

مطالعات بیوژئوشیمی میکروبی باکتریهای جنس دی سولفوویبریو

بر روی رسوبات کواترنر حوضه آبریز خرم آباد

نوشته: دکتر شهاب ورکوهی*

Studies of Microbial Biogeochemistry of *Desulfovibrio* Genus Bacteria on Quaternary Deposits of Khorram Abad Watershed

By: Dr. Sh. Varkouhi*

چکیده

در این مقاله به بررسی اثرات باکتریهای کاهنده سولفات (جنس دی سولفوویبریو) بر کاهش فعالیت برخی عناصر جزئی رسوبات عهد حاضر حوضه آبریز خرم آباد پرداخته شده است. این باکتریها گروهی از ریزجانداران بی هوازی اند که از نظر تکاملی تنوع زیادی داشته و غالباً در بیشتر خاکهای عهد حاضر و آنها یافت می شوند. تطبیق کشتهای جدا سازی شده این باکتریها در طی پنج نسل متوالی صورت گرفت. میزان مصرف سرب و سنیسم، در نسلهای جدید (نسلهای چهارم و پنجم) این باکتریها، نسبت به نسلهای اولیه افزایش ناگهانی نشان می دهد که علت آن، خالص بودن نسلهای جدید (بویژه نسل پنجم) و غنای کشتهای آنهاست، بنابراین به منظور کاهش آلودگی عنصری رسوبات کواترنر بستر رودخانه ای این ناحیه و سرعت بخشی به فرآیندهای بیوژئوشیمیایی، کشتهای نسل جدید مناسب ترند. بیشترین و کمترین مقدار جذب عناصر فلزی رسوب توسط باکتریهای جنس دی سولفوویبریو، به ترتیب به کروم و سرب اختصاص دارد. کروم برای رشد باکتری و گذر از فاز رشد نمایی به فاز ثابت، از اهمیت بالایی برخوردار است. انحلال پذیری سرب در سامانه های آبگین پایین است و به واسطه درصد اندک جذب آن توسط باکتری، فراوانی نسبتاً بالایی در رسوبات بستر رودخانه دارد. بیشترین مقدار حذف عناصر واسطه رسوب توسط باکتریهای فوق، به واندیم اختصاص دارد. این عنصر غالباً در ترکیبهای هیدروکربنی، به صورت آلی-فلزی مشارکت دارد و توانایی متابولیسمی باکتری در مصرف آن نسبتاً بالاست. با توجه به بالا بودن غلظت واندیم در شیلهای آلی کواترنر، مکانهای پایانی کانالهای شمال خاوری این حوضه، بهره گیری از فناوری میکروبی در جهت کمینه کردن آلودگی رسوبی ناشی از این عنصر امکان پذیر است. بیشترین غلظت عناصر ردیاب سمی به نهشته های سیلتی/رسی زونهای انتهایی آبراهه ای واحد مطالعاتی اختصاص دارد و نظر به کاهش انرژی در این محیطها، فعالیتهای میکروبی باکتریهای مذکور در آنها بیشینه می باشد.

کلید واژه ها: بیوژئوشیمی میکروبی، باکتریهای جنس دی سولفوویبریو، کشتهای جداسازی شده، دمای بهینه، فاز رشد نمایی، آلی-فلزی

Abstract

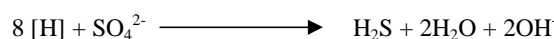
The study of sulphate reducing bacteria effects (*Desulfovibrio* genus) has been focused on decreasing of some trace element concentrations in recent sediments of Khorram Abad watershed. The bacterias are a group of anaerobic microorganisms that have evolutionary varieties and frequently found in recent soils and waters. Adaptation of isolated culture of these bacteria has been performed through five successive generations. The rate of lead and selenium consumption in new generations (the fourth and fifth generations) of these bacterias, compared to the primary generations, indicates a sudden increase, as a consequence of purity of new generations (particularly fifth generation) and their culture enrichment. Thus, cultures of new generation are more suitable for decreasing of element's pollution in streambed quaternary sediments of this region and promote the biogeochemical processes. Maximum and minimum absorption rates of metallic trace elements in sediment by *Desulfovibrio* bacteria refer to chromium and lead respectively. Chromium is very important for bacteria growth and transition of exponential growth phase to constant phase. Lead solubility is low in aqueous systems and has relatively high frequency in stream sediments because of its poor absorption by bacteria. Maximum rate of sediments transition elements removed by aforementioned bacteria is vanadium. This element participates frequently as an organometal in hydrocarbon compounds and the bacterial metabolic ability for its consumption is relatively high. It is possible to use microbial technique to minimize the sediment pollution related to this element with respect to high concentration of vanadium in quaternary organic shale of final sites of the northwest channels of the area. The maximum concentration of toxic elements is related to silty/clayey deposits of

drainage distal zones of study area and microbial activity of mentioned bacteria is highest with regard to lowering of energy in these environments.

Key words: Environmental biogeochemistry, Desulfovibrio genus bacteria, Isolated cultures, Optimum temperature, Exponential growth phase, Organometallic

۱- مقدمه

باکتری‌های جنس دی سولفوویبریو، گروهی از باکتری‌های کاهنده سولفات هستند که ترکیب‌های هیدروژن دهنده را به طور ناقص اکسید نموده، استات تولید می‌کنند. این گروه از باکتری‌ها قادرند سولفات موجود در رسوبات طبیعی و فاضلاب را به سولفید هیدروژن کاهیده نمایند (Postgate, 1984).



بخش اعظم سولفید هیدروژن تولید شده در محیط طبیعی، بر اساس این واکنش حاصل می‌شود. این فرآیند باعث انتقال الکترونها شده و در این مورد سیتوکروم C دخالت دارد. انرژی لازم از فسفریلاسیون انتقال الکترونها در شرایط بی‌هوازی تولید می‌گردد. این باکتری‌ها هیدروژن لازم را از ترکیب‌های ساده کوچک مولکول به دست می‌آورند که از تجزیه بی‌هوازی زیست توده (Biomass)، بیش از همه سلولز: لاکتات، استات، پروپیونات، بوتیرات، فرمیت، اتانل، اسیدهای چرب فرار (Willis & others, 1995) و هیدروژن فراهم می‌گردد. باکتری‌های کاهنده سولفات با تنفس بی‌هوازی که در آن مواد معدنی (نیترات، سولفات و کربنات) پذیرنده هیدروژن می‌باشند، هیدروژن حاصل از تجزیه زیر بستر آلی را به اکسیژن در ترکیب منتقل می‌کنند. در حقیقت حاملان اکسیژن، نیترات، سولفات، گوگرد، کربنات یا دیگر ترکیب‌ها هستند و توسط هیدروژن زیر بستر کاهیده می‌شوند. باکتری‌های جنس دی سولفوویبریو می‌توانند هیدروژن زیر بستر را به سولفات به عنوان پذیرنده نهایی الکترون منتقل کرده و سولفات را به سولفید کاهیده کنند (Barton, 1995). عمل این ریزجانداران بی‌هوازی در محیط‌های رسوبی، می‌تواند محیط ژئوشیمیایی برخی از مناطق را با حذف و مصرف پاره‌ای ترکیب‌ها و عناصر جزئی محیطی کنترل کند. بدین جهت باکتری‌های مزبور در زمین‌شناسی زیست محیطی اهمیت بسیار بالایی دارند (Weber, 2002). این باکتری‌ها، محیط‌های خاکی و آبی اسیدی از pH 4.5 تا محیط‌های قلیایی با pH حدود 9.5 را تحمل می‌کنند. با توجه به توسعه روزافزون کارخانه‌ها، معادن و صنایع مختلف، آلاینده‌های گوناگونی به بوم سامانه‌ها راه یافته و صرف نظر از سمی کردن مستقیم سامانه‌های آبی، باعث آلودگی تدریجی رسوبات و زیستواران مناطق مختلف (بویره انسانها)

خواهند شد. باکتری‌های کاهنده سولفات، صرف نظر از قدرت بالای خورندگی ترکیب‌ها و عناصر سمی و سالم سازی محیط زیست انسان، نقش بسزایی در تسهیل فعالیت‌های متابولیسمی بدن از جمله تنظیم هیدروژن در روده بزرگ دارند (Beller, 1996). با اعتقاد به خطرات شدید ناشی از آلاینده‌های زیست محیطی، در این مقاله به بررسی اثرات باکتری‌های جنس دی سولفوویبریو بر کاهش فعالیت برخی عناصر جزئی رسوبات عهد حاضر حوضه آبریز خرم آباد پرداخته شده است.

۲- توصیف واحد مطالعاتی

حوضه آبریز خرم آباد با سطح حوضه ۳۹۲/۵ کیلومتر مربع بین عرض ۲۲' و ۳۳' تا ۴۰' و ۳۳' شمالی و طول ۱۴' و ۴۸' و ۲۷' تا ۴۸' خاوری، در مرکز استان لرستان واقع است (شکل ۱). ابتدای این حوضه در بالادست شهرستان خرم آباد، حوالی روستای سراب رباط و نقطه خروجی آن در ۱۴/۵ کیلومتری خرم آباد، انتهای دشت آبرفتی و پسیان قرار دارد. حوضه مزبور، جزو قلمرو زون زاگرس چین خورده ساده به شمار می‌آید. رودخانه اصلی این واحد مطالعاتی، رودخانه خرم آباد، از ارتفاعات چکریز سرچشمه گرفته و از سر منشأ تا ابتدای شهر، حدود ۲۰ کیلومتر در مسیر شمالی - جنوبی ادامه مسیر می‌دهد. سرچشمه و اغلب آبراه‌های جانبی این رودخانه، از ناحیه مرزهای شمالی واحد مطالعاتی هستند. در بخش مرکزی حوضه، عمده زمینها در قلمرو مناطق شهری هستند و معادن پراکنده سنگهای آهکی و گچ و نمک نیز در حواشی این حوضه مشاهده می‌گردند. به طور کلی، ناحیه فیزیوگرافی خرم آباد متشکل از مناطق پراکنده زمینهای کشاورزی و مختلط (روستایی و شهری) است.

۳- جداسازی و خالص سازی دی سولفوویبریو

غنی سازی توده‌های این باکتری نیاز به جداسازی اولیه دارد. جداسازی از طریق کشت تجمعی (دسته‌ای) صورت می‌گیرد. چنین کشتهایی را می‌توان از رسوب و یا فاضلاب تهیه کرد. برای تکثیر جنس دی سولفوویبریو، لازم است محیط غذایی دارای ترکیب هیدروژن دهنده مناسب، زیر بستر قابل جذب، مواد معدنی و سولفات باشد. در ضمن، شرایط بی‌هوازی و پتانسیل اکسایش - کاهش لازم ($E'_0 = -200mV$) فراهم گردد. این جنس در

روز است (شکل ۶). همان گونه که از شکل ۵ پیداست، کشت مزبور پس از پایان روز دوم، به فاز نمایی رشد خود وارد گردیده و در روز ششم به فاز ثابت خود رسیده است. بنابراین کشت مورد نظر را می‌توان به عنوان مایع تلقیحی، در روز ششم، به منظور دستیابی به شرایط بهینه رشد باکتری مورد استفاده قرار داد.

تطبیق کشت جداسازی شده از طریق پنج نسل متوالی صورت گرفته است (شکل ۷). نسل‌های متوالی کشت‌ها نتیجه تلقیح سوسپانسیون از کشت قبلی به شرایط محیطی حد واسط جدید است. هر یک از کشت‌ها به مدت ۳ ساعت در شرایط محیطی یکسان (بدون افزایش عناصر مغذی) از نقطه نظر دما و اسیدیته، در انکوباتور نگهداری شدند. مطالعات حاضر نشان داد که میزان مصرف سرب به عنوان یک عنصر محیطی جزئی آلاینده، در نسل چهارم و پنجم نسبت به نسل‌های اول، دوم و سوم دستخوش یک افزایش جشی گردیده است. علت این امر، مربوط به خالص بودن نسل‌های مذکور (بویژه نسل پنجم) و نیز غنای کشت‌های مورد نظر است. بنابراین به منظور برقراری شرایط بهینه، کشت‌های نسل جدید مناسب‌ترند و نقش به مراتب مفیدتری در سرعت بخشی به فرایندهای بیوزئوشیمیایی دارند. برای بهینه‌سازی شرایط دمای رشد باکتری، کشت نسل پنجم در دماهای ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ درجه سانتی‌گراد مورد ارزیابی قرار گرفت (نمونه‌ها به مدت ۲٫۵ ساعت در شرایط pH معادل ۷٫۵ نگهداری گردید) که نتیجه در نمودارهای شکل ۸ خلاصه شده است. ملاحظه می‌گردد که افزودن سوسپانسیون از کشت مزبور به محیط کشت حاوی محلول ۰٫۱ مولار کلریدوانادیم، تحت تأثیر دماهای یاد شده تغییرات محسوسی در آهنگ رشد باکتری پدید آورده است. کمترین مصرف وانادیم (یک عنصر محیطی با منشأ غالب هیدروکربنی) مربوط به دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد و بالاترین میزان حذف آن در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد صورت پذیرفته است. با توجه به آزمایش فوق که روش بسیار مناسبی برای ارزیابی میزان پایداری دی سولفوویبریو در شرایط آلاینده‌گی محیط کشت است، دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به عنوان دمای بهینه جهت رشد باکتری پیشنهاد می‌شود. بهینه‌سازی اسیدیته محیط نیز با تنظیم pH محیط کشت باکتری به ترتیب در ۴٫۵، ۵٫۵، ۶٫۵، ۷٫۵ و ۸٫۵ صورت گرفته است. همانند بهینه‌سازی دما، در اینجا نیز محلول باکتریایی به محیط حاوی محلول ۰٫۱ مولار کلرید وانادیم افزوده شد. کشت‌ها به مدت ۳ ساعت در شرایط دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد (دمای بهینه) نگهداری شدند (غلظت سنجی وانادیم توسط دستگاه U.V، در فواصل زمانی نیم ساعته صورت گرفته است). کمترین میزان حذف وانادیم، مربوط به محیط با اسیدیته ۸٫۵ و بالاترین درصد حذف این عنصر در pH= ۵٫۵ صورت پذیرفته است (شکل ۹). با توجه به

محیط سولفات لاکتات (بدون حضور اکسیژن) به راحتی رشد می‌کند. در این مقاله، برای تکثیر و جداسازی عملی دی سولفوویبریو از روش آزمایشگاهی با مداخله محیط کشت مایع سولفات - لاکتات (Medium B) در لجن طبیعی استفاده شده که این روش نوین و تغییر یافته کشت باکتری‌های جنس دی سولفوویبریو است (جدول ۱). این محیط مرکب از ۰٫۵ گرم KH_2PO_4 ، ۱ گرم NH_4Cl ، ۱ گرم CaSO_4 ، ۲ گرم $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ، ۳٫۵ گرم لاکتات سدیم، ۰٫۵ گرم $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ و ۱ گرم عصاره مخمر در یک لیتر آب دو بار تقطیر است. پس از استریل کردن، pH این محیط به کمک NaOH یا HCl حدود 7.5 ± 0.3 تعدیل گردیده است. سپس حدود ۲/۳ لوله‌های شیشه‌ای استریل به ارتفاع ۳۰ و قطر ۵ سانتی‌متر توسط این محیط استریل سولفاتی پر شدند و مقداری از ماده محیطی (نمونه مخلوط لجن و فاضلاب) به آنها اضافه گردید. پس از تزریق گاز کربنیک به محیط (۵ دقیقه) درب لوله توسط پارافین استریل مسدود گردید (به منظور ایجاد شرایط بی‌هوازی). نمونه در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور نگهداری شده و پس از ۸ روز محتویات لوله‌ها به رنگ سیاه ظاهر گردید (شکل ۲). این باکتری‌ها غالباً میله‌ای شکل و خمیده، قطر آنها حدود ۰٫۵ تا ۰٫۷ و طول آنها بین ۴ تا ۴ میکرون متغیر است (شکل‌های ۳ و ۴). باکتری‌های مزبور از نوع تازک دار قطبی هستند و ویژگی بارز آنها حضور دی سولفوویبریدین است که دسته‌های خاص آنها در شکل ۵ کاملاً قابل مشاهده‌اند.

محیط مایع لاکتات - سولفات، به دلیل ورود ترکیب‌های آهن دار، جداسازی دی سولفوویبریو را آسان می‌کند. از آنجا که سولفات به سولفیت کاهیده می‌شود، سولفیت حاصل با یون‌های آهن واکنش داده و باعث ایجاد محیطی سیاه‌رنگ خواهد شد. این موضوع علت اصلی سیاه شدن رسوبات دریاچه‌ای و محیط‌های کاهیده (مانند باتلاق‌ها) است. سیاه‌شدگی محیط حاکی از کاهیدگی گوگرد و فعالیت آهن به عنوان مسمومیت‌زدای سولفیداست. بنابراین، امکان رشد سریع باکتری فراهم خواهد شد (Holt & others, 1994). این محیط از نظر شیمیایی، یک محیط سولفیدی آهن دار و نامحلول است.

۴- منحنی رشد و بهینه‌سازی شرایط دمایی و اسیدیته

به منظور دستیابی به منحنی رشد این باکتری، یک میلی‌لیتر از محلول باکتریایی (جدا شده از ماده محیطی) به ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت (Medium B) افزوده شد. غلظت آهن (Fe^{+2}) در این محیط ۰٫۱ گرم بر لیتر تعیین شد. pH محیط حدود ۷٫۵ و دمای انکوباتور ۳۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید. مدت زمان نگهداری لوله‌های استریل در انکوباتور ۸

رسوبات مرطوب را به روش سانتیفریژ آیزدایی می‌کنند. در این مرحله، سیلت رسوبی جدا شده را توسط اجاق الکتریکی در درجه حرارت 65°C خشک کرده و برای مطالعات ژئوشیمیایی نگهداری می‌کنند. این روش را انجماد خشک گویند (Engier and Rose, 1977).

۶- آماده سازی نمونه‌ها برای مطالعات ژئوشیمیایی و بیوزئوشیمیایی

پس از انجام مراحل اولیه تیمار رسوب، حدود 0.2 گرم از نمونه پودری آن را که به طور دقیق و کامل همگن گردیده در ظرف تفلون وزن کرده و یک میلی لیتر محلول تیزاب سلطانی به آن می‌افزاییم به گونه‌ای که کاملاً خیس شود. سپس 3.7 میلی لیتر اسید فلوریدریک 40% به نمونه می‌افزاییم. پس از این مرحله، درب پیچی ظرف تفلونی محکم بسته شده و نمونه به مدت یک ساعت در دمای 150°C حرارت داده می‌شود. آنگاه محصولات تجزیه شده را با 50 میلی لیتر آب مقطر در یک بشر پلی اتیلن محتوی 1.4 گرم پودر اسید بوریک وارد نموده و ظرف مزبور حرارت داده می‌شود تا فلوریدهای نامحلول به فلورات بور محلول تبدیل شوند. پس از ایجاد محلول شفاف (توسط کاغذ صافی)، آن را سرد کرده و در بالن ژوژه 100 میلی لیتر به حجم می‌رسانیم (چنانچه رسوبی روی کاغذ صافی باقی بماند، کاغذ را خشک و وزن می‌کنیم). این محلول رسوبی، آماده برای تجزیه دستگاهی به روش جذب اتمی است. برای محاسبه غلظت واقعی عنصر در رسوب، از رابطه زیر استفاده می‌کنیم:

وزن نمونه پودری \times غلظت قرائت شده به وسیله

دستگاه جذب اتمی

$=$ غلظت واقعی عنصر

وزن نمونه پودری - وزن باقیمانده خشک

(روی کاغذ صافی)

نتایج تجزیه ژئوشیمیایی برای 35 نمونه رسوب بستر رودخانه‌ای واحد مورد مطالعه، در جدول ۲ نشان داده شده است.

به منظور بررسی میزان تأثیرات عملی باکتری‌های جنس دی سولفوویبریو بر کاهش غلظت برخی عناصر مهم محیطی، 20 میلی لیتر از نمونه رسوب محلول آماده سازی شده، در یک لوله استریل ریخته شده و حدود 20 میلی لیتر از محیط کشت (Medium B)، آماده و به این محلول اضافه می‌گردد. pH مجموعه باید به کمک NaOH یا HCl تا مرز pH بهینه تعدیل گردد. نهایتاً سوسپانسیونی از کشت خالص به این مجموعه اضافه و سپس لوله توسط پارافین مسدود می‌گردد (برای ایجاد شرایط بی‌هوازی). نمونه در دمای بهینه (30°C درجه سانتی گراد)، به مدت ۸ روز در انکوباتور

دقت زیاد آزمایش فوق، اسیدیته $5/5$ به عنوان pH بهینه برای رشد این باکتری در نظر گرفته می‌شود. به رغم سودمندی باکتری‌های کاهنده سولفات برای بخشهای مختلف صنعت و محیط زیست، مشکلاتی نیز به وجود می‌آورند. محیط اسیدی رشد باکتری‌های جنس دی سولفوویبریو علاوه بر پتانسیل بالای برهم کنش با ترکیبهای مزاحم محیطی، عامل اصلی زیست شناختی انحلال آهن، آلیاژهای مختلف فلزی و فروسایبی بتن محسوب می‌شود. جدا از آهن، فلزهایی مانند کلسیم و باریم نیز در این محیط، کمترین پایداری فیزیکیوشیمیایی را دارند. این باکتریها در داخل یا بر روی مجسمه‌ها و آثار باستانی رشد می‌کنند و سولفید هیدروژن تولیدی توسط آنها، معمولاً به اسید سولفوریک تبدیل می‌شود که این اسید قابلیت خوردگی ترکیبهای کربنات و هیدروکسید موجود در بافت این آثار را دارد.

۵- روش نمونه برداری و حفاظت رسوب

برای نمونه برداری از رسوبات جوان واحد مطالعاتی، در هر منطقه ابتدا وضعیت جغرافیایی محل مورد بررسی قرار گرفت و آنگاه شرایط آب و هوایی و ویژگیهای طبیعی ثبت گردید (دمای آب و هوا و سرعت و جهت وزش باد یادداشت شدند). از هر ایستگاه نمونه برداری، دست کم 5 بار نمونه برداری صورت گرفت و خواص فیزیکی نمونه‌ها از قبیل حجم، رنگ و بوی رسوب جمع آوری شده یادداشت گردید. نمونه‌های رسوب از 35 محل در سرتاسر منطقه مطالعاتی برداشته شد (شکل ۱). این نمونه‌ها، از بخشهای غیر آشفته و مرطوب (رطوبت دائمی) زونهای رسوبی کانالهای رودخانه‌ای انتخاب شدند. زونهای انتخابی، نشان دهنده اثرات بالا دست رودخانه و رژیمهای جریان متنوع هستند. نمونه‌گیری از رسوبات صرفاً به قشر 7 تا 10 سانتی متری بخش بالایی بستر رودخانه محدود شد. این عمل به منظور اطمینان از انتخاب جوان‌ترین نمونه‌های رسوب رودخانه‌ای صورت می‌گیرد. در این روش، هر زون رسوبی (موجود در محل‌های نمونه برداری) خود به چندین مکان نمونه برداری کوچکتر تقسیم گردید. درصد قابل توجهی از رسوبات بستر رودخانه این حوضه به زیست توده تعلق دارد و غالباً نسبت ذرات ماسه به لای، در آنها بیشتر است. برای حفاظت از نمونه‌های رسوب و برای آنکه نمونه‌های سطحی از لحاظ دانه بندی همگن شوند، آنها را با روش غربالی خیس (Wet Sieving) تفکیک می‌نمایند (Shelton and Copel, 1994). در این روش، نمونه را روی الک نایلون 63 میکرونی قرار داده و روی آن آب مقطری که pH آن بین 8 تا 8.3 تثبیت شده، اضافه می‌کنند تا بخش سیلتی آن جدا شود. ذرات کوچکتر از 63 میکرون (سیلت) همراه آب در زیر جمع آوری شده و رسوبات پس از مدتی در ظرف نگهداری ته نشین می‌شوند، آنگاه

کلونیدی آنگین سازنده بافتهای جانوری مشارکت دارد.

- بیشترین مقدار حذف عناصر واسطه رسوب توسط باکتریهای مزبور، به وانادیم اختصاص دارد. این عنصر غالباً در ترکیبهای هیدروکربنی، به صورت آلی- فلزی مشارکت دارد و توانایی متابولیسمی باکتری در مصرف آن نسبتاً بالاست (Johnson, 2003). با توجه به بالا بودن غلظت وانادیم در شیلهای آلی کواترنر مناطق پایانی کانالهای شمال خاوری این حوضه، بهره‌گیری از فناوری میکروبی در جهت کمینه کردن آلودگی رسوبی ناشی از این عنصر امکان پذیر است.

- آهن جزو معدود عناصری است که باکتریهای مزبور تا حد ممکن، ترکیبهای آن را به عنوان الکترون گیرنده مورد استفاده قرار می‌دهند. به همین دلیل میزان خوردگی آهن و هوازدگی زیستی رسوبات آبرفتی آهن دار این حوضه (بویژه سولفات آهن) توسط باکتریهای مزبور بسیار شدید است.

- به رغم سمی بودن آرسنیک برای رشد باکتریهای جنس دی سولفوویبریو، به دلیل پایین بودن فعالیت کلی آن در نمونه‌ها، باکتریها تا حدی قادر به مصرف ترکیبهای آن (بویژه در راستای تشکیل پاره‌ای از هیدروکربنها) و تصفیه زیست شناختی رسوبات بستر رودخانه‌ای حوضه مطالعاتی هستند. منشأ حضور آرسنیک در رسوبات آبرفتی این ناحیه، استفاده کشاورزان از سموم دفع آفات نباتی (بخصوص آرسنات سرب) و نیز فعالیت چند کارخانه کوچک دباغی چرم و پوست در بخشهای شمال باختری و جنوب منطقه است.

- اندک غلظت جیوه در نمونه‌های رسوب بستر رودخانه‌ای حوضه مورد مطالعه، نتیجه ورود آبهای زهکشی مزارع و پسابهای محلی به درون کانالهای آبرفتی است که به سهولت توسط این گروه از باکتریهای محیطی مصرف می‌شود.

- حداکثر غلظت عناصر ردیاب سمی به رسوبات بسیار دانه ریز سیلتی/رسی مکانهای انتهایی آبراه‌های واحد مطالعاتی اختصاص دارد و نظر به کم انرژی بودن این محیطها، فعالیت‌های میکروبی باکتریهای مذکور در آنها بیشینه است.

- با توجه به pH اسیدی رشد بهینه باکتری، امکان توسعه روشهای سالم سازی لجنهای آلی محیطهای زمین شناختی جوان به کمک روشهای میکروبی قابل پیش بینی است.

نگهداری شده و پس از رسیدن به فاز ثابت رشد باکتری، برای ارزیابی فعالیت عناصر جزئی، سانتریفوژ می‌شود. عمل سانتریفوژ به منظور ته‌نشینی سوسپانسیون باکتریایی و جداسازی محلول مشترک محیط کشت و نمونه مورد آزمایش (رسوب بستر رودخانه‌های) صورت می‌گیرد. محلول صاف شده در یک بالن ژوژه ۱۰۰ میلی‌لیتر به حجم رسانده می‌شود که آماده تجزیه بیوزئوشیمیایی، به روش دستگاهی است. لازم به یادآوری است که در این حالت، غلظت قرائت شده توسط دستگاه، شامل مجموع غلظتهای عنصر در نمونه رسوب و محیط کشت است و باید غلظت عنصر در محیط کشت را از این مجموعه حذف نمود تا فعالیت واقعی عنصر در نمونه مورد آزمایش به دست آید. نتایج تجزیه دستگاهی برای برخی نمونه‌های رسوب حوضه آبریز خرم‌آباد که تحت تأثیر فعالیت متابولیسمی باکتریهای جنس دی سولفوویبریو قرار گرفته‌اند، در جدول ۳ ارائه شده است.

۷- تحلیل بیوزئوشیمیایی داده‌ها

- میزان مصرف برخی عناصر محیطی ردیاب آلاینده رسوبات محدوده مطالعاتی (از قبیل سرب و سلنیم) توسط نسلهای جدید باکتریهای جنس دی سولفوویبریو، نسبت به نسلهای اولیه افزایشی جهشی نشان می‌دهد که علت این امر، خالص بودن نسلهای جدید و نیز غنای کشتهای آنهاست. بنابراین، به منظور کاهش آلودگی عنصری رسوبات کواترنر بستر رودخانه‌ای این ناحیه، کشتهای نسل جدید مناسب‌ترند.

- بیشترین و کمترین مقدار جذب عناصر فلزی رسوب توسط باکتریهای جنس دی سولفوویبریو، به ترتیب به Cr و Pb اختصاص دارد. کروم برای رشد باکتری و گذر از فاز رشدنمایی به فاز ثابت، اهمیت بالایی دارد. انحلال پذیری سرب در سامانه‌های آنگین پایین است و با توجه به درصد اندک جذب آن توسط باکتری، با فراوانی نسبتاً بالا در رسوبات این ناحیه مشاهده می‌شود.

- مقدار جذب کبالت رسوب توسط باکتری، حدود ۷۹ درصد است، که این حاکی از نامطلوب بودن درصدهای بالای عنصر مزبور جهت شرکت در فعالیتهای متابولیسمی باکتری می‌باشد. در ناحیه مورد بررسی این عنصر دارای سنگ منشأ اختصاصی نیست اما به صورت پراکنده همراه با سازندهای رسوبی تخریبی آهن و منگنز یافت می‌شود و در سامانه‌های



شکل ۲- رشد باکتریهای جنس دی سولفوویبریو در شرایط بی‌هوایی (مقداری لجن به محیط کشت باکتری افزوده شده و پس از انسداد لوله‌ها توسط پارافین، شرایط بی‌هوایی برقرار گردیده است).

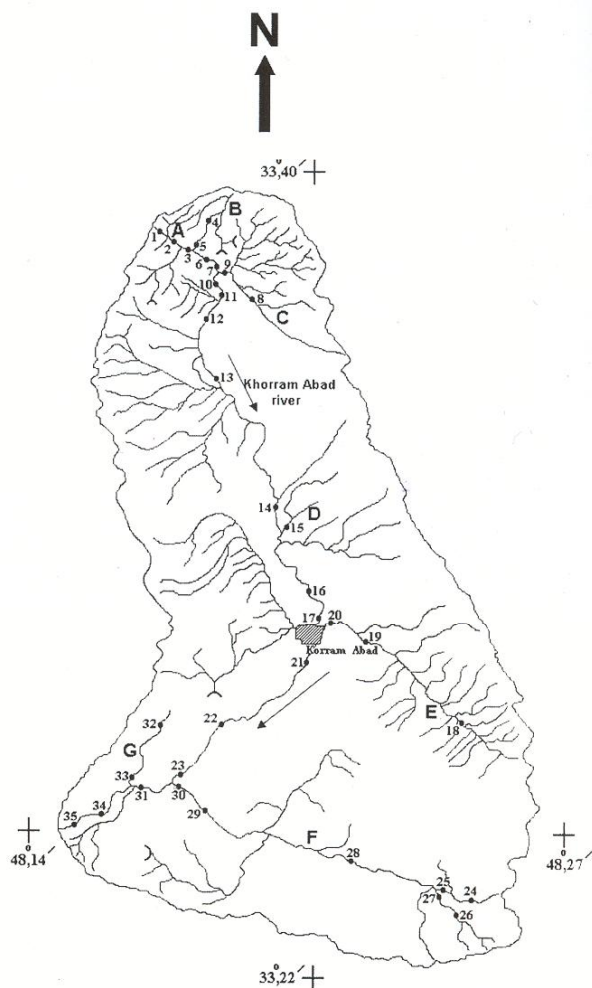


شکل ۳- عکس میکروسکوپ الکترونی از باکتریهای منفرد دی سولفوویبریو.

جدول ۱- محیط کشت باکتریهای جنس دی سولفوویبریو

Component	Concentration, grams/ liter		
	Medium B	Medium C	Medium D
KH_2PO_4	0.5	0.5	0.5
NH_4Cl	1.0	1.0	1.0
CaSO_4	1.0	---	---
Na_2SO_4	---	4.5	---
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	2.0	2.0	---
Sodium lactate	3.5	3.5	---
Sodium pyruvate	---	---	3.5
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	---	0.06	0.1
MgCl_2	---	---	1.6
$\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0.5	0.004	0.004
Yeast Extract	1.0	1.0	1.0
Sodium citrate	---	0.3	---

SAMPLING MAP OF KHORRAM ABAD WATERSHED



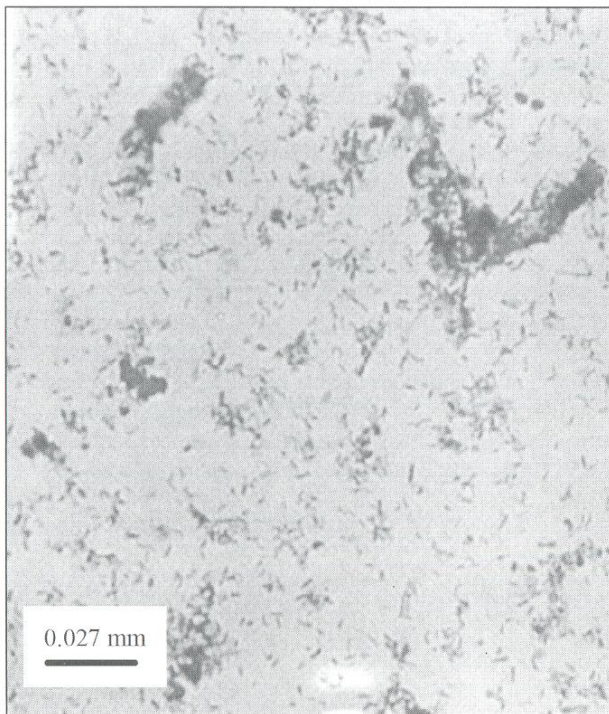
- A: Bastam river
- B: Sarab-E-Robot water way
- C: Robot-E-Namak water way
- D: Dareh Garm water way
- E: karganeh river
- F: kaka Sharaf river
- G: changai water way

0.00 6.24 Km

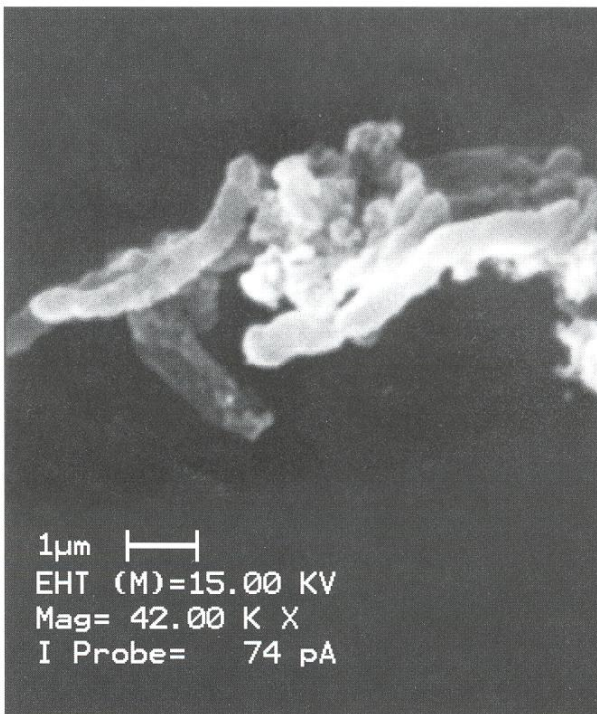
شکل ۱- نقشه نمونه برداری از رسوبات بستر آبراهه‌های حوضه آبریز خرم آباد.

جدول ۲- غلظت‌های اندازه‌گیری شده عناصر جزئی در نمونه‌های رسوب بستر رودخانه‌ای (بر حسب ppm).

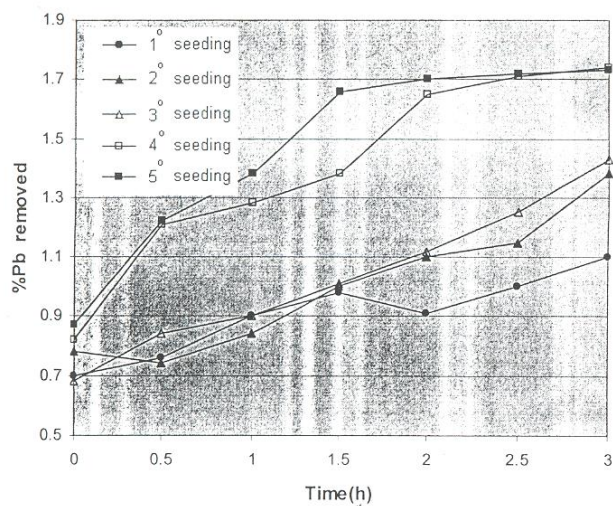
Sample No.	Cr	Cd	Fe	Ni	Pb	Zn	Co	Mn	V	As	Hg	Se
S ₁	328	3.1	2611	159.5	136.5	245	34.5	950	0.75	30	0.3	2.3
S ₂	175.5	2.5	2570	140	130	211.5	40.75	1100	0.8	36	0.25	2.1
S ₃	616	1.6	2533	114.5	125	76.85	54.5	1600	0.9	23	0.25	1.1
S ₄	339.5	2.9	2200.5	112.6	95	167.5	51	570	0.35	3	0.07	1.3
S ₅	249.5	3	2153.5	92	115	155.5	46.5	770.5	0.4	17	0.05	1.9
S ₆	390.5	2.5	2818.5	2013	95	72.9	56	1600	0.9	8.9	0.06	1.2
S ₇	957	1.5	2712	455.5	140	109.25	63.5	960	0.6	7.8	0.08	0.9
S ₈	405.5	1.5	2427.5	409.5	150	63.45	53	920	1	20	0.35	1.1
S ₉	820.5	0.6	2425	329.5	120	82.95	51.5	590	0.37	7.3	0.35	1.8
S ₁₀	465.5	3.5	2098	265	130	67.25	53	380	0.2	8.9	0.25	0.5
S ₁₁	1085	0.6	2692	612.5	125	76.8	54	400	0.25	6.9	0.25	0.6
S ₁₂	392	2	2719.5	169.5	200	63.6	6.5	510	0.35	8.3	0.1	1.1
S ₁₃	302.5	5.5	3887.5	147.5	160	76.35	25.4	320.3	0.2	11	0.08	2.1
S ₁₄	257	5.7	3850	125.5	110.5	69.2	57	450	0.3	9.4	0.05	2.5
S ₁₅	154.5	3.5	1698	89.5	15	40.05	62	280	0.15	14	0.08	5.6
S ₁₆	260.5	0.5	2844	217.5	110	80.7	55.5	840	0.25	8	0.03	1.7
S ₁₇	1533	2	2354	681	75	86.85	62	465	0.2	8.4	0.03	2.2
S ₁₈	455.5	3.5	2995	99.6	40	77.5	61.5	510.5	0.85	10.5	0.35	3.4
S ₁₉	374	3	4778	76	35	52.85	56.3	422	0.8	9.4	0.35	2.7
S ₂₀	187	2.9	2630	66.5	25.5	47.2	44.1	347.5	0.74	9.7	0.2	2.4
S ₂₁	224.5	8.5	2502	104	35	30.55	46.5	892	0.65	13.5	0.2	2.5
S ₂₂	278	8.5	1819.5	192.5	50	33.55	55.7	931	0.6	14.2	0.2	3.1
S ₂₃	194.5	6.5	1690.5	84.5	35	38.05	60.5	716.4	0.55	12.8	0.09	4
S ₂₄	315.5	6.1	891	55.5	66	57.6	55.6	560	0.7	5.5	0.1	3.2
S ₂₅	280	5.9	901	61	62.5	50.5	51.5	525	0.6	4.6	0.1	3.5
S ₂₆	414	5.8	920	65.5	74	43.5	60.8	402	0.75	8.8	0.25	2.1
S ₂₇	327	5.7	745	74.4	81.5	41.2	57.2	385	0.6	8.2	0.15	1.7
S ₂₈	218	5.7	580	77	61.5	45.7	54.5	535	0.5	8.5	0.15	1.5
S ₂₉	194.5	5.5	543	67	25	38.85	62.5	510	0.47	7.7	0.09	2.3
S ₃₀	159.5	3	892.5	115.5	105	80.95	48.5	394.5	0.44	6.8	0.07	2.7
S ₃₁	567	6.5	1766	107	115.5	85.5	67.4	446	0.45	11.5	0.07	3.3
S ₃₂	319.5	7	4321	99.5	75	66.55	60.3	618.2	0.58	8	0.08	5.5
S ₃₃	125	9	81.5	98.5	25	26.7	57.5	581	0.4	7.3	0.07	4.7
S ₃₄	419.5	7	4301	152.5	70	50.45	75	537.5	0.65	7.5	0.06	3.8
S ₃₅	903.5	1	2206.5	970.5	135	77.3	64	484	0.38	10.5	0.05	4.1



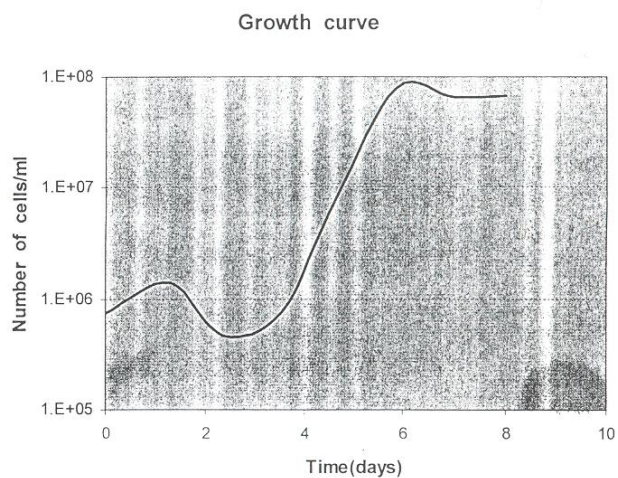
شکل ۵- باکتریهای جنس دی سولفوویبریو. رنگ آمیزی باکتریها به وسیله کریستال ویوله صورت گرفته است.



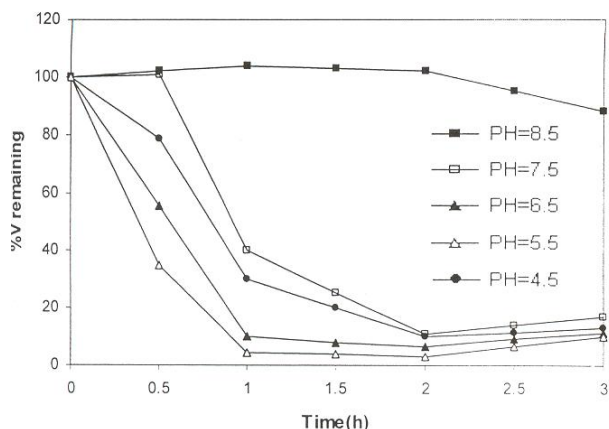
شکل ۴- عکس میکروسکوپ الکترونی از تجمع باکتریهای دی سولفوویبریو.



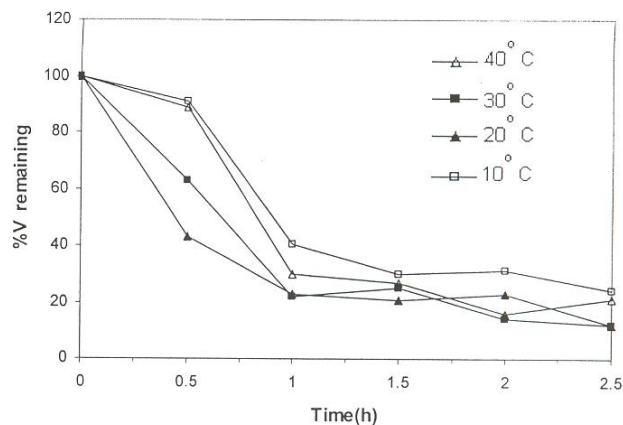
شکل ۷- منحنیهای تطبیق باکتریهای جنس دی سولفوویبریو طی پنج نسل متوالی (بر اساس میزان مصرف سرب).



شکل ۶- منحنی رشد باکتریهای جنس دی سولفوویبریو.



شکل ۹- منحنیهای بهینه‌سازی اسیدیته برای رشد باکتریهای جنس دی سولفوویبریو.



شکل ۸- منحنیهای بهینه‌سازی دما برای رشد باکتریهای جنس دی سولفوویبریو.

جدول ۳- غلظتهای باقیمانده عناصر جزئی در نمونه‌های رسوب رودخانه‌ای حوضه آبریز خرم آباد (بر حسب ppm).
سنجش این غلظتها پس از تأثیر باکتریهای جنس دی سولفو ویبریو بر نمونه‌ها صورت گرفته است.

Samlpe No.	Cr	Cd	Fe	Ni	Pb	Zn	Co	Mn	V	As	Hg	Se
S ₃	0.42	—	43.9	7.22	27.5	4.6	11.6	150	—	5	—	0.36
S ₅	0.17	—	37.4	5.8	25.3	9.31	9.9	72.2	—	3.69	—	0.63
S ₇	0.66	—	47.09	29	30.8	6.54	13.52	90	—	1.69	—	0.3
S ₉	0.56	—	42.11	20.91	26.4	4.96	10.96	55.3	—	1.58	—	0.6
S ₁₁	0.75	—	46.75	39	27.5	4.6	11.5	37.5	—	1.5	—	0.2
S ₁₄	0.17	—	66.86	7.99	24.31	4.14	12.13	42.18	—	2.04	—	0.83
S ₁₅	0.1	—	29.48	5.69	3.3	2.39	13.2	26.25	—	3.04	—	1.86
S ₁₇	1.05	—	40.88	43.36	16.5	5.2	13.2	43.59	—	1.83	—	0.73
S ₂₀	0.12	—	45.67	4.23	5.61	2.82	9.39	32.57	—	2.1	—	0.8
S ₂₃	0.13	0.01	29.35	5.38	7.7	2.27	12.8	67.16	—	2.78	—	1.3
S ₂₅	0.19	—	15.64	3.88	13.75	3.02	10.96	49.21	—	1	—	1.16
S ₃₀	0.11	—	15.49	7.35	23.1	4.84	10.32	36.9	—	1.47	—	0.9
S ₃₁	0.39	0.01	30.6	6.81	25.41	5.12	14.35	41.81	—	2.5	—	1.1
S ₃₃	0.08	0.01	1.41	6.27	5.5	1.59	12.24	54.46	—	1.58	—	1.56
S ₃₅	0.62	—	38.31	61.79	29.7	4.62	13.63	45.37	—	2.28	—	1.36



References

- Barton, L.E., 1995- "Sulphate-Reducing Bacteria, Biotechnology Handbooks", V.8, p.1-333.
- Beller, H.R., 1996- "Isolation and characterization of a novel toluene-degrading, sulfate-reducing bacterium" ., Appl. Environ. Microbiol., 62, p.1188-1196.
- Engier, R.M., and Rose, I., 1977- "A practical selective extraction procedure for sediments characterization" ., Springer-Verlag.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T., and Williams, S.T., 1994- "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology" ., Williams and Wilkins, Baltimore, Maryland., p.235-249.
- Johnson, H. A., 2003- " Isolation and characterization of anaerobic ethylbenzene dehydrogenase, a novel Mo-Fe-S enzyme" ., J. Bacteriol., 183, p.4536-4542.
- Postgate, J.R., 1984- "The sulphate-Reducing Bacteria" ., 2. Aufl., Cambridge University Press, London.
- Shelton, L.R., and Capel, P.D., 1994- Guidelines for collecting and processing samples of streambed sediment for analysis of trace elements and organic contaminants for the National Water-Quality Assessment program: U.S. Geological Survey Open-File Report 94-458, 20p.
- Weber, A., 2002- "Bacterial sulfate reduction in hydrothermal sediments of the Guaymas Basin of California, Mexico. Deep-Sea Res" ., Part I, 49, p.827-841.
- Willis, C.L., Gibson, G.R., Allison, C., Macfarlane, S., and Holt, J.S., 1995- Growth , Incidence and activities of dissimilatory SRB in the human oral cavity, Microbiology Letters., No.129, p.267-272.

* دانشکده علوم پایه، گروه زمین شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد زاهدان

* Islamic Azad University , Zahedan Branch , Science Faculty , Geology Department