نقش میکروارگانیسم ها در زیست پالایی

سامان باقری[۱]، ذبیح الله اعظمی ساردویی[۲] و فرناز فکرت[۲]

دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی[۱]، عضو هیئت علمی بخش گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی[۲]، دانشگاه جیرفت

Email: S.Bagheri@ujiroft.ac.ir

چکیده

با رشد روز افزون فعالیت های صنعتی و رعایت نکردن الزامات زیست محیطی در چند دهه ی گذشته مقادیر زیادی آلاینده وارد محیط زیست شده است. در حال حاضر بهترین روش برای حذف آلودگی ها، زیست پالایی می باشد که با بهره گیری از متابولیسم بالقوه میکروارگانیسم ها از جمله باکتری به پاک کردن محیط زیست می پردازد. عامل کلیدی در زیست پالایی موجودات زنده ی ذره بینی و باکتری ها می باشند در حالی که دیگر موجودات (به عنوان مثال قارچ ها و پروتوزآها) نیز بر این فرآیند تاثیر دارند. نقش غیر مستقیم میکروارگانیسم ها پشتیبانی از رشد گیاهان انباشتگر و در نتیجه کمک به پاکسازی فلزات سنگین، آلاینده های نفتی و سموم از محیط می باشد. زیست پالایی هنوز هم یک تکنولوژی در حال توسعه می باشد که جایگزینی سالم، ارزان و موثر برای دیگر روش های حذف آلاینده ها بشمار میرود.

کلمات کلیدی: آلاینده ها، زیست پالایی، میکروارگانیسم، باکتری ها

مقدمه:

با گسترش روز افزون فعالیت های صنعتی از یک سو و رعایت نکردن الزامات زیست محیطی از سوی دیگر سبب شده است تا در چند دهه ی گذشته مقادیر زیادی آلاینده وارد محیط زیست شود. تغذیه گیاه بستگی به فعالیت متابولیکی موجودات زنده ی ذره بینی خاک دارد. بنابراین تغییرات در جامعه خاکزیان اثر مستقیم و غیرمستقیم بر سلامت و بقاء گیاهان و بالطبع آن جوامع بشری دارد (Rajaei, Raiesi et al. 2012). در ضمن باکتری ها و سایر موجودات زنده ی ذره بینی خاک با ذخیره عناصر سنگین و ترکیبات سمی دیگر از تجمع بالای آن در گیاه و ورود آنها به سیستم بدنی انسانی از مضرات ناشی از آنها جلوگیری می کنند حال با کاهش شمار این موجودات زنده ی ذره بینی میزان تجمع عناصر سنگین و سمی در گیاه افزایش یافته و این می تواند تهدیدی برای زندگی بشر باشد (Riley and Chavan, 2006). روش های متنوع شیمیایی، فیزیکی و بیولوژیکی برای حذف این آلاینده ها از محیط وجود دارد. در حال حاضر بهترین روش برای حذف آلودگی ها زیست پالایی می باشد. عامل کلیدی در زیست پالایی موجودات زنده ی ذره بینی و باکتری ها که قادر به رشد و حیات با حداقل شرایط می باشند، است (Bennett, 1993). موجودات زنده ذره بینی به عنوان ابزار مناسب برای تخریب آلاینده ها هستند، زیرا آنزیم هایی ترشح می کنند که به آنها اجازه می دهد از آلاینده ها به عنوان منبع غذایی استفاده کنند، از طرف دیگر نیز به خاطر اندازه ی کوچک و سطح ویژه بالا براحتی با این آلاینده ها تماس پیدا می کنند. زیست پالایی می تواند برحسب مورد، به دو صورت زیر انجام شود: ۱- زیست پالایی در محل: یعنی اصلاح آلودگی آب و خاک در محیطی که شناسایی کرده ایم که شامل: تحریک بیولوژیکی، تلقیح بیولوژیکی. ۲- زیست پالایی خارج از محل: شامل انتقال آب یا خاک آلوده به محلی دیگر و سپس اصلاح آن است. که شامل کمپوست کردن، آیش و راکتورهای بالای زمین می باشد (Bennett, 1993). اکثر محققان اعتقاد دارند که زیست پالایی در محل بهترین روش می باشد.

میکروارگانیسم های موثردر زیست پالایی:

زیست پالایی یک تکنولوژی است که با بهره گیری از متابولیسم بالقوه میکروارگانیسم ها به پاک کردن محیط زیست می پردازد. یکی از ویژگی های مهم زیست پالایی این است که در محیط های باز و غیر استریل که حاوی انواع موجودات هستند قابل اجرا می باشد. باکتری ها، توانایی تجزیه آلاینده ها و معمولا در زیست پالایی نقش مرکزی دارند در حالی که دیگر موجودات (به عنوان مثال قارچ ها و پروتوزآها) نیز بر این فرآیند تاثیر دارند. درک عمیق تر از اکولوژی میکروبی مکان های آلوده باعث بهبود فرآیند زیست پالایی می شود. در دو دهه گذشته، ابزارهای مولکولی، مثل روش های rRNA برای بررسی اکولوژی میکروبها معرفی شده است، این ابزارها جمعیت طبیعی میکروب ها را بدون کشت کردن تجزیه و تحلیل می کند. محیط زیست طبیعی، پناهگاه طیف گسترده ای از میکروارگانیسم های ناشناس تجزیه کننده ی آلاینده ها است که نقش حیاتی در زیست پالایی دارند. تصور می شود که اطلاعات مولکولی زیست محیطی برای توسعه استراتژی بهبود زیست پالایی و ارزیابی پیامدهای آن (ازجمله ارزیابی ریسک) مفید باشد. جوامع میکروبی بسیار متنوع هستند، استفاده از تکنیک های مولکولی برای مطالعه تنوع میکروبی نشان از وجود تنوع باور نکردنی ژنوتیپ ها و گونه ها در زیستگاه های شناخته شده می باشد (Watanabe, 2001).

نقش باکتری های افزایش دهنده رشد در زیست پالایی:

نقش غیر مستقیم میکروارگانیسم ها، افزایش رشد گیاهان انباشتگر و در نتیجه کمک به پاکسازی فلزات سنگین از محیط می باشد. میکروارگانیسم های مرتبط با ریشه گیاهان را افزایش دهنده ی رشد یا PGPR[1] می نامند. باکتری های افزایش دهنده ی رشد گروه متنوعی هستند که زندگی آزاد در خاک دارند و می توانند سبب بهبود رشد گیاه میزبان و کاهش اثر فلزات سنگین بر روی گیاهان شوند. باکتری های افزایش دهنده رشد سبب اثرات مفیدی بر روی رشد گیاه از راه، تغذیه توسط تثبیت نیتروژن، تولید فیتوهورمون ها و سیدروفورها و انتقال عناصر غذایی به گیاه می شوند. پسماندهای معدنی مناطق آلوده به فلزات سنگین برای افزایش رشد گیاه توسط باکتری های افزایش دهنده رشد در مناطق آلوده پیشنهاد شده، که همراه بذر گیاهان *Atriplex lentiformis* و *Buchloe dactyloides* در مرحله کاشت باکتری های افزایش دهنده ی رشد افزایش می یابند. با بهبود رشد و عملکرد *Cicer arietinum*، *Vigna radiate* و *Pisum sativum* سمیت فلزات به کمک باکتری های افزایش دهنده ی رشد کاهش می یابد. باکتری های افزایش دهنده رشد با افزایش رشد و کاهش مسمومیت فلزات سنگین که به علت افزایش مواد مغذی خاک است آنها را یکی از گزینه های مناسب برای زیست پالایی معرفی کرده است. سودوموناس فلورسنت ها که سبب افزایش رشد گیاهان می شوند دلیل افزایش مقاومت گیاه کلزا به سطوح بالایی از کادمیوم و کاهش اثر جانبی آن بودند. ریزوباکترها بیشترین افزایش بهره وری و پاکسازی را در حضور کادمیوم دارند. میکروب ها، به ویژه باکتری ها قادر به کاهش ظرفیت کروم هستند و همچنین مقاومت به کروم بدلیل پلاسمید و کاهش ظرفیت کروم بواسطه آنزیم ها می باشد (Singh and Prasad, 2014).

[1]- Plant growth promoting rhizobacter (PGPR)

برنامه های کاربردی زیست محیطی از سلول های میکروبی تثبیت شده:

آنزیم های میکروبی، اندامک ها و سلول های تثبیت[۲] شده در انواع برنامه های کاربردی علمی و صنعتی استفاده می شوند. اهمیت اقتصادی سلول های تثبیت شده منجر به تحقیقات قابل توجهی برای کاربردهای صنعتی شده است. فناوری تثبیت به طور گسترده در کارخانجات بیوراکتور تجاری استفاده شدند. افزایش فعالیت های متابولیکی، تولید متابولیت و افزایش پایداری پلاسمید سلول های محصور شده به وسیله کپسول در مقایسه با سلول های آزاد مشاهده شده است. به طوری که استفاده از سلول های تثبیت شده در کشاورزی، بیوکنترل کاربرد آفت کش ها و تجزیه ی بیولوژیکی آلاینده ها در خاک های آلوده و آب های زیرزمینی همه مورد بررسی قرار گرفته شده اند. ریزجلبک ها برای جداسازی فلز و مواد مغذی از فاضلاب استفاده می شوند. از باکتری های کپسول دار(Pseudomonas، Xanthomonas، Rhodococcus، Candida) برای جذب فلز و تخریب ترکیبات سمی استفاده می شود. موفقیت یک روش زیست پالایی بستگی به استقرار میکروارگانیسم ها و بیان ژن لازم تجزیه کننده دارد. پدیدار شدن کپسول یکی از بهترین ویژگی هایی است که به استقرار میکروارگانیسم ها کمک می کند. بسیاری از ژن های کد کننده ی آنزیم های تجزیه کننده در پلاسمیدها می باشند. بنابراین افزایش ثبات پلاسمید یک مزیت در هنگام استفاده از میکروارگانیسم ها برای زیست پالایی خاک خواهد بود (Cassidy, Lee et al. 1996).

زیست پالایی فلزات:

سمیت و آلودگی فلزات در محیط زیست یک مشکل جدی است. شواهد نشان می دهد که بدن میکرو ارگانیسم ها نسبت به استرس فلزات سنگین به مراتب حساس تر از ماکرو ارگانیسم های خاک یا گیاهان در حال رشد خاک می باشند. در مطالعات اخیر با استفاده از ابزارهای مولکولی به تجزیه و تحلیل جمعیت باکتری ها و آرکه آ[۳]پرداختند که قادر به زنده ماندن در محیط های آلوده به فلزات بودند. بررسی و مطالعات توالی های بدست آمده در خاک های آلوده به فلزات سنگین، وابسته به دو گروه α- proteobacteria و Actinobacteria بودند. برخی از باکتری ها با سم زدایی برای زیست پالایی فلزات مفید هستند و برخی دیگر مانند باکتری *Ralstonia eutropha* با مهندسی ژنتیک نسبت به فلزات سنگین مقاوم شده است و سبب بیان متالوتیونئین[۴] در سطح سلول می شود (Watanabe, 2001). باکتری ازتوباکتر در فقدان مولیبدات در اکوسیستم قادر به تشکیل یک نیتروژناز[۵] وابسته به vanadate برای تثبیت نیتروژن است. جنس Sulfolobus دارای حداقل غلظت مهاری ۲۰ میلی مولار vanadate است (Nies, 1999). اپرون ars طرح مقاومت به آرسنیک را در باکتری ها تشکیل می دهد (ژن مقاومت به آرسنیک است). ژن ARS در کروموزوم ها یا پلاسمید کد گذاری شده در تعداد زیادی از باکتری های گرم منفی متعلق به α و γ پروتئوباکتریا[۶]و همچنین در باکتری های گرم مثبت[۷] یافت شده اند. این مجموعه ژن در یک اپرون arsRBC در کروموزوم *Escherichia coli*، *Pseudomonas fluorescens* MSP3 و همچنین پلاسمیدهای pl258 و psx267 در Staphylococcus یافت شده

---

[2]- Immobilization
[3]- Archae
[4]- Metallothionein
[5]- Nitrogenase
[6]- proteobacteria
[7]- Firmicutes

اند (Páez-Espino, Tamames et al. 2009) . گونه نمک دوست *Nesterenkonia sp* به غلظت بسیار بالای کرومات مقاوم است و قادر به کاهش 600 Mm به 200 Mm در مدت ۲۴ ساعت تحت شرایط هوازی می باشد. *Bacillus circulans* در مدت ۲۸ ساعت 190 Mm کرومات را تحت شرایط هوازی و غیرهوازی به حداکثر کاهش رساند. تعدادی از باکتری های موثر در کاهش کرومات: *Microbacterium sp*.Mp-30، *Thermus scotoductus* SA-01، *Sphearotilus natans*، *Bacillus sp*.KCH-3، Leucobacter KCH4، *Arthrobacter aurescens* P4 (Kanmani, Aravind et al. 2012; Cheung and Gu, 2007).

د-د-ت و میکروارگانیسم های موثر بر آن:

حشره کش DDT (1,1,1-trichloro-2,2-bis-(4-chlorophenyl) ethane) از دهه ی ۱۹۴۰ برای کنترل آفات کشاورزی به طور گسترده استفاده می شد و هنوز هم در بسیاری از کشورهای گرمسیری برای کنترل پشه استفاده می شود. با وجود ممنوعیت استفاده از DDT در بسیاری از کشورهای صنعتی از سال ۱۹۷۲، هنوز باقی مانده های آن در محیط زیست بر سلامت انسان و حیوانات تأثیر دارد. فرآیندهای غیرزنده مانند تبخیر، جذب و تجزیه بر اثر نور خورشید به کاهش DDT در خاک کمک می کند، ولی تأثیری روی ساختمان شیمیایی آن ندارد. در مقابل تجزیه بیولوژیکی این پتانسیل را دارد که غلظت DDT را به طور قابل توجهی در خاک کاهش دهد. این روش نیز مقرون به صرفه است، بسیاری از باکتری ها و برخی از قارچ ها،DDT را به محصولات مختلفی که تخریب بیشتری دارند تبدیل می کنند. قارچ ها و باکتری هایی که در کشت خالص باعث کاهش دادن DDT شده اند: *Escherichia coli*، *Enterobacter aerugenes*، *Proteus vulgaris*، *Enterobacter cloacae*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Bacillus spp*، *Polyporus versicolor*، *Pleurotus ostreatus*، *Aspergillus flavus*، *Phellinus weirii*، *Thanatephorus cucumeris* (Foght, April et al. 2001).

تاثیر میکروارگانیسم ها بر روی آلاینده های مونو آروماتیک:

آلاینده های مونو آروماتیک مانند بنزین، تولوئن، اتیل بنزن و مخلوط زایلن ها در حال حاضر به عنوان آلاینده های گسترده آب های زیر زمینی هستند. میکروارگانیسم ها مانند باکتری ها، قارچ ها و ریزجلبک ها نقش کلیدی در حذف مونو آروماتیک ها در فرایندهای زیست پالایی ایفا می کنند. آلاینده های مونو آروماتیک به عنوان منابع کربن، مواد مغذی ماکرو (ازت و فسفر)، مواد مغذی میکرو(Ca^{2+}، Mg^{2+}، Na^{+}، K^{+}، S^{2-} و کوفکتورها مثل فلزات سنگین)، پذیرنده ی الکترون (اکسیژن الکترون پذیرنده برای متابولیسم های هوازی و نیترات، سولفات، آهن، دی اکسید منگنز و کربن برای متابولیسم های بی هوازی) برای میکروارگانیسم ها تلقی می شوند. میکروارگانیسم هایی که در تخریب آلاینده های آروماتیک مؤثراند: *Rhadococcus rhodochrous*، *Pseudomonas putida* و *P.fluorescens* علیه (بنزن، تولوئن، اتیل بنزن، زایلن ها)، *Blastochloris sulfoviridis* TOP1، *Burkholderia cepacia* G4 و *Ralstonia picketii* PKO1 علیه (تولوئن)، *Azoarcus tolulyticus* Td15 علیه (تولوئن، زایلن ها)، *P.aeruginosa* علیه (بنزن) و Geobacteraceae علیه (بنزن، تولوئن و زایلن ها) است (Farhadian, Vachelard et al. 2008; Fernández-Luqueño, Valenzuela-Encinas et al. 2011).

بحث و نتیجه گیری:

وجود پوشش گیاهی به علت ارتقاء و بهبود خصوصیات خاک بوسیله ریشه گیاه و افزایش فعالیت میکروبی خاک، ممکن است باعث افزایش پالایش گردد. آلودگی با نفت خام و مشتقات آن از جمله خطرناکترین انواع آلودگی های

زیست محیطی بشمار می آید، کاربرد ریز جانداران تجزیه کننده مشتقات نفتی از سازوکار اولیه و مهم حذف آلودگی های نفتی از محیط های مختلف می باشد. از ورود میکروارگانیسم های بیرونی به محیط برای سرعت بخشیدن به زیست پالایی استفاده می شود و استفاده از میکروب ها در تصفیه خانه فاضلاب ها یک موضوع عمده اکولوژی میکروبی است که از ابزارهای مولکولی برای تجزیه و تحلیل آنها استفاده می شود. زیست پالایی گرچه به گونه ای پیچیده توسط محیط زیست تحت تأثیر قرار می گیرد ولی روش درمانی کارآمدی است که نه تنها آلودگی را کاهش و یا حذف می کند بلکه اثرات نامطلوب کمتری روی خواص فیزیکی و شیمیایی محیط زیست دارد.

1. Bennett, G. F. (1993). In situ bioremediation: When dose it work?: Committee on In Situ Bioremediation Water Science and Technology Board Commission on Engineering and Technical Systems. National Research Council. 257.
2. Cassidy, M., H. Lee and J. Trevors (1996). ″Environmental applications of immobilized microbial cells: a review." Journal of Industrial Microbiology **16**(2): 79-101.
3. Cheung, KH. and Ji-Dong, Gu (2007). ″Mechanism of hexavalent chromium detoxification by microorganisms and bioremediation application potential: a review.″ International Biodeterioration & Biodegradation **59**(1): 8-15.
4. Farhadian, M., C. Vachelard, D. Duchez and C. Larroche (2008). ″In situ bioremediation of monoaromatic pollutants in groundwater: a review.″ Bioresource Technology **99**(13): 5296-5308
5. Fernández-Luqueño, F., C. Valenzuela-Encinas, R. Marsch, C. Martínez-Suárez, E. Vázquez-Núñez and L. Dendooven (2011). "Microbial communities to mitigate contamination of PAHs in soil—possibilities and challenges: a review." Environmental Science and Pollution Research **18**(1): 12-30.
6. Foght, J., T. April, K. Biggar and J. Aislabie (2001). "Bioremediation of DDT-contaminated soils: a review." Biorernediation Journal **5**(3): 225-246.
7. Kanmani, P., J. Aravind and D. Preston (2012). "Remediation of chromium contaminants using bacteria." International Journal of Environmental Science and Technology **9**(1): 183-193.
8. Nies, D. H. (1999). "Microbial heavy-metal resistance." Applied microbiology and biotechnology **51**(6): 730-750.
9. Páez-Espino, D., J. Tamames, V. de Lorenzo and D. Cánovas (2009). "Microbial responses to environmental arsenic." Biometals **22**(1): 117-130
10. Riley, M. A. and M. A. Chavan (2006). ″Bacteriocins: ecology and evolution″ , Springer.
11. Singh, A. and S. Prasad (2014). "Remediation of heavy metal contaminated ecosystem: an overview on technology advancement." International Journal of Environmental Science and Technology: 1-14.
12. Watanabe, K. (2001). "Microorganisms relevant to bioremediation." Current opinion in biotechnology **12**(3): 237-241.

13. Rajaei, S., F. Raiesi and S. Seyedi (2012). ″the Bioremediation of an aged petroleum-contaminated soil using bioaugmentation and phytoremediation thecniques.″Journal of Water and Soil (Agricultural Sciences and Technology).