JEHE Alborz University of Medical Sciences Journal of Environmental Health Engineering , 2026; 13(4):494-510 Original Article

Isolation and identification of microplastic-degrading bacteria from polluted areas around the petrochemical complex (case study: Lorestan Petrochemical)

Received: 16 December 2025, Accepted: 14 February 2026

Noushin Birjandi[1]*, Ehsan Hasanvand[2], Samira Pakbaz[3], Kimia Toulabian[4], Hasti Daraie[5]

[1]*Assistant Professor of Environment, Department of Environmental Science, Faculty of Natural Resources, Lorestan University, Khorramabad, Iran*

[2] *Qazvin Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Qazvin, Iran*

[3] *Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khoramabad, Iran*

[4] *Master's student in Environmental Planning, Faculty of Environmental Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran*

[5] *PhD in Environmental Health, Faculty of Health, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran*

***Corresponding Author:**
birjandi.n@lu.ac.ir

How to Cite This Article:

Birjandi N, Hasanvand E, Pakbaz S, Toulabian K, Daraie H. Isolation and identification of microplastic-degrading bacteria from polluted areas around the petrochemical complex (case study: Lorestan Petrochemical). Journal of Environmental Health Engineering. 2026;13 (4):494-510.

DOI:
10.66224/jehe.13.4.494

ABSTRACT

Background: The mass production, widespread use, and improper disposal of plastic products have led to significant environmental pollution. Over time, larger plastic polymers break down into smaller particles known as microplastics. This study aimed to isolate and identify indigenous beneficial bacteria capable of degrading microplastics in the vicinity of the Lorestan Petrochemical Complex in Khorramabad County, Iran.

Materials and Methods: Samples were collected from the rhizosphere of plants, as well as from sludge and contaminated water in the petrochemical area. Following transfer to the laboratory, the samples were cultured on nutrient agar, nutrient broth, and 2XYT media. After isolation and purification, bacterial strains were identified based on phenotypic and biochemical characteristics, as well as partial sequencing of the 16S rRNA gene. The identified species included Pseudomonas koreensis, Curtobacterium flaccumfaciens, Arthrobacter globiformis, and Bacillus cereus. The isolates were further evaluated for their ability to form biofilms, produce siderophores and proteases, exhibit swarming motility, solubilize phosphate, and synthesize indole-3-acetic acid (IAA), among other traits.

Results: Among the isolates, Pseudomonas koreensis exhibited the highest levels of biofilm formation, swarming motility, siderophore production, protease activity, and tolerance to petroleum hydrocarbons. Meanwhile, Curtobacterium flaccumfaciens demonstrated the greatest capacity for phosphate solubilization and indole-3-acetic acid production.

Conclusion: Bioremediation presents an efficient, economical, and sustainable approach among various remediation strategies, offering the potential for high efficacy with minimal environmental impact in the treatment of contaminated soils. Notably, this study introduces Curtobacterium flaccumfaciens for the first time as a microplastic-degrading bacterium.

Keywords: Microbial interactions, Microplastics, Bioremediation, Curtobacterium, 16S rRNA

Copyright © 2026 The Authors.
Published by Alborz University of Medical Sciences
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 International License. (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).Non-commercial uses of the work are permitted,provided the original work is properly cited.

JEHE Alborz University of Medical Sciences
مجله مهندسی بهداشت محیط، دوره ۱۳، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۴، صفحات ۴۹۴ تا ۵۱۰
مقاله پژوهشی

جداسازی و شناسایی باکتری های تجزیه کننده میکروپلاستیک ها از مناطق آلوده اطراف پتروشیمی (مطالعه موردی: پتروشیمی لرستان)

تاریخ دریافت : ۱۴۰۴/۰۹/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۱/۲۵

نوشین بیرجندی[۱*]، احسان حسنوند[۲]، سمیرا پاکباز[۳]، کیمیا طولابیان[۴]، هستی دارایی[۵]

[۱] استادیار گروه مهندسی محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران

[۲] دکترای گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش منابع طبیعی و کشاورزی قزوین، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، قزوین، ایران

[۳] استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران

[۴] دانشجوی کارشناسی ارشد برنامه ریزی محیط زیست، دانشکده علوم محیطی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

[۵] دکترای بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

***پست الکترونیکی نویسنده مسئول:**
birjandi.n@lu.ac.ir

نحوه استناد به این مقاله:

Birjandi N, Hasanvand E, Pakbaz S, Toulabian K, Daraie H. Isolation and identification of microplastic-degrading bacteria from polluted areas around the petrochemical complex (case study: Lorestan Petrochemical). Journal of Environmental Health Engineering. 2026;13 (4):494-510.

DOI:
10.66224/jehe.13.4.494

چکیده

زمینه و هدف: تولید انبوه، استفاده مداوم و دفع نادرست محصولات پلاستیکی منجر به آلودگی زیست محیطی قابل توجهی شده است. این پلیمرهای پلاستیکی بزرگ‌تر به تدریج به ذرات کوچک‌تری به نام میکروپلاستیک تجزیه می‌شوند. این پژوهش به منظور جداسازی و شناسایی باکتری‌های بومی مفید تجزیه کننده میکروپلاستیک‌ها در صنایع پتروشیمی استان لرستان در شهرستان خرم‌آباد صورت گرفت.

مواد و روش ها: در این تحقیق نمونه برداری از ریزوسفر گیاهان اطراف پتروشیمی، لجن و آب آلوده این منطقه انجام شد و پس از انتقال به آزمایشگاه روی محیط کشت‌های نوترینت آگار، نوترینت براث و 2XYT کشت گردیدند. بعد از خالص سازی، جدایه‌های باکتریایی براساس خصوصیات فنوتیپی-بیوشیمیایی و توالی‌یابی بخشی از ناحیه ژن 16S rRNA، گونه‌های *Pseudomonas koreensis*، *Curtobacterium flaccumfaciens*، *Arthrobacter globiformis* و *Bacillus cereus* شناسایی گردیدند. هم‌چنین جدایه‌های باکتریایی از نظر فاکتورهای تشکیل ساختارهای بیوفیلم باکتریایی، تولید سیدرفور، تولید پروتئاز، حرکت سوارمینگ، توانایی انحلال فسفات و تولید ایندول استیک اسید و غیره مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته ها: نتایج به دست آمده نشان داد باکتری *Pseudomonas koreensis* بیشترین میزان تشکیل بیوفیلم، حرکت سوارمینگ، تولید سیدروفور، پروتئاز و تحمل نسبت به نفت را از خود نشان داد. هم‌چنین بیشترین توانایی در انحلال فسفات و تولید ایندول استیک اسید متعلق به گونه *Curtobacterium flaccumfaciens* بود.

نتیجه گیری: بر اساس نتایج از بین روش‌های مختلف پاک‌سازی، زیست پالایی روشی کارآمد، اقتصادی و پایدار می‌باشد و این روش می‌تواند با کم‌ترین عوارض جانبی بیشترین راندمان را در اصلاح خاک‌های آلوده ایفا کند. در این تحقیق برای نخستین بار باکتری *Curtobacterium flaccumfaciens* به عنوان تجزیه کننده میکروپلاستیک معرفی گردید.

واژه های کلیدی: بر همکنش‌های میکروارگانیسم، میکروپلاستیک، زیست پالایی، *Curtobacterium* و 16S rRN

مقدمه

با پیشرفت سریع تکنولوژی در قرن گذشته، انسان دریافت که با توجه به مزایای فراوان آن، در صورت استفاده و مدیریت نادرست، منابع طبیعی و محیط زیست در معرض آلودگی قرار می‌گیرند. خاک یکی از منابع مهم و ارزشمند موجود در طبیعت و پالاینده طبیعی محسوب می‌شود اما مدت‌هاست که مواد نفتی و مشتقات آن در اثر استخراج، حمل و نقل، ذخیره سازی یا استفاده نادرست موجب آلودگی خاک شده اند. برنامه‌ریزی برای داشتن خاکی سالم، لازمه بقای انسان است [1]. آلودگی محیط زیست در بسیاری از جوامع امروزی به یکی از چالش‌های مهم و نگران کننده تبدیل شده است و در این بین آلودگی‌های صنایع نفتی یکی از آلاینده‌های محیطی از ۶۰ سال گذشته می‌باشند [2]. استخراج بلند مدت و تولید مشتقات نفتی متنوع باعث گسترش این آلودگی‌ها در خاک‌های اطراف مکان-های استخراج و پالایش نفت شده است. بزرگترین نگرانی در مورد این آلاینده‌ها، خصوصیات سمیت زایی، جهش زایی و سرطان زایی آن‌ها می‌باشد [3]. نیاز به اصلاح محیط-های آلوده، سبب توسعه فناوری‌های گوناگونی برای رفع آلودگی‌ها از خاک شده است. روش‌های متعدد فیزیکی، شیمیایی، زیست پالایی[1] و گیاه پالایی[2] برای اصلاح خاک-های آلوده وجود دارد، اما با توجه به هزینه بالا و عوارض جانبی روش‌های فیزیکی- شیمیایی، استفاده از روش‌های زیستی در اولویت قرار گرفته است [4]. تجزیه زیستی یک تکنولوژی نسبتا مقرون به صرفه و سازگار با محیط زیست، برای حذف هیدروکربن‌های نفت در خاک‌های آلوده می-باشد [5]. اجزای مختلف هیدروکربن‌های نفتی بسته به ساختار شیمیایی و حالت فیزیکی درجات مختلفی از زیست تخریب را نشان می‌دهند [4]. در طول چند دهه گذشته، تجزیه‌زیستی خاک‌های آلوده به عنوان یک موضوع مهم در پژوهش‌های زیست محیطی مطرح بوده و بسیاری از راهکارهای تجزیه زیستی، برای کاهش آلودگی این خاک‌ها بهبود یافته است. این روش در برگیرنده فعالیت میکروبی، برای تبدیل آلاینده‌های سمی به ترکیبات با درجه سمیت کم‌تر می‌باشد [6]. در این فرآیند، ریز جانداران مانند باکتری‌ها از طریق سیستم‌های آنزیمی، آلاینده‌ها را به محصولاتی با درجات سمیت کم‌تر تبدیل می‌کنند [7]. تعداد زیادی از باکتری‌ها و قارچ‌ها دارای توانایی تجزیه زیستی آلاینده‌های نفتی هستند. این میکروارگانیسم ها به طور گسترده ای در اکوسیستم‌های آبی و خاکی پراکنده می-باشند. ولی با این وجود، دانشمندان گزارش کرده اند که میکروارگانیسم های سازگار و بومی مناطق آلوده به ترکیبات نفتی، در تجزیه زیستی آلاینده‌های نفتی محیط زیست بسیار موثرتر از سایر میکروارگانیسم ها می‌باشند. سرعت تجزیه زیستی در مناطق آلوده به عواملی مانند جمعیت میکروبی موجود در منطقه آلوده، میزان و نوع آلودگی، شرایط شیمیایی و زمین شناسی منطقه آلوده بستگی دارد. وجود هیدروکربن‌های نفتی در خاک می‌تواند سبب بروز سمیت برای انسان‌ها و سایر موجودات زنده شوند و آلودگی منابع آب را به دنبال دارند، بنابراین باید به نحوی از محیط زیست حذف شوند [8]. میزان آسیب محیط طبیعی ناشی از نشت هیدروکربن‌های نفتی، بستگی به سطح آلودگی ایجاد شده توسط مواد نفتی، ترکیب شیمیایی و عمق نشت آلاینده دارد. آلودگی‌های حاصل از ترکیبات نفتی در صورتی که کم باشند می‌توانند به تدریج 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 اما در محیط‌هایی با وسعت زیاد آلودگی، آسیب وارد شده به محیط به طور خود به خودی بر طرف نمی‌شود [9]. زیست پالایی یک فن‌آوری حذف آلودگی است که در آن از سیستم‌های زیستی برای تخریب یا تغییر شکل مواد شیمیایی زیان بار استفاده می‌شود.

1.bioremediation
2.Phytoremediation

این تکنیک نسبت به سایر روش‌های حذف آلودگی نفتی چندین برتری دارد، که می‌توان به مواردی از جمله تبدیل مواد سمی به محصولات نهایی بی خطر، هزینه پایین، کاهش اثرات جانبی روی سلامت انسان و محیط زیست، تأثیر طولانی مدت و بالاخره توانایی حذف آلودگی به صورت درجا و بدون ایجاد اختلال در اکوسیستم اشاره نمود [۱۰]. تنوع و شمار جمعیت میکروبی در آشیان‌های اکولوژیک متغیر بوده و سهم باکتری‌ها از این میان بیشتر است و می‌توانند با گیاه اثرات متقابل خنثی، مفید یا مضر داشته باشند [۱۱]. به صورتی‌که شمار باکتری‌ها در ریزوسفر گیاهان، ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ برابر بیشتر از خاک غیر ریزوسفری گیاهان است. آزاد شدن مواد فتوسنتزی گیاه (حدود ۵ تا ۳۰٪) به شکل قندهای مختلف در محیط اطراف ریشه عاملی برای حضور جمعیت میکروبی بالا در این ناحیه می‌باشد. حدود ۲ تا ۵ درصد ریزو باکتری‌های محرک رشد گیاه PGPR[1] شناخته می‌شوند [۱۲] این میکروارگانیسم‌ها، باکتری‌های اندوفیت هستند که در ریشه، برگ و دانه‌ی گیاهان زندگی می‌کنند. اندوفیتیک بودن میکروارگانیسم‌ها در گیاهان، یک مزیت اکولوژیکی محسوب می‌شود که باعث افزایش رشد و باروری گیاه و بالا بردن تحمل گیاه در برابر تنش‌های محیطی و پاتوژن‌ها می‌شود. این باکتری-های مفید علاوه بر اثر مستقیم بر آلاینده‌ها، روی رشد و عملکرد گیاه اثر مثبت دارند و به عنوان ریزوباکتری‌های افزایش دهنده رشد گیاه شناخته می‌شوند [۱۳]. این باکتری‌ها از طریق مکانیسم‌هایی مانند افزایش فسفر قابل دسترس، تولید هورمون‌های گیاهیِ اکسین، سیتوکینین و جیبرلین و افزایش آهن قابل دسترس گیاه باعث افزایش رشد و تحمل گیاه به تنش‌های شوری، خشکی، عناصر سنگین، آلاینده-های نفتی و آفت‌کش‌ها می‌شوند. هم‌چنین یکی دیگر از فاکتورهای موثر در افزایش عملکرد تجزیه زیستی باکتری-ها، تولید ساختارهای بیوفیلم است. سلول‌های باکتری در ساختارهای بیوفیلم به دلیل افزایش توان بقا در شرایط تنش و دارا بودن مقدار بالای بیوماس میکروبی برای زیست پالایی مناسب شناخته شده‌اند [۱۴]. در زمینه جداسازی و شناسایی باکتری‌های تجزیه گر ترکیبات نفتی و استفاده از آن‌ها با حجم بالا برای رفع آلودگی مطالعات متنوعی صورت گرفته است. Varjani در مطالعه خود باکتری‌های جنس *Pseudomonas*، *Enterobacter*، *Micrococcus* و *Mycobacterium* را به عنوان فعال‌ترین گونه‌های باکتریایی در تجزیه هیدروکربن‌های موجود در خاک گزارش کرد [۱۵].

امروزه اکثر زیست شناسان اعتقاد دارند که باکتری های از جنس *Acinetobacter* ، *Arthrobacter*، *Pseudomonas* ، *Staphylococcus* ، *Bacillus* *Beijerinckia*، *Rhodococus*، *Mycobacterium* به عنوان کارآمدترین باکتری‌های تجزیه‌گر محصولات سنگین نفت و میکروپلاستیک‌ها می‌باشند [۱۶].

جابر و همکاران مطالعات مقدماتی برای تعیین شرایط بهینه به منظور تجزیه بیولوژیکی نفت را انجام دادند. در میان ۵۲ باکتری جداسازی شده از نمونه خاک آلوده به نفت، باکتریهای ۱-۷ *Bacillus sp IOS*، *Pseudomonas* BPS1-8 ، *Pseudomonas* HPS2-5 ، *Corynebacterium sp* BPS2-6 برای تجزیه نفت انتخاب شدند [۵]. در ایران میکروارگانیسم‌های بومی توانمند مانند *Pseudomonas aeruginosa* ، *Pseudomonas stutzeri*، *Bacillus cereus*، *Micrococcus*، *Enterobacter* از نقاط مختلف آلوده به ترکیبات نفتی مانند منابع خاکی و آبی جداسازی شده و برای تجزیه هیدروکربن‌های مختلف به کار گرفته شده اند [۱۷، ۱۸، ۱۹].

پژوهش حاضر با هدف ارائه راه حل اصلاحی خاک آلوده به صنایع پتروشیمی و میکروپلاستیک با استفاده از سویه-های باکتریایی مفید بومی جدا شده از ریزوسفر گیاهان، لجن و آب آلوده اطراف پتروشیمی شهرستان خرم‌آباد است که غربال‌گری سویه‌های باکتریایی از طریق آزمون‌های تشکیل ساختارهای بیوفیلم باکتریایی، تولید سیدرفور،

1.plant growth promoting rhizobacteria

تولید پروتئاز، حرکت سوارمینگ، توانایی انحلال فسفات و تولید ایندول استیک اسید و هم‌چنین پتانسیل این باکتری‌های مفید جهت تجزیه زیستی صنایع پتروشیمی و میکروپلاستیک‌ها ارزیابی شد.

روش بررسی

جداسازی پرگنه‌های باکتری از نمونه‌های خاک، لجن و آب

محصول اصلی شرکت پتروشیمی لرستان واقع در شهرستان خرم‌آباد پلی اتیلن است که صنایع پایین دست آن شامل انواع مواد خام محصولات پلاستیکی، روکش‌های انواع کابل‌های برق صنعتی است. در بهار سال ۱۴۰۳، نمونه‌ها از ریشه گیاهان به همراه خاک ریزوسفر، خاک‌های آلوده، لجن و آب از مناطق مختلف پتروشیمی استان لرستان جمع‌آوری شدند. به منظور جداسازی باکتری از نمونه‌های خاک از روش سری رقت متوالی بر روی محیط کشت NA استفاده شد. پس از رشد پرگنه‌های باکتریایی روی محیط کشت، تک پرگنه‌ها براساس رنگ، اندازه و شکل ظاهری انتخاب شدند. هم‌چنین به علت پایین بودن جمعیت بعضی از باکتری‌ها درون نمونه‌های لجن، پنج سی‌سی از رقت‌های 10^{-3} تا 10^{-7} به درون ارلن‌های حاوی ۲۵ میلی لیتر محیط مایع مغذی (NB) و ۲۵ میلی لیتر 2XYT انتقال و به مدت سه روز روی شیکر با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه هوادهی شد. بعد از هوادهی از محیط کشت مایع، مانند روش بالا سری رقت تهیه و روی محیط آگار جامد مغذی کشت گردید و نسبت به جداسازی و خالص سازی پرگنه‌های باکتریایی اقدام شد.

آزمون جایگزینی منبع کربن با غلظت دو و نیم درصد نفت در محیط MSM[1]

به منظور جداسازی باکتری‌های تجزیه کننده و یا متحمل به ترکیبات نفتی، از محیط‌کشت MSM حاوی ۲/۵ درصد نفت سفید به عنوان منبع کربن استفاده گردید. ابتدا از جدایه‌های باکتری خالص سازی شده، کشت ۲۴ ساعته تهیه گردید. سپس از جدایه‌های باکتریایی درون آب مقطر سترون سوسپانسیون تهیه گردید. از سوسپانسیون جدایه‌های باکتریایی به صورت جداگانه، میزان ۵۰ میکرولیتر به ۴۸/۷۰ میلی‌لیتر محیط MSM فاقد منبع کربن (سوکسینیک اسید) و حاوی ۲/۵ درصد نفت سفید اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت بر روی شیکر با سرعت ۱۷۰ دور در دقیقه هوادهی شد. هدف این بررسی دستیابی به باکتری‌های تجزیه کننده نفت خام و به عبارت واضح تر دستیابی به باکتری‌هایی می‌باشد که قادر به استفاده از نفت خام به عنوان منبع کربن بودند. باکتری‌های دارای قابلیت رشد بر روی محیط‌کشت MSM اصلاح شده، برای شناسایی مورد بررسی قرار گرفتند.

شناسایی جدایه‌های باکتریایی با استفاده از روش‌های فنوتیپی-بیوشیمیایی و مولکولی با استفاده از ژن 16s rRNA

از بین ۸۰ جدایه باکتری جداسازی شده چهار جدایه باکتریایی که دارای بیشترین مقدار در آزمون‌های توانایی تولید ایندول استیک اسید، سیدروفور، پروتئاز، حرکت سوارمینگ باکتریایی، تشکیل بیوفیلم، حلالیت فسفات و غیره بودند، انتخاب و براساس آزمون‌های فنوتیپی-بیوشیمیایی و مولکولی شناسایی شدند. آزمون‌های گرم، اکسیداز، کاتالاز، هوازی/بی‌هوازی، هیدرولیز نشاسته، تولید HCN، تولید آمونیا[2]، رشد در دمای ۴، ۲۸، ۳۷ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد، هیدرولیز آسکولین، کاهش نیترات، هیدرولیز ژلاتین، آرژنین هیدرولاز براساس روش‌های استاندارد باکتری شناسی انجام شدند [۲۰]. به منظور تشخیص دقیق‌تر جدایه‌های باکتریایی، تکثیر و توالی یابی ناحیه‌ای از ژن 16s rRNA با استفاده از آغازگرهای 16sF (AGAGTTTGATCCTGGCTCAG) و 16sR (ACGGCTACCTTGTTACGACT) به طول ۱۵۰۰ جفت باز در چهار جدایه به عنوان نماینده انجام شد [۲۱].

1.Mineral Salts Medium
2.ammonia production

غربال‌گری جدایه‌های باکتریایی بر اساس میزان انحلال فسفات

به منظور غربال‌گری جدایه‌های باکتریایی، از محیط کشت اسپربر-آگار (Sperber Agar) استفاده شد. جدایه‌های باکتریایی روی محیط کشت اسپربر آگار کشت و به مدت ۷ روز در دمای ۲۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد. هاله شفاف اطراف کلنی باکتری‌ها به عنوان فعالیت مثبت باکتری در حل فسفات معدنی محسوب می‌شود. قطر این هاله پس از یک هفته اندازه‌گیری گردید. این آزمون در سه تکرار برای هر جدایه باکتریایی انجام شد. هم‌چنین به منظور تخمین کمی توانایی انحلال فسفات با کشت گونه‌های باکتری از محیط اسپربر مایع انجام شد. مقدار ۵۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتری‌ها با غلظت 10^9 CFU/ml به محیط اسپربر مایع کشت گردید. پنج روز پس از مایه زنی و رشد باکتری‌ها، سوسپانسیون‌های باکتریایی به مدت ۱۰ دقیقه با ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. یک میلی لیتر از محلول رویی با ۳ میلی‌لیتر آب مقطر و یک میلی لیتر معرف آمونیوم مولیبدات وانادات مخلوط گردید. پس از ۲۰ دقیقه، شدت جذب نوری با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۳۰ نانومتر قرائت شد. مقدار فسفر محلول در محیط کشت در مقایسه با منحنی استاندارد محاسبه شد [۲۲].

آزمون حرکت سوارمینگ باکتر

برای انجام آزمون حرکت سوارمینگ از محیط کشت NB استفاده شد. پس از تهیه سوسپانسیون 10^8CFU/ml از هر جدایه باکتریایی، با استفاده از شست و شو با بافر PBS در سه مرحله پلی ساکاریدهای خارج سلولی حذف شدند. سپس میزان ۲۰ میکرولیتر از هر استرین باکتریایی روی دیسک‌های کاغذی ۶ میلی متری بر روی محیط کشت NA حاوی آگار ۰/۶ درصد قرار داده شد. آزمون در سه تکرار انجام شد و میزان تحرک باکتری به مدت یک هفته اندازه‌گیری و نتایج توسط نرم افزار SAS ver.9.4 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

تولید ایندول استیک اسید (IAA) توسط جدایه‌های باکتریایی

اندازه‌گیری کیفی برای ارزیابی توان جدایه‌ها در تولید اکسین با استفاده از محیط آگار DF بر پایهٔ روش Bric صورت گرفت [۲۳]. اندازه‌گیری کمی توان تولید اکسین با استفاده از روش رنگ آمیزی سالکوفسکی انجام شد [۲۴].

بررسی توانایی جدایه‌های باکتریایی در تشکیل بیوفیلم

جهت بررسی کمی و کیفی تشکیل بیوفیلم از روش میکروپلیت الایزا استفاده گردید [۲۵]. در این آزمون از جمعیت 10^8 CFU/ml استرین‌های باکتریایی در محیط کشت LB درون چاهک‌های پلیت الایزا استفاده شد. سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر-انکوباتور با سرعت ۶۰ دور در دقیقه قرار داده شد. بعد از دو ساعت پلیت‌ها با محلول کریستال ویوله یک درصد به مدت ۱۵ دقیقه انکوبه و پس از شست و شو ساختارهای بیوفیلم مورد بررسی قرار گرفت. سپس با استفاده از محلول استیک اسید ۳۰ درصد و اندازه‌گیری میزان جذب نوری در طول موج ۵۵۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر از نظر کمی مورد بررسی قرار گرفت. این آزمون در سه تکرار انجام و نتایج توسط نرم‌افزار SAS ver.9.4 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

تولید ترکیبات آهن بر یا سیدروفور توسط جدایه‌های باکتریایی

تشخیص نیمه کمی توان تولید آهن بر توسط جدایه‌ها با استفاده از محیط Cas-Agar، به روش Alexander انجام شد [۲۶]. جدایه‌هایی که قادر به تولید آهن بر بودند، بر پایهٔ تشکیل هاله‌ی زرد رنگ، تشخیص داده شدند. تشتک-های پتری حاوی جدایه‌های باکتریایی در دمای ۲۸ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری و آزمایش در سه تکرار انجام شد.

توانایی تولید پروتئاز

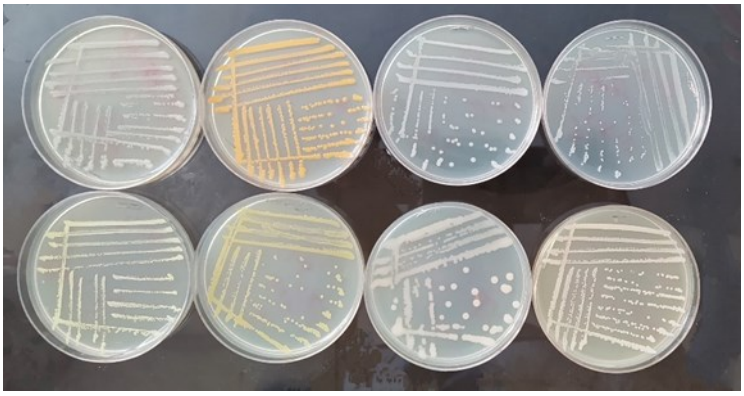
سنجش فعالیت پروتئازی با تلقیح ۲۰ میکرولیتر از جمعیت 10^8 CFU/ml هر جدایه باکتری به صورت لکه‌ای در

سه تکرار بر روی محیط کشت SMA[1] با استفاده از روش انتشار آگار انجام شد. تشتک‌های پتری در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. فعالیت پروتئاز با ایجاد یک ناحیه شفاف در اطراف پرگنه در سطح محیط کشت SMA نشان داده می‌شود [۲۷].

یافته‌ها

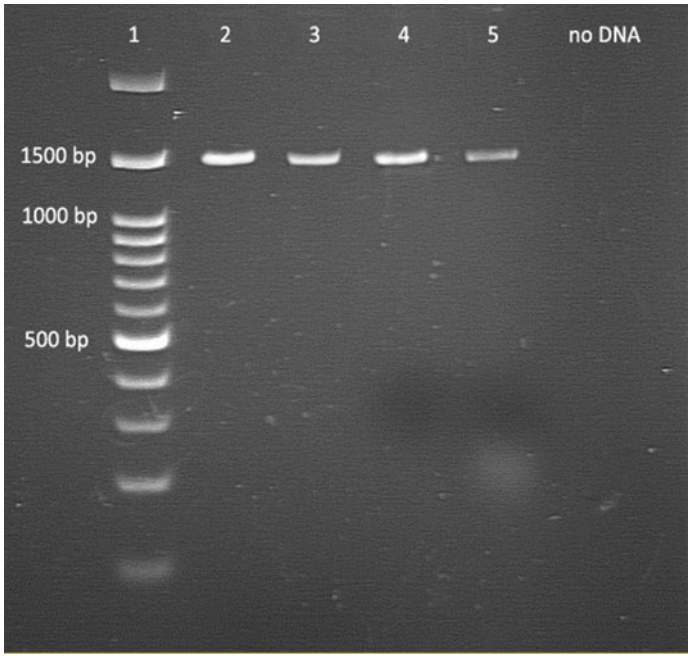
شناسایی جدایه‌ها براساس آزمون‌های بیوشیمیایی و مولکولی

در بررسی‌های اولیه، تعداد ۸۰ باکتری از ریشه گیاهان به همراه خاک ریزوسفر، لجن و آب از مناطق مختلف پتروشیمی شهرستان خرم‌آباد استان لرستان جداسازی گردید (شکل ۱). در نهایت تعداد چهار جدایه باکتریایی برتر که بیشترین رشد را در محیط MSM مایع حاوی نفت خام و دارای بیشترین مقدار در آزمون‌های توانایی تولید ایندول استیک اسید، سیدروفور، پروتئاز، حرکت سوارمینگ باکتریایی، تشکیل بیوفیلم، حلالیت فسفات و غیره انتخاب و مورد شناسایی قرار گرفتند. نتایج آزمون‌های ریخت شناسی- بیوشیمیایی صورت گرفته به منظور شناسایی باکتری‌های استخراج شده از خاک به اختصار در جدول (۱) ارائه شده است. به منظور تشخیص جدایه‌های باکتریایی علاوه بر آزمون‌های فنوتیپی و بیوشیمیایی، یک قطعه ۱۵۰۰ جفت بازی نیز با استفاده از آغازگرهای 16s-F و 16s-R طراحی شده بر اساس ناحیه 16s rRNA تکثیر شد (شکل ۲). پس از تکثیر، توالی یابی و بلاست کردن ناحیه تکثیر شده در پایگاه داده‌ای NCBI و هم‌چنین با توجه به نتایج آزمون‌های فنوتیپی و بیوشیمیایی، جدایه‌ها شناسایی شدند. براساس خصوصیات فنوتیپی- بیوشیمیایی و توالی‌یابی بخشی از ناحیه ژنی 16s rDNA، جدایه‌های باکتریایی *Pseudomonas koreensis*، *Curtobacterium flaccumfaciens*، *Arthrobacter globiformis* و *Bacillus cereus* شناسایی شدند (جدول ۱). بعد از بلاست در پایگاه NCBI جدایه باکتریایی *Pseudomonas koreensis* بیشترین شباهت را با جدایه‌های MT629852.1 و FJ786057.1 داشت. هم‌چنین جدایه *Curtobacterium flaccumfaciens* بیشترین شباهت را با جدایه OK135820.1، MK267297.1، MT634395.1 و MT634394.1 داشت و جدایه *Arthrobacter globiformis* بیشترین شباهت را با جدایه‌های HF562461.1 ، KY962736.1 ، DQ019168.1 ، MK414904.1 و MG758045.1 داشت و جدایه *Bacillus cereus* بیشترین شباهت را با جدایه‌های MN250321.1، KY753249.1، MW632034.1 و KP137409.1 داشت (شکل ۳).



شکل ۱. جداسازی و خالص‌سازی جدایه باکتریایی از مناطق مختلف پتروشیمی استان لرستان

1.Skim Milk Agar

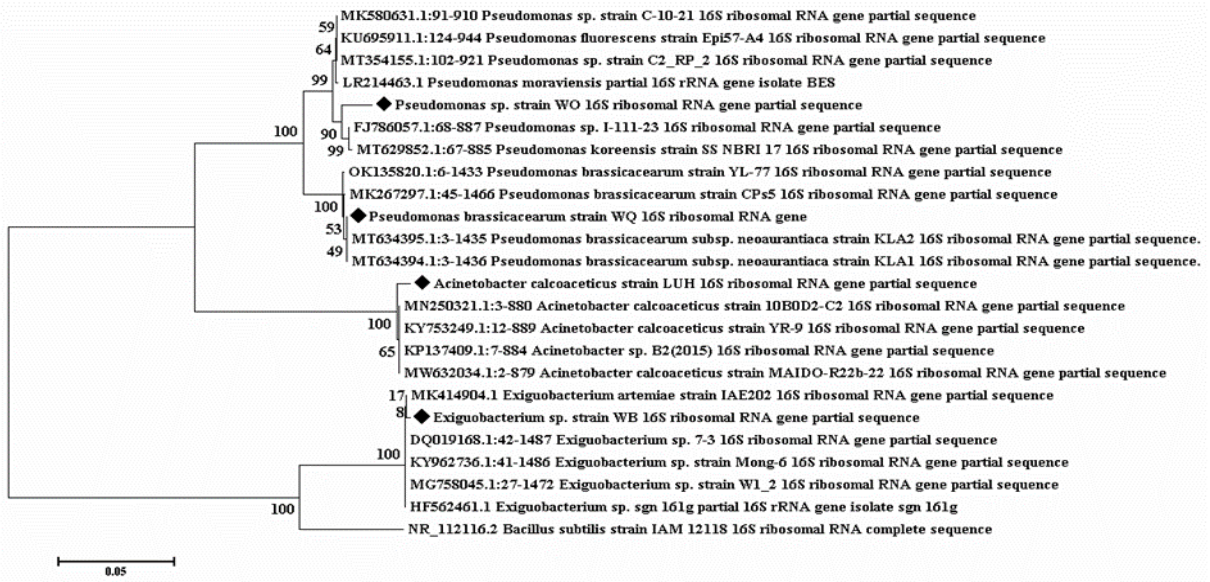


شکل ۲. محصول PCR حاصل از استفاده از جفت آغازگرهای 16s - F/16s - R در جدایه‌های شاخص

۱.نشانگر مولکولی (۳۰۰۰ bp) 2.Pseudomonas koreensis 3.Curtobacterium flaccumfaciens
4.Arthrobacter globiformis 5.Bacillus cereus

جدول ۱. ویژگی‌های فنوتیپی- بیوشیمیایی باکتری‌های جداسازی شده

Characteristic	Isolates			
	Pseudomonas koreensis	*Curtobacterium flaccumfaciens*	*Arthrobacter globiformis*	***Bacillus cereus***
Gram stain	-	+	+	+
Type of metabolism	O	O	O	**F**
Oxidase	+	-	-	+
Catalase	+	+	+	+
Starch hydrolysis	-	-	-	+
Growth in NaCl	10%	15%	7%	**10%**
5	+	+	+	+
7	+	+	+	+
10	+	+	-	+
15	-	+	-	-
HCN production	-	-	-	-
Casein hydrolysis	+	+	+	+
Ammonia production	+	+	+	+
growth at 4 ◦C	-	-	-	-
28	+	+	+	+
37	+	+	+	+
45	-	-	+	+
Nitrate reduction	+	-	+	+
Esculin hydrolysis	+	+	+	+
Gelatin hydrolysis	+	+	+	+
Arginine dihydrolase	+	-	-	-



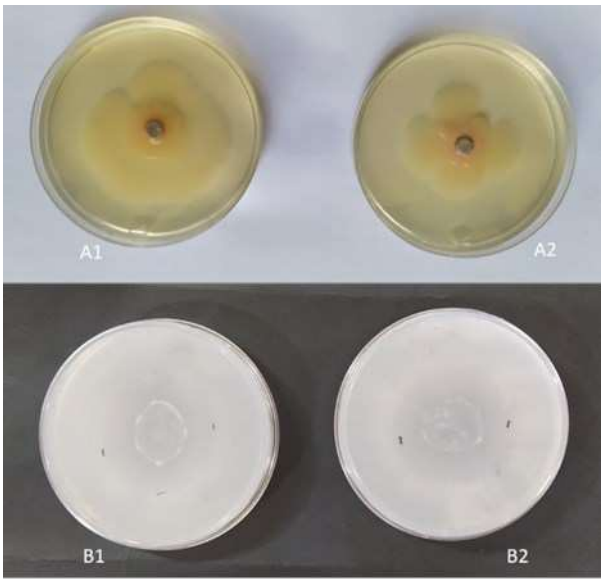
شکل ۳. درخت فیلوژنی جدایه‌های باکتریایی جدا شده براساس تجزیه و تحلیل توالی ژن 16s rRNA توسط نرم‌افزار MEGA7 به روش Neighbor-joining با ۱۰۰۰ تکرار bootstrap ساخته شد

بررسی توانایی انحلال فسفات معدنی نامحلول در جدایه‌ها

نتایج نشان داد که چهار جدایه در محیط کشت جامد توان انحلال فسفات معدنی بیشتر از سه میلی‌متر را داشتند که بیشترین و کم‌ترین میزان تولید هاله حل‌کنندگی فسفات به مقدار ۱/۶۱±۰/۱۶ و ۰/۳۵±۰/۰۶ سانتی‌متر به ترتیب متعلق به جدایه‌های *C. flaccumfaciens* و *A. globiformis* بود. هم‌چنین روی محیط کشت اسپربر مایع جدایه‌های *C. flaccumfaciens* و *P. koreensis* با ۳۹۰±۲۵ و ۶±۳۵۹/۱۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر فسفر بیشترین میزان حل‌کنندگی فسفات را در محیط اسپربر مایع نشان دادند (شکل ۴) و (جدول ۲ و ۳).

بررسی حرکت سوارمینگ جدایه‌های باکتری

بررسی میزان حرکت سوارمینگ جدایه‌ها روی محیط NA یک درصد نشان داد که جدایه‌ها از نظر سرعت تحرک و نحوه حرکت با هم تفاوت داشت و اشکال مختلفی از تحرک را نشان دادند (شکل ۴). بیشترین میزان تحرک در بین جدایه‌ها به ترتیب مربوط به گونه‌های *P. koreensis* و *C. flaccumfaciens* با میانگین مقادیر ۳/۳۶±۰/۲ و ۳/۳۳ ± ۰/۱ سانتی‌متر بود (جدول ۲ و ۳).



شکل ۴. A) حرکت سوارمینگ باکتریایی روی محیط کشت NA ۰/۵ درصد، A1) P. koreensis، A2) C. flaccumfaciens
B1 و B2: توانایی انحلال فسفات)هاله شفاف اطراف پرگنه باکتری(بر روی محیط کشت Sperber Agar توسط گونه‌های P. koreensis و C. flaccumfaciens

آزمون تولید ایندول استیک اسید

مقدار تولید ایندول استیک اسید توسط جدایه‌ها، از ۱/۳۷ تا ۵/۵۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر متغیر بود. بیشترین مقدار تولید ایندول استیک اسید مربوط به جدایه *C. flaccumfaciens* با تولید ۵/۵۹ میکروگرم در میلی‌لیتر و کم‌ترین مربوط به جدایه *A. globiformis* با تولید ۱/۳۷ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. مقدار تولید IAA تولید شده توسط هر جدایه در جدول ۳ بیان شده است.

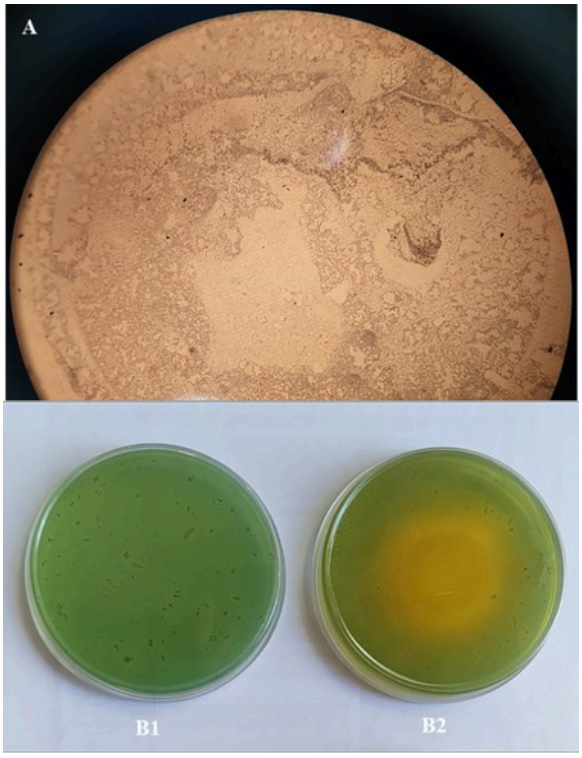
بررسی توانایی جدایه‌های باکتریایی در تشکیل بیوفیلم

نتایج میزان تشکیل بیوفیلم توسط جدایه‌ها از روش میکروپلیت الایزا استفاده شد. بعد از رنگ آمیزی با استفاده از میکروسکوپ نوری ساختار بیوفیلم مورد ارزیابی قرار گرفت (شکل ۵). رنگ آبی در شکل نشان دهنده تشکیل و اتصال بیوفیلم به چاهک می‌باشد. ساختار بیوفیلم در باکتری *P. koreensis* دارای بیشترین میزان تراکم و گسترش بود. هم‌چنین کم‌ترین میزان تراکم و گسترش بیوفیلم در بین گونه‌ها مرتبط با گونه *A. globiformis* بود. سپس به منظور ارزیابی کمی میزان توانایی جدایه‌ها در تشکیل بیوفیلم از اسید استیک ۳۰ درصد در طول موج ۵۵۰ نانومتر استفاده شد. با مقایسه میانگین‌ها در بین گونه‌های مورد استفاده، گونه‌های *P. koreensis* و *C. flaccumfaciens* به ترتیب با میانگین ضریب جذب ۰/۱۳۹ و ۰/۱۰۹ در طول موج ۵۵۰ نانومتر بیشترین میزان تولید بیوفیلم را نشان دادند. هم‌چنین باکتری‌های *B. cereus* و *A. globiformis* به ترتیب دارای میانگین ضریب جذب ۰/۰۶۹ و ۰/۰۶۱ بودند (جدول ۲) و (جدول ۳).

ارزیابی تولید سیدروفور توسط جدایه‌های باکتریایی

نتایج آزمون کیفی روی محیط‌کشت CAS-آگار نشان داد که چهار گونه *P. koreensis*، *C. flaccumfaciens*، *A. globiformis* و *B. cereus* توانایی تولید سیدروفور

را دارند. ظهور هاله‌ی نارنجی رنگ (زرد) در اطراف پرگنه-های باکتریایی نشان‌دهنده‌ی تولید سیدروفور می‌باشد (شکل ۵). در این آزمون نسبت قطر هاله به قطر کلنی در جدایه‌ها متغیر بوده و بیشترین توانایی تولید سیدرفور (بیشترین نسبت به ناحیه‌ی قطر هاله) پس از هفت روز متعلق به جدایه *P. koreensis* با نسبت ۰/۳±۲/۳۵ سانتی‌متر بود. چهار گونه‌ای که توانایی تولید سیدرفور را دارا بودند، از نظر کمی نیز با هم مقایسه شدند. در این بررسی گونه *P. koreensis* با میانگین ۰/۲۵ بیشترین میزان جذب نوری در طول موج ۶۳۰ نانومتر را نشان داد.

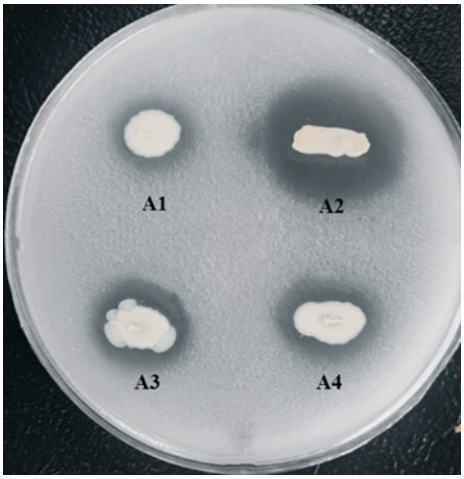


شکل ۵. A) بررسی تشکیل بیوفیلم به روش میکروپلیت الایزا و ساختار تشکیل بیوفیلم باکتریایی در روش میکروپلیت الایزا

B1) تولید سیدروفور (ظهور هاله نارنجی رنگ) توسط جدایه منتخب باکتریایی بر روی محیط‌کشت CAS-آگار. B1) شاهد، B2) جدایه *P. koreensis*

توانایی جدایه‌ها در تولید پروتئاز

در بررسی کیفی آزمون تولید پروتئاز، ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه در محیط کشت جامد اختصاصی کازئین آگار کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. بیشترین هاله شفاف ایجاد شده به ترتیب مربوط به جدایه *P. koreensis*، *B. flaccumfaciens C. cereus* و *A. globiformis* به ترتیب دارای میانگین مقادیر ۱/۰±۷۳/۲۲، ۰/۱۶ ± ۱/۱، ۰/۰۵ ± ۰/۵ و ۰/۳±۰ سانتی‌متر بود (شکل ۶) (جدول ۲و۳).



شکل۶. A1) تولید پروتئاز (ظهور هاله شفاف) توسط باکتری A. globiformis، A2) تولید پروتئاز توسط باکتری P. koreensis، A3) تولید پروتئاز توسط باکتری C. flaccumfaciens، A4) تولید پروتئاز توسط باکتری B. cereus

جدول ۲. تجزیه واریانس ساده فاکتورهای اندازه گیری شده

Sources of changes	Degrees of freedom	IAA	Siderophore	Protease	Biofilm	swarming	Quantitative dissolution of phosphate	Qualitative dissolution of phosphate
treatment	4	15.90**	0.02**	1.03**	0.008**	5.82**	0.50**	**0.54****
Rep	2	0.02 ns	0.0001 ns	0.01 ns	0.00005ns	0.008 ns	0.00008 ns	**0.01 ns**
C.V.	***	3.53	18.14	15.12	16.11	12.62	1.31	**27.29**

*و** به ترتیب معنی‌داری در سطوح ۵ و ۱ درصد، ns : سطوح غیرمعنی‌دار

جدول ۳ . مقایسه میانگین فاکتورهای اندازه‌گیری شده

Sources of changes	IAA	Siderophore	Protease	Biofilm	swarming	Quantitative dissolution of phosphate	Qualitative dissolution of phosphate
P. koreensis	3.36c	0.25a	1.73a	0.139a	3.36a	0.035b	**0.41b**
C. flaccumfaciens	5.59a	0.19b	1.1b	0.109b	3.33a	0.042a	**1.61a**
A. globiformis	1.37d	0.07c	0.50c	0.061c	1.63c	0.019c	**0.35b**
B. cereus	3.81b	0.11c	0.30d	0.069c	2.23b	0.034b	**0.56b**
Control	0e	0d	0e	0c	0d	0d	**0d**

میانگین‌های با حروف مشترک در یک ستون در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

بحث

خاک یکی از منابع مهم و ارزشمند موجود در طبیعت است. برنامه‌ریزی برای داشتن خاکی سالم و تولیدکننده، لازمه بقای انسان است. ترکیبات نفتی و صنایع پتروشیمی، از مهم ترین آلاینده‌های آلی محیط زیست به ویژه خاک هستند. ورود این ترکیبات به طبیعت، به سبب سمی بودن، ایجاد جهش و سرطان زایی برای موجودات زنده، از مهم ترین نگرانی‌های حامیان محیط زیست است. این دسته ازآلاینده‌های آلی، پایداری زیادی در خاک دارند و انباشته شدن تدریجی آن‌ها در خاک، موجب اختلال در کارکرد طبیعی خاک از جمله کاهش عملکرد محصولات کشاورزی و تغییر در ویژگی‌های خاک می‌گردد [۱۰]. نیاز به اصلاح محیط‌های آلوده، سبب توسعه فن آوری‌های گوناگونی برای رفع آلودگی‌های آلی از خاک شده است. امروزه استفاده از میکروارگانیسم‌ها یا فرآورده‌های آن‌ها در پاک‌سازی آلاینده‌های نفتی و صنایع پتروشیمی بسیار مورد توجه قرار گرفته است [۷]. باکتری‌ها و قارچ‌ها تنها گونه‌های بیولوژیکی دارای توانایی متابولیکی برای استفاده از کربن نفت در سنتز سلولی خود هستند. بزرگترین کار باکتری‌ها در خاک، تجزیه و تخریب ترکیبات آلی می‌باشد. باکتری‌ها قادرند ساده ترین تا پیچیده ترین ترکیبات را تجزیه کنند. اغلب باکتری‌ها ساپروفیت هستند، ساپروفیت‌ها مواد معدنی و آلی ساده را جذب می‌کنند، در حالی‌که برای بهره گیری از پلیمرهای آلی به واسطه تولید آنزیم‌های برون سلولی این پلیمرها را تجزیه می‌کنند و از آن‌ها به عنوان منبع کربن و انرژی بهره می‌گیرند [۱۴]. توان باکتری‌ها در تولید آنزیم‌های برون سلولی بالا بوده و توان تولید آنزیم‌های برون سلولی گوناگونی را دارند که بسیاری از آن‌ها توانایی تجزیه و تخریب ترکیبات آلی خیلی پیچیده را نیز دارند و کارایی بالایی در پیش برد چرخه کربن دارند [۱۱]. باکتری‌های تجزیه گر هیدروکربن‌های نفتی با توجه به حلالیت پایین هیدروکربن‌ها داری دو مکانیسم برای بالا بردن تجزیه آلاینده‌ها می‌باشند. اولین راهکار، تولید جاذب‌های سطحی بیولوژی می‌باشد که باعث افزایش حلالیت و قابلیت دسترسی باکتری‌ها به آلاینده‌ها می‌شود و به عبارت بهتر به امولسیون بهتر هیدروکربن‌ها کمک می‌کند. راهکار دوم توسط مکانیسم اتصال/ تخریب می‌باشد [۸]. اکثر باکتری‌های تجزیه گر، توانایی تولید جاذب‌های سطحی هیدروکربن‌ها را دارند که به آن‌ها امکان تماس فیزیکی مناسب با هیدروکربن‌ها را می‌دهد. به عبارت دیگر، باکتری‌ها با داشتن سطح سلولی آب دوست که برای اتصال بهینه به آلاینده‌ها موثر است، می‌توانند ترکیبات سنگین را به ذرات ریز تبدیل کرده و به عنوان منبع کربن از آن استفاده کنند. بنابراین این روش می‌تواند با کم‌ترین عوارض جانبی بیشترین راندمان را در اصلاح خاک‌های آلوده ایفا کند. در ضمن برعکس روش‌های دیگر که دارای تاثیر کوتاه مدت هستند، استفاده از باکتری‌ها دارای تاثیر دایمی می‌باشد که مهم‌ترین جنبه مثبت این مکانیسم است [۱۲]. پژوهش‌های متعددی در دست است که سویه‌های مختلف باکتریایی نه تنها نسبت به آلودگی‌های نفتی و میکروپلاستیک مقاوم هستند بلکه برخی از آن‌ها قادرند از این ترکیبات به عنوان منبع کربن و ماده غذایی استفاده کنند [۹]. در پروفیل خاک با افزایش عمق، جمعیت میکروب‌ها به علت کاهش مواد غذایی به شدت کاسته می‌شود. میزان فعالیت موجودات زندهٔ ذره بینی خاک در هر منطقه به رشد گیاه، نوع گیاه، نوع خاک، حاصلخیزی خاک، عملیات زراعی و هم‌چنین ماکرو و

میکروکلمیا محیط بستگی دارد [۳]. موجودات زنده خاک به حضور آلاینده‌های زیست محیطی و هم‌چنین مدیریت خاک واکنش نشان می‌دهند. مواد محرک رشد مثل نیترات حاصل از نزولات و یا نیتروژن موجود در علف‌کشها رشد برخی از باکتری‌ها و قارچ‌ها را افزایش می‌دهد و نیز اضافه کردن عناصر غذایی، وجود عدم تعادل در کوددهی، تغییرات اسیدیته، فلزات سنگین و دیگر مواد آلاینده و سمی مثل آلاینده‌های هیدروکربنی فعالیت برخی از موجودات حساس را کاهش می‌دهند و یا سبب مرگ آن‌ها می‌شوند [۴]. هر تغییری در بستر یا شرایط محیطی منجر به تغییر ساختار میکروبی و سرعت واکنش‌های متابولیکی می‌گردد. هم‌چنین هر گونه تغییری تحت تأثیر عوامل فوق سبب ناپایداری سیستم می‌شود. فرآیندهای بیولوژیک ناشی از مواد آلوده کننده موجب تقلیل در ذخایر عناصر غذایی و کاهش ظرفیت نگهداری آب در خاک می‌شود [۶]. نکته مهمی که بایستی به آن اشاره کرد، این است که تغذیه گیاه به طور کامل بستگی به فعالیت متابولیکی موجودات زندهٔ ذره بینی خاک دارد. بنابراین تغییرات در جامعه موجودات زنده خاک اثر مستقیم و غیرمستقیم بر سلامت و بقاء گیاهان و بالطبع آن، جوامع بشری دارد. به علاوه باکتری‌ها و سایر موجودات زندهٔ ذره بینی خاک با ذخیره عناصر سنگین و ترکیبات سمی دیگر از تجمع بالای آن در گیاه و ورود آن‌ها به سیستم بدن انسان جلوگیری می‌کنند. حال با کاهش شمار این موجودات زندهٔ ذره بینی میزان تجمع عناصر سنگین و سمی در گیاه افزایش یافته که می‌تواند تهدیدی برای زندگی بشر باشد [۱۵]. غلظت‌های بالای آلاینده‌ها و شرایط نامطلوب ممکن است در مکان‌های آلوده شده اثرات منفی بر روی میکروارگانیسم‌ها بگذارد، که نتیجه آن اثر منفی بر روی میزان زیست پالایی است [۱۱]. ریزوباکتری‌های افزایش‌دهنده‌ی رشد گیاه (PGPR) قادر به ارتقای رشد گیاهان با استفاده از مکانیسم‌های مستقیم و غیر مستقیم حتی در محیط‌های آلوده به صنایع پتروشیمی می‌باشند. مکانیسم‌های مستقیم شامل فراهم ساختن فسفر قابل جذب برای گیاه، تثبیت نیتروژن اتمسفری، جداسازی و مهیا نمودن عناصر نادر مانند آهن با استفاده از سیدروفورها و تولید هورمون‌های گیاهی نظیر جیبرلین، سیتوکین و اکسین می‌باشند. اثر غیر مستقیم باکتری‌های افزایش دهنده رشد گیاه از طریق افزایش تحمل گیاه نسبت به تنش‌ها، صورت می‌پذیرد. به علاوه، بسیاری از میکروارگانیسم‌های خاک قادر به انحلال شکل‌های غیر قابل جذب کانی‌های معدنی فلزدار از طریق ترشح اسیدهای آلی هستند [۱۶]. این باکتری‌ها به دلیل برخورداری از اندازه‌ی کوچک، دارای فعالیت و نسبت سطح به حجم زیادی می‌باشند. بنابراین سطح تماس وسیعی را مهیا نموده و امکان استفاده از آن‌ها به عنوان کلات کننده‌های میکروبی جهت افزایش کارآیی فن‌آوری زیست‌پالایی وجود دارد [۱۷]. از فاکتورهای دیگری که به تجزیه زیستی آلاینده‌ها کمک می‌کند، می‌توان به تشکیل بیوفیلم اشاره کرد، که یک سد فیزیکی برای جلوگیری از ورود هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای به درون غشا باکتری می‌باشد [۱۸]. هم‌چنین ساختار بیوفیلم‌های باکتریایی سبب مقاومت در برابر مواد مضر از جمله میکروپلاستیک می‌شود و پس از گذشت مدت زمانی باکتری توانایی سازگاری، مصرف و تجزیه مواد را پیدا می‌کند [۱۹]. زیست پالایی روشی است که در بر گیرنده‌ی استفاده از فعالیت‌های بیولوژیک طبیعی به منظور تخریب و یا تجزیه‌ی آلاینده‌های مختلف می‌باشد. زیست‌پالایی تکنیکی

مقرون به صرفه و ساده است که عموماً از مقبولیت عمومی بالایی برخوردار می‌باشد. به دلیل سازگار بودن با کارکردهای زیستی، امکان اجرای آن در مکان‌های آلوده، بدون ایجاد تأثیر سوء بر حاصلخیزی و فعالیت-های متابولیکی میکروب‌های خاک وجود دارد. این ویژگی مانع از انتقال آلاینده‌ها از مکان‌های آلوده به مکان‌های دیگر می‌شود و متعاقباً سبب کاهش خطرات بالقوه‌ای می‌شود که می‌تواند در طی جابه‌جایی آلاینده‌ها برای سلامتی انسان و محیط زیست به وجود آید [۱۸]. به علاوه، فن‌آوری زیست پالایی برای پالایش طیف وسیعی از آلاینده‌های زیست محیطی مناسب می‌باشد و به واسطه‌ی دگرگونی یا تجزیه‌ی این آلاینده‌ها، سبب کاهش سمیت آن‌ها می‌گردد. نظر به این‌که زیست پالایی روش جایگزین مناسبی برای فن‌آوری‌های پالایشی مرسوم می‌باشد، لذا تحقیقات در این زمینه به سرعت رو به گسترش است. با این وجود، نیاز به مهندسی ژنتیک میکروب‌ها، به منظور بهبود کارکرد و کاربرد گسترده‌تر آن‌ها تحت شرایط اقلیم‌های کشاورزی مختلف، هم‌چنان احساس می‌شود [۱۹].

نتیجه گیری

در این پژوهش از بین جدایه‌های باکتریایی نمونه برداری شده از ریزوسفر گیاهان اطراف پتروشیمی خرم آباد، لجن و آب آلوده این منطقه و خالص سازی بر اساس خصوصیات فنوتیپی- بیوشیمیایی و توالی‌یابی بخشی از ناحیه ژن 16S rRNA، گونه-های *Pseudomonas koreensis*، *Curtobacterium flaccumfaciens*، *Arthrobacter globiformis* و *Bacillus cereus* شناسایی گردیدند. هم‌چنین جدایه‌های باکتریایی از نظر فاکتورهای تشکیل ساختارهای بیوفیلم باکتریایی، تولید سیدرفور، تولید پروتئاز، حرکت سوارمینگ، توانایی انحلال فسفات و تولید ایندول استیک اسید مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد باکتری *Pseudomonas koreensis* بیشترین میزان تشکیل بیوفیلم، حرکت سوارمینگ، تولید سیدروفور، پروتئاز و تحمل نسبت به نفت را از خود نشان داد. هم‌چنین بیشترین توانایی در انحلال فسفات و تولید ایندول استیک اسید متعلق به گونه *Curtobacterium flaccumfaciens* بود. در این تحقیق برای نخستین بار باکتری *Curtobacterium flaccumfaciens* به عنوان تجزیه کننده میکروپلاستیک معرفی گردید. به طور کلی به دلایلی مانند سمیت، خاصیت سرطان زایی، جهش زایی و ایجاد اختلالات جنینی ناشی از ترکیبات هیدروکربنی موجود در نفت خام و صنایع پتروشیمی و هم‌چنین وجود این مواد به عنوان یکی از مهم‌ترین آلاینده‌های محیطی خاک، نگرانی‌های گسترده ای از بابت ورود این ترکیبات سمی به زنجیره‌های غذایی وجود دارد. به همین دلیل تلاش‌های وسیعی جهت یافتن راه‌های سریع و مقرون به صرفه برای حذف این مواد از طبیعت انجام شده است. از بین روش‌های مختلف پاک‌سازی، زیست پالایی روشی کارآمد، اقتصادی و پایدار می‌باشد. بنابراین این روش می‌تواند با کم‌ترین عوارض جانبی بیشترین راندمان را در اصلاح خاک‌های آلوده ایفا کند. در ضمن برعکس روش‌های دیگر که دارای تاثیر کوتاه مدت هستند، دارای تاثیرات دایمی می‌باشند.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله بر خود لازم می دانند از حمایت‌های مادی و معنوی دانشگاه لرستان در انجام این طرح

تحقیقاتی با کد ۱۴۰۵-۲۱-۰۸-۱۴۰۳ تشکر و قدردانی به عمل آورد.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله اذعان می‌دارند که در انجام پژوهش و هم‌چنین نگارش مقاله تضاد منافع نداشته‌اند.

حمایت مالی

در اجرای این طرح پژوهشی از حمایت‌های مالی دانشگاه لرستان استفاده شده است.

مشارکت نویسندگان

جمع آوری اطلاعات، انجام آزمایشات: احسان حسنوند، سمیرا پاکباز، کیمیا طولابیان

آماده سازی نسخه اولیه مقاله: احسان حسنوند، نوشین بیرجندی

ارائه ایده پژوهش : هستی دارایی

ارائه مشاوره در اجرای پژوهش و نظارت بر آماده سازی مقاله: نوشین بیرجندی، سمیرا پاکباز

References

1. Chia, Rogers Wainkwa, Jin-Yong Lee, Jiwook Jang, Heejung Kim, and Kideok D Kwon. Soil Health and Microplastics: A Review of the Impacts of Microplastic Contamination on Soil Properties. Journal of Soils and Sediments, 2022: 22 (10): 2690–2705.
2. Liu, Yuxiang. Microplastics: Research, Problems, and Solutions. Worcester Polytechnic Institute, 2024.
3. Ziani, Khaled, Corina-Bianca Ioniță-Mîndrican, Magdalena Mititelu, Sorinel Marius Neacșu, Carolina Negrei, Elena Moroșan, Doina Drăgănescu, and Olivia-Teodora Preda. Microplastics: A Real Global Threat for Environment and Food Safety: A State of the Art Review. Nutrients, 2023:15 (3): 617.
4. Thapliyal, Charu, Anshu Priya, Salam Bhopen Singh, Vivekanand Bahuguna, and Achlesh Daverey. Potential Strategies for Bioremediation of Microplastic Contaminated Soil. Environmental Chemistry and Ecotoxicology, 2024: 6: 117–31.
5. Jabbar, Noor M, Saja M Alardhi, Alaa K Mohammed, Issam K Salih, and Talib M Albayati. Challenges in the Implementation of Bioremediation Processes in Petroleum-Contaminated Soils: A Review. *Environmental* Nanotechnology, Monitoring & Management 2022: 18: 100694.
6. Ossai, Innocent Chukwunonso, Aziz Ahmed, Auwalu Hassan, and Fauziah Shahul Hamid. Remediation of Soil and Water Contaminated with Petroleum Hydrocarbon: A Review. Environmental Technology & Innovation 2020: 17: 100526.
7. Pal, Arun Kumar, Jyotsna Singh, Ramendra Soni, Pooja Tripathi, Madhu Kamle, Vijay Tripathi, and Pradeep Kumar. The Role of Microorganism in Bioremediation for Sustainable Environment Management. In Bioremediation of Pollutants, 2020: 227–49. Elsevier.
8. Rodríguez-Uribe, Mónica Liliana, Juan José Peña-Cabriales, María del Carmen Rivera-Cruz, and John Paul Délano-Frier. "Native Bacteria Isolated from Weathered Petroleum Oil-Contaminated Soils in Tabasco, Mexico, Accelerate the Degradation Petroleum Hydrocarbons in Saline Soil Microcosms. Environmental Technology & Innovation, 2021: 23: 101781.
9. Akinola, Olusegun, Eniola Adebayo, and Adedeji Ogunyemi. Bioremediation of Various Pollutants in the Ecosystem. *Global* International Journal of Innovative Research, 2024: 2 (7): 1591–1600.
10. Abo-Alkasem, Mohamed I, Ne'mat H Hassan, and Mostafa Mostafa Abo Elsoud. Microbial Bioremediation as a Tool for the Removal of Heavy Metals. Bulletin of the National Research Centre, 2023: 47 (1): 31.
11. Glick, Bernard R. Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. Scientifica, 2012.
12. Goswami, Dweipayan, Janki N Thakker, and Pinakin C Dhandhukia. Portraying Mechanics of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): A Review. Cogent Food & Agriculture 2016, 2 (1): 1127500.
13. Mirzaei Najafgholi, Hossein, Ehsan Hasanvand, Samira Pakbaz, and Neda Rouhani. Investigating Effective Factors in Improving Plant Growth by Native Phosphate-Dissolving Bacteria Isolated from Wheat. Journal of Genetic Resources, 2023: 71–82.
14. Hasan, Asma, Baby Tabassum, Mohammad Hashim, and Nagma Khan. "Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) as a Plant Growth Enhancer for Sustainable Agriculture: A Review. Bacteria, 2024: 3 (2): 59–75.
15. Varjani, Sunita J. Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbons. Bioresource Technology, 2017: 223: 277–86.
16. Raja, S, K P B Dinesh, K Kesavan, Thrissur Kodungallur, and K Thrissur. Bioremediation by Using of Microbes and Algae with Special Reference to Coastline Environment. Int. J. Biosci. Nanosci, 2014: 1 (6): 130–40.
17. Bayat, Z, Shahian, M. H, Asgari, M. Separation and identification of crude oil-degrading bacteria from the gut of Haustrum scobina collected from the Persian Gulf (Bandar Abbas coastal region). Journal of Microbial Biology 2016: 5 (17): 61-72.
18. Ebrahim pour, Gh, Fouladi, J, Ferdosi, A. Investigation of the effect of environmental factors on the degradation of crude oil by extreme halophile oil-eating bacteria, biosurfactant production and gravimetric analysis of petroleum compounds consumed under these optimal conditions, Journal of Environmental Sciences, 2006: 3 (10): 25-39.
19. Kianpour, R, Moetamedi, H, Bam zadeh, Z. Isolation and identification of bacteria that degrade petroleum hydrocarbons from Asmari oil reservoirs in Ahvaz. World of Microbes Magazine, 2016: 9 (2): 145-155.
20. Schaad, Norman W, Jeffrey Bryant Jones, and Wesley Chun. Laboratory Guide for the Identification of Plant Pathogenic Bacteria. American Phytopathological society (APS press). 2001
21. Weisburg, William G, Susan M Barns, Dale A Pelletier, and David J Lane. 1991. "16S Ribosomal DNA Amplification for Phylogenetic Study." *Journal of Bacteriology* 173 (2): 697–703.
22. Sperber, Joan I. The Incidence of Apatite-Solubilizing Organisms in the Rhizosphere and Soil. Australian Journal of Agricultural Research 1958: 9 (6): 778–81.
23. Bric, John M, Richard M Bostock, and Sara E Silverstone. Rapid in Situ Assay for Indoleacetic Acid Production by Bacteria Immobilized on a Nitrocellulose Membrane. Applied and Environmental Microbiology, 1991: 57 (2): 535–38.
24. Glickmann, Eric, and Yves Dessaux. A Critical Examination of the Specificity of the Salkowski Reagent for Indolic Compounds Produced by Phytopathogenic Bacteria. Applied and Environmental Microbiology, 1995: 61 (2): 793–96.
25. O'Toole, George A. Microtiter Dish Biofilm Formation Assay. JoVE (Journal of Visualized Experiments), 2011: no 47: e2437.
26. Alexander, D B, and D A, Zuberer. Use of Chrome Azurol S Reagents to Evaluate Siderophore Production by Rhizosphere Bacteria. Biology and Fertility of Soils, 1991: 12: 39–45.
27. Pratika, M, M Ananda, and I N Suwastika. Protease Activity from Bacterial Isolates of Nepenthes Maxima Reinw. Ex Nees. In Journal of Physics: Conference Series, 2021: 1763:12092. IOP Publishing.