14(2) 277-284, Summer 2022

Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

## Original Research Paper

# Biosorption of copper by *Ochrobactrum* sp. isolated from Khor Mousa sediments in Persian Gulf

***Hajar Abyar*** [*1], ***Zohreh Roostan*** [2]

[1] *Department of Environment, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran*
[2] *Department of Environment, Science and Research branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran*

**Key Words**
Bacterial strains
Biochemical tests
Heavy metals
Bioremediation

**Abstract**

**Introduction:** The pollution of the marine ecosystems with heavy metals is one of the serious effect of industrialization and development of human society. For exploitation of marine sources and constant development, it's necessary to invent modern methods for removal of heavy metal pollution. In present study to assess the possibility of removing copper, we aimed to investigate isolation and identification of resistant bacteria and determine their potential to adsorb copper through biosorption.

**Materials & Methods:** Sediment samples were collected from 3 stations at Khor Mousa and cultured on nutrient agar medium containing different concentrations of copper. Two copper resistance (100 ppm) bacterial strains were isolated and identified through biochemical tests and 16S rRNA analysis. Also bacterial behaviors in adsorbtion of copper were studied.

**Results:** Both strains belonged to *Ochrobactrum* genus and were gram-negative, catalase and oxidase positive. Different characteristics of bacteria were observed in PD (phenylalanine deaminase), NaCl and Ureas tests. Biosorption measurements showed that strains could adsorb more than half of copper in various concentrations in 150 minutes. The bacterial behaviors were the same in 50 ppm concentration. %73.5 and %72.6 of copper were adsorbed by strains *O. tritici* strain AN4 and *O. anthropi* strain YX0703 respectively. However, *O. anthropi* strain YX0703 reduced the copper concentration from 200 ppm to 72.08 ppm in 150 minutes and showed the highest copper biosorption.

**Conclusion:** The results of present investigation showed that both mentioned bacteria have hi ability to remove copper and we can use the potential of this group of bacteria for removal of hea metal pollution in Persian Gulf.

* Corresponding Author's email: hajar.abyar@yahoo.com
Received: 19 February 2021; Reviewed: 27 March 2021; Revised: 31 May 2021; Accepted: 5 July 2021
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.291426.2563

**مقاله پژوهشی**

# جذب زیستی فلز مس توسط باکتری‌های جنس *Ochrobactrum* جداسازی شده از رسوبات دریایی خور موسی در خلیج فارس

*هاجر آبیار[۱*]، زهره روستان[۲]*

[۱] گروه محیط زیست، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

[۲] گروه محیط زیست، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

**کلمات کلیدی**

سویه باکتری
تست‌های بیوشیمیایی
فلزات سنگین
کاهش زیستی

**چکیده**

**مقدمه:** آلودگی دریاها توسط فلزات سنگین یکی از عوارض اجتناب ناپذیر صنعتی شدن و توسعه جوامع بشری است. تحقیق حاضر به‌منظور جداسازی و شناسایی باکتری‌های مقاوم به مس و قابلیت آن‌ها در جذب زیستی مس انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** نمونه‌های رسوب از ۳ ایستگاه در خورموسی جمع‌آوری شدند و پس از کشت در محیط حاوی غلظت‌های مختلف مس، دو باکتری مقاوم به غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر مس جداسازی شدند و توسط تست‌های بیوشیمیایی و آنالیز 16S rRNA شناسایی گردیدند. عملکرد این باکتری‌ها در جذب مس در محیط واجد این فلز بررسی شد.

**نتایج:** هر دو باکتری گرم منفی، اکسیداز- کاتالاز مثبت و متعلق به جنس *Ochrobactrum* بودند و تنها در واکنش به تست‌های بیوشیمیایی PD (phenylalanine deaminase)، NaCl و اوره تفاوت معنی‌داری نشان دادند. سنجش جذب زیستی غلظت‌های متفاوت مس نشان داد که هر دو سویه بیش از نیمی از فلز مس را در مدت زمان ۱۵۰ دقیقه در تمامی غلظت‌ها جذب کردند. عملکرد هر دو سویه در غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تقریباً مشابه بود. زیرا سویه های *O. tritici* strain AN4 و *O. anthropi* strain YX0703 به‌ترتیب ۷۳/۵٪ و ۷۲/٦٪ مس را حذف کردند. اما در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر، سویه *O. anthropi* strain YX0703 درصد جذب بالاتری را نشان داد و در عرض ۱۵۰ دقیقه میزان مس را از ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر به ۰۸/۰٦±۷۲/۲ میلی‌گرم در لیتر کاهش داد.

**بحث و نتیجه‌گیری:** نتایج مطالعه حاضر نشان داد که این دو باکتری دارای قابلیت بالایی در حذف فلز مس هستند و می‌توان از پتانسیل این گروه از باکتری‌ها در کاهش آلودگی فلزات سنگین در خلیج فارس استفاده نمود.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: hajar.abyar@yahoo.com



تاریخ دریافت: ۱ اسفند ۱۳۹۹؛ تاریخ داوری: ۷ فروردین ۱٤۰۰؛ تاریخ اصلاح: ۱۰ خرداد ۱٤۰۰؛ تاریخ پذیرش: ۱٤ تیر ۱٤۰۰
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.291426.2563

## مقدمه

افزایش جوامع انسانی توأم با صنعتی شدن یکی از دلایل عمده آلودگی‌های زیست‌محیطی به‌شمار می‌روند. فاضلاب‌های صنعتی حاوی مقادیر قابل توجهی از فلزات سنگین می‌باشند. ورود این گونه فاضلاب‌ها به اکوسیستم‌های دریایی منجر به آلودگی این اکوسیستم توسط فلزات شده که علاوه بر تأثیر مستقیم بر آبزیان، احتمال انتقال سمیت فلزات سنگین به انسان نیز وجود دارد. فلزات سنگین به‌دلیل قابلیت تجمع‌زیستی و تولید اختلالات فیزیولوژیک گوناگون بر جانداران به‌ویژه آبزیان مورد توجه بسیاری از محققین قرار دارند (۱، ۲، ۳). تغییرات غلظت فلزات سنگین در رودخانه‌ها و دریاها اثرات زیست‌محیطی قابل توجهی بر موجودات آبزی به‌ویژه ماهی‌ها وارد می‌آورد (۴). با توجه به حساسیت آبزیان به تغییر شرایط زیستی، ورود عناصر کمیاب در غلظت‌های غیرمعمول عموماً با کاهش تنوع‌زیستی، تولیدمثل و کاهش جمعیت آبزیان همراه است. درصورتی‌که آلودگی‌ها از طریق جریان آب و امواج به ساحل آورده شوند، مناطق حساس ساحلی از قبیل جنگل‌های حرا، آب سنگ‌های مرجانی، زیستگاه‌های پرندگان و علف‌های دریایی نیز در معرض خطر آلودگی فلزات سنگین قرار می‌گیرند (۵، ۶). پساب حاصل از صنایعی مانند ذوب فلزات، استخراج معادن، کاغذسازی، تولید رنگ و مواد شیمیایی، نیروگاه‌های تولید برق که از سوخت‌های فسیلی مثل زغال‌سنگ استفاده می‌کنند، صنایع نساجی و باتری‌سازی دارای مقادیر متفاوتی از یون‌های فلزی هستند که فلزات سنگین را به محیط وارد می‌سازند. فلز مس در فرایندهای صنعتی مانند صنایع لوله‌سازی، شیرهای آب، صنایع آلیاژی، آبکاری و رنگ‌سازی، الکتریکی، دباغی چرم و غیره مورد استفاده قرار می‌گیرد. هرچند فلز مس از عناصر ضروری بوده اما ورود غلظت بیش‌تر از حد مجاز این عنصر به محیط‌های آبی می‌تواند اثرات مخربی بر سلامت انسان و سایر موجودات زنده به‌همراه داشته باشد (۷، ۸). خورها از مهم‌ترین و بارورترین اکوسیستم‌های دریایی محسوب می‌شوند و توسط زیستگاه‌های متنوعی از قبیل جنگل‌های مانگرو، مناطق جزر و مدی، نمک‌زارها و مرداب‌ها احاطه شده‌اند. این مناطق دارای تنوع بیولوژیکی بالا، زنجیره‌های غذایی غنی، محیطی آرام و به دور از امواج می‌باشند. خورها مانند اکثر نواحی ساحلی، به‌علت فعالیت‌های انسانی در معرض آلودگی ناشی از فلزات سنگین قرار دارند و محل مناسبی برای تجمع این قبیل آلاینده‌ها محسوب می‌شوند (۹). خور موسی شاخص‌ترین نمونه اکوسیستم ساحلی از نوع جزر و مدی است که در بخش شمالی خلیج فارس واقع شده و به‌دلیل تنوع آبزیان، عبور کشتی‌های باری، نفتکش‌ها و شناورهای صیادی از اهمیت خاصی برخوردار است. این منطقه محل استقرار بنادر بازرگانی، مجتمع‌های صنعتی و صنایع وابسته به آن می‌باشد. لذا عملیات تخلیه پساب‌های شیمیایی و دیگر زائدات نیز در این مکان انجام می‌شود (۱۰، ۱۱). پیشرفت‌ها در زمینه تکنولوژی‌های زیست محیطی نشان می‌دهد که جوامع میکروبی به‌واسطه فرایند جذب می‌توانند فلزات را از محیط حذف کنند (۱۲، ۱۳). هنگامی‌که جوامع میکروبی ازجمله باکتری‌ها در مجاورت یون‌های فلزی محلول در آب قرار می‌گیرند، بخش قابل توجهی از این یون‌ها از طریق فعل و انفعالات فیزیکی یا شیمیایی با گروه‌های فعال موجود در سطح دیواره سلولی واکنش داده و از محیط اطراف جذب دیواره خارجی می‌شوند (۱۴). با توجه به این ویژگی، مطالعات متعددی در زمینه حذف یون‌های فلزی توسط باکتری‌های دریایی صورت گرفته است. اهمیت این قبیل مطالعات در آن است که بدین‌وسیله می‌توان باکتری‌های بومی و مقاوم به آلودگی فلزی را شناسایی و از توانایی آنان در جذب زیستی فلزات برای پاک‌سازی محیط‌های آبی و یا پساب‌های محتوی فلز استفاده نمود. بنابراین، هدف از انجام این مطالعه، شناسایی باکتری‌های بومی خور موسی و مقاوم به فلز مس و سنجش قابلیت آنان در جذب این فلز می‌باشد.

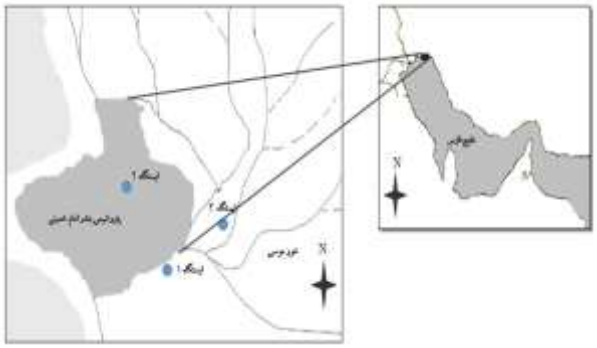
## مواد و روش‌ها

**منطقه مطالعاتی:** منطقه مورد مطالعه خورموسی بود که در سواحل شمالی دریای خزر قرار دارد. در این خور، ایستگاه‌ها به گونه‌ای انتخاب شدند که پوشش مناسبی از تمام منطقه داشته باشند. هم‌چنین برای انتخاب ایستگاه‌های نمونه‌برداری، فعالیت‌های انجام شده در منطقه و دوری و نزدیکی به ورودی پساب‌های ورودی به سواحل در نظر گرفته شد. بدین‌ترتیب ۳ ایستگاه که مختصات جغرافیایی آن‌ها و ویژگی منطقه (جدول ۱) و هم‌چنین پراکنش آن‌ها (شکل ۱) نشان داده شده است، انتخاب شدند. نمونه‌برداری در اسفند ماه ۱۳۸۷ و از لایه سطحی رسوبات و از ۳ ایستگاه مختلف جمع‌آوری شدند و در ظروف شیشه‌ای درب‌دار که از قبل استریل شده بودند، جای گرفتند.

**جدول ۱: موقعیت جغرافیایی ایستگاه‌های نمونه‌برداری در خور موسی**

| شماره ایستگاه | طول جغرافیایی | عرض جغرافیایی | ویژگی منطقه |
|---|---|---|---|
| ۱ | ″۵۳/۴ ′۲۵ °۳۰ | ″۵۵/۴ ′۰۶ °۴۹ | مجاورت با تأسیسات پتروشیمی |
| ۲ | ″۸/۲ ′۲۷ °۳۰ | ″۱۵/۴ ′۰۶ °۴۹ | محل ریزش پساب صنایع |
| ۳ | ″۱۷ /۵ ′۲۶ °۳۰ | ″۲/۰۴ ′۰۸ °۴۹ | فعالیت‌های صید و صیادی |

**آماده‌سازی نمونه‌های رسوب و سنجش فلزات سنگین:** رسوبات مربوط به هر ایستگاه به‌مدت ۲۴ ساعت در آون و در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند (۱۵). رسوب خشک شده توسط هاون چینی کوبیده شده و از الک ۶۳ میکرون عبور داده شد. یک گرم از رسوبات هر ایستگاه برداشت شد و با افزودن ۸ میلی‌لیتر اسیدنیتریک غلیظ و ۲ میلی‌لیتر اسیدپرکلریک به‌مدت ۴ ساعت هضم گردید. نمونه‌های هضم شده با آب دو بار تقطیر به حجم ۴۰ میلی‌لیتر رسانده و از کاغذ صافی واتمن عبور داده شدند. نهایتاً میزان فلز مس موجود در رسوبات توسط دستگاه جذب اتمی با شعله GBC مدل SavantAA∑ تعیین شد. سنجش نمونه‌ها با ۳ تکرار همراه بود (۱۶).



**شکل۱: موقعیت ایستگاه‌های مورد مطالعه**

**جداسازی باکتری‌ها از نمونه‌های رسوب:** یک گرم از رسوبات هر ایستگاه با ۱۰ میلی‌لیتر محلول کلریدسدیم رقیق‌سازی شد. رقت‌های $10^{-1}$، $10^{-2}$ و $10^{-3}$ از نمونه‌های رسوب تهیه و بر محیط کشت جامد حاوی غلظت‌های ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر فلز مس کشت داده شدند. سپس پلیت‌ها به‌مدت ۳ روز در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در اکوباتور قرار داده شدند (۱۷). با توجه به این‌که شناخت باکتری‌هایی با مقاومت بالا به‌عنوان هدف تعیین شده بود، لذا تنها دو باکتری که در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر تشکیل کلنی داده بودند، جداسازی و خالص سازی شدند.

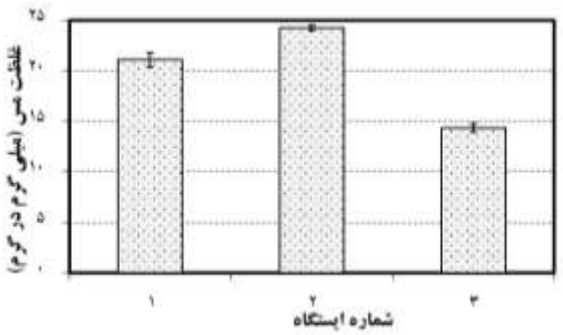
**شناسایی باکتری‌ها:** شناسایی اولیه باکتری‌های جداسازی شده با استفاده از رنگ‌آمیزی گرم و تست هیدروکسیدپتاسیم (KoH) انجام شد. سپس با به‌کارگیری منابع باکتریولوژی موجود (۱۸، ۱۹) و استفاده از تست‌های بیوشیمیایی، گونه‌های باکتریایی شناسایی شدند. علاوه بر این جهت تائید نتایج به‌دست آمده از تست‌های بیوشیمیایی، نمونه‌های باکتری به شرکت‌های Cinagen و ژن فناوری کوثر ارسال شدند و تعیین توالی 16S rRNA باکتری‌ها انجام شد.

**سنجش میزان جذب مس توسط باکتری‌ها:** یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون هر یک از دو باکتری جداسازی شده (محیط مایع LB) به محلول‌های فلزی حاوی ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر مس با pH =۶ اضافه شد. تعداد ۱۸ نمونه (با درنظر گرفتن ۳ تکرار) روی انکوباتور شیکردار در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد با دور ۱۶۰ دور در دقیقه قرار گرفتند. علاوه بر این ۳ محلول با غلظت‌های مختلف فلز مس و فاقد باکتری نیز به‌عنوان نمونه‌های شاهد در نظر گرفته شدند. اندازه‌گیری میزان مس کاهش یافته در محلول‌های محتوی باکتری بلافاصله پس از تلقیح باکتری و در فواصل زمانی ۳۰ دقیقه‌ای انجام شد. در هر مرحله ۵ میلی‌لیتر از محلول باکتریایی برداشت شد و به‌مدت ۱۰ دقیقه در شرایط ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس محلول بالایی جدا شده و در بالون ژوژه‌های از پیش استریل شده، قرار گرفت. نهایتاً ۱۲۶ برداشت از نمونه‌ها انجام شد و میزان فلز مس باقی‌مانده در محلول‌ها توسط دستگاه جذب اتمی با شعله GBC مدل SavantAA∑ اندازه‌گیری گردید (۲۰، ۲۱).

**تجزیه و تحلیل آماری:** به‌منظور بررسی داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ استفاده شد. بدین‌ترتیب که در ابتدا جهت بررسی پراکنش داده‌ها از آزمون آماری کولموگروف-اسمیرنوف استفاده شد. پس از حصول اطمینان از نرمال بودن پراکنش داده‌ها، اختلاف بین دسته‌های موردبررسی توسط آزمون آماری ANOVA بررسی و سپس جداسازی گروه‌ها توسط پس آزمون Tukey انجام شد. رسم نمودارها نیز با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد.

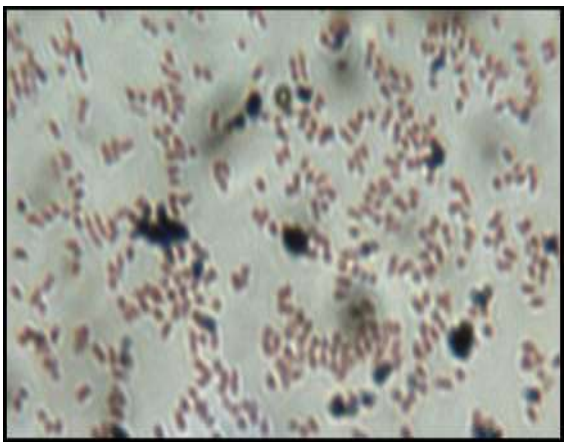
## نتایج

میانگین غلظت مس اندازه‌گیری شده در رسوبات ایستگاه‌های مختلف در شکل ۲ نشان داده شده است. حداکثر غلظت مس معادل ۰/۷۰± ۲۴/۲۸ میلی‌گرم در گرم در رسوبات ایستگاه ۲ اندازه‌گیری شد. حداقل غلظت مس نیز در ایستگاه ۳ به‌دست آمد. میزان مس موجود در رسوبات این ایستگاه ۰/۴۲± ۱۴/۳۰ میلی‌گرم در گرم بود.

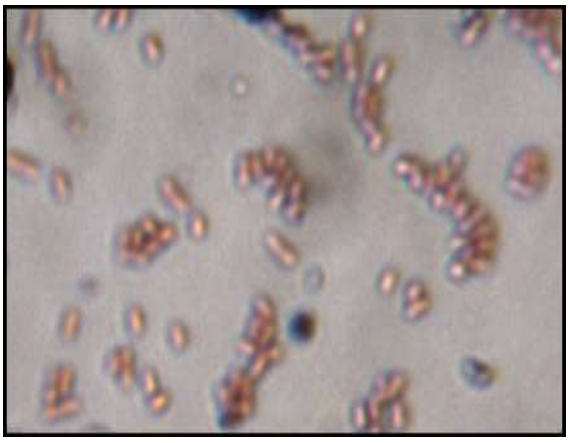



**شکل ۲: غلظت فلز مس در رسوبات خور موسی در ۳ ایستگاه متفاوت**

تعداد ۱۰ باکتری به‌رنگ زرد، قهوه‌ای، کرم و نارنجی در سطح محیط کشت‌های نوترینت آگار حاوی غلظت‌های ۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر مس مشاهده شدند. اما در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر مس تنها دو باکتری قادر به رشد بودند که از رسوبات ایستگاه ۲ جداسازی شدند. هر دو باکتری جداسازی شده، گرم منفی، اکسیداز کاتالاز مثبت و متعلق به جنس *Ochrobactrum* بودند. شکل و رنگ کلنی‌ها در اشکال ۳ و ۴ نشان داده شده است. جدول ۲ نیز نتایج حاصل از تست‌های بیوشیمیایی را نشان می‌دهد.



**شکل۳: کلنی باکتری *O. anthropi* strain YX0703 (×۱۰۰)**

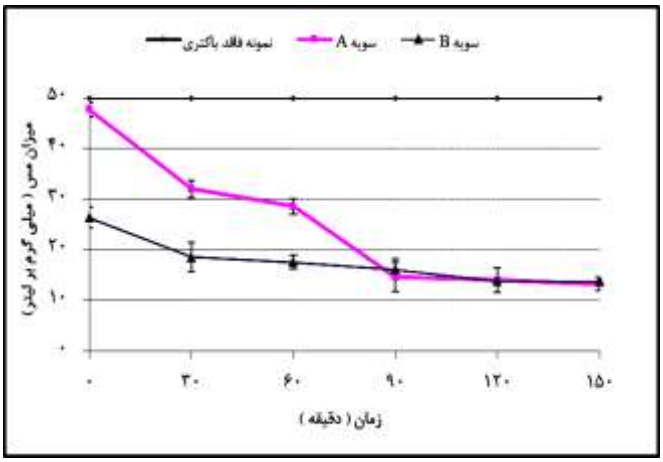


**شکل۴: کلنی باکتری *O. tritici* strain AN4 (×۱۰۰)**

جذب سطحی غلظت‌های مختلف فلز مس توسط باکتری‌ها در شکل ۵ نشان داده شده است. با توجه به شکل مربوطه سویه B بلافاصله پس‌از تلقیح به محلول فلزی (زمان صفر) تقریبا ۴۷٪ مس را جذب کرده است درحالی‌که سویه A تنها ۴٪ جذب سطحی داشت. با گذشت زمان، سرعت کاهش مس در سویه A در مقایسه با سویه B افزایش پیدا کرد. به‌طوری‌که در عرض ۹۰ دقیقه غلظت مس را از ۵۰ میلی‌گرم در لیتر به ۱۴/۵۸±۲/۷۹ میلی‌گرم در لیتر کاهش داد. نهایتاً عملکرد هر دو سویه تقریباً مشابه بود. زیرا سویه‌های A و B به‌ترتیب ۷۳/۵٪ و ۷۲/۶٪ مس را حذف کردند. غلظت مس در نمونه فاقد باکتری در طول دوره سنجش بدون تغییر باقی ماند.

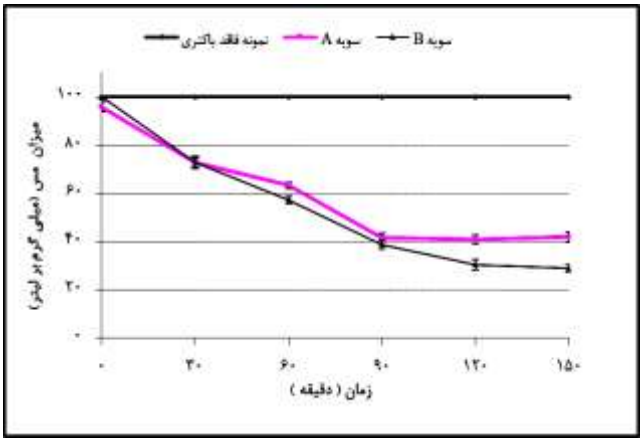
**جدول۲: خصوصیات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی باکتری‌های جداسازی شده**

| تست‌های بیوشیمیایی | سویه A | سویه B |
|---|---|---|
| رنگ‌آمیزی گرم | – | – |
| KoH | + | + |
| شکل کلنی | میله‌ای | میله‌ای |
| اکسیداز | + | + |
| کاتالاز | + | + |
| حرکت (SIM) ( Sulfide indole (motility | + | + |
| NaCl (۶/۵ ٪) | + | – |
| PD (Phenylalanine deaminase) | – | + |
| TSI (Triple sugar iron agar) | تولید $H_2S$ | تولید $H_2S$ |
| MR (Methyl red) | – | – |
| VP (Voges-Proskauer) | – | – |
| اوره | – | + |
| احیای نیترات | تولید گاز | تولید گاز |
| گلوکز | اکسیدکننده | اکسیدکننده |
| مالتوز | اکسیدکننده | اکسیدکننده |
| لایزین | – | – |
| لاکتوز | – | – |
| رشد بر محیط مکانکی | + | + |
| اندول | – | – |
| سویه باکتری | *O. anthropi* strain YX0703 | *O. tritici* strain AN4 |



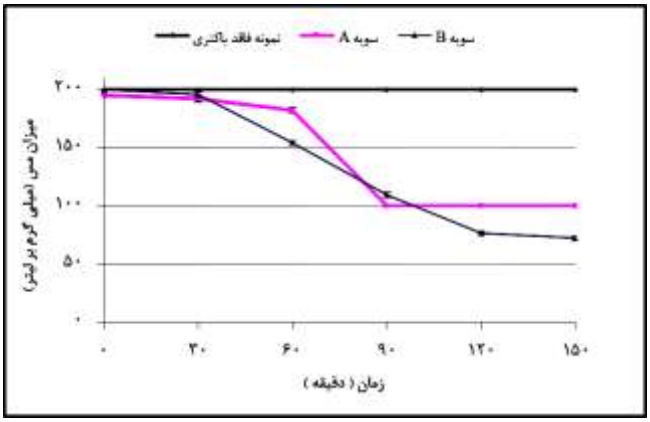

**شکل۵: کاهش غلظت مس موجود در محلول توسط باکتری‌های A و B در غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر و مدت زمان ۱۵۰ دقیقه**

سویه‌های A و B در محیط حاوی غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر مس و در دقایق اولیه، روند تقریباً یکسانی را طی کردند. ۲۷٪ مس در ۳۰ دقیقه ابتدایی توسط هر دو باکتری جذب شد. با گذشت زمان منحنی مربوط به سویه B شیب بیش‌تری را نشان داد و کاهش مس تا لحظات پایانی ادامه داشت. اما سویه A تا دقیقه ۹۰ سیر نزولی را طی کرد و پس از آن تغییری در غلظت مس مشاهده نشد (شکل ۶).




**شکل۶: کاهش غلظت مس موجود در محلول توسط باکتری‌های A و B در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و مدت زمان ۱۵۰ دقیقه**

جذب زیستی مس توسط سویه‌های باکتریایی در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر در شکل ۷ ارائه شده است. کاهش مس در نمونه حاوی سویه A در ۶۰ دقیقه ابتدایی به کندی انجام شد و فقط ۲/۲۸±۱۷/۶ میلی‌گرم در لیتر از ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر مس جذب باکتری شد. سویه B نیز در سنجش‌های اولیه تغییر چندانی در غلظت مس نشان نداد. اما از دقیقه ۳۰، جذب سطحی مس را آغاز کرد و در مدت زمان ۱۲۰ دقیقه، ۶۱/۷٪ مس جذب باکتری شد.




**شکل۷- کاهش غلظت مس موجود در محلول توسط باکتری‌های A و B در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر و مدت زمان ۱۵۰ دقیقه**

## بحث

نمونه‌برداری از رسوبات منطقه خورموسی در ۳ ایستگاه متفاوت انجام شد که ایستگاه ۲ به‌عنوان آلوده‌ترین ایستگاه معرفی شد. آلودگی این ایستگاه احتمالاً به‌علت ریزش پساب تأسیسات پتروشیمی است که در اطراف این ناحیه مستقر بودند. Rahman، نیز در مطالعه مشابهی با بررسی چند نمونه از پساب‌های تأسیسات پتروشیمی در مقایسه با تیمار شاهد، نشان داد که این پساب‌ها حاوی ترکیباتی از قبیل فنل، نفت خام، فلزات سنگین و سولفید می‌باشند (۲۲). در رسوبات ایستگاه ۳ نیز حداقل میزان مس اندازه‌گیری شد. از آن‌جاکه این ایستگاه نسبت به سایر ایستگاه‌ها در فاصله دورتر از تأسیسات پتروشیمی و آلودگی‌ها درنظر گرفته شده بود. لذا پایین بودن میزان مس در این ایستگاه نسبت به سایر ایستگاه‌ها دور از انتظار نبود. این تحقیق نشان داد که دو سویه باکتریایی از جنس *Ochrobactrum* قادر به تحمل غلظت‌های بالای مس بوده و می‌توانند این فلز را از محیط حذف نمایند. این گروه از باکتری‌ها در زیستگاه‌های متفاوتی از قبیل خاک، پساب و محیط‌های آبی یافت می‌شوند و می‌توانند بخش اصلی خاک و جوامع میکروبی را تشکیل دهند. اما به‌علت ظاهر نامشخص کلنی‌ها و شناسایی نادرست سویه‌ها، اهمیت این باکتری‌ها نادیده گرفته شده است (۲۳). در زمینه جذب زیستی فلزات سنگین با استفاده از گونه‌های *Ochrobactrum* مطالعات محدودی صورت گرفته و توانایی آن‌ها در جذب فلزات کروم، کادمیوم و مس به اثبات رسیده است (۲۴، ۲۵). در مطالعه حاضر سویه B به‌عنوان مقاوم‌ترین باکتری نسبت به غلظت‌های مختلف مس شناخته شد و ۶۴ درصد مس را (غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) در مدت زمان ۱۵۰ دقیقه از محلول حذف کرد. این نتایج توانایی باکتری جهت سازگار شدن با محیط‌های حاوی مس را نشان می‌دهد. در حقیقت باکتری مذکور با استفاده از آنزیم‌ها و متابولیسم‌های جذب یا تجمع خارج سلولی و درون سلولی، غلظت فلز را در محلول کاهش داده است (۲۶، ۲۷). در همین زمینه بررسی توانایی گونه *O. intermedium* در کاهش فلز کروم توسط Sultan و Hasnain انجام شد و نتایج آزمایشات نشان داد که گونه مذکور در مدت زمان ۲۴ ساعت قادر به حذف بیش از ۹۰ درصد کروم از محیط حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر فلز می‌باشد (۲۵). در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیز، ۶۱ درصد کروم جذب باکتری شد. مقایسه میزان مس جذب شده توسط باکتری‌ها در غلظت‌های مختلف، اختلاف معنی‌داری ($p<0/05$) را نشان داد و با افزایش غلظت مس، مقدار فلز جذب شده توسط باکتری‌ها افزایش یافت. به‌طورکلی جذب یون‌های فلزی به دیواره میکروارگانیسم‌ها تا زمانی که بین یون جذب شده و میزان یون

باقی‌مانده در محلول تعادل برقرار گردد، ادامه پیدا می‌کند لذا در غلظت‌های بالا به‌علت تعدد یون‌های فلزی، جهت برقراری تعادل بایستی مقدار بیش‌تری از یون‌ها جذب باکتری شوند (۲۸). نتایج حاصل از مطالعه صورت‌گرفته‌توسط Green-Ruiz و همکاران (۲۹)، با یافته‌های این تحقیق مطابقت دارد. به گونه‌ای که توانایی گونه *Bacillus* sp. در غلظت‌های ۰/۲۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر جیوه مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاکی از آن بود که در غلظت‌های ۰/۲۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر به‌ترتیب ۰/۰۲۳ و ۰/۶۸۱ میلی‌گرم در لیتر از فلز موجود در محیط کشت حذف شده است. در غلظت ۵۰ میلی‌گرم‌در لیتر مس و در ۳۰ دقیقه ابتدایی بیش از ۶۰ درصد مس موجود در محلول توسط سویه B جذب شد. گزارش بسیاری از مطالعات نشان‌دهنده آن است که حداکثر جذب فلزات در دقایق اولیه و پس از تماس میکروارگانیسم با محلول فلزی اتفاق می‌افتد زیرا در مراحل اولیه تلقیح باکتری، دسترسی به گروه‌های فعال جذب‌کننده فلزات از قبیل کربوکسیل، هیدروکسیل و سولفات، در سطح میکروارگانیسم‌ها به‌آسانی امکان‌پذیر است. اما باگذشت زمان این جایگاه‌ها توسط یون‌های‌فلزی اشغال‌می‌شوند و درنتیجه سرعت جذب کاهش می‌یابد (۲۹). نتایج حاصل از آزمایشات Khanafari و همکاران، نیز در استفاده از باکتری باسیلوس سیرکولانس در جذب فلزات نیز مبین این نکته بود که بیش‌ترین کاهش غلظت فلزات در ساعات اولیه تلقیح باکتری اتفاق افتاده و به موازات آن بیش‌ترین جذب توسط سلول‌های باکتریایی‌صورت‌می‌گیرد(۳۰). براساس نتایج به‌دست آمده، بیش از ۷۰ درصد غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر از فلز مس درمدت زمان ۱۵۰ دقیقه توسط هر دو سویه *O. tritici* strain AN4 و *O. anthropi* strain YX0703 جذب شد. هم‌چنین عملکرد باکتری‌هادر غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیز چشمگیر بود که نشان‌دهنده ظرفیت بالای این باکتری‌ها در جذب فلز مس می‌باشد. بنابراین با فراهم نمودن شرایط بهینه رشد می‌توان از پتانسیل این گروه از باکتری‌ها در کاهش آلودگی فلزات سنگین در آب‌های جنوبی کشور به‌ویژه در نواحی که تحت تأثیر شدید فعالیت‌های انسانی قرار دارند، استفاده نمود.

## منابع

1. **Meleigy, M.A.E., Kasaby, A.M.E. and Osman, N.H., 2010.** Microorganisms as a tool in biotechnology of sea water treatment. Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 4(6): 1083-1099.

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

3. **Rahmani, M., 2020.** Nickel, Copper and Iron concentrations in sediments and Shrimp *Macrobrachium nipponense*, in Alagol international wetland. Journal of Animal Environment. 12(4): 495-500. DOI: 10.22034/AEJ.2020.129573. (In Persian)

4. **Rauf, A., Javed, M. and Ubaidullah, M., 2009.** Heavy metal levels in three major carps (*Catla Catla*, *Labeo Rohita* and *Cirrhina Mrigala*) from the river Ravi, Pakistan. Pakistan Journal. 29(1): 24-26.

5. **Chaalal, O. and Zekri, A.Y., 2005.** Uptake of heavy metals by Microorganisms: An Experimental approach. Energy Sources. 27: 87-100.

6. **Hetzer, A., Daughney, C.J. and Morgan, H.W., 2006.** Cadmium ion Biosorption by the thermophilic bacteria *Geobacillus stearothermophilus* and *G. thermocatenulatus*. Applied and Environmental Microbiology. 72(6): 4020-4027.

7. **Shahri, E., Sayadi, M.H. and Yousefi, E., 2020.** Evaluation of heavy metal pollution of Zinc, Nickel, Chromium, Lead, Cadmium, Copper and Iron in water, surface sediments and algae of the northern shores of Makran Sea in summer 2020. Journal of Animal Environment. 12(4): 593-603. DOI: 10.22034/AEJ.2020.130833. (In Persian)

8. **Hao, B.R., Xing, R., Xu, Z., Hou, Y., Gao, S. and Sun, S., 2010.** Synthesis, Functionalization, and Biomedical Applications of Multifunctional Magnetic Nanoparticles, Advanced Materials. 22: 2729-2742.

9. **Greaney, K.M., 2005.** An assessment of heavy metal contamination in the marine sediments of Las Perlas Archipelago, Gulf of Panama. M.S. Thesis. Heriot-Watt University. 1-114.

Bacterial volatilization of mercury by immobilized bacteria in fixed and fluidized bed bioreactors. Annals of Microbiology. 54(4): 353-364.

**18.** **Garrity, G.M., Winters, M. and Searles, D.B., 2002.** Taxonomic outline of the procaryotes Bergeys manual of systematic bacteriology. 2th Edition. 1-350.

**19.** **Brenner, D.J., Krieg, N.R. and Staley, J.T., 2005.** Bergeys manual of systematic bacteriology. 2th Edition. 2: 1-1136.

**20.** **Kim, S.U., Cheong, Y.H., Seo, D.C., Hur, J.S., Heo, J.S. and 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.

**21.** **Azza. A.A., Wesam, A.H., Hedayat, M.S. and 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. 5(4): 372-383.

**22.** **Rahman, M.M., 2004.** Treatment of refinery wastewater using cross flow membrane bioreactor (CF-MBR). M.S. Thesis. King Fahad University of Petroleum and Minerals. 1-188.

**23.** **Bathe, S., Achouak, W., Hartmann, A., Heulin, T., Schloter, M. and Lebunn, M., 2004.** Genetic and phenotypic microdiversity of *Ochrobactrum* spp. Microbiological Ecology. 56: 272-280.

**24.** **Ozdemir, G., Ozturk, T., Ceyhan, N., Isler, R. and Cosar, T., 2003**. Heavy metal biosorption by biomass of *Ochrobactrum anthropi* producing exopolysaccharide in activated sludge. Bioresource Technology. 90: 71-74.

**25.** **Sultan, S. and Hasnain, S., 2006.** Characterization of an *Ochrobactrum intermedium* strain STCr-5 manifesting high level Cr(VI) resistance and reduction potential. Enzyme and Microbial Technology. 39: 883-888.

**10.** **Alipour, S., Jafarzadeh, N. and Perham, H., 2007.** Investigating environmental problems and pollutant management in Elfin Unit of Bandar Imam Petrochemical Complex. Environmental Science and Technology. 10(4): 246-260. (In Persian)

**11.** **Soleimani, Z., Salamat, N., Safahieh, A., Savari, A. and Ronagh, M.T., 2018.** Pathological Study of the Kidney and Histopathologic Alteration Index in Yellowfin Sea Bream (*Achantopagrus latus*) as a Bioindicator to Trace Contamination Loading of Persian Gulf. Animal Physiology and Development. 12(3): 11-25. (In Persian)

**12.** **Gupta, R., Ahuja, P., Khan, S., Saxena, R.K. and Mohapatra, H., 2000.** Microbial biosorbents: meeting challenges of heavy metal pollution in aqueous solutions. Current Science. 78(8): 967-973.

**13.** **Yan, G. and Viraraghavan, T., 2003.** Heavy metal removal from aqueous solution by fungus *Mucor rouxii*. Water research. 37: 4486-4496.

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

**15.** **Yap, C.K., Rahim-Ismail, A., Ismail, A. and Tan, S.G., 2005.** Analysis of heavy metal concentration data (Cd, Cu, Pb, and Zn) in different geochemical fractions of the surface sediments in the straits of Malacca by the use of correlation and multiple linear stepwise regression analyses. Malaysia Applied Biology. 34(2): 51-59.

**16.** **Yap, C.K., Ismail, A., Pang, B.H., Yeow, K.L., Tan, S.G. and Siraj, S.S., 2006.** Elevated heavy metal concentrations in surface sediments collected from the drainages of the SRI serdang industrial ares, Malaysia. Malaysia Applied Biology. 35(2): 35-40.

**17.** **Dzairi, F.Z., Zeroual, Y., Moutaouakkil, A., Taoufik, J., Talbi, M., Loutfi, M., Lee, K. and Blaghen, M., 2004.**

**26.** **Kader, J., Sannasi, P., Othman, O., Ismail, B.S. and Salmijah, S., 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.

**27.** **Adarsh, V.K., Mishra, M., Chowdhury, S., Sudarshan, M., Thakur, A.R. and Chaudhuri, S.R., 2007.** Studies on metal microbe interaction of three bacterial isolate from east Calcutta wetland. Journal of Biological Sciences. 7(2): 80-88.

**28.** **Ahalya, N., Ramachandra, T.V. and Kanamadi, R.D., 2003.** Biosorption of heavy metals. Journal of Chemistry and Environment. 7(4): 71-78.

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

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