جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله علمی- پژوهشی زیست فناوری میکروبی دانشگاه آزاد اسلامی
تابستان 1391، دوره چهارم، شماره سیزدهم، صفحه 20-13

بررسی حذف زیستی آلاینده های هیدروکربنی نفتی توسط باکتری جداشده از خاک های آلوده به نفت

غلامحسین ابراهیمی پو ر[1]، عبدالرزاق مرزبان[2]، مریم کارخانه[3]، جواد فخاری[1]

1- دانشیار گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی
2- دانشجوی دکترای بیوتکنولوژی داروئی، دانشکده داروسازی ، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
3- کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
4- کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، مربی دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی

نویسنده مسؤول: دکتر عبدالرزاق مرزبان، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، دانشکده داروسازی، گروه بیوتکنولوژی داروئی.
Marzbana901@mums.ac.ir

دریافت: 91/4/7 پذیرش: 91/6/25

چکیده

زمینه و هدف: آلاینده های هیدروکربنی نفتی و فرآورده های آنها در طبیعت با روند بسیار کندی تجزیه می شود. با فراهم نمودن شرایط بهینه رشد میکروارگانیسم های دخیل در تجزیه آلاینده های نفتی می توان فرآیند پاکسازی محیط های آلوده را بطور موثری افزایش داد. هدف از این تحقیق جداسازی باکتری تجزیه کننده نفت خام به منظور استفاده در تجزیه زیستی این مواد در مناطق آلوده بود.

روش بررسی: در راستای رسیدن به این هدف نمونه برداری از خاک های آلوده به نفت انجام شد و پس از جداسازی باکتری، شناسایی آن به روش های بیوشیمیایی و فیلوژنتیک Abt1 نامگذاری شد. سپس آزمایشات مربوط به توانایی نفت خواری سویه خالص شده در شرایط مختلف بررسی شد.

یافته ها: نتایج تست های بیوشیمیایی و آنالیز فیلوژنی نشان داد که این باکتری 100 درصد به جنس *پلانوکوکوس* (Accession GU213131) شباهت دارد. این سویه قادر بود pH بین 5 تا 8 و نمک صفر تا 7 درصد را تحمل کند. شرایط بهینه برای تجزیه زیستی نفت خام توسط Abt1 شامل pH برابر 7/5 در دمای 30±2°C در پایین ترین مقدار نمک بود. همچنین کمترین مقدار نیتروژن و فسفات مورد نیاز جهت تجزیه 1 گرم نفت خام برابر با 0/292 گرم آمونیوم کلراید و 0/036 گرم دی سدیم هیدروژن فسفات بود.

نتیجه‌گیری: این سویه در شرایط بهینه تعیین شده قادر بود که در مدت 12 روز نفت خام موجود را بطور کامل مصرف کند. مقاوم به نمک بودن این سویه بومی بدلیل تفاوت غلظت نمک مناطق آلوده به یک مزیت محسوب می شود. بنابراین برای حذف آلودگی های ایجاد شده استفاده از این باکتری بومی کارایی روند تصفیه را به میزان مطلوبی بالا می رود.

واژه‌های کلیدی: تجزیه زیستی، معدنی شدن، آلاینده های هیدروکربنی، نفت خام، پلانوکوکوس

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

امروزه صنایع و تکنولوژی وابسته به منابع نفتی است و فعالیت های انجام شده در زمینه اکتشاف، استخراج، حمل و نقل و بهره برداری از نفت اثرات زیست محیطی مخربی را به همراه داشته است(1). آلودگی‌های حاصل از ترکیبات نفتی در صورتی که کم باشد می تواند بتدریج در طبیعت تحت تاثیر عواملی مانند تبخیر شدن و اکسیداسیون نوری به ترکیبات دیگری تبدیل شده و یا توسط میکروارگانیسم های موجود در محیط مصرف شده و حذف گردند (2و3). اما در محیط هایی که آلودگی وسعت زیادی داشته آسیب وارد شده به محیط بطور خودبخودی برطرف نمی شود. لذا تخریب زیست محیطی از جانب این آلودگی ها نیازمند راهکارهای اساسی است تا بتوان با کمترین هزینه و بدون اینکه دخل تصرفی در اکوسیستم ایجاد شود آلاینده ها را برطرف نمود(4). روش هایی که امروزه در جهت حذف آلاینده های حاصل از نفت بکار می روند متعددند. در این بین تجزیه زیستی توسط میکروارگانیسم‌ها، نقش اساسی در حذف مواد نفتی بخصوص اجزای غیر فرار نفت از محیط زیست ایفا می‌کند(5). تاکنون شمار متعددی از باکتریهای تجزیه کننده مواد نفتی جداسازی شده اند، ولی با این وجود تعداد کمی از آنها به نظر می رسد که در تجزیه زیستی نفت در محیط های طبیعی حائز اهمیت باشند. از مهم ترین باکتری های تجزیه کننده این مواد می توان به جنس های *سودوموناس*، *اسینتوباکتر*، *باسیلوس*، *مایکوباکتریوم*، *مارینوباکتر*، *اسفینگوموناس*، *بورخ هولدریا* و *ویبریو* اشاره نمود (7-4). همچنین قارچ هایی مانند *فوزاریوم*، *آسپرژیلوس*، *کلادوسپوریوم* و *کاندیدا* نیز قادر به مصرف هیدروکربن های نفتی می باشند (10-8). در واقع میکروارگانیسمهای تجزیه کننده ترکیبات نفتی ابتدا با تولید و ترشح بیوسورفاکتانت نفت خام را امولسیونه می نمایند که با این عمل نسبت سطح به حجم قطرات نفت بسیار افزایش می یابد و از این طریق دسترسی سلول های باکتری را به ترکیبات نفت بیشتر کرده و کارایی آنها را در مصرف نفت بسیار افزایش می‌یابد(11). بنابراین باکتری هایی که قابلیت معدنی کردن بالا دارند عمدتا ترکیبات امولسیونه کننده قوی تولید کرده و توان بالایی در حذف ترکیبات هیدرو کربنی نفت دارند(12). مطالعات نشان داده است که میکروارگانیسم های جداشده از محیط های طبیعی بیشترین سازگاری را با محیط پیدا کرده اند لذا بهترین گزینه استفاده از میکروارگانیسم های بومی به منظور استفاده در فرآیند حذف زیستی لکه های نفتی در محیط های آلوده می باشد(13). هدف این پژوهش جداسازی باکتری نفت خوار از خاک های آلوده به نفت خام در مناطق نفتی جنوب به منظور استفاده از آن در جهت حذف آلودگی های نفتی منطقه بود.

روش بررسی

محل نمونه برداری خاک های آلوده به لکه های نفتی میدان نفتی آبتیمور در 25 کیلومتری غرب اهواز واقع در استان خوزستان بود. نمونه‌های خاک از 10 سانتی متری سطح خاک که به نفت آلوده شده بود برداشته شد و در بطری های استریل بطور نیمه باز به آزمایشگاه منتقل شد و تا زمان شروع آزمایشات در دمای $4^{o}C$ نگهداری شدند. شرایط محیطی از قبیل pH، درصد نمک و دمای منطقه نیز در زمان نمونه برداری اندازه گیری شدند.

کلیه محیط های مورد استفاده از محصولات شرکت مرک تهیه شدند. برای جداسازی اولیه و غنی سازی نمونه های خاک ابتدا از محیط کشت پپتون عصاره مخمر شامل 5 گرم عصاره مخمر، 3 گرم پپتون، در 1000 میلی لیتر آب با 3/5 درصد نمک استفاده شد. در این مرحله 1 گرم خاک به ارلن های 250 میلی لیتری حاوی 100 میلی لیتر محیط کشت پپتون عصاره مخمر براث اضافه شد و پس از 24 ساعت گرماگذاری در دمای $30\pm2\ ^{o}C$ درجه نمونه ها جهت کشت روی محیط کشت جامد پپتون عصاره مخمر آگار آماده شدند. این محیط کشت متشکل از عصاره مخمر و پپتون به همراه 12 گرم آگار بود. به منظور جداسازی کلنی ها، رقت‌های متفاوتی از نمونه ها تهیه گردید و از هر رقت 100 میکرولیتر بر روی هر پلیت بصورت گسترده کشت داده و در دمای $30\pm2\ ^{o}C$ به مدت 24 ساعت گرماگذاری شدند. سپس کلنی‌های با مورفولوژی متفاوت برداشته و با کشت‌های متوالی بر روی محیط جامد پپتون عصاره مخمر آگار خالص سازی شدند (14).

بررسی تجزیه زیستی نفت خام: محیط کشت پایه نمکی مورد استفاده برای بررسی تجزیه نفت خام شامل 1/95 گرم کلرید آمونیوم، 0/24 گرم دی پتاسیم هیدروژن فسفات، 0/01 گرم سولفات آهن II، 0/05 گرم کلرید پتاسیم، 0/01 گرم کلرید کلسیم، 1 میلی لیتر محلول میکرو عناصر در 1000 میلی لیتر آب مقطر بود. محلول میکرو عناصر نیز شامل 70 میلی گرم کلرید روی، 100 میلی گرم کلرید منگنز، 200 میلی گرم کلرید کبالت، 100 میلی گرم کلرید نیکل،

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

20 میلی گرم کلرید مس II، 50 میلی گرم مولیبدات سدیم، 26 میلی گرم سلنیت سدیم، 10 میلی گرم وانادات سدیم، 30 میلی گرم ولفرامات سدیم، 1میلی لیتر اسید کلریدریک 25% بود که در 1000 میلی لیتر آب مقطر حل شد (15).

برای بررسی معدنی شدن نفت خام 1ml از نمونه باکتری با کدورتی (OD650nm) معادل 0/13 (حدود 108 باکتری) به ارلنهای شیاردار حاوی 100 ml محیط پایه صورت گرفت. یک ارلن شاهد بدون باکتری نیز تهیه شد. ارلن‌ها پس از افزودن یک گرم نفت خام استریل در دمای آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفتند. با استفاده از این تکنیک از بین 15 سویه جداسازی شده بر روی پلیت، 5 سویه بر اساس رشد بر روی محیط پایه حاوی 1 درصد نفت خام بعنوان تنها منبع جداسازی شدند. که بهترین سویه در تجزیه زیستی نفت خام جهت مطالعات بیشتر انتخاب گردید. این سویه که Abt1 نامگذاری شد، قادر بود در مدت 10 روز نفت خام را بطور قابل توجهی تجزیه و مصرف نماید.

شناسایی سویه تحت مطالعه: شناسایی سویه تحت مطالعه از طریق آزمایش‌های تشخیصی بیوشیمیایی(16) و آنالیز فیلوژنی قطعه ژن 16S rDNA انجام شد. در این بررسی ابتدا DNA ژنومی به روش ذکر شده در کتاب روش های اکولوژی میکروبی مولکولی(15) از کشت خالص تازه باکتری استخراج و تکثیر ژن 16S rDNA با پرایمرهای یونیورسال ژن16S rDNA که توالی‌های هر دو شامل F(۵´-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-۳´) و R (5´-ACGGCTACCTTGTTACGACTT-3´) بودند، انجام شد و بعد از انجام الکتروفورز روی ژل، محصولات PCR از روی ژل بازیابی شده و قطعات تکثیر شده و خالص شده توسط DNA Sequencer و به روش اتوماتیک (SEQLAB, Germany) بر اساس Chain Termination Method روش به سفارش شرکت سیناژن (Tehran, Iran) تعیین توالی شد برای تعیین میزان قرابت با باکتریهای دیگر جستجوهایی در بانک‌های اطلاعاتی EMBL/GenBank انجام شد. پس از انجام دادن BLASTN در پایگاه اطلاعاتی NCBI با استفاده از نرم افزار Mega4 درخت فیلوژنی باکتری رسم شد.

آزمایش نمک دوستی: برای بررسی توانایی رشد باکتری مذکور و تجزیه نفت خام در غلظت های مختلف نمک و بررسی اینکه آیا سویه هالوتولرانت است، این آزمایش انجام شد. برای این منظور از محیط پایه با اضافه نمودن غلظت های متفاوت از صفر تا 7 درصد کلرید سدیم استفاده شد.

بررسی اثر pH بر رشد و مصرف نفت: به منظور بررسی اثر pH بر رشد و همچنین تجزیه ترکیبات نفتی، باکتری مذکور در ارلن‌های شیاردار 250 ml حاوی 100 ml محیط پایه کشت داده شد. pH محیط ها توسط بافر Tris/HCl استریل بعد از اتوکلاو بر روی 5، 6، 7، 7/5، 8، 9، 10 و 11 تنظیم شد و برای مدت 14 روز در دمای 35 درجه با دور شیکر 140 دور در دقیقه گرماگذاری انجام شد. رشد باکتری‌ها از نظر ایجاد کدورت در محیط کشت با برداشتن 1ml از محیط کشت و سانتریفیوژ کردن و دور ریختن مایع رویی و سپس حل کردن رسوب باقیمانده درآب مقطر در طول موج 650 نانومتر اندازه گیری شد. لازم به ذکر است که تمامی آزمایشات به صورت سه تکرار موازی انجام شد.

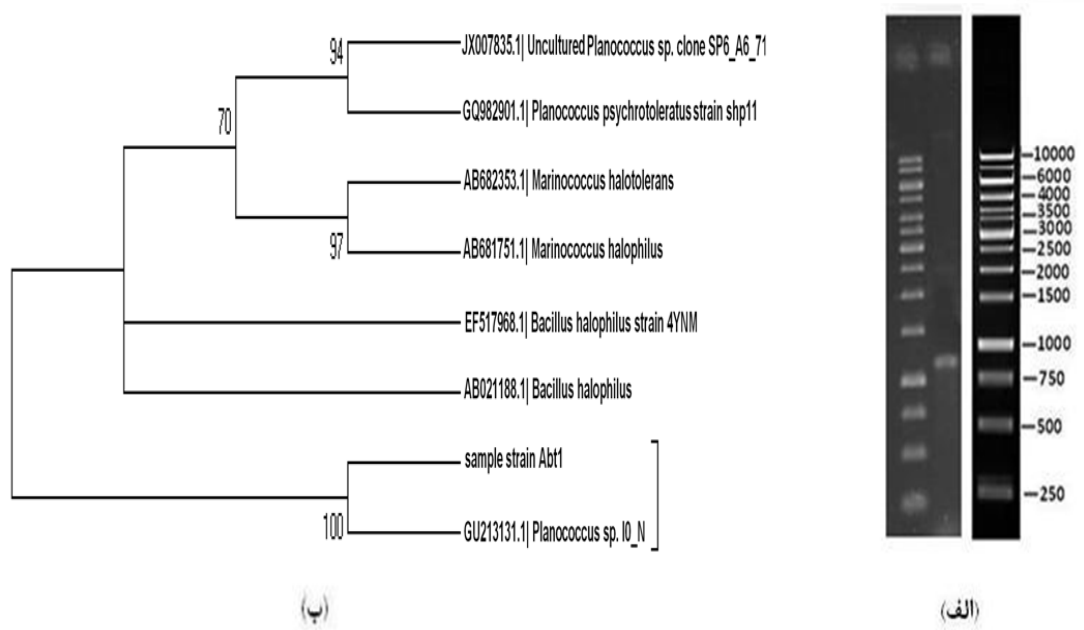
بررسی و تعیین N و P بهینه در تجزیه نفت: تعیین مقدار مورد نیاز N و P برای مینرالیزه کردن نفت خام، با در نظر گرفتن فاکتورهای بهینه pH و نمک برای تعیین مقدار بهینه N برای تجزیه یک گرم نفت خام توسط باکتری مذکور، مقادیر مختلفی از NH_4Cl بعنوان منبع نیتروژن برابر با 0/049، 0/097، 0/146، 0/195، 0/244، 0/292 و 0/341 گرم در محیط های کشت پایه بکار برده شد. این مقادیر بر اساس استاندارد بکار رفته توسط گیبس که نسبت C:N:P را برای تجزیه یک گرم نفت خام 100:10:1 تعیین کرد در نظر گرفته شد(18). در نهایت، برای تعیین مقدار بهینه P برای تجزیه یک گرم نفت خام نیز مقادیر متفاوت P یعنی 0/006، 0/012، 0/018، 0/024، 0/03، 0/036 و 0/042 گرم Na2HPO4 به محیط ها اضافه شد (18).

اندازه گیری پروتئین: اندازه گیری میزان پروتئین کل سلولی بعنوان شاخص دقیق تجزیه زیستی نفت، مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور 1 ml از محیط کشت حاوی باکتری در لوله آزمایش ریخته و سانتریفوژ شد. رسوب سلولی توسط سود 0/3 مولار به مدت 90 دقیقه در بن‌ماری 60 درجه سانتی گراد لیز شد و سپس رنگ آمیزی پروتئین به روش لاری صورت گرفت. با استفاده از منحنی خطی استاندارد از آلبومین سرم گاوی، مقدار پروتئین کل تولیدی، بطور روزانه تعیین شد(19).

یافته ها

شناسایی باکتری: خصوصیات مورفولوژیک و تست‌های بیوشیمیایی باکتری شباهت آنرا با جنس پلانوکوکوس نشان داد و کلنی های ایجاد شده بر روی پلیت آگار زرد نارنجی با حاشیه

صاف و محدب بودند. نتایج تست های بیوشیمیایی در جدول شماره 1 آورده شده است. آنالیز فیلوژنی قطعه 16S rDNA نیز قرابت این سویه را با 100 درصد شباهت به جنس پلانوکوکوس (Accession GU213131) تایید نمود. شکل شماره 1 نمایی از ژل الکتروفورز قطعه 16S rDNA و مارکر را نشان می دهد.



شکل 1. الف) باند 16S rDNA حاصل از PCR بر روی ژل آگاروز 1% و نمایی از مارگر 1kb شرکت فرمنتاز بکار گرفته شده در این الکتروفورز ب)درختچه فیلوژنتیکی حاصل از alignment قطعه ژن 16S rDNA توسط برنامه Mega4 که ارتباط Abt1 را با سایر باکتری ها نشان می دهد.

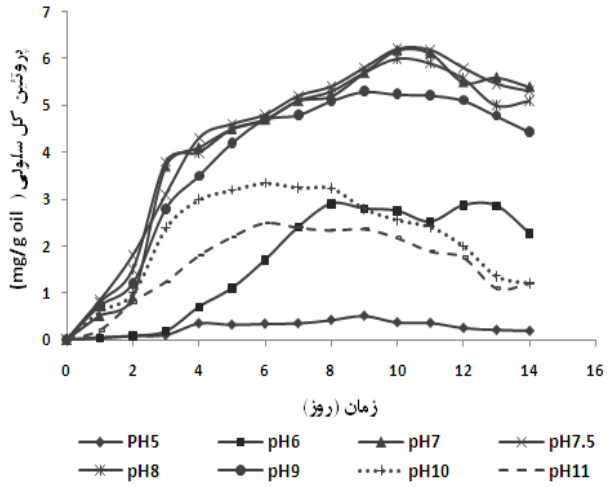
جدول شماره 1. مشخصات بیوشیمیایی و مورفولوژیک باکتری Abt1

تست	نتیجه	تست	نتیجه
مورفولوژی کلنی بر روی پلیت مولر هینتون آگار	*دایره ای، محدب و صاف، پیگمنت زرد نارنجی*	هیدرولیز نشاسته	منفی
شکل میکروسکوپی	*کوکسی جفت جفت و قطر تقریبی* 1/5- 1 میکرومتر	هیدرولیز ژلاتین	مثبت
رنگ آمیزی گرم	منفی	رشد در مک کانکی آگار	منفی
تست حرکت با فلاژل(تست کلارک)	مثبت	رشد در مانیتول سالت آگار	منفی
رشد در شرایط بی هوازی	منفی	کپسول	منفی
کاتالاز	مثبت	احیای نیترات	منفی
اکسیداز	منفی	تست تولید اسید/گاز	مثبت

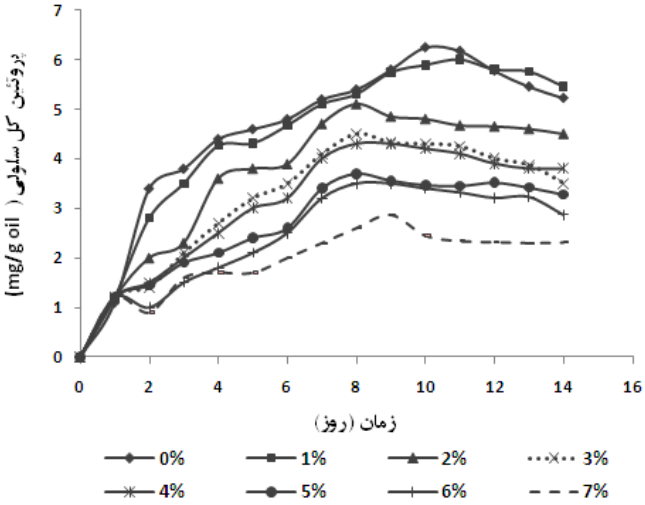
نتایج بررسی اثر pH: در بررسی اثر فاکتورهای محیطی در تجزیه نفت توسط باکتری ایزوله و انتخاب شده در این پروژه دو شاخص کدورت سنجی در طول موج 650 nm و سنجش پروتئین کل تولید شده، به عنوان شاخصهای رشد و مصرف نفت مورد ارزیابی قرار گرفت. نمودار 1 نتایج حاصل از این بررسی را در مورد فاکتور pH نشان می دهد. همانطور که مشخص است، سویه Abt1 قادر است در دامنه وسیعی از pH 7 تا 10 فعالیت کند و نفت خام موجود را تجزیه نماید که منحنی رشد سلولی و پروتئین کل تولیدی نشان دهنده این مطلب می باشد. باکتری در pH های 7/5 و 8 نسبت به سایر pH ها سریعتر وارد فاز رشد لگاریتمی شده یا به عبارتی دیگر فاز تاخیر کوتاهتری دارد بطوریکه در pH برابر 7/5 و 8 میزان پروتئین کل تولیدی پس از 10 روز، به ترتیب 6/2 و 6 میلی‌گرم بود. در حالیکه pH های 6 و 10 رشد بسیار کمی مشاهده شد و در pH های 5 و 12 هیچگونه رشدی صورت نگرفت. از آنجا که فاکتور pH بر روی رشد و تجزیه زیستی نفت خام توسط باکتری ها مهم می باشد و رشد باکتری و تولید بیوسورفاکتانت منجر به اسیدی شدن محیط کشت می گردد. از این لحاظ بررسی و کنترل pH محیط کشت حائز اهمیت بسیار می باشد. با توجه به نتایج بدست آمده، این سویه قادر به معدنی کردن نفت خام و رشد در دامنه ای بین 7 تا 8 است. بنابراین تغییرات شرایط محیطی از نظر pH می تواند سبب توقف رشد و فرآیند تجزیه زیستی نفت توسط Abt1 گردد.

نتایج بررسی تجزیه و مصرف نفت خام در غلظت های متفاوت نمک: نتایج حاصل از بررسی معدنی کردن نفت توسط سویه Abt1 در غلظت های مختلف نمک در نمودار 2 نشان داده شده است. بر اساس این نتایج باکتری هالوتولرانت Abt1 قادر است در غلظت های صفر تا هفت درصد کلرید سدیم رشد نموده و نفت خام را معدنی نماید؛ هرچند که بیشترین کارایی مصرف نفت در شوری های بسیار کم مشاهده شد. و در غلظت های بالا میزان تجزیه نفت خام و در نتیجه رشد کاهش داشت (نمودار 2).

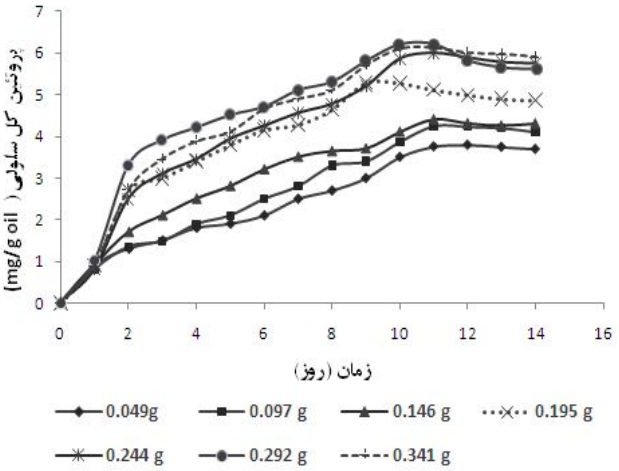
نتایج بررسی مقدار N و P مورد نیاز برای تجزیه زیستی ترکیبات نفتی: همانطور که در نمودارهای 3 و 4 مشاهده می شود مقادیر بهینه N و P برای تجزیه 1 گرم نفت خام توسط سویه Abt1 به ترتیب معادل 0/292 گرم NH_4Cl و 0/036 گرم Na_2HPO_4 تعیین شد که نسبت به موارد گزارش شده توسط گیبس بالاتر می‌باشد(17). گیبس مقدار N و P لازم برای تجزیه یک گرم نفت خام را به ترتیب معادل 0/195 گرم NH_4Cl و 0/024 گرم Na_2HPO_4 گزارش کرده است. به دلیل اینکه افزایش مقادیر N و P سبب مهار رشد باکتری و در نتیجه کاهش فعالیت نفت خواری می شود(4). لذا تعیین حداقل مقدار مورد نیاز N و P مورد بررسی قرار گرفت.



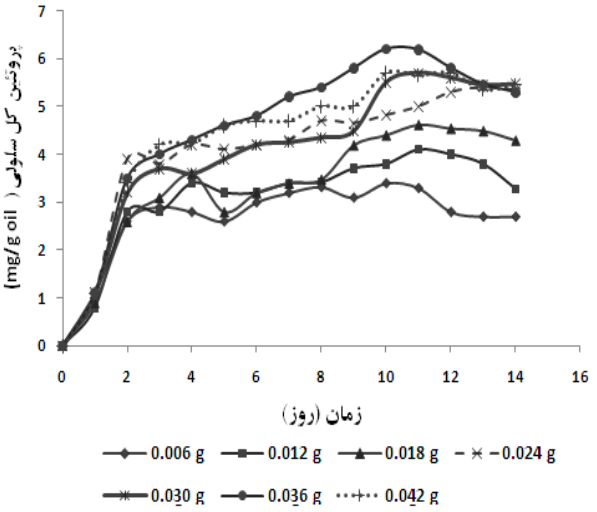
نمودار 1. بررسی اثر فاکتور pH در تجزیه زیستی نفت خام توسط باکتری هالوتولرانت Abt1 در محیط پایه با دور شیکر 140rpm و در شرایط دمایی 30 ± 2°C با بررسی مقدار پروتئین کل تولید شده طی یک دوره زمانی 14 روزه



نمودار2. بررسی اثر غلظت نمک در تجزیه زیستی نفت خام توسط باکتری هالوتولرانت Abt1 در محیط پایه با pH 7/5، دور شیکر 140 rpm و دمای 30 ± 2 °C با بررسی مقدار پروتئین کل تولید شده طی یک دوره زمانی 14 روزه



نمودار 3. بررسی اثر غلظت منبع نیتروژن (NH4Cl) در تجزیه زیستی نفت خام توسط باکتری هالوتولرانت Abt1، در محیط پایه با pH 7/5، غلظت نمک صفر در صد، دور شیکر 140 rpm و دمای 30 ± 2°C با بررسی مقدار پروتئین کل تولید شده طی یک دوره زمانی 14 روزه



نمودار 4. بررسی اثر غلظت منبع فسفر (Na2HPO4) در تجزیه زیستی نفت خام توسط باکتری هالوتولرانت Abt1، در محیط پایه با pH 7/5، غلظت نمک صفر در صد، 0/244 گرم NH4Cl، دور شیکر 140 rpm و دمای 30 ± 2°C با بررسی مقدار پروتئین کل تولید شده طی یک دوره زمانی 14 روزه

بحث

نشت نفت و محصولات نفت خام در طی مراحل بهره برداری در محیط های دریایی و خاکی اثرات زیانباری را به دنبال داشته است از این رو سازمان حفاظت از محیط زیست جهانی و سازمانهای غیر دولتی حامی محیط زیست در اکثر کشورهای صنعتی تلاشهای زیادی در جهت یافتن راه حل هایی برای این معضل هستند(20). تحقیقات نشان داده است که آلودگیهای نفتی در طبیعت بتدریج با فرآیندهای مختلف به ترکیبات تجزیه پذیر تبدیل شده و به آهستگی توسط میکروارگانیسم های موجود در محیط حذف می شوند (18و21). میکروارگانیسم هایی که در نواحی آلوده به مواد نفتی یافت می شوند اغلب توانایی تجزیه و مصرف این ترکیبات را بعنوان منبع کربن و انرژی دارند. این میکروارگانیسم تحت شرایط سخت در محیط رشد می کنند به همین دلیل کارایی آنها در شرایط طبیعی پایین است. با این وجود اگر شرایط محیطی مناسب برای آنها مهیا شود می توانند با سرعت قابل ملاحظه ای آلاینده های نفتی را تجزیه و بعنوان منبع کربن مصرف نمایند(22). تحقیقات متعددی روی میکروارگانیسم های تجزیه کننده نفت به منظور یافتن بهترین سویه های تجزیه کننده این آلاینده ها در مناطق مختلف صورت گرفته و گزارشات متفاوتی ارائه شده است. Vennilaسویه ای از *پلانوکوکوس هالوتلورانس* را از استخر تبلور نمک جداسازی نمود که توانایی تجزیه نفت را در مدت زمان 24 ساعت داشت (23). در همین راستا Qin و همکارانش با بررسی اثر نمک بر رشد و تجزیه ترکیبات نفتی روی جمعیتی از باکتری های نفت خوار به این نتیجه رسیدند که با افزایش غلظت نمک محیط فعالیت باکتری کاهش می یابد. آنها با استفاده از سویه های مقاوم به نمک در یک دوره 28 روزه توانستند بیشترین مقدار حذف زیستی نفت را به 42/36 درصد برسانند. نتایج بدست آمده از این تحقیق مشابه با تحقیقات Qin بوده با این تفاوت که سویه Abt1 در غلظت‌های بالای نمک در مدت زمان کمتری توانایی حذف 1 درصد نفت را بطور کامل داشته، هرچند که با افزایش نمک محیط سرعت فعالیت کاهش می یابد (24). در تحقیق دیگری Kok و همکارانش نشان دادند که *آسینتوباکتر بومانی* سویه T30C در مدت 30 روز 77 درصد از ترکیبات نفتی را حذف نموده است (25). همچنین Okoh گزارش کرد که *بورخلدریا سپاسیا* RQ1 قادر به حذف 89 درصد نفت خام سنگین در مدت زمان 15 روز می باشد (26).

با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق و مقایسه توانایی سویه Abt1 در تجزیه و حذف ترکیبات نفتی با تحقیقات مذکور مشاهده می شود که این سویه بومی ایران کارایی بسیار بیشتری نسبت به باکتری های گزارش شده داشته و در دامنه وسیعی از غلظت های نمک رشد بیشترین رشد را دارد. همچنین دراین تحقیق مشخص شد که نمونه جداسازی شده یک باکتری هالوتولرانت نفت‌خوار از جنس پلانوکوکوس است که در دامنه وسیعی از شرایط محیطی مثل تغییرات دمایی می تواند رشد کند.

نتیجه گیری

با توجه به توانایی این سویه بومی در تجزیه نفت خام تحت شرایط سخت می‌تواند گزینه بسیار مناسبی جهت استفاده صنعتی در فرآیندهای تجزیه زیستی آلاینده های نفتی محسوب شود.

تشکر و قدردانی

این پژوهش در دانشگاه شهید بهشتی با حمایت مالی دانشکده علوم زیستی بصورت بخشی از یک طرح پژوهشی صنعتی با همکاری شرکت عملیات اکتشاف نفت انجام شده است.

References

1- Sathishkumar M, Binupriya AR, Baik SH, Yun SE. *Biodegradation of crude oil by individual bacterial strains and a mixed bacterial consortium isolated from hydrocarbon contaminated areas.* Clean. 2008; 36(1): 92-96.
2- Maki HS and Haramaya S. *photo-oxidation of Biodegradable crude oil and toxicity of the photo-oxidized products.* Chemosphere. 2005; 44: 1145-1151.
3- Taghvaei GS, Nahri NB, Khosravi M. *Photooxidation of crude petroleum maltenic fraction in natural simulated conditions and structural elucidation of photo products.* Iran J Environ Health Sci Eng. 2007; 4(1): 37-42.
4- Jain PK, Gupta VK, Gaur RK, Lowry M, Jaroli DP, Chauhan UK. *Bioremediation of petroleum oil contaminated soil and water.* Res. J. Environ. Toxicol. 2011; 5(6): 1-26.
5- Diaz E., *Microbial Biodegradation: Genomics and Molecular Biology*. 1st ed. Uk: Casier academic; 2008; pp: 402.
6- Płaza GA, Łukasik K, Wypych J, Nałęcz-Jawecki G, Berry C, Brigmon RL, *Biodegradation of Crude Oil and Distillation Products by Biosurfactant-Producing Bacteria.* Polish. J. Environ. Stud. 2008; 17; 1, pp. 87-94.
7- Brakstad OG, Bonaunet K. *Biodegradation of petroleum hydrocarbons in seawater at low temperatures (0–5°C) and bacterial communities associated with degradation.* Biodeg, 2006; 17: 71-82.
8- Okerentugba PO, Ezerony OU. *Petroleum degrading potentials of single and mixed microbial cultures isolated from rivers and refinery effluent in Nigeria.* Afri. J. Biotech. 2003; 2(9): 288-292.
9- Ganesh S, Satish K, Sanjyot B and Govindwar S. *Biodegradation of kerosene by Aspergillus ochraceus NCIM-1146.* J. Basic Microbio. 2007; 47:400–405.
10- Chaillan F, Fleche AL, Bury E, Phantavong Y, Grimont P, saliot A, Oudot J. Identification and *biodegradation potential of tropical aerobic hydrocarbon-degradaing microorganisms.* Res. Microbio. 2004; 155: 587-595.
11- Vyas TK, Dave BP, *Production of biosurfactant by Nocardia otitidiscaviarum and its role in biodegradation of crude oil.* Int. J. Environ. Sci. Tech. 2011; 8(2): 425-432.
12- Ferhat S, Mnif S, Badis A, Eddouaouda K, Alouaoui R, Boucherit A, Mhiri N, Moulai-Mostefa N, Sayadi S. *Screening and preliminary characterization of biosurfactants produced by Ochrobactrum sp. 1C and Brevibacterium sp. 7G isolated from hydrocarbon-contaminated soils.* Int. Biodet. Biodeg, 2011; 65(8): 1182-1188.
13- Milić JS, Beškoski VP, Ilić MV, Ali SAM, Gojgić-cvijović GD, Vrvić M. *Bioremediation of soil*

heavily contaminated with crude oil and its products: composition of the microbial consortium. J. Serb. Chem. Soc. 2009; 74 (4):455–460.

14- Marzban A, Ebrahimipour Gh, Karkhane M, Fakhari J, Mohseni S, Alaee H. *Evaluation of growth and phosphate uptake by the bacterium Isolated from soils contaminated with coal tar*. J. Microb.l Biotechnol. 2010; 2(5)3: 13-20.

15- Schlegel HG. *Allgemeine Mikrobiologie. 7.* Auflage. Georg Thieme Verlag. 1992.

16- Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT. *Bergey's manual of determinative Bacteriology*, 9th ed., Maryland. Williams and Wilkinson; 1993.

17- Devereux R, Wilkinson S S. *Amplification of ribosomal RNA sequences in: Molecular Microbial Ecology Manual*, Springer; 2004; pp. 509–522.

18- Gibbs CF. *Quantitative studies on marine oil biodegradation of crude oil. I. Nutrient limitation at 14ºC*. Proc. Roy. Soc. 1975; 188: 61-82.

19- Harisha S. *Biotechnology procedures and experiments handbook*. Hingham Massachusetts: Infinity Science Press Llc; 2007; pp: 70-72.

20- Onwurah INE, Ogugua, VN, Onyike NB, Ochonogor AE, Otitoju OF. *Crude Oil Spills in the Environment, Effects and Some Innovative Clean-up Biotechnologies*. Intl J Environ Res.2007; 1(4):307-320.

21- Lazar I, Doborta S, Voicu A , Stefanescu M, Sandulescu L, Petrisor IG. *Microbial degradation of waste hydrocarbons in oily sludge from some Romanian oil fields*. J. Petroleum Sience Engineering.1997; 22: 151-160.

22- Atlas RM. *Stimulated petroleum biodegradation*. CRC. Crit Rev Microbiol. 1977; 5(4): 371-86.

23- Vennila R, Kannan V. *Bioremediation of petroleum refinery effluent by Planococcus halophilus*. Afri J Biotechnol.2011; 10(44): 8829-8833.

24- Qin X, Tang JC, , Li DS, Zhang QM. *Effect of salinity on the bioremediation of petroleum hydrocarbons in a saline-alkaline soil*. Lett. Appl. Microb. 2011: 55: 210-217.

25- Kok CL, Darah I and Che OI. *A laboratory scale bioremediation of Tapis crude oil contaminated soil by bioaugmentation of Acinetobacter baumannii T30C*. Afri J Microbiol Research. 2011; 5(18): 2609-2615.

26- Okoh Al, Ajisebutu S, Babalola GO, Trejo-Hernandez MR. *Potentials of Burkholderia cepacia strain RQ1 in the biodegradation of heavy crude oil*. Int. Microb. 2001; 4: 83-87.