محیط شناسی، سال سی و نهم، شمارهٔ ۲، تابستان ۹۲، صفحهٔ ۹۳-۱۰۰

جداسازی و شناسایی گونه باکتریایی مقاوم به نیکل از رسوبات آلوده خورموسی و مطالعه عملکرد آن در جذب زیستی نیکل

فاطمه شاه علیان[1*]، علیرضا صفاهیه[2]، هاجر آبیار[3]

۱- کارشناس ارشد زیست شناسی دریا گرایش آلودگی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر،

۲- استادیار گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر Safahieh@hotmail.com .

۳- کارشناس ارشد زیست شناسی دریا گرایش آلودگی دریا، دانشکده علوم دریایی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، Hajar.abyar@yahoo.com،

تاریخ دریافت: ۹۱/۶/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۱/۹/۲۸

چکیده

همگام با گسترش فعالیت‌های صنعتی و ازدیاد جمعیت، ورود فلزات سنگین به محیط‌های آبی به مقدار زیادی افزایش یافته است. فلزات سنگین از جمله آلاینده‌های زیست محیطی هستند که به دلیل سمیت و توانایی تجمع زیستی در جانداران می‌توانند منجر به تأثیرات اکولوژیکی زیادی شوند. حذف و جداسازی فلزات از محیط به طرق مختلفی انجام می‌گیرد، اما این راهکارها به دلیل هزینه بر بودن و عدم کاهش غلظت فلزات سنگین به حد استانداردهای مقبول، مناسب نیستند. باکتری‌ها از جمله میکروارگانیسم‌هایی هستند که به دلیل سازگاری با طبیعت و نسبت سطح به حجم بالا برای جذب یون‌های فلزی از محیط مناسب‌اند. در این تحقیق از رسوبات آلوده بندر امام خمینی گونه باکتری مقاوم به نیکل جداسازی و شناسایی شد. نتایج به دست آمده، رشد باکتری در محیط کشت‌های حاوی ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیکل رانشان داد و بر اساس تست‌های بیوشیمیایی باکتری جداسازی شده *Bacillus anthracis* شناسایی شد که از باکتری‌های گرم مثبت بود. با افزایش غلظت نیکل، میزان جذب نوری کاهش یافت و حداکثر میزان جذب نوری (۰/۳۳۱) با باکتری مذکور در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد. بیشترین درصد جذب یعنی ۶۸/۶٪، بعد از ۱۵۰ دقیقه در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نیکل به دست آمد. جذب زیستی باکتری *Bacillus anthracis* نشان‌دهندهٔ توانایی این باکتری در حذف نیکل از محیط است. با توجه به عملکرد گونه مورد نظر می‌توان برای کاهش آلودگی‌های فلز نیکل از این باکتری استفاده کرد.

کلید واژه

جذب زیستی، نیکل، بندر امام خمینی، باکتری *Bacillus anthracis*

سرآغاز

رشد روز افزون جمعیت، نیاز انسان به تولید مواد اولیه، و یا مواد جدید را افزایش داده است. بدین منظور صنایع گوناگون، توسعه یافته و آلاینده‌هایی از قبیل فلزات سنگین را به محیط زیست طبیعی وارد می‌کنند. از آنجا که پساب این صنایع بیشتر به شکل مایع است ورود این آلاینده‌ها به اکوسیستم‌های آبی از جمله دریاها، تسریع می‌بخشد.

فلزات سنگین از جمله آلاینده‌هایی هستند که در پساب‌های شهری و صنعتی فراوان یافت می‌شوند. پساب صنایع مختلفی از قبیل صنایع فلزکاری، نفت و پتروشیمی از جمله منابع اصلی تخلیه فلزات سنگین به محیط زیست دریا محسوب می‌شوند. این ترکیبات توانایی تجزیه زیستی ندارند و در مقادیر معینی برای بسیاری از آبزیان سمی هستند. فلزات سنگین ممکن است در اجزای مختلف اکوسیستم و بافت‌های جانداران تجمع یابند و انتقال این آلاینده‌ها در طول زنجیره غذایی ممکن است در پایان به تهدید سلامت انسان منجر می‌شوند (Wang and Chen, 2006Vieira and Volesky, 2000;). نفت خام حاوی مقادیر چشمگیری فلزات سنگین، بویژه سرب، نیکل و وانادیم است. در هنگام بارگیری و استخراج نفت خام معمولا مقداری از آن خواسته، یا ناخواسته وارد محیط زیست دریا می‌شود که افزون بر آلودگی محیط به موادنفتی، غلظت فلزات سنگین از جمله نیکل را نیز افزایش می‌دهد.

بیشتر ترکیبات نفتی وارد شده به محیط زیست دریا فرار بوده یا با میکروارگانیسم‌ها تجزیه می‌شوند ولی فلزات وارد شده به دلیل عدم تجزیه پذیری، ماندگاری طولانی‌تری دارند که با افزایش بار

نویسنده مسئول: تلفن: ۰۹۱۷۸۹۰۰۵۹۵ shahaliyanfatemeh@yahoo.com

آلودگی در پاره‌ای مناطق، لازم است راهکاریی برای حذف آنها از محیط در نظر گرفته شود. نیکل از جمله فلزاتی است که به دلیل کابرد وسیع آن در صنایع آبکاری فلزات مورد توجه است. یون‌های محلول این فلز در آب شیرین با ترکیب شدن با آب دریا بیشتر به فرم لخته ای تبدیل شده و در رسوبات مصب ته نشین می‌شوند (Alpat,et al., 2010Congeevaram, et al., 2007;).

برای حذف فلز نیکل از محیطهای آبی روشهای متعددی از جمله اکسیداسیون و احیا، تبادل یونی و رسوب فلز وجود دارند، اما روشهای مذکور افزون بر تحمیل هزینه زیاد ممکن است در غلظت‌های پایین فلز کارایی چندانی نداشته باشند (Varnam, et al., 2000; fouad, et al.,2005;Rodríguez, et al.,2006).

جذب زیستی روش کم‌وبیش جدیدتری است که در آن از توانایی جذب میکروارگانیسم‌ها در حذف آلاینده‌ها از محیط استفاده می‌شود. قارچ‌ها، جلبک‌ها و باکتری‌ها از جمله میکروارگانیسم‌هایی هستند که توانایی تجزیه زیستی داشته و به کرات در مطالعات جذب زیستی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Hussein, et al., 2003; Saifuddin and Raziah, 2007). گونه‌های مختلفی از قبیل *Aspergillus*، *Pseudomonas*، *Sporpophyticus*، *Bacillus* و *Phanercheate* به عنوان عوامل مؤثر در جذب نیکل گزارش شده‌اند (Canizares Villanueva, 2000; Rodríguez, et al.,2006; Kumar, et al.,2010).

در این زمینه باکتری‌ها با داشتن سازگاری کم‌وبیش بالاتر و سرعت تکثیر زیاد نسبت به دو گروه قبلی ارجحیت دارند. دیواره سلولی منحصر به فرد این جانداران که بیشتر از جنس لیپوپلی‌ساکارید است حاوی گروههای فعال نظیر کربوکسیل، هیدروکسیل و آمین است که باکتری را قادر می‌سازد کاتیون‌های فلزی را از محیط اطراف جذب کند (Mejare and Bullow, 2001;Kelly, 2006; Rodríguez, et al.,2006).

این تحقیق به منظور جداسازی، شناسایی باکتری مقاوم به نیکل از رسوبات آلوده در خور موسی و تعیین توانایی آن در حذف نیکل از محیط صورت گرفته است.

مواد و روشها

نمونه رسوب با استفاده از گرب از لایه سطحی رسوب آلوده خورموسی برداشت شد و در ظروف شیشه‌ای دردار استریل شده ریخته شد. نمونه‌های رسوب با فلاسک یخ به آزمایشگاه انتقال داده شدند. برای جداسازی باکتری‌ها از نمونه‌های رسوب ابتدا یک گرم از نمونه رسوب به ۱۰ میلی لیتر محلول نمک ۰/۸۵ درصد اضافه شد و تا 10^{-3} رقیق سازی صورت گرفت. مقدار۰/۱ میلی لیتر از نمونه‌های رسوب رقیق شده بر محیط کشت نوترینت آگار حاوی غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیکل (نیترات نیکل) کشت داده شد. سپس محیطهای تهیه شده به مدت ۴ روزدر دمای ۳۰ درجه سانتیگراد گرماگذاری شدند (Dzairi, et al., 2004).

پس از رشد کلنی‌ها بر روی محیط کشت، کلنی بزرگتر انتخاب و به صورت متوالی بر روی محیط کشت جامد کشت داده شد تا باکتری خالص به دست آید. برای شناسایی دقیق‌تر جنس و گونه باکتری از تست‌های معمول بیوشیمیایی از جمله اکسیداز، کاتالاز، TSI، اوره آز، سیمون سیترات، VP، فنیل آلانین رشد در محیط کشت مک‌کانکی، تولید اندول، متیل رد، تخمیر لاکتوز، حرکت و د-کربوکسیلاز استفاده شد (Morello, et al., 2002).

سنجش رشد باکتری

باکتری مقاوم به نیکل جداسازی شده از رسوبات در ۵۰ میلی لیتر محیط کشت LB broth حاوی نیترات نیکل کشت داده شد و به مدت ۲۴ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد در انکوباتور شیکر دار با دور 150 rpm قرار داده شد. پس از آن ۱۰ میلی لیتر محلول حاوی باکتری برداشت شد و با دور ۷۰۰۰rpmبه مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول رویی خارج و سپس سلول‌های باکتری با محیط کشتLB broth، سه مرحله شست‌وشو و سانتریفوژ شد و در آب دو بار تقطیر به حالت سوسپانسیون درآمدند (Nweke, et al., 2007).

به هر یک از ارلن‌های ۲۵۰ میلی لیتری محتوی ۱۰۰ محیط کشت LB broth و غلظت‌های مختلف نیکل (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر) ۳ میلی لیتر از سوسپاسیون تهیه شده اضافه شد و سپس به مدت ۱۲ روز در انکوباتور در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد قرار داده شدند.

اولین مرحله از سنجش در لحظه صفر یعنی زمانی که باکتری به محیط تلقیح شد، انجام گرفت. جهت اندازه‌گیری ابتدا ۳ میلی لیتر محیط کشت LB broth فاقد باکتری به دستگاه اسپکتروفتومتر داده شد تا دستگاه صفر شود. سپس هر ۲۴ ساعت مقدار ۰/۶ میلی لیتر از محیط کشت حاوی باکتری برداشت و پس از افزودن ۲/۴ میلی لیتر از محیط کشتLB، جذب نوری در طول موج ۶۰۰ نانومتر با

اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. سنجش رشد با ۳ بـار تکـرار انجـام شد (Malatova,2005; Shirdam, et al.,2006).

اندازه گیری جذب زیستی

ابتدا محلول ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیکل با استفاده از نیتـرات نیکل و آب دو بار تقطیر تهیه شد. بـه منظـور انـدازه‌گیـری قابلیـت جذب زیستی باکتری، محلول‌های فلزی در غلظت‌های مختلف فلـز نیکل (۱۰۰،۵۰و۲۰۰ میلی گرم بر لیتر) تهیه شدند. سـپس ۱ میلـی لیتر ازسوسپانسیون باکتری به محلول‌ها اضـافه شـد و بـه مـدت ۲ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد روی انکوباتور شـیکردار بـا دور ۱۶۰ rpm قرار داده شد. افزون بر آن محلول بدون باکتری نیـز بـه عنوان نمونه شاهد تهیه شد (Green-Ruiz, 2006; Kim, et al., 2007).

سپس در فاصله‌های زمانی ۰، ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰ و ۱۵۰ دقیقه، ۵ میلی لیتر از هر محلول را برداشته و برای ۱۰ دقیقـه در دورrpm ۴۰۰۰ سانتریفیوژ شد و بدین وسیله جداسازی محلول فلزی از تـوده باکتری صورت گرفت. نمونه‌ها با اسـتفاده از آب دو بـار تقطیـر بـه حجم رسانده شدند (Kim, et al., 2007; Leung, et al., 2000).

غلظت نیکل باقیمانده در محلـول جداسـازی شـده در فواصـل زمانی ۰، ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰ و ۱۵۰ دقیقه توسط دستگاه جذب اتمی مدل Savant AAS با ۳ بار تکرار، اندازه‌گیری و میانگین اعداد بـه دسـت آمـد(Batch technique[1]) . در پایـان غلظـت یـون نیکـل باقیمانده در محلول، از غلظت اولیه این فلزات کـم شـد تـا غلظـت فلزات جذب شده با باکتری در هر نمونه به دست آید.

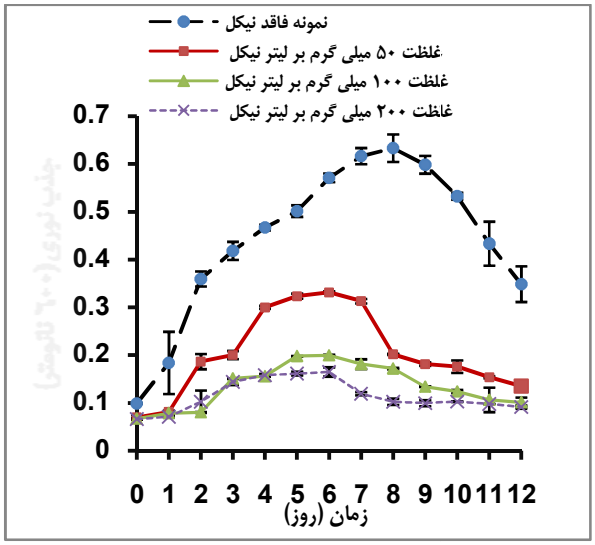
نتایج

پس از کشت نمونه رسوب بر محیط کشت نوترینت آگار حاوی نیکل، ۳ کلنی باکتری در غلظت ۱۰۰ میلـی‌گـرم بـر لیتـر مشـاهده شدند که کلنی بزرگ‌تر برای ادامه مطالعـات انتخـاب شـد. بـاکتری جداسازی شده از جمله باکتری‌های میله‌ای گرم مثبت بوده که پـس از انجام تست‌های بیوشـیمیایی بـا عنـوان *Bacillu santhracis* شناسایی شد. نتایج تست هـای بیوشـیمیایی در جـدول شـمارهٔ (۱) نشان داده شده است.

رشد باکتری *B. anthracis* در غلظت‌های مختلف نیکـل در شکل شمارهٔ (۱) ذکر شده است.

جدول شمارهٔ (۱): مشخصات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی گونه باکتری منتخب

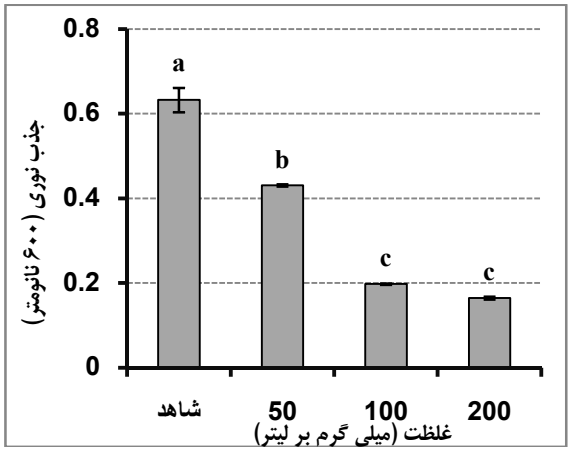
رنگ آمیزی گرم	+
آزمایش KOH	-
سلول	میله ای
کاتالاز	+
اکسیداز	+
TSI	-
اوره	-
سیمون سیترات	-
تولید اندول	-
متیل رد	-
VP	-
فنیل آلانین	-
رشد روی محیط مک کانکی	-
تخمیر لاکتوز	-
حرکت	-
د-کربوکسیلاز	+
تشخیص	*Bacillus anthracis*



شکل شمارهٔ (۱): منحنی مقایسه رشد باکتری *B. anthracis* در غلظت های مختلف نیکل

منحنی رشد در ۲۴ ساعت اولیه پـس از تلقـیح در محـیط LB Broth، در هر سه غلظت روند تقریبا یکسـانی را نشـان داد، امـا در روزهای بعد باکتری مربـوط در غلظـت ۵۰ میلـی گـرم بـر لیتـر در مقایسه با سایر غلظت‌ها عملکرد بهتری داشت. حداکثر میزان رشـد

در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیکل به ترتیب ۰/۳۳۱ ، ۰/۱۹۹، ۰/۱۶۱ بود. نمونه شاهد فاقد نیکل نیز بالاترین میزان جذب نوری ۰/۶۳۳ را نشان داد. بررسی حداکثر رشد باکتری *B. anthracis* در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر فلز نیکل (شکل شمارهٔ ۲) نشان داد که با افزایش غلظت فلز در محیط، رشد باکتری کاهش می‌یابد به گونه‌ای که بین حداکثر رشد باکتری در محیط فاقد فلز با حداکثر رشد باکتری در غلظت‌های مختلف نیکل اختلاف معنی دار بود.



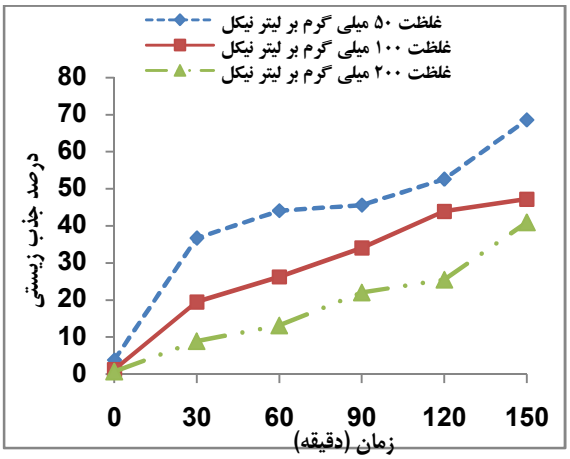
شکل شمارهٔ (۲): رشد باکتری *B. anthracis* در غلظت های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر نیکل

این در حالی است که تفاوت محسوسی بین حداکثر رشد باکتری در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده نشد (P>۰.۰۵). با توجه به جدول شمارهٔ (۲)، باکتری جداسازی شده در مدت زمان ۱۵۰ دقیقه میزان نیکل را از ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر به ۱۵/۷±۰/۹۹ میلی‌گرم بر لیتر کاهش داد.

جدول شمارهٔ (۲): میزان کاهش فلز نیکل در غلظت‌های مختلف با *B. anthracis*

زمان (دقیقه)	۵۰(mg/l)	۱۰۰ (mg/l)	۲۰۰ (mg/l)
۰	۴۸/۱±۱/۶۹	۹۸/۷۵±۱.۰۶	۱۹۸/۶۵±۰/۶۳۶
۳۰	۳۱/۶۵±۰/۶۳	۸۰/۵۰±۰/۲۸۲	۱۸۲/۲۵±۰/۴۹۴
۶۰	۲۷/۹۵±۰/۹۱۹	۷۳/۷۵±۰/۶۳۶	۱۷۳/۵۸±۰/۶۳۶
۹۰	۲۷/۲۰±۰/۷۰۷	۶۵/۹۵±۰/۶۳۶	۱۵۶±۰/۹۸۹
۱۲۰	۲۳/۷۰±۰/۵۶۵	۵۶/۱۰±۱۳/۱۳	۱۴۹/۱۵±۰/۴۹۴
۱۵۰	۱۵/۷۰±۰/۹۸۹	۵۲/۸±۰/۹۹	۱۱۸/۲±۰/۷۱

همچنین کاهش فلز نیکل در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر به ترتیب ۵۲/۸±۰/۹۹ و ۱۱۸/۲±۰/۷۱ میلی گرم بر لیتر به دست آمد. در ضمن ۶۸/۶ درصد فلز نیکل از محلول فلزی حاوی غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر توسط باکتری *B. anthracis* جذب شد که در مقایسه با سایر غلظت‌ها بیشترین درصد جذب را به خود اختصاص داد (شکل شمارهٔ ۳).



شکل شمارهٔ (۳):نمودار درصد جذب زیستی نیکل توسط باکتری *B. anthracis* در غلظت های مختلف

همچنین با انجام آزمون ANOVA مشخص شد که بین درصد جذب نیکل در غلظت‌های ۵۰ ، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر اختلاف معنی داری وجود دارد (P<۰.۰۵). در حالی‌که بین غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر نیکل اختلاف معنی داری مشاهده نشد (P>۰.۰۵). با افزایش غلظت نیکل نیز درصد جذب روند کاهشی را نشان داد.

بحث و نتیجه گیری

مطالعات بسیاری بر روی باسیلوس‌ها انجام شده است که توانایی این باکتری را در جذب فلزات سنگین نشان می‌دهد. باکتری‌های باسیلوس به علت پایداری بالا در اکوسیستم های خشکی و دریایی می‌توانند در محیط‌های مختلف پراکنش داشته باشند (Oguntoyinbo, 2007).

هدف از انجام این مطالعه جداسازی گونه باکتریایی بومی منطقه بود که به فلز نیکل مقاوم و قادر به حذف این فلز از محیط است. باکتری *B. anthracis* از رسوبات خور موسی جداسازی و توانایی آن در حذف فلز نیکل از محیط حاوی این فلز بررسی شد.

در همین زمینه Zaidi و Musarrat در سال ۲۰۰۴ سویه *Bacillus* sp. SJ-101 را از خاکهای آلوده جداسازی کردند. نتایج نشان داد که این باکتری به فلز نیکل مقاوم است. سویه *Bacillus cereus* جداسازی شده از رسوبات تالاب انزلی نیز به عنوان باکتری مقاوم به نیکل شناسایی شد (shirdam, et al.,

2006). همچنین EL-Sersy و EL-Sharouny در سال ۲۰۰۷، چهار سویه دریایی متعلق به جنس باسیلوس را از آبهای آلوده به فلزات سنگین در مصر جداسازی کردند که توانایی بالایی در جذب نیکل داشته‌اند.

در مرحله جداسازی باکتری‌های مقاوم به نیکل از رسوبات خور موسی، غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر در نظر گرفته شد. با توجه به عدم آگاهی اولیه از میزان مقاومت باکتری، نتایج حاصل از مطالعات گذشته به عنوان اساس انتخاب غلظت‌های نیکل مد نظر قرار داده شد. در بررسی انجام شده توسط Congeevaram, و همکاران (2007) ; Rodriguez و همکاران (2006) جداسازی باکتری‌ها به ترتیب در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیکل صورت گرفت.

نتایج حاصل از مرحله جداسازی نیز نشان داد که باکتری ها قادر به رشد در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیکل هستند بنابراین در مراحل بررسی رشد و جذب زیستی، محدوده‌ای از غلظت‌ها (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) در نظر گرفته شد تا توانایی باکتری به خوبی مشخص شود.

بررسی رشد باکتری *B. anthracis* در غلظت های مختلف فلز نیکل نشان داد که این باکتری حداکثر رشد را در غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر فلز نیکل دارد و با افزایش غلظت فلز در محیط، رشد کاهش می‌یابد. همچنین با افزایش غلظت فلز در محیط، باکتری رشد خود را با تأخیری ۲۴ ساعته آغاز می‌کند. علت وجود تأخیر در ابتدای رشد باکتری و کاهش رشد آن با افزایش غلظت فلز نیکل احتمالا به دلیل افزایش سمیت فلز و اثر بازدارندگی آن بر رشد باکتری است (Kader, et al., 2007).

با بررسی رشد باکتری *B. anthracis* در ۲۴ ساعت اولیه در هر سه غلظت فاز تأخیر مشاهده شد که احتمالا باکتری مورد نظر جهت سازگاری با محیط جدید، نیازمند زمان بوده است. با افزایش غلظت فلز نیکل میزان OD کاهش پیدا کرد که نشان دهنده سمیت فلز نیکل و توانایی آن در محدوده کردن رشد باکتری است (Kader, et al., 2007).

در طی مطالعاتی، Kim و همکاران در سال ۲۰۰۷ سویه *Bacillus* sp. CPB4 را از رسوبات آلوده به فلزات سنگین در کره جداسازی و شناسایی کردند. توانایی این باکتری در حضور فلزات سرب، کادمیوم، مس، نیکل، کبالت، منگنز، کرم و روی در دمای ۴۰-۲۰ درجه سانتیگراد و در غلظت های ۴۰۰-۴۰ میلی‌گرم بر لیتر پس از مدت زمان ۲۴ ساعت مورد بررسی قرار گرفت. بیش از ۹۰ درصد جذب توسط غشای خارجی سلول باکتری انجام شد زیرا فلزات به پروتئین‌های لایه خارجی سلول متصل می‌شوند. نتایج نشان داد که این گونه توانایی بالایی در جذب زیستی فلزات سنگین دارد.

در مطالعهٔ کنونی بررسی جذب نیکل توسط باکتری *B. anthracis* نشان داد که این باکتری قادر به حذف ۶ /۶۸ درصد این فلز در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر است. همچنین این باکتری در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، میزان نیکل را به ۴۰/۹ درصد کاهش داد. در همین زمینه مطالعه‌ای بر جذب نیکل در حضور دو گونه باکتریایی *Bacillus subtilis* 117S و *Pseudomonas cepacia* 120S انجام شد و نتایج نشان داد که سویه *Bacillus* می تواند ۳۵۱/۱ میکروگرم بر میلی لیتر نیکل را از محیط جذب نماید. حذف نیکل طی زمان‌های ۱ تا ۸ ساعت بعد از کشت، افزایش معنی‌داری را نشان داد و پس از ۲۴ ساعت به تعادل رسید. با افزایش غلظت بیومس میزان جذب نیکل افزایش یافت (Abdel-Monem, et al., 2010).

Kumar و همکاران در سال ۲۰۱۰ یادآور شدند که باکتری *Bacillus* sp. قادر به حذف ۵۰/۵ میلی گرم بر لیتر نیکل از محیط در غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر است. همچنین Ahmady-Asbchin و Bahrami در سال ۲۰۱۱ توانایی سویه *Bacillus* sp. MG-75 را در جذب نیکل مورد بررسی قرار دادند سویهٔ مورد نظر در غلظت ۱۴۰ میلی گرم بر لیتر، توانست فلز نیکل را به میزان ۷۰ درصد جذب کند. جذب فلزات سنگین با ۸ سویه از باکتری‌های هتروتروفیک هوازی از فاضلاب‌های صنعتی رومانی نیز بررسی شد. بالاترین جذب نیکل ۸۴ درصد گزارش شد (Cismasiu, 2011).

بیشترین میزان حذف نیکل در ۳۰ دقیقه ابتدایی سنجش رخ داد، به گونه‌ای که باکتری در ۳۰ دقیقه نخست توانست میزان فلز را در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به ترتیب ۳۱/۶۵±۰/۶۳، ۸۰/۵۰±۰/۲۸۲ و ۱۸۲/۲۵±۰/۴۹۴ میلی گرم بر لیتر کاهش دهد. دلیل آن را می‌توان به این گونه بیان کرد که در ساعت ابتدایی سنجش، سایت‌های فعال بیشتری برای حذف فلز در اختیار باکتری قرار دارد که با گذشت زمان و اشغال شدن این سایت‌ها، میزان جذب ثابت می‌ماند (Abdel-Monem, *et al*., 2010). با افزایش غلظت فلز در محیط نیز درصد جذب کاهش

می‌یابد به گونه‌ای که بیشترین درصد جذب در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر برابر ۶۸/۸ درصد و کمترین مقدار در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر برابر با ۴۰/۹ درصد بود. Hussein و همکاران (2003) معتقدند که در غلظت‌های پایین‌تر، یون‌های فلزی کمتری نسبت به سایت های فعال موجود روی دیواره سلولی باکتری وجود دارند از این رو درصد فلز بیشتری در غلظت های پایین، جذب سایت‌های اشغال نشده می‌شوند، در حالی که با افزایش غلظت فلز در محیط درصد جذب کاهش می‌یابد.

نتیجه گیری نهایی

باکتری *B. anthracis* از رسوبات خور موسی جداسازی و رشد آن در غلظت‌های مختلف نیکل مورد بررسی قرار گرفت. در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر، بالاترین میزان رشد مشاهده شد اما باکتری جداسازی شده تا غلظت ۲۰۰ میلی لیتر نیز قادر به رشد بود. ۶۸/۸ درصد از فلز نیکل با *B. anthracis* از محلول فلزی حذف شد که نشان دهنده توانایی بالای آن در جذب نیکل است. این باکتری می‌تواند به عنوان گونه ای مناسب برای کاهش آلودگی فلز نیکل پیشنهاد شود.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با پشتیبانی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر در بیشتر سمینار پژوهشی دانشجویی انجام شده است. بدین‌وسیله مراتب تشکر مؤلفان ازمسئولان مربوط ابراز می‌شود.

یادداشت

۱- Batch technique نام پروسه اعمال شده بر نمونه‌های رسوب و کشت باکتری‌ها است و معمولا زمانی به کار می‌رود که حجم ماده‌ای که به تیمار نیاز دارد، کم باشد.

منابع مورد استفاده

Abdel-Monem,M.O., A.H., Al-Zubeiry, A.A.,Al-Gheethi .2010. Biosorption of nickel by *Pseudomonas cepacia* 120S and *Bacillus subtilis* 117S. Water Science and Technology, 61(12): 2994-3007.

Ahmady-Asbchin, S.,A.M., Bahrami .2011. Nickel Biosorption by Immobilized Biomass of *Bacillus Sp*. From Aqueous Solution. Advances in Environmental Biology, 5(7): 1656-1662.

Alpat,S., et al. 2010. Effects of biosorption parameter: kinetics, isotherm and thermodynamics for Ni(II) biosorption from aqueous solution by *Circinella* sp. Electronic Journal of Biotechnology,13(5).

Canizares Villanueva,R.O. 2000. Bioadsorcion de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. Revered Latinoamericana Microbiology, 42: 131-143.

Cismasiu,C.M. 2011. The adaptation of gram-negative bacteria to acidic environmental conditions with implication in heavy metals removal processes. Romanian Biotechnological Letters, 16(6): 1-9.

Congeevaram,S., et al. 2007. Biosorption of chromium and nickel by heavy metal resistant fungal and bacterial isolates. Journal of Hazardous Materials, 146: 270-277.

Dzairi,F.Z., et al.2004. Bacterial volatilization of mercury by immobilized bacteria in fixed and fluidized bed bioreactors. Annals of Microbiology, 54(4): 353-364.

El-Sersy,N.A., E.E.,El-Sharouny .2007. Nickel biosorption by free and immobilized cells of marine *Bacillus subtilis* N10. Biotechnology, 6(3): 316-321.

Fouad,M.Q., B.,Uzma, A.,Nuzhat .2001. Biosorpstion of copper by a bacterial biofilm on a flexible polyvinyl choride conduit. Appliead and Environmental Microbiology, 67(9): 4349-4352.

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

Hussein,H.,H.,Moawad,S.,Farage .2003. Isolation and characterization of *Pseudomonas* resistant to heavy metals contaminants. Arabic Journal Biotechology, 7(1): 13-22.

Kader,J., et al. 2007. Removal of Cr(VI) from aqueous solutions by growing and non-growing populations of environmental bacterial *consortia*. Global Journal of Environmental Research, 1(1): 12-17.

Kelly,J.J. 2006. Bacterial adsorption of aqueous heavy metals: molecular simulations and surface complexation models. Doctor of Philosophy. University of Notre Dame, India, 1-121.

Kim,S.U., et al. 2007. Characterisation of heavy metal tolerance and biosorption capacity of bacterium strain CPB4 (*Bacillus spp*). Water Science and Technology, 55(1-2): 105-111.

Kumar,A., B.S.,Bisht, V.D.,Joshi .2010. Biosorption of Heavy Metal s by four acclimated microbial species, *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus* spp. and *Aspergillus niger*. Journal Biology Environmental Sciences, 4(12): 97-108.

Leung,W.C., et al. 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.

Malatova,K. 2005. Isolation and characterization of hydrocarbon degrading bacteria from environmental habitats in western New York State. M.S. Thesis. Institute of Technology Rochester. 2-93.

Mejare,M., L.,Bulow .2001. Metal-binding proteins and peptides in bioremediation and phytoremediation of heavy metals. Trends in Biotechnology. 19(2): 67-73.

Morello,J.A., P.A. ,Granato, H.E.,Mizer .2002. Laboratoty manual and workbook in microbiology. 7th Edition. 1-304.

Nweke,C.O., et al. 2007. Toxicity of zinc heterotrophic bacteria from a tropical river sediment. Applied Ecology Environmental Research. 5: 123-132.

Oguntoyinbo,F.A. 2007. Monitoring of marine Bacillus diversity among thebacteria community of sea water. African Journal of Biotechnology, 6 (2): 163-166.

Rodríguez,C.E., A., Quesada, E.,Rodríguez .2006. Nickel Biosorption by *Acinetobacter Baumannii* and *Pseudomonas Aeruginosa* Isolated From industrial Wasterwater. Brazilian Journal of Microbiology, 37: 465-467.

Saifuddin,N. , A.Z.,Razieh .2007. Removal of heavy metals from industrial effect using *Saccharomyces Cerevisiae* (Baker yeast) immobilized in chitosan/lignosulphonate matrix. Applied Sciences Research, 3(12): 2091-2099.

Shirdam,R.,A.,Khanafari, A.,Tabatabaee .2006. Cadmium, nickel and vanadium accumulation by three strains of marine bacteria. Iranian Journal of Biotechnology. 4(3): 180-187.

Varnam,A.H. , G.E.,Malcolm .2000. Environmental Microbiology. ASM Press, Washington, D.C., USA.

Vieira,H.S.F., B.,Volesky .2000. Biosorption: a solution to pollution: a review. International Microbiology, 3: 17-24.

Wang,J. , C.,Chen .2006. Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*: A review. Biotechnology Advances, 24: 427–451.

Zaidia,S. , j.,Musarrata .2004. Characterization and Nickel Sorption Kinetics of a New Metal Hyper-accumulator *Bacillus s*p. Journal of Environmental Science and Health, 39(3): 681-691.