✓ پژوهش و سازندگی، شماره ۵۴، بهار ۱۳۸۱

جداسازی و مطالعه رشد و پراکندگی باکتریهای تجزیه کنندهٔ زیستی فنانترن و آنتراسن

● روحا کسری کرمانشاهی، گروه زیست‌شناسی و شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان
● اشرف‌السادات نوحی، ● زهرا اسدی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه تهران
● مجید میر محمدصادقی، گروه زیست‌شناسی شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان

تاریخ دریافت: آذرماه ۱۳۸۰ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ماه ۱۳۸۱

چکیده

فنانترن و آنتراسن که جزء هیدروکربنهای سه حلقه‌ای بوده و ایزومر یکدیگرند، در تهیه رنگها و داروها موارد استفاده فراوانی دارند و سازمان محیط زیست آمریکا فنانترن را یکی از ۱۲۱ ماده آلاینده سمی گزارش نموده است. آنتراسن یکی از مواد حاصل از تقطیر زغال سنگ و احتراق ناقص سوخت‌های فسیلی می‌باشد و در هوای مناطق شهری و صنعتی به فراوانی یافت می‌شود. به دلیل اهمیت این آلاینده‌ها باکتریهای قادر به رشد در این دو نوع ماده مطالعه شده و پراکندگی باکتریها در مناطق گوناگون صنعتی و نیمه صنعتی و شهری تعیین شد. این تحقیقات، مشخص نمود که این دو ماده در مناطق فوق‌الذکر به مقدار متفاوتی وجود دارند و تعدادی از باکتریهای بدست آمده قادرند این مواد را با غلظت‌های گوناگون مصرف نموده و رشد نمایند و آنها را به مواد دیگری تبدیل نمایند. در قسمت دیگری از این پژوهش نوع متابولیت‌های حاصل از تخریب زیستی این مواد توسط باکتریها با روشهایی نظیر T.L.C و کروماتوگرافی گازی اسپکترومتری جرمی (GC-MS) شناسایی شده است و مسیر تجزیه آنها نیز تعیین گردیده است.

کلمات کلیدی: فنانترن، آنتراسن، پراکندگی، باکتری‌های تجزیه‌کننده

✓ Pajouhesh & Sazandegi, No 54 PP:20-23

Study of growth and distribution of phenanthrene and anthracene degrading bacteria

By: R.K. Kermanshahi and Sadeghi M.M, University of Isfahan, Faculty of Sciences, Dept. of Biology, Nouhi A., Assdi Z., University of Tehran, Faculty of Sciences, Dept. of Biology.

Phenanthrene and antrancene are members of the polycyclic aromatic hydrocarbons and they are isomeres of each other. These compounds are frequently in preparing of dyses and drugs. Environmental organisation of USA have reported that phenanthrene is one of 121 poisening and polloting materials. Antracene is one of the products resulting from distillation of coal and incomplete burn of fossil fuel in the areas and therefore it is often found in the industrial regions. Due to their importance we studied the bacteria which used these two compounds, and their distribution were determined in the semi industrial and urban regions. The results showed that these two compounds were of different quantity and some of isoletes of bacteria are able to use them different concentration and changed the compounds to anothers materials. In the urban areas and industrial regions found frequently, therefore, the distribution in microorganisms are important for environmental hygiene, Therefore in the another part of this research we determined the metabolits and pathway of biodegradation of these two compounds by TLC., and GC-MS.

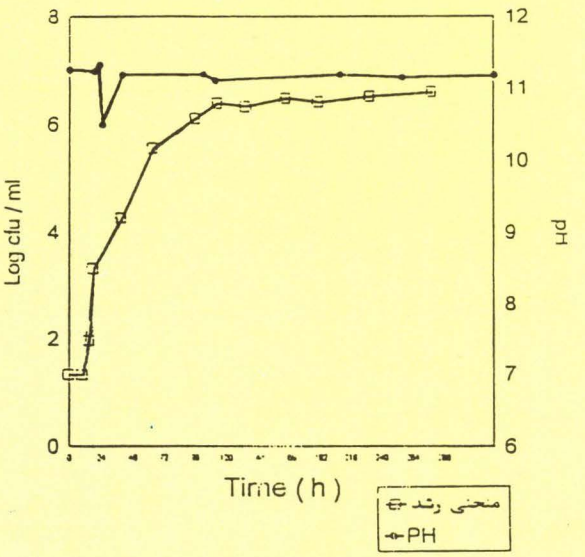
Keywords: Phenanthrene, Antracene, Distribution, Degrading bacteria

مقدمه

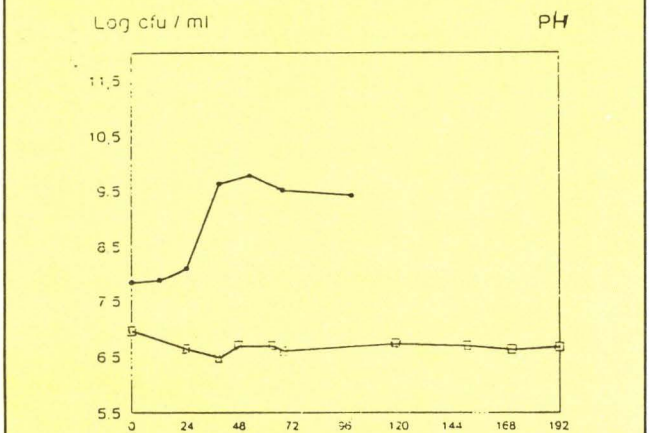
هیدروکربن‌های چند حلقه‌ای، دسته‌ای از ترکیبات آروماتیک با حلقه‌های به‌هم پیوسته می‌باشند که در نتیجه احتراق ناقص سوخت‌های فسیلی و دیگر ترکیبات آلی به دست می‌آیند (۶، ۸). به‌عنوان اجزاء تشکیل دهنده این ترکیبات، از طریق پساب کارخانه‌های تولید کک (Coke)، پالایشگاههای نفت صنایعی که از درجه حرارتهای بسیار بالا استفاده می‌کنند، وارد محیط زیست می‌گردند (۱). همچنین این دسته از ترکیبات بصورت مواد اولیه در تولید مواد دارویی، پلیمرها، مواد منفجره، کودهای شیمیایی، رنگها و بسیاری از ترکیبات دیگر کاربرد داشته و در حین استفاده و با انتقال آنها آلودگی محیط اطراف، اجتناب‌ناپذیر است. این آلاینده‌های محیط زیست، در مجاورت مناطق شهری و مراکز صنعتی به میزان فراوان یافت می‌شوند (۹).

هیدروکربن‌های چند حلقه‌ای ، (PAHS) polycyclic aromatic hydrocarbons به‌علت خواص هیدروفوبیک خود به میزان اندکی در آب محلولند و به سادگی ذرات معلق در آب گرفته شده، و به‌صورت کمپلکس با مواد آلی در محیط‌های آبی پوشیده می‌شوند (۱۳) و به این ترتیب رسوبات رودخانه‌ها دریاچه‌ها و اقیانوسها، محل مناسب ته‌نشین شدن این ترکیبات می‌باشند (۱). این مواد با تراکمی که در این مناطق می‌یابند برای ماهی‌ها و سایر موجودات مصرف کنندهٔ آنها از جمله انسان خطرناک هستند (۲). به‌طور کلی، علت توجه عمده به این مواد، سمیت، سرطانزایی و تمایل آنها به تجمع در بافتهای حیوانی و نیز مقاومت نسبت به تجزیه زیستی می‌باشند (۱۰، ۱۲). تغییر و تبدیلات زیستی هیدروکربنهای چند حلقه‌ای، مهمترین عامل کاهش این مواد در رسوبات و خاک است و در مطالعات مختلف ثابت شده است که تجزیه ترکیبات حلقوی، خصوصاً با وزن مولکولی پائین‌تر، در رسوبات و محیط‌های آبی و خاکی به عهده باکتریهاست و موجودات یوکاریوت سهم ناچیزی از این تجزیه را به‌عهده دارند (۱۱، ۱۴). بنابراین جداسازی و شناسایی باکتریهای تجزیه کننده این مواد و بررسی پراکندگی آنها در محیط از نظر پاکسازی محیط زیست از

منحنی ۱ - منحنی رشد باکتری D-1 و تغییرات pH در محیط کشت معدنی واجد ۵۰۰ mg/ml فنانترن



منحنی ۲ - منحنی رشد باکتری Anti-1 تغییرات pH در محیط کشت معدنی واجد ۵۰۰ mg/ml آنتراسن



جدول مربوط به منحنی (۲)

زمان ساعت	۰	۲۴	۳۹	۴۸	۷۲	۱۲۰	۱۴۴	۱۶۸	۱۹۲
pH	۷	۶/۶۴	۶/۴۸	۶/۷	۶/۶	۶/۷۳	۶/۶۹	۶/۶۲	۶/۶۷

آلودگی موادی نظیر آنتراسن و فنانترن که انتشار گسترده‌ای در طبیعت دارند حائز اهمیت بوده و لذا در این تحقیق به این امر مهم پرداخته شده است. چون این مواد در مناطق پیرامون کارخانه‌هایی که با مواد نفتی سروکار دارند بیشتر یافت می‌شود. لذا با جداسازی این باکتریها در مناطق مزبور و سایر مناطق مشابه به مقایسه بین آنها پرداخته شد.

مواد و وسایل و روش کار

جمع‌آوری نمونه و مکانهای نمونه‌برداری

به منظور جمع‌آوری نمونه از ظروف در دار، اسیدشویی و استریل شده استفاده و نمونه‌ها در کمتر از ۴۸ ساعت در ۴ درجه سانتیگراد به آزمایشگاه منتقل و بلافاصله عملیات مربوط به جداسازی گونه‌های باکتریایی از آنها آغاز شد. اسامی مکانهای مختلف که در طی یک دوره ۱۲ ساعته نمونه‌برداری از آنها به عمل آمده، در زیر آورده شده است. مکانهای نمونه‌برداری به چهار گروه دسته‌بندی شده‌اند:

الف) مناطق شهری غیر آلوده به مواد نفتی و هیدروکربورهای حلقوی

ب) مناطق شهری آلوده به مواد نفتی و هیدروکربورهای حلقوی

ج) مناطق صنعتی که در ارتباط مستقیم با مواد نفتی بوده‌اند

د) مناطق صنعتی که در ارتباط مستقیم با هیدروکربورهای حلقوی بوده‌اند.

نمونه‌های هر یک از این مناطق خود مجموعه‌ای از محلهای گوناگون بود بطوریکه نمونه‌های مناطق مربوط «الف» شامل خاک باغچه زاینده‌رود از اصفهان، آب سواحل دریا بندرعباس، رسوبات ساحل دریای بندرعباس و نمونه‌های مناطق مربوط به قسمت "ب" شامل خاک آغشته به مواد روغنی واقع در گاراژهای اتومبیل در فصول مختلف سال بود و نمونه‌های مربوط به مناطق قسمت «ج» بیشتر از محلهای مختلف پالایشگاه نفت اصفهان و پالایشگاه تهران بوده و نمونه‌های مناطق «د» از کارخانه ذوب آهن اصفهان و جایگاههای مختلف بخش کک‌سازی و خاک مجاور تنگه جوزدان در ضلع‌های شمالی، شرقی، غربی و جنوبی این کارخانه تهیه گردیده است.

محیط کشت‌ها و محلولهای مورد استفاده

از محیط پایه معدنی بدون منبع کربن (MM=Mineral Medium) که از Na_2Hpo_4، ۵/۳ گرم و ۲/۶۷ گرم از NH_4Cl و یک لیتر آب مقطر و H_2O و $Feso_4$ ۰/۴ گرم، H_2o. $Mnso_4$ ۰/۱۵ گرم و YH_2o $Mgso_4$ ۱۰ گرم و $Cucl_2$. H_2o، ۰/۱ گرم و بر حسب ماده مورد آزمایش ۰/۲ میلی‌لیتر از محلول ۲٪ درصد فنانترن در استن و یا به میزان آنتراسن در سطح محیط کشت آگاردار محیط پایه معدنی فوق توزیع شد (۱۱، ۱۵). از مواد دیگر می‌توان از محیط کشت فنانترن آگار، بافرفسفات با مولاریته‌های مختلف نام برد.

جداسازی باکتریهای تجزیه‌کننده فنانترن و آنتراسن

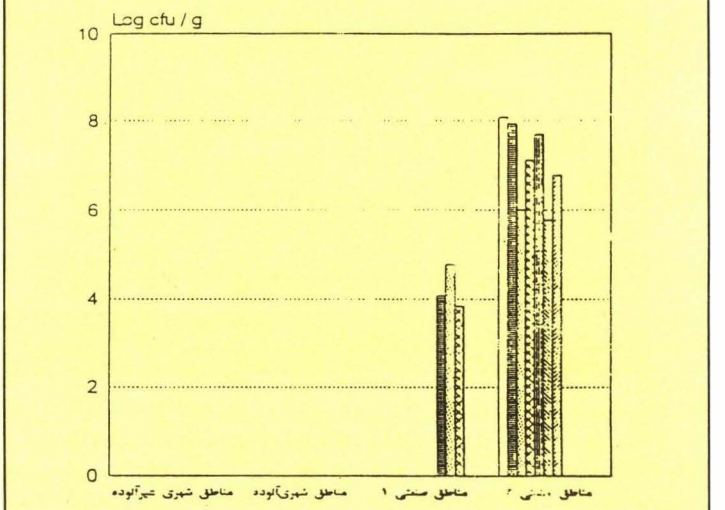
عمل جداسازی باکتریها، در لوله‌های درپیچ‌دار و به‌صورت سه‌تایی[1] انجام شد. به هر لوله ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت پایه معدنی + فنانترن و یا آنتراسن بر حسب هدف آزمایش و یک گرم از نمونهٔ خاک الک شده افزوده شد و بعنوان شاهد به یک لوله بجای خاک یک میلی لیتر آب اضافه گردید.

لوله‌ها در شرایط تاریکی در ۲۵ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. هر روز به مدت یک دقیقه هوادهی توسط شیکر در لوله‌ها انجام شد. در پایان هر هفته، در صورت مشاهده کدورت در محیط کشت، تلقیح به محیط جدید پایه معدنی + فنانترن یا آنتراسن انجام شد عمل تجدید کشت[2] به مدت هر ده روز یکبار ادامه یافته و پس از طی ۳ - ۴ دوره ده روزه و در پایان این مدت با کشت مقدار مناسبی از لوله‌های محتوی نمونه‌های مورد نظر بر روی محیط کشت پایه معدنی + فنانترن یا آنتراسن+ آگار، تک کلنی‌های بدست آمده که در اطراف خود ایجاد هاله در اثر مصرف سوبسترا کرده بودند، انتخاب شدند. این کلنی‌ها را مجدداً به محیط کشت مایع حاوی فنانترن با آنتراسن انتقال داده و در صورت مشاهده کدورت، باکتری مزبور به عنوان باکتری واقعی تجزیه کننده فنانترن و یا آنتراسن بر حسب محیط کشت به کار رفته در نظر گرفته شد.

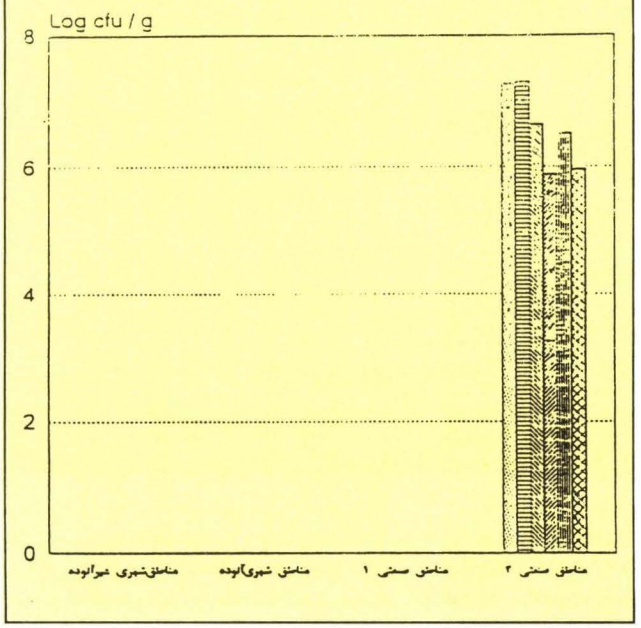
روش بررسی پراکندگی باکتریهای تجزیه‌کننده

به منظور بررسی پراکندگی باکتریهای تجزیه کننده فنانترن و آنتراسن، در نمونه‌های مختلف جمع‌آوری شده اقدام به شمارش این جمعیت باکتریایی در هر نمونه شد. بدین منظور به هنگام مشاهده کدورت در طی دوره تجدید کشت از لوله‌های جداسازی آنها، رقت‌های مختلف تهیه نموده بر روی محیط‌های جامد حاوی سوبستراهای مذکور کشت داده و پس از طی دوره گرماگذاری، کلنی‌های مربوط به هر نمونه شمارش و نتایج بر اساس (cfu/g) گرم / تعداد کلنی (نمونه خاک) و یا cfu/ml (نمونه آب) بیان گردید. نتایج مربوطه نشان

شکل ۱ - پراکندگی باکتریهای تجزیه کنندهٔ فنانترن
مناطق صنعتی ۱: مناطق صنعتی که در ارتباط مستقیم با مواد نفتی بوده‌اند.
خاک بستر حوضچهٔ تبخیر (خشک شده) - پالایشگاه تهران
خاک مجاور حوضچه تبخیر ۱- پالایشگاه تهران
آب حوضچهٔ تبخیر شماره ۱- پالایشگاه تهران
مناطق صنعتی ۲: مناطق صنعتی که در ارتباط با هیدروکربورهای حلقوی بوده‌اند.
خاک مجاور تنگهٔ جوزدان - ضلع شمال (کارخانهٔ ذوب آهن)
خاک مجاور تنگهٔ جوزدان - ضلع شرقی (کارخانهٔ ذوب آهن)
خاک مجاور تنگهٔ جوزدان - ضلع غربی (کارخانهٔ ذوب آهن)
خاک مجاور تنگهٔ جوزدان - ضلع جنوبی (کارخانهٔ ذوب آهن)
خاک مجاورمخزن‌زیرزمین‌واحد قطران بدون آب واقع در بخش کک‌سازی -(کارخانه‌ذوب‌آهن)
ورودی حوضچهٔ تجزیهٔ فنل واقع در بخش کک سازی - ذوب آهن
خروجی‌آب صنعتی‌ازکندانسورواحدقطران‌بدون‌آب‌واقع دربخش‌کک‌سازی -(کارخانه‌ذوب آهن)



شکل ۲- پراکندگی باکتریهای تجزیه کنندهٔ آنتراسن
مناطق صنعتی ۲:
خاک مجاور تنگهٔ جوزدان - ضلع شمال (کارخانهٔ ذوب آهن)
خاک مجاور تنگهٔ جوزدان - ضلع شرقی (کارخانهٔ ذوب آهن)
خاک مجاور تنگهٔ جوزدان - ضلع غربی (کارخانهٔ ذوب آهن)
خاک مجاور تنگهٔ جوزدان - ضلع جنوبی (کارخانهٔ ذوب آهن)
خاک مجاور مخزن زیرزمین واحد قطران بدون آب واقع در بخش کک سازی ذوب آهن
ورودی حوضچهٔ تجزیهٔ فنل واقع در بخش کک سازی - ذوب آهن



داده شده است (شکلهای ۱ و ۲).

شناسایی و رشد باکتریهای تجزیه‌کننده فنانترن و آنتراسن

چون کلیه باکتریهای جدا شده در گروه گرم منفی‌ها قرار داشتند ابتدا از چهار تست کلیدی کاتالاز، اکسیداز، OF گلوکز و رشد بر روی محیط کشت مک کانکی استفاده شده و سپس با استفاده از جدول تست‌های تشخیصی موجود در منابع (۳، ۴، ۷) شناسایی باکتریها انجام گرفت. باکتری Anti-1 احتمالاً *Pseudomonas aerugenosa* می‌باشد ولی برای سایر باکتریها با تست‌های انجام شده، شناسایی کامل آنها امکان‌پذیر نگردیده است.

نتایج بدست آمده در جداول ۱ و ۲ آورده شده است.

روش بررسی سیستماتیک رشد

به منظور تعیین رشد باکتریها در حضور فنانترن و آنتراسن، از روش شمارش کلنی [3] استفاده شد. این روش بر اساس تخمین تعداد میکروبهای زنده در واحد حجم (میلی لیتر) در زمانهای مختلف نمونه‌برداری از محیط کشت است. بدین منظور با استفاده از لولهٔ ۶ مک‌فارلند (۵) تعداد $۳/۶\times۱۰^{۹}$ باکتری وارد ۲۰۰ میلی‌لیتر از محیط‌های کشت پایه معدنی + فنانترن یا آنتراسن شده سپس در فواصل زمانی معین، از سوسپانسیون میکروبی نمونه‌برداری و رقت‌های مختلف از آن تهیه گردید. از هر رقت به میزان ۱۰۰ میکرولیتر بر روی پلیت محتوی نوترینت آگار منتقل و سپس توسط میله شیشه‌ای سرکج استریل بر روی سطح پلیت به طور کامل پخش گردید. این آزمایشات با دو تکرار [4] انجام گرفت و سپس با حاصل‌ضرب تعداد باکتریها در عکس رقت و محاسبه میانگین رقت‌های چندگانه تعداد باکتریها بر حسب واحد تشکیل‌دهنده کلنی (cfu/ml) بیان شد. نتایج مربوطه در منحنی‌های (۱ و ۲) نشان داده شده است.

نتایج

در این قسمت نتایج در دو بخش یکی مربوط به فنانترن و دیگری مربوط به آنتراسن آمده است.

الف) پراکندگی باکتریهای تجزیه‌کننده فنانترن

پراکندگی باکتریهای تجزیه کننده فنانترن در چهارگروه از مناطق نمونه‌برداری در شکل ۱ آورده شده است. همانگونه که مشاهده می‌شود، باکتریهای تجزیه کننده فنانترن از مناطق شهری غیرآلوده و مناطق شهری آلوده به نفت و بنزین، جداسازی نشدند. بیشترین میزان جداسازی این باکتریها در مناطق صنعتی (مناطقی که در ارتباط مستقیم با هیدروکربورهای حلقوی می‌باشند) و با میانگین $۱/۷\times۱۰^{۷}$ cfug^{-1} بوده است. در مناطق صنعتی ۱ نیز (مناطقی که در ارتباط مستقیم با نفت خام و مشتقات آن می‌باشند) در موارد نادری باکتریهای تجزیه کننده فنانترن مشاهده شده میانگین پراکندگی این باکتریها در مناطق صنعتی $۶/۳\times۱۰^{۵}$ cfug^{-1} محاسبه شده است.

بررسی حداقل و حداکثر غلظت تأمین کنندهٔ رشد

باکتری D-1 در زیر غلظت ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر فنانترن قادر به رشد نیست. این باکتری تا غلظت ۳۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر فنانترن را به‌خوبی تحمل نموده و حداکثر کدورت را در غلظت ۷۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر ایجاد کرده است. زمان آغاز کدورت در غلظت‌های ۵۰۰ تا ۱۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر مشابه و حدود ۱۳ ساعت بوده است.

در بالا و پائین این محدوده غلظت، زمان ایجاد کدورت از ۱۸ تا ۳۶ ساعت متغیر بوده بطوریکه در زیر ۳۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر این زمان حتی تا ۳۶ ساعت نیز به طول انجامیده و در بالای ۱۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر، حداکثر زمان ایجاد کدروت، ۲۴ ساعت اندازه‌گیری شده است.

ب) پراکندگی باکتریهای تجزیه‌کننده آنتراسن

پراکندگی باکتریهای تجزیه کننده آنتراسن بعنوان تنها منبع کربن و انرژی در شکل ۲ دیده می‌شود. چنین باکتریایی تنها از مناطق نمونه‌برداری‌هایی که در ارتباط مستقیم و غیر مستقیم با این ماده هستند، جداسازی شدند. میانگین پراکندگی باکتریهای تجزیه کننده در این منطقه $۲/۷۳\times۱۰^{۷}$ cfug^{-1} محاسبه شده است.

جدول شماره ۱- حداقل و حداکثر غلظت تأمین‌کننده رشد آنتراسن

غلظت آنتراسن µg/ml	۵۰	۱۰۰	۳۰۰	۵۰۰	۸۰۰	۱۰۰۰	۱۵۰۰	۲۰۰۰	۲۵۰۰	۳۰۰۰
باکتری										
Anti-1	-	-	-	++	+++	+++	+++	+++	++	-
	۴[a]	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶
C-1	-	-	-	-	++	++	++	-	-	-
	۳۶	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶
مخلوط میکروبی NK-A	-	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	۲۴	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶

a: ساعت آغاز مشاهدهٔ کدورت - عدم رشد یا-رشد ضعیف ++رشد متوسط +++رشد فراوان

بررسی حداقل و حداکثر غلظت تأمین‌کننده رشد

پس از مقایسه عملکرد باکتریها و انتخاب بهترین کشت‌های تجزیه کننده آنتراسن به‌عنوان تنها منبع کربن و انرژی، بررسی حداکثر و حداقل غلظت تأمین کننده رشد این ماده در مورد سویه Anti-1 و C-1 و مخلوط میکروبی NKA انجام گرفت. میزان تراکم آنتراسن و همچنین زمان و میزان کدورت ایجاد شده توسط هر مورد در جدول ۱ آمده است.

مرفولوژی، مشخصات کشت و بیوشیمیایی سویه‌های تجزیه‌کننده آنتراسن

باکتری گرم منفی به‌صورت باسیل‌های کوچک و منظم دیده شد. با توجه به مشخصات مرفولوژیکی، بیوشیمیایی از بین باکتریهای جدا شده مهمترین سویه، Anti-1 تشخیص داده شد. کلنی‌های این باکتری بر سطح محیط آنتراسن آگار+پایه معدنی کوچک، سفید، محدب، براق، کناره صاف و گرد بوده و به راحتی از سطح محیط برداشته می‌شوند. کلنی‌ها بر سطح محیط مغذی (نوترینت آگار) شیری تا کرم رنگ، کوچک کناره صاف محدب و مات بوده و به‌راحتی از سطح محیط قابل برداشته شدن بود. تست‌های بیوشیمیایی که از کشت ۲۴ ساعته باکتری بر روی محیط نوترینت آگار انجام شده در جدول ۲ آورده شده است. این آزمایش‌ها برای سایر سویه‌های تجزیه کننده آنتراسن در جدول ۳ نشان داده شده است.

سینتیک رشد باکتری Antil-1 در حضور آنتراسن

با تلقیح ۲×۱۰^{۷} باکتری در هر میلی‌لیتر از محیط کشت آنتراسن + پایه معدنی با ۰/۵ گرم در لیتر آنتراسن، دوره تأخیر رشد حداکثر ۱۰ ساعت به درازا می‌کشد (منحنی ۲) طول دوره رشد لگاریتمی باکتری در این محیط ۵۳ ساعت و سرعت ویژه رشد در ابتدای دورهٔ رشد لگاریتمی ۰/۱۳ ساعت محاسبه شد.

بررسی تغییرات pH همزمان با تهیه منحنی رشد باکتری انجام گرفت. حداکثر تغییرات pH در دوره رشد لگاریتمی باکتری و به میزان ۰/۹ واحد بوده است در طول فاز ثابت رشد تغییرات کند و یکنواخت pH را می‌توان مشاهده کرد (منحنی ۲).

بحث و نتیجه‌گیری

از نمونه‌های آب و خاک آلوده به نفت خام و هیدروکربن‌های حلقوی و نیز مناطق غیر آلوده به منظور جداسازی قوی‌ترین میکروبهای تجزیه کننده فنانترن و آنتراسن بعنوان تنها منبع کربن و انرژی و همچنین بررسی پراکندگی این باکتریها استفاده شد. باکتریهای تجزیه کننده فنانترن و آنتراسن، تنها منحصر به نواحی است که در تماس مداوم و طولانی مدت با هیدروکربن‌های حلقوی هستند. از مناطق شهری آلوده و غیر آلوده باکتریهای تجزیه کننده این دو ماده بدست نیامد، بنابراین باید گفت که باکتریهای تجزیه کننده این مواد، معمولاً در زیستگاههای اکولوژیک خاصی وجود داشته و لازم است که نمونه‌های مناسب از این زیستگاهها تهیه شود.

گذشته از آن کلیه باکتریهای تجزیه کننده این مواد متعلق به خانواده باکتریهای گرم منفی بودند. بنابراین پتانسیل تجزیه بیولوژیک این مواد، در بین گرم منفی‌ها بیشتر است.

سینتیک رشد و تغییرات pH

در ساعات اولیه رشد سرعت ویژه رشد باکتری D-1 در حضور فنانترن، ۰/۳۱۵۰ در ساعات محاسبه شد، در حالیکه Stucki و Alexander (۱۵) سرعت ویژه رشد یک سویه فلاوباکتریوم و یک سویه بیژرینکیا را در حضور فنانترن به ترتیب ۰/۱۹ و ۰/۲۳ در ساعات عنوان کرده‌اند.

به‌خوبی روشن است که باکتری D-1 در حضور فنانترن، در مقایسه با سویه‌های معرفی شده توسط محققین دیگر، از سرعت رشد بیشتری برخوردار است. دامنه نوسانات pH در محیط کشت باکتری D-1 در حضور فنانترن بسیار کوتاه است (منحنی ۱). تغییرات pH در محیط کشت باکتری Anti-1 در حضور آنتراسن شدید است (منحنی ۲). در طول دوره لگاریتمی رشد، کاهش ۰/۴۲ واحد pH مشاهده می‌شود. کاهش سریع pH را می‌توان به علت تجزیه کامل این ماده دانست.

پاورقی‌ها

1- Triplicate 2- Subculture 3- Colony count 4- Duplicate

منابع مورد استفاده

1- Andelman, J.B., and M.J. Suess. 1970. Polynuclear aromatic hydrocarbons in the water environment. Bull. W.H.O. 43: 479-508.

2- Dipple, A., S.C. Cheng and C.A.H. Bigger, 1990. Polycyclic aromatic hydrocarbon carcinogens. In M.W. Pariza (ed). Mutagens and carcino gens in the diet. Wiky-Liss, Newyork, PP: 109-127.

3- Holt, J.G., N.R. Keriy, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T., Williams. 1994. Bergey´s manual of determinative bacteriology. Williams and Wilkins. Baltimor.

4- King, E., W.A. Clark and D.G. Hollis, R.E. Weaver. 1984. Indentification of unusual pathogenic gram negative aerobic and facultatively anaerobic bacteria. U.S. department of health and human services for disease control (CDC). Atlanta, Georgia. PP: 70-79.

5- King T.E. and R.O. Morris, 1967. Methods enzymology.Academic Press,INC.(London)P:143.

6- Kiyohara, H., Nagao. K.Kouno and K. Yano. 1982. Phenanthrene-degrading phenotype of *Alcaligenes faecalis* AFK2. Appl. Environ. Microbiol. 43:458-461.

7- Koneman, E.W., S.D. Allen, V.R. Dowell, W.M. Janda, M.W. Sommers, and W.C.Winn. 1988. Color atlas and text book of diagnostic microbiology. J.B. Lippincott company. Philadelphia.

8- Laflamrhe, R.E., and R.A. Hites. 1984. The global distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in recent sediments. Geochem Cosmochem. Acta. 42: 289-303.

9- Lake, J.L., C. Norwood, C. Dimock, and R. Bowen. 1979. Origins of polycyclic aromatic hydrocarbons in estuarine sediments. Geochim. Cosmochem. Acta. 1847-1854.

10- Maccubin, A.E., P. Block, L. Trezeciak, and J.J. Black. 1985. Evidence for polynuclear aromatic hydrocarbons in the diet of botton feeding fish. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 34: 876-882.

11- Macgilivray, A.R., and M.P. Shiaris. 1994. Relative role of eukaryotic and procaryotic microorganisms in phenanthrene transformation in coastal sediments. Appl. Environ Microbiol. 60: 1154-1159.

12- Philips, D.H., 1983. Fifty years of benzolas pyrene. Nature. 303: 463-472.

13- Means, J.C., J.J. Hasett, S.G. Wood, and W.L. Banwart. 1980. Sorpition properities of polynuclear aromatic hydrocarbons by sediment and soils. Environ Sci. technol. 14: 1524-1528.

14- Sims, R.C., and M.R. Overcash. 1983. Fate polynuclear aromatic compounds (PNA´S) in soil plant systems. Residue Rew. 88: 1-68.

15- Stulki, G., and M.Alexander. 1987. Role of dissolution rate and solubility in biodegradation of aromatic compounds. Appl. Environ. Microbiol 5: 292-297.