

تعیین آستانه سمیت فلزات مس و روی در باکتری *E. coli* (حسگر زیستی)

امیر لکزیان^۱

تاریخ دریافت: ۸۶/۷/۲۴

تاریخ پذیرش: ۸۷/۷/۲۱

چکیده

امروزه آلودگی خاکها به عناصر سنگین که از منابع مختلف وارد خاکها می شوند در دنیا بصورت یک مسئله کاملاً جدی مطرح می‌باشد. برای تشخیص آلودگی فلزات سنگین روشهای متفاوتی مورد استفاده پژوهشگران قرار می‌گیرد. استفاده از حسگرهای زیستی یکی از روشهای جدید برای ارزیابی سمیت فلزات در خاک می‌باشد. در این مطالعه غلظتهای مختلف برای عناصر مس (۰، ۵، ۲۰، ۱۲۰، ۳۰۰، ۷۵۵ و ۲۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و روی (۰، ۱۰، ۳۰، ۷۰، ۱۶۰، ۴۰۰، ۱۰۰۰ و ۳۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بر روی یک خاک از سری لینکن واقع در نیوزیلند در دو محل جداگانه اعمال شد. غلظت کل عناصر مس و روی در نمونه های خاک پس از گذشت یکسال اندازه گیری شد. سپس آستانه سمیت این دو فلز سنگین به کمک حسگر زیستی *E. Coli* تعیین شد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که با افزایش غلظت عناصر مس و روی میزان بیولومینسنس باکتری *E. Coli* کاهش یافت. نتایج این مطالعه همچنین نشان داد که به ترتیب در غلظتهای کل ۴۵۰ و ۶۵ میلی گرم بر کیلوگرم مس و روی، میزان بیولومینسنس پنجاه درصد نسبت به شاهد کاهش پیدا کرد. نتایج حاصل از پردازش داده ها و مطالعه همبستگی بین میزان بیولومینسنس و غلظت کل فلزات مس و روی نشان داد که تاثیر عنصر روی بر کاهش میزان لومینسنس باکتریایی ۱۰ مرتبه بیشتر از عنصر مس بوده است.

واژه‌های کلیدی: بیولومینسنس، فلزات سنگین، مس، روی حسگر زیستی

مقدمه

سالهای اخیر روشهای بسیار متعددی برای تشخیص آلودگی خاک و آب به فلزات سنگین و دیگر آلاینده ها بکار گرفته شده است. به عنوان مثال کربن بیومس میکروبی بعنوان یک شاخص میکروبی حساس برای آشکارسازی اثرات منفی آلایندها معرفی شده است (۱). برخی دیگر از پژوهشگران استفاده از آنزیمها را برای مطالعه اثرات سمی و تعیین درجه آلودگی مناطق آلوده شده بکار گرفته اند. این پژوهشگران حساس بودن آنزیمها به آلایندهای فلزی و سریع بودن انجام آزمایشات آنزیمی را دلیل انتخاب این روش معرفی کرده اند (۱۱). اخیراً روشی تحت عنوان بیولومینسنس برای مطالعات آلودگی خاک و آب مورد استفاده قرار می‌گیرد. بیولومینسنس در حقیقت فرآیندی است که طی آن نور در پی یکسری واکنشهای آنزیمی در درون سلول تولید می‌شود. تولید این آنزیمها محصول بیان ژنهای *LUX* می‌باشند. بیوشیمی، فیزیولوژی و ژنتیک این فرآیند درون سلولی برای تشخیص مواد سمی بوسیله برخی از پژوهشگران بررسی شده و در منابع علمی معتبر به چاپ رسیده است (۳ و ۸۹). در این فرآیند بیولوژیکی، لوسیفیرین باکتریایی که یک منونوکلئید فلاوین (FMNH₂) است در حضور یک آلدئید بلند زنجیره، اکسیژن و آنزیم لوسیفراز اکسید می‌شود. با اکسید شدن لوسیفیرین نور سبز رنگ مایل

امروزه آلودگی فلزات سنگین گستردگی زیادی پیدا کرده است. فعالیتهای انسان نظیر ذوب فلزات و استخراج معادن، نیروگاه های صنعتی، کاربرد آفت کشتهای حاوی فلزات، کودهای شیمیایی و استفاده از فاضلابها بر روی اراضی منجر به آلودگی خاک به انواع فلزات شده است (۷). نگرانی راجع به افزایش آلودگی خاکها تنها بخاطر سمیت آنها برای گیاهان و جانوران نیست بلکه خطرات ناشی از ماندگاری و پایداری این عناصر در خاک، مسئولین محیط زیست و پژوهشگران سلامت و کیفیت خاک را بیشتر نگران کرده است (۶). آزمایشات تعیین غلظت سمی فلزات سنگین برای موجودات خاک که نقش بسیار مهمی در فرایندهای تجزیه مواد آلی و چرخه های عناصر غذایی خاک دارند از چالشهای مهم برای بسیاری از پژوهشگران خاک بوده است. مسئولین محیط زیست در بسیاری از مناطق دنیا شناسایی و تعیین خصوصیات محللهای آلوده و اصلاح آنها را در اولویت تحقیقات خود قرار داده اند. شاید به جرات بتوان گفت که در

۱- دانشیار گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
* - نویسنده مسئول (Email: alakzian@yahoo.com)

شد. برای این منظور سوسپانسیون آب و خاک بمدت ۲ ساعت با ۲۰۰ دور در دقیقه تکان داده شد. سپس نمونه ها با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و از فیلتر ۰/۲ میکرومتر عبور داده شدند. کلیه نمونه ها قبل از استفاده عصاره ها برای آزمایش لومینسنس در ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

برای حیاتبخشی باکتری *E. Coli* HB101 PUCD607 (۱۱) مقدار ۱۰ میلی لیتر محلول کلرور پتاسیم یک دهم نرمال به باکتری لیوفریز شده به شیشه های مکارتی استریل اضافه و به مدت یک ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد رشد داده شد. سپس میزان بیولومینسنس ۱۰۰ میکرو لیتر سوسپانسیون باکتری در ۹۰۰ میکرو لیتر آب مقطر با دستگاه لومینومتر قرائت شد. سپس ۱۰۰ میکرو لیتر از سوسپانسیون باکتری با ۹۰۰ میکرو لیتر عصاره های نمونه های خاک به آرامی مخلوط و میزان بیولومینسنس در نمونه ها اندازه گیری شد. این آزمایش در قالب بلوکهای کاملا تصادفی با دو تکرار انجام شد و نتایج حاصل از آزمایش با استفاده از نرم افزار آماری Minitab تجزیه آماری و مقایسه میانگین ها با استفاده از نرم افزار MSTATC انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که افزودن فرم سولفات دو عنصر مس و روی غلظت کل این دو عنصر را در تمامی کرت‌های آزمایشی خاک افزایش داد. گستره غلظت کل مس از ۱۰ میلی گرم بر کیلو گرم در تیمار شاهد تا حدود ۱۵۰۰ میلی گرم در کیلو گرم خاک در تیمار ۲۰۰۰ میلی گرم در کیلو گرم مس متغیر بود. گستره غلظت روی از ۶۰ در تیمار شاهد تا حدود ۱۴۰۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک در تیمار ۳۰۰۰ میلی گرم در کیلو گرم تغییر کرد. بنابر این با اعمال تیمارهای آزمایشی مس و روی بستره ای مناسب با یک گستره غلظتی نسبتا وسیع برای دو فلز سنگین مس و روی فراهم شد. این غلظت ها از حدود بسیار پائین تر از ماکزیمم حدود مجاز برای کشور نیوزیلند (۴) (به ترتیب ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم برای مس و روی) تا غلظتهای بسیار بالاتر از آن که معمولا برای آزمایشات تعیین سمیت لازم می‌باشد وجود داشت.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس میزان لومینسنس تیمارهای آزمایش (جدول ۱) نشان داد که اختلاف معنی داری بین دو قطعه زمین انتخاب شده (تکرار) از لحاظ درجه آلودگی و تاثیر بر میزان بیولومینسنس وجود داشته است. البته این نتیجه خارج از انتظار نبود زیرا خاکها حتی در فواصل بسیار نزدیک می‌توانند تغییرات قابل توجهی داشته باشند. همچنین نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که سمیت دو عنصر روی و مس با یکدیگر نیز تفاوت معنی داری داشتند. عنصر روی تاثیر بیشتری بر کاهش لومینسنس باکتری

به آبی با طول موج ۴۹۰ نانومتر تولید می‌شود. که میزان این نور تولید شده متناسب با تعداد این واکنشها در درون سلولهای باکتریایی می‌باشد. LuxA و LuxB از مجموعه ژنهای LuxABCDE در تولید آنزیم لوسیفراز (به ترتیب بخش α و β آنزیم) و بخشهای LuxC، LuxD و LuxE در تولید آنزیم رداکتاز اسید چرب که یک پروتئین متشکل از ۱۲ پلی پپتید است دخالت دارند. استفاده از باکتریهای لومینسنس کننده برای تشخیص آلودگی خاک و آب و تعیین آستانه سمیت فلزات سنگین برای میکروارگانیزمهای خاک نسبت به روشهای دیگر دارای مزایایی است. حساس بودن، آسان بودن فرایند اندازه گیری و سرعت عمل و کم هزینه بودن آزمایشات از جمله مزایای این روش جدید می‌باشد. اخیرا گزارشهایی مبنی بر توسعه و بهبود روشهایی بیولومینسنس برای ارزیابی سمیت در فاضلابها (۵)، تشخیص بازدارنده های فرایند نیتریفیکاسیون (۱۰) و تعیین بیشترین حد مجاز فلزات در خاک (۲ و ۹) ارائه شده است.

هدف از این تحقیق استفاده از بیولومینسنس باکتریایی برای بررسی امکان تعیین سمیت عناصر مس و روی برای خاکهای آلوده به این عناصر در یک گستره غلظتی بسیار وسیع از این دو عنصر بوده است. تعیین ارتباط سمیت این دو عنصر برای باکتری *E. coli* نهایتا تعیین آستانه سمیت آن نیز از اهداف این تحقیق بود.

مواد و روش‌ها

در آبان ماه سال ۱۳۸۵ به منظور تعیین بیشترین حد مجاز دو عنصر مس و روی در خاکهای لینکن نیوزلند طرح آزمایشی طراحی شد که در آن غلظتهای متفاوت از دو عنصر مس (۰، ۵، ۲۰، ۵۰، ۱۲۰، ۳۰۰، ۷۵۵ و ۲۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و روی (۰، ۱۰، ۳۰، ۷۰، ۱۶۰، ۴۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) هر دو به فرم سولفات در دو قطعه زمین مجاور هم در کرت‌هایی به مساحت یک متر مربع اعمال شد. ابتدا ۳۰ سانتیمتر اولیه خاک به دقت برداشته شد و کلیه ریشه های موجود در آن و جانوران ماکرو (نظیر کرمهای خاکی و لارو حشرات) جدا و سپس نمونه خاک مربوط به هر کرت بطور جداگانه در یک مخلوط کن بزرگ بمدت ۲۰ دقیقه مخلوط شدند. سولفات مس و روی با غلظتهای فوق تدریجا در حین مخلوط شدن نمونه های خاک به آنها اضافه شد. سپس تمامی خاک تیمار شده با غلظتهای مختلف دو عنصر روی و مس مربوط به هر کرت به محل اولیه برگردانده و بر روی آن شیدر سفید و چمن کاشت شد. پس از یک سال نمونه های یک کیلو گرمی خاک با استفاده از اگر (حدود ۲۵ اگر از هر کرت) از کرت‌های آزمایشی جمع آوری شدند. غلظت کل عناصر مس و روی در آنها با استفاده دستگاه X-Ray fluorescence spectrometer سیمس SRS303AS تعیین شد.

آزمایش بیولومینسنس در سوسپانسیون ۱:۲۰ آب و خاک انجام

E. coli در مقایسه با عنصر مس داشت.

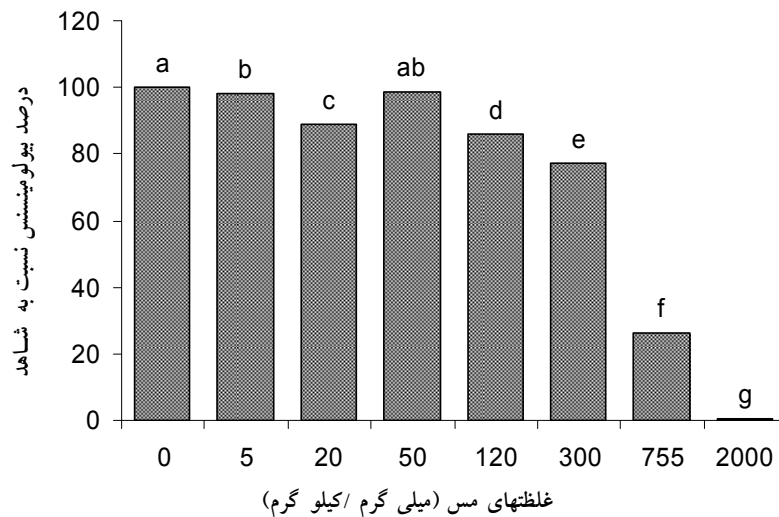
۱). به نظر می‌رسد که در غلظتهای پایین یک شوک کاهشی در باکتریها رخ می‌دهد و با بیان بعضی از ژنها آن شوک تا حدودی جبران می‌گردد. این تغییرات در غلظتهای ۵ تا ۵۰ به خوبی قابل مشاهده است. اما کاهش معنی دار در میزان لومینسنس باکتری که خود در حقیقت گواهِ بر کاهش تعداد سلولهای باکتری در مقایسه با شاهد است در غلظتهای ۱۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم مشاهده شد. روند کاهشی در میزان لومینسنس باکتری در غلظتهای بالاتر همچنان ادامه داشت به نحوی که در تیمار ۲۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم مس تقریباً کلیه سلولهای باکتری از بین رفته و میزان بیولومینسنس تقریباً به صفر رسید و یا اینکه دستگاه لومینومتر قادر به تشخیص نور تولید شده توسط باکتری نبود (شکل ۱).

(جدول ۱) - تجزیه واریانس مقدار بیولومینسنس باکتری *E. coli*

منابع تغییر	درجه آزادی	SS	MS
بلوک	۱	۴۶۶/۹	۴۶۶/۹
تیمار	۱۴	۱۵۴۸۲۳/۶	۱۱۰۵۸/۸
خطای آزمایش	۱۴	۲۶۷۵/۹	۱۹۱/۱
خطا نمونه گیری	۶۰	۱۲۳	۲/۱

** معنی دار ($P < 0.01$)

نتایج حاصل از بیولومینسنس نشان داد که تا تیمار ۵۰ میلی گرم در کیلوگرم (غلظت کل ۱۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تفاوت معنی داری در میزان بیولومینسنس برای عنصر مس وجود نداشت (شکل



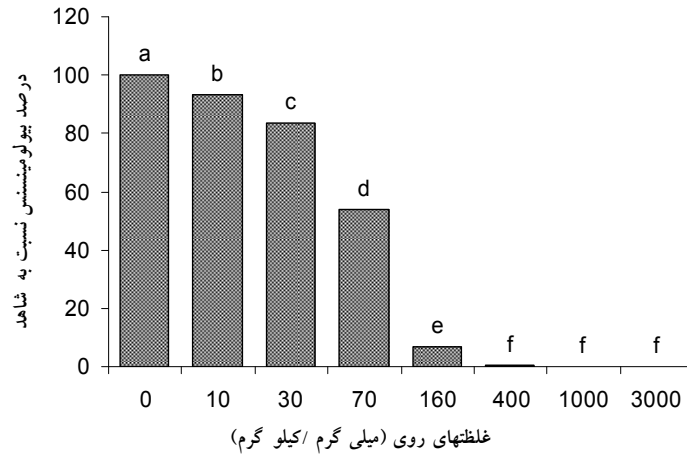
(شکل ۱) - مقایسه میانگین لومینسنس باکتری *E. coli* در غلظتهای مختلف عنصر مس

بخش فراهم و قابل دسترس مس برای میکروارگانیسمها در مقایسه با روی کمتر بوده و احتمالاً به همین خاطر سمیت مس در مقایسه با عنصر روی کمتر ظاهر شده است (۳).
اطلاعات حاصله از این آزمایش باید با احتیاط مورد بررسی قرار گیرد زیرا پاسخ لومینسنسی باکتری به غلظت مس و روی پاسخی به میزان عنصر مس یا روی عصاره گیری شده در نسبت خاک به آب ۱:۲۰ می‌باشد. بنابر این ذکر این نکته ضروری است که قطعاً زمانی که باکتری در معرض عصاره خاک قرار می‌گیرد در واقع با غلظت بسیار پائینی از مس روبرو است. البته ذکر این نکته ضروری است که ارتباط بسیار منطقی و خوبی معمولاً (نه همیشه) بین میزان مقدار کل عناصر با میزان عناصر در عصاره ها وجود دارد. بسیاری از پژوهشگران به این ارتباط اشاره کرده اند. از جمله هورسول و همکاران (۴) نشان دادند زمانی که مس عصاره گیری شده ۰/۱۲ میلی گرم بر لیتر بوده میزان مس کل حدود ۵۴۰ میلی گرم بر کیلو

در مورد عنصر روی می‌توان گفت که بیولومینسنس باکتری در کلیه غلظتهای این عنصر کاهش یافت. شروع کاهش در لومینسنس باکتری از غلظت ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم شروع شد و در تیمارهای ۴۰۰ میلی گرم در کیلوگرم روی (غلظت کل ۴۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم) میزان بیولومینسنس باکتری به صفر رسید (شکل ۲). در تیمارهای بالاتر از ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم روی نیز کلیه سلولهای باکتری از بین رفته و لومینومتر قادر به اندازه گیری نور نبود.
با مقایسه دو شکل ۱ و ۲ می‌توان به تفاوت درجه سمیت فلز سنگین مس و روی پی برد. نتایج این آزمایش نشان داد که عنصر روی زودتر از مس سبب از بین رفتن لومینسنس باکتری شده به عبارت دیگر آثار سمی آن بر روی باکتری *E. coli* سریع تر آشکار شده است. البته با توجه به میزان بالای مواد آلی در این خاکها و ظرفیت بالای مس برای تشکیل کلات با مواد آلی به نظر می‌رسد که

آنها در جزء محلول یا عصاره های حاصله از عصاره گیرهای مختلف می تواند ارتباط و همبستگی بالا بین پاسخ لومینسنسی را با غلظت کل توضیح دهد.

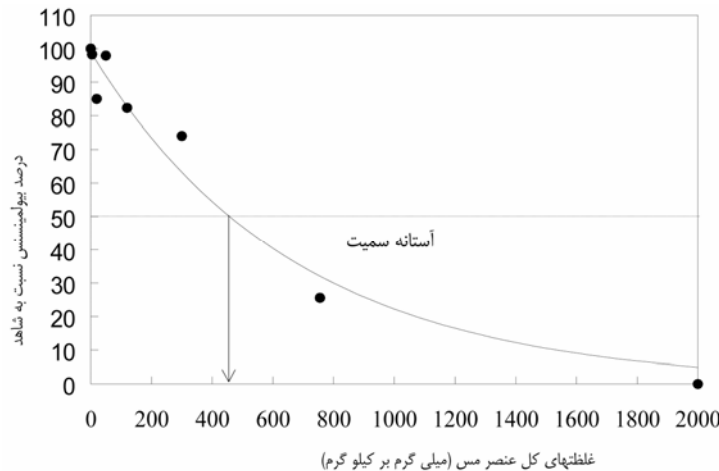
گرم بوده است. ایشان ارتباط رگرسیونی بسیار خوبی بین غلظت کل عنصر مس در خاک و پاسخ لومینسنسی باکتری *E. Coil* را گزارش کردند. بنابر این رابطه بسیار قوی بین غلظت کل عناصر با مقادیر



(شکل ۲) - مقایسه میانگین لومینسنس باکتری *E. Coil* در غلظت‌های مختلف عنصر روی

اعتماد می‌باشد.

با رسم معادله نمایی برای داده های حاصل از میزان لومینسنس باکتری *E. Coil* در برابر غلظت‌های مختلف عنصر مس، می‌توان به یک همبستگی بسیار بالا ($r^2=0.962$) و خوب بین میزان لومینسنس و غلظت مس دست یافت. شکل ۳ این ارتباط را نشان می‌دهد. بنابراین با حل معادله نمایی برای کاهش پنجاه درصدی لومینسنس به غلظت کل ۴۵۰ میلی گرم بر کیلو گرم مس می‌رسیم. به عبارت دیگر می‌توان گفت زمانی که غلظت کل عنصر مس به ۴۵۰ میلی گرم در کیلو گرم در خاک‌های تحت بررسی می‌رسد میزان بیولومینسنس باکتری پنجاه درصد کاهش پیدا می‌کند. بنابر این با این داده ها آستانه سمیت مس با انجام آزمایش بیولومینسنس ۴۵۰ میلی گرم بر کیلو گرم تعیین می‌شود (شکل ۳).

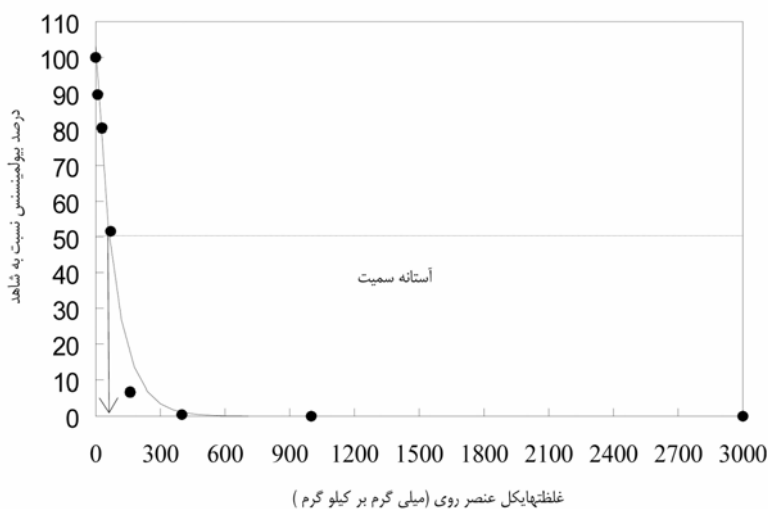


(شکل ۳) - آستانه سمیت مس برای باکتری *E. Coil* (حسگر زیستی)

نکته قابل توجه دیگر در اینگونه آزمایشها واریانس نسبتا زیاد داده ها می‌باشد که ناشی از حساسیت بالا و وجود پارامترهای بسیار متنوع و درگیر در این فرایند زیستی است. به همین دلیل است که پژوهشگران هر کاهشی در میزان لومینسنس باکتری را که در اثر غلظت آلاینده ها رخ می‌دهد را دلیل بر سمیت آنها نمی دانند. معمولا کاهش ۵۰ درصدی در تیمارهای آزمایشی نسبت به شاهد را مبنای تاثیر سمیت فلز یا هر آلاینده دیگر بر لومینسنس در نظر می‌گیرند (۵). با توجه به این نکته و مراجعه مجدد به داده‌های حاصله از آزمایش می‌توان گفت که فقط تیمارهای مس بالاتر از ۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم تاثیر معنی داری بر میزان بیولومینسنس باکتری داشته است. به عبارت دیگر در تیمارهای بالای ۳۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم تاثیر سمی فلز مس بر لومینسنس باکتری *E. Coil* آشکار و قابل

بر کیلو گرم روی می‌رسیم (شکل ۴) که این غلظت بسیار پائین تر از ماکزیمم حد مجاز تعیین شده برای خاکهای کشور نیوزیلند است (۳۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم).

زمانی که کلیه محاسبات فوق در مورد عنصر مس را برای عنصر روی انجام دهیم مجدداً یک همبستگی بالا ($r^2=0.985$) بین میزان لومینسنس و غلظت روی حاصل می‌شود. با حل معادله فوق برای کاهش پنجاه درصدی میزان بیولومینسنس به غلظت ۶۵ میلی گرم



(شکل ۴) - آستانه سمیت روی برای باکتری *E. coli* (حسگر زیستی)

ادامه این مطالعه می‌باشد تا بدینوسیله تفاوت در ماکزیمم غلظت‌های مجاز تعیین شده در کشور نیوزیلند و نتایج حاصل از این تحقیق را بتوان توجیه منطقی کرد. ضمناً مطالعه بخش‌های مختلف مواد آلی در این خاکها و تاثیر کاربری این اراضی بر روی فراهمی این عناصر نیز می‌تواند به عنوان موضوع تحقیقی بعدی انجام شود.

با مقایسه ضریب کاهش لومینسنس که از معادلات پردازش شده بین میزان لومینسنس و غلظت عناصر روی و مس حاصل شده است می‌توان نتیجه گرفت که آثار سمیت عنصر روی تقریباً ده برابر زودتر از مس بر روی میزان لومینسنس باکتری ظاهر شده است (جدول ۲).

(جدول ۲) - همبستگی و ضریب کاهش میزان بیولومینسنس برای

عناصر مس و روی			
عنصر	R ²	SE	K
Cu	0.962	0.00025	0.00149
Zn	0.985	0.00139	0.01126

بنابراین مطالعه دقیق‌تر و بیشتری پیرامون غلظت این عناصر در عصاره های تهیه شده از نمونه های خاک یک ضرورت جدی برای

سپاسگزاری

بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد و مرکز تحقیقات علوم محیطی کنوپورو نیوزیلند که امکان این تحقیق را فراهم کردند تشکر می‌کنم.

منابع

- Brookes P. C. and S. P. McGrath. (1984). Effects of metal toxicity on the size of the soil microbial biomass, *Journal of Soil Science*. 35: 341-346.
- Chaudri, A.M., K. Lawlor, S. Preston, G.I. Paton, K. Killham and S.P. McGrath. (2000). Response of a *Rhizobium*-based luminescence biosensor to Zn and Cu in soil solutions from sewage treated soils. *Soil Biology and Biochemistry*. 32:383-388.
- Hastings J.W., Potrikus, C. J. Gupta, S. C. Kurfhrst, M. and Makemson. J. C. (1985). Biochemistry and physiology of bioluminescent bacteria. *Advances Microbial physiology*. 26: 235-291.
- Horswell J, Weitz, H. J. Percival H. J. and Speir. T. W (2007). Impact of heavy metal amended sewage sludge on forest soils as assessed by bacterial and fungal biosensors. *Biology and Fertility of Soils*. 42: 569-576.

- 5- Kelly C.J., Lajoie, C. A. Layton A. C. and Saylor. G. S. (1999). Bioluminescent reporter bacterium for toxicity monitoring in biological wastewater treatment systems. *Water Environment Research*. 71: 31-35.
- 6- McGrath S.P., and Lane. P. W. (1989). An explanation for the apparent losses of metals in a long-term field experiment with sewage sludge, *Environmental pollution*. 60: 235–256.
- 7- McGrath S.P., Chaudri A. M. and Giller K. E. (1995). Long-term effects of metals in sewage sludge on soils, microorganisms and plants, *Journal of industrial and Biotechnology*. 14: 94–104.
- 8- Meighen E.A. (1991). Molecular biology of bacteria bioluminescence. *Microbiology review* 5: 123–142.
- 9- Paton G.I., Palmer, G. Burton, M. Rattray, E. A. S. McGrath, S. P. Glover L. A. and Killham. K. (1997). Development of an acute and chronic ecotoxicity assay using *lux*-marked *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii*. *Letter applied microbiology*. 24: 296-300.
- 10- Sousa S (1999) Use of lux bacterial biosensors to assess bioremediation potential and constraints at a BTEX contaminated site. Ph.D. Thesis, University of Aberdeen.
- 11- Stuczynski T. I., McCarty G. W. and Siebielec. G. (2003). Response of soil microbiological activities to cadmium, lead, and zinc salts amendments, *Journal of Environmental Quality*. 32: 1346–1355.



Determination of toxicity threshold of zinc and copper for *E. coli* (as biosensor)

A. Lakzian¹

Abstract

Soil contamination with heavy metals is a serious problem in all over the world. Soils are contaminated by many different sources of heavy metals. Currently different methods are used by researchers for identifying heavy metal contamination. Assessing soil metal toxicity with bacterial bioluminescence is one of the new techniques. In this study, different concentrations of zinc and copper (0, 5, 20, 120 300, 755, 2000 mg/kg for Cu, 0, 10, 30, 70, 160 400, 1000, 3000 mg/kg for Zn in sulphate form) were applied to Lincoln soils, New Zealand, in two different sites. After one year, the total concentrations of copper and zinc were measured in soil samples. Bacterial bioluminescence technique (Bioluminator) was used for determination of toxicity threshold of Cu and Zn for *E.coli*. The results showed that the bacterial bioluminescence decreased by increasing copper and zinc concentrations. We also found that the bacterial bioluminescence decreased, 50% compared to control plot at 450 and 65 mg/kg Cu and Zn concentrations respectively. The correlation between bioluminescence and total metal concentration showed that zinc was more toxic to *E. coli* than copper.

Keywords: Bioluminescence, Heavy metals, Zinc, Copper. *E. coli*

1 - Contribution from College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad (Corresponding author Email: alakzian@yahoo.com)