times ۱۰^{۶}$
۱۶	$۷/۳ \times ۱۰^{۶}$	$۸/۱۸ \times ۱۰^{۶}$	$۶/۱۹ \times ۱۰^{۶}$	$۴/۹۱ \times ۱۰^{۶}$	$۴/۴۶ \times ۱۰^{۶}$	$۳/۶۷ \times ۱۰^{۶}$
۱۶۰	$۷/۴ \times ۱۰^{۶}$	$۹/۲ \times ۱۰^{۷}$	$۸/۷ \times ۱۰^{۷}$	۸×۱۰^{۷}	$۵/۳ \times ۱۰^{۷}$	$۵/۱ \times ۱۰^{۷}$

جدول شماره (۳): اثر سالیسیلات به نسبت جمعیت باکتریهای تجزیه کننده نفتالین به هتروتروف های کشت پذیر خاک

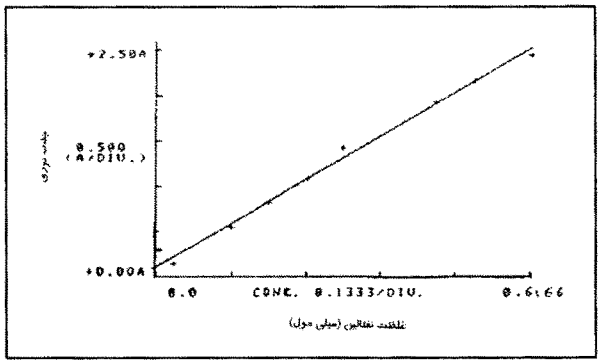
زمان بر حسب ساعت / غلظت سالیسیلات $\mu g / g$	۰	۳	۷	۱۵	۲۰	۳۰
۰	۰/۹۷	۱/۰۳	۱/۶	۱/۴۲	۱/۴۳	۱/۳۵
۱۶	۰/۹۴	۰/۸۹	۰/۸۵	۱/۳۲	۱/۲	۱/۱۵
۱۶۰	۱	۲/۱	۴	۴/۰۴	۵/۱۴	۵/۵۴



شکل شماره (۱): جذب نفتالین توسط غلظتهای مختلف از سلولهای القاء شده باکتری پسودوموناس پسودومالئی با سالیسیلات



شکل شماره (۲): فعالیت ویژه آنزیم نفتالین اکسیژناز در مقاطع مختلف از رشد باکتری پسودوموناس پسودومالئی در حضور سالیسیلات



شکل شماره (۳): منحنی استاندارد نفتالین در سوسپانسیون باکتری کشته شده

منابع مورد استفاده

- کسری کرمانشاهی، روحا. نوحی، اشرف السادات. اسدی، زهرا. و میرمحمد صادقی، مجید. ۱۳۷۵. بررسی پراکندگی و شناسایی باکتریهای تجزیه کننده نفتالن در آب زاینده رود و برخی از مناطق خاک ایران. کنگره سراسری بهداشت آب. کرمانشاه دانشگاه علوم پزشکی.

- Barnsley, E. A. 1975. The induction of the enzymes of naphthalene metabolism in pseudomonads by salicylate and 2-aminobenzqate. J. Gen. Microbiol. (88): 193-196.

- Bauer, J. E. and Capone. D. G. 1985. Degradation and mineralization of the polycyclic aromatic hydrocarbons anthracene and naphthalene in interidal marine sediments. Appl. Environ. Microbiol. (50): 81-90.

- Ensley, B.O, et al. 1974. Oxidation of naphthalene by a multicomponenet enzyme system from pseudomonas sp. Strain NCIB 9816. J. Bacteriol. (149): 948-954.

- Heitkamp. M.A, et al. 1987. Naphthalene biodegradation in environmental Microcosms: estimates of degradation rates and characterization of metabolites. Appl. Environ. Microbiol. (53): 129-136.

- Jerina, D. M, et al, 1971. Cis-1/2 – dihydroxyl-1/2-dihydronaphthalene: a bacterial metabolite from naphthalene. Arch. Biochem. Biophys. (142): 394-396.

- Ogunseitan, O.A, et al. 1991. Effects of 2-hydroxybenzoate on the maintenance of naphthalene-degrading pseudomonads in seeded and unseeded soil. Appl. Environ. Microbiol. (57): 2873-2879.

- Rebm, H. J. and Reed, G. 1986. Biodegradation of aromatic compounds. Biotechnology, (8): 477-513.

- Shamsuzzaman, K.M., and Barnsley, E. A. 1974. The regulation of naphthalene oxygenase in Pseudomonads. J. Gen. Microbiol. (83): 165-170.

- Shiaris, M. P. 1989. Seasonal Biotransformation of naphthalene. Phenathrene, and Benzo (a) pyrone in surficial estuarine sediments. Appl. Environ. Microbiol. (55): 1391-1399.