مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی- مولکولی
دوره چهارم، شماره پانزدهم، تابستان ۱۳۹۳

NCMBJ
Research Article
مقاله تحقیقی

بررسی رابطه بین وجود ژن آلکان هیدروکسیلاز و تجزیه ترکیبات آلیفاتیک

مهدی حسن شاهیان[۱*]، حمید تبیانیان[۲]، زینب بیات[۳]، مریم کریمی[۴]

۱- دکتری تخصصی میکروبیولوژی ،استادیار،دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمان، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، کرمان، ایران.
۲- کارشناسی ارشد میکروبیولوژی ، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، تهران، ایران.
۳. کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، بخش زیست، دانشکده علوم، انجمن پژوهشگران جوان، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.
۴. کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات کرمان، گروه میکروبیولوژی ، کرمان، ایران.

چکیده

سابقه و هدف: آلودگی هیدروکربنی امروزه یکی از مهمترین معضلات زیست محیطی می باشد. هیدروکربن های نفتی یک مخلوط پیچیده هستند و به چهار گروه مختلف تقسیم می شوند: ترکیبات اشباع، آروماتیکها، رزینها و آسفالتنها. از بخشهای مختلف نفت خام آلکانهای با زنجیره حد واسط ($C_{۱۰}$-$C_{۲۰}$) سو بستراهای ترجیحی می باشند که تمایل به تجزیه خیلی سریع دارند در حالیکه ترکیبات با زنجیره کوتاه بسیار سمی بوده و آلکان های با زنجیره طولانی ($C_{۲۰}$-$C_{۴۰}$) بدلیل حلالیت ناچیز در آب دسترسی زیستی آنها کاهش یافته و مقاوم به تجزیه می باشند. در این تحقیق جهت جداسازی باکتری های تجزیه کننده ترکیبات هیدروکربنی آلکانی نمونه برداری از پساب انبار نفت تهران ، سمنان ،کرمان و خاک آلوده به هیدروکربن صورت گرفت.

مواد و روش ها: با استفاده از روش های غنی سازی در محیط بوشنل هاس همراه با هگزادکان به عنوان منبع کربن باکتری های تجزیه کننده جداسازی شدند. و ژن آلکان هیدروکسیلاز با طراحی پرایمر های اختصاصی این ژن در بین سویه ها تجزیه کننده به وسیله PCR بررسی شد.

یافته ها: در این تحقیق ۱۵ سویه باکتریایی تجزیه کننده ترکیبات آلیفاتیک جداسازی شد به جز یک سویه باکتریایی P۲ هیچگونه رشدی روی ترکیبات آلیفاتیک (هگزادکان بعنوان تنها منبع کربن) ندارد و این به معنای عدم تجزیه این هیدروکربن توسط این باکتری می باشد وسایر سویه ها قادر به رشد بر روی هگزادکان بوده اند که با انجام PCR وجود ژن آلکان هیدروکسیلاز مورد تایید قرار گرفت.

نتیجه گیری: این آزمایش نشان می دهد باکتری های که توانایی تجزیه آلکان ها را دارند بایستی واجد این ژن آلکان هیدروکسیلاز نیز باشند به طوریکه فقدان آن با عدم تجزیه برابر است.

کلمات کلیدی: انبار نفت ،آلکان، ژن آلکان هیدروکسیلاز.

مقدمه

هیدروکربنهای نفتی ذخایر انرژی مهمی هستند که بوسیله صنعت و در زندگی روزانه ما استفاده می شوند. در عین حال نفت منشاء آلودگی مهم محیط است. متعاقب رهاسازی نفت در محیط تبدیل آن به ترکیبات سازنده خیلی سریع شروع می شود یکی از مهمترین مسائلی که در قرن حاضر با آن مواجه هستیم، مسئله آلودگی محیط زیست می باشد، ، به خصوص در چند دهه گذشته که میزان و تنوع مواد خطرناک آلوده کننده نفتی به شدت افزایش یافته است. روشهای مرسوم جهت جلوگیری از نشت نفت عمدتاً سوزاندن فیزیکی می باشد. روشهای زیستی نسبت به درمانهای فیزیکی و شیمیایی در حذف نشت نفت

آدرس نویسنده مسئول : دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمان، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، کرمان، ایران
Email :mshahi@uk.ac.ir
تاریخ دریافت مقاله: ۹۱/۱۲/۸
تاریخ پذیرش: ۹۲/۴/۱۰

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-11]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1393.4.15.3.0]

مزایایی دارد، بطوریکه امکان تجزیه زیستی درونی بخشهای نفت بوسیله میکروارگانیسم را فراهم می سازد (۷، ۱۰، ۱۴). نفت خام یک مخلوط چسبنده مایع است که دارای هزاران ترکیب با عناصر اصلی و هیدروژن می باشد، ورود فرآورده های ناشی از نفت خام از طریق کشتی هایی که قادر به حمل بیش از هزاران تن فرآورده های نفتی هستند یکی از عوامل آلاینده دریا ها و اقیانوس ها به این گونه ترکیبات است که میزان آن روز به روز افزایش می یابد و میدان های نفتی در نقاط خاصی از جهان و کشورمان قرار گرفته اند و همچنین پساب حاصل موجب آلودگی خاکی وآبی می شود و آزمایشات نشان داده اند که ترکیبات اصلی نفت خام قابل تجزیه هستند (۴، ۷). مواد زائد نفتی حاوی ترکیبات سمی و خطرناک می باشند و مدیریت این دسته از زائدات می بایست به صورت ایمن و کنترل شده انجام پذیرد. علی رغم حجم بالای فعالیتهای نفتی و متعاقباً تولید انبوه مواد زائد نفتی در کشور، دفع این زائدات معمولاً بدون انجام پیش تصفیه و به صورت کنترل نشده انجام می گیرد. یکی از روشهای دفع مواد زائد نفتی که غالباً در کشورهای در حال توسعه مرسوم است دفن و یا تلنبار این زائدات می باشد. اگرچه این روش در بسیاری از کشورهای پیشرفته ممنوع شده است لیکن در بسیاری از کشورهای در حال توسعه این روش دفع به طور گسترده ای در حال انجام می باشد(۱، ۲). ولی تصفیه زیستی، روشی است که می تواند برای جابجایی روغن و نفت زاید تحت شرایط محیطی و جغرافیایی با استفاده از فعالیت طبیعی میکروارگانیسم ها، مفید باشد (۱۲). در این تحقیق با جداسازی باکتری های تجزیه کننده ترکیبات آلیفاتیک و با اثبات وجود ژن آلکان هیدروکسیلاز در آنها از طریق PCR، نیز می توان ضرورت وجود این ژن آلکان هیدروکسیلاز جهت تجزیه ترکیبات آلیفاتیک بیان نمود.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری: به منظور جداسازی باکتریهای تجزیه کننده باکتری های تجزیه کننده ترکیبات هیدروکربنی آلیفاتیک نمونه برداری از پساب و خاک آلوده واقع در انبار نفت تهران ، سمنان ،کرمان و خاک آلوده به هیدروکربن صورت گرفت. نمونه های رسوبات از عمق cm ۱۲-۱ سطح خاک های آلوده به ترکیبات نفتی با استفاده از چاقوی استریل بدست آمد. نمونه های پساب از عمق cm ۱۵ در بطریهای ۱۰۰ میلی لیتری جمع آوری و روی یخ به آزمایشگاه منتقل شد.

جداسازی و غربالگری باکتریهای تجزیه کننده هگزادکان: محیط سنتزی پایه نمکی بو شنل- هاسBHMS (Bushnell Hass Mineral Salt) برای جداسازی باکتریهای تجزیه کننده نفت خام استفاده شد. محیط BHMS حاوی ترکیبات زیر است(گرم بر لیتر): ۱ گرم KH_2PO_4، ۱گرم K_2HPO ، ۰/۲ گرم $MgSO_4.7H_2O$، ۰/۲ گرم $CaCl_2$، ۱ گرم NH_4NO_3 و ۱۰۰ میکرولیتر از $FeCl_3$ ۶۰ درصد. pH محیط برابر ۷ می باشد ۱ درصد هگزادکان بعنوان تنها منبع کربن و انرژی در این محیط استفاده شد. جهت جداسازی ابتدا یک گرم نمونه رسوب و یک میلی لیتر از نمونه های پساب به ارلنهای دارای ۱۰۰ میلی لیتر از محیط BHMS به طور جداگانه اضافه گردید و بمدت ۱۰ روز در ۳۰ درجه سانتی گراد روی شیکر با دور rpm۱۸۰ انکوبه شد. سپس ۵ میلی لیتر از محیط کشت های شیکر شده به محیط جدید BHMS منتقل و پس از ۴ بار کشت متوالی کلنیهای باکتریها روی محیط BHMS آگار خالص سازی شد. شناسایی باکتریهای تجزیه کننده به کمک تستهای بیوشیمیایی انجام شد (۵).

شمارش تعداد کل هتروتروف ها و تجزیه کننده های هیدروکربن در نمونه های جمع آوری شده از مکانهای مختلف(CFU): ابتدا یک گرم از نمونه های خاک و همچنین یک سی سی از نمونه های پساب جمع آوری شده در ۱ میلی لیتر از بافر PBS حل گردید و سپس درون لوله های آزمایش به میزان ۹ میلی لیتر از بافر PBS ریخته شد تا رقت های 10^{-2} و 10^{-7} در لوله های آزمایش تهیه گردد. از رقت های 10^{-3} و 10^{-4} به میزان ۱۰۰ µl روی سه پلیت حاوی محیط نوترینت آگار (برای شمارش هتروتروف ها) و محیط بوشنل هاس آگار حاوی یک درصد هگزادکان (برای شمارش تجزیه کننده ها) پخش گردید. پلیت ها به مدت ۷ روز در دمای ۳۰ °C سانتیگراد انکوبه گردیدند و سپس پلیت هایی که مابین ۲۰۰-۲۰ کلنی داشتند شمارش گردیده و با محاسبه رقت تعداد کلنی ها در هر میلی لیتر ($CFU\ ml^{-1}$) بدست آمد (۱۵).

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1393.4.15.3.0]

PCR باکتری‌های تجزیه کننده‌ی هگزادکان جداسازی شده جهت شناسایی ژن آلکان هیدروکسیلاز:

در این تحقیق برای انجام PCR از محصولات شرکت سیناژن استفاده گردید. بافر X PCR Buffer ۱۰ که حاوی KCl با غلظت ۵۰۰ mM و Tris-HCl با غلظت ۱۰۰ mM و pH=۸ می‌باشد. غلظت $MgCl_2$ شرکت سیناژن، ۵۰ mM بود. هر چهار نوع dNTP به صورت مخلوط و غلظت آن ۱۰ mM در هر میکرولیتر بود. آنزیم Taq DNA پلی‌مراز مورد استفاده در این تحقیق از نوع recombinant بود و غلظت آن ۵ واحد در هر میکرولیتر از آنزیم بود. پرایمرهای مورد استفاده در این تحقیق با سفارش به شرکت سیناژن تهیه شد، یک جفت پرایمر برای تشخیص ژن آلکان هیدروکسیلاز بکار رفت. توالی آنها به صورت alk ۳F (۵'- TCGAGCACATCCGCGGCCACCA-۳') و (۵'- CCG TAG-۳ Alk-۳R(۳'-TGCTCGACGTAGTT) می باشد و دمای دناتوراسیون ۹۴ c° به مدت یک دقیقه، دمای اتصال پرایمرها ۵۵ c° به مدت ۱ دقیقه و دمای تکثیر ۷۲ c° به مدت ۱ دقیقه و تعداد سیکل ها ۳۵ می باشد. محصول حاصل از PCR در ژل آگاروز ۱ درصد بار گذاری شد (۵، ۹).

نتایج

جداسازی باکتری‌های تجزیه کننده تر کیبات آلکانی (هگزادکان):

در طی این تحقیق ۱۵ سویه باکتریایی تجزیه کننده هگزادکان از نمونه های خاک و پساب جمع آوری شده از مناطق مختلف آلوده به نفت و پساب مخازن نفتی در تهران، کرمان وسمنان جداسازی گردید که در جدول ۱ پاره‌ای از خصوصیات این باکتری‌ها آمده است. کلیه سویه ها در محیط بوشنل هاس حاوی یک درصد هگزادکان و در دمای ۳۰ C° درجه و دور ۱۸۰ rpm به مدت یک هفته کشت داده شدند. سپس میزان رشد سویه ها با خواندن جذب نوری در ۶۰۰ نانومتر تعیین شدو همچنین کلیه باکتری های تجزیه کننده جداسازی شده از روی محیط نوترینت آگار بصورت کشت خطی به محیط بوشنل هاس آگار حاوی هگزادکان منتقل شدند و به مدت ۷ روز در دمای ۳۰ درجه انکوبه شدند و پس از این مدت رشد بصورت کیفی در جدول ۲ گزارش شده است. با توجه به اینکه از سه شهر(تهران، سمنان و کرمان) نمونه برداری انجام شده است، بیشترین تعداد باکتری جدا شده مربوط به شهر تهران می باشد و تعداد باکتری تجزیه کننده جدا شده از اکوسیستم خاک آلوده بیشتر از پساب نفتی مخازن آلوده است این نشان دهنده این است که میزان سمیت ترکیبات نفت در پساب نفتی بیشتر از سمیت این ترکیبات در خاک است . نتایج حاصله در جدول ۳ آمده است.

جدول (۱): باکتری‌های تجزیه کننده هگزادکان جداسازی شده و خصوصیات آنها

سویه	شکل باکتری و واکنش گرم	Oxidation/ fermentation (O/F)	اکسیداز	کاتالاز	حرکت
G2	Cocobacillus/-	$^{+}O^{+}/F$	-	+	
M2	Straight rod/-	$^{-}O^{+}/F$	-	+	-
B	Straight rod/-	$^{-}O^{+}/F$	-	+	+
P2	cocci /+	$^{-}O^{+}/F$	+	+	+
Q1	Cocobacillus/+	$^{-}O^{+}/F$	-	+	+
Q2	cocci /+	$^{-}O^{+}/F$	-	+	+
Q3	Straight rod/+	$^{-}O^{+}/F$	-	+	+
M1	Straight rod/-	$^{+}O^{+}/F$	-	+	-
O1	Straight rod/-	$^{-}O^{+}/F$	+	+	+
L2	diplobacillus/-	$^{-}O^{+}/F$	-	+	-
P1	Straight rod/-	$^{-}O^{+}/F$	-	+	+
F	cocci /-	$^{-}O^{+}/F$	-	+	+
L1	Straight rod/+	$^{-}O^{+}/F$	-	+	+
O2	Straight rod/-	$^{-}O^{+}/F$	+	+	+
G1	diplococcus/-	$^{-}O^{+}/F$	+	+	+

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1393.4.15.3.0]

جدول (۲):میزان رشد سویه های باکتریایی تجزیه کننده هگزادکان با کدورت سنجی در ۶۰۰ نانومتر و رشد باکتری ها بصورت کیفی در محیط آگار دار حاوی هیدروکربن

سویه	میزان جذب نوری در ۶۰۰ نانومتر	رشد کیفی در محیط آگار دار به همراه هیدروکربن
G2	۱,۶	+++
M2	۱,۸۹	+++
B	۰,۸۱۳	++
P2	۰	-
Q1	۱,۹۶	+++
Q2	۱,۲	++
Q3	۱,۹۵	+++
M1	۰,۸۲۲	+
O1	۱,۷	+++
L2	۱,۹	+++
P1	۰,۴۳۷	+
F	۱,۰۳	+
L1	۱,۹	+++
O2	۰,۵۸۱	+
G1	۰,۲	-

جدول (۳): تعداد باکتری تجزیه کننده هیدروکربن جدا شده نسبت به منطقه نمونه برداری و نوع اکوسیستم نمونه برداری شده

تعداد باکتری تجزیه کننده هیدروکربن جدا شده				
نسبت به نوع اکوسیستم نمونه برداری شده		نسبت به منطقه نمونه برداری		
پساب مخازن نفت	خاک آلوده	تهران	سمنان	کرمان
10	12	16	3	3

شمارش تعداد باکتری های هتروتروف ها و باکتری های تجزیه کننده هیدروکربن های آلیفاتیک در نمونه های جمع آوری شده:

شمارش باکتری های هتروتروف و باکتری های تجزیه کننده هیدروکربن آلیفاتیک در نمونه های پساب نفتی و خاک های آلوده به نفت جمع آوری شده در محیط کشت نوترینت آگار و محیط کشت بوشنل هاس بترتیب انجام شد. نتایج حاصل از این شمارس در جدول ۴ آمده است. همانطور که در این جدول دیده می شود نمونه های خاک های الوده به ترکیبات هیدروکربنی (نمونه های M, N, O, P, Q, R) دارای میزان بالاتری از باکتری های تجزیه کننده و باکتر های هتروتروف نسبت به نمونه های پساب نفتی جمع آوری شده می باشند. بیشترین میزان باکتری های هتروتروف و تجزیه کننده در کل نمونه های جمع آوری شده مربوط به نمونه خاک P می باشد. در نمونه های B, C, D, G, K که همگی مربوط به پساب نفتی جمع آوری شده از مخازن نفت می باشند هیچ گونه باکتری تجزیه کننده هیدروکربن آلیفاتیک شمارش نشد، که این می تواند به سمیت بالای ترکیبات موجود در پساب نسبت داده شود.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-11]

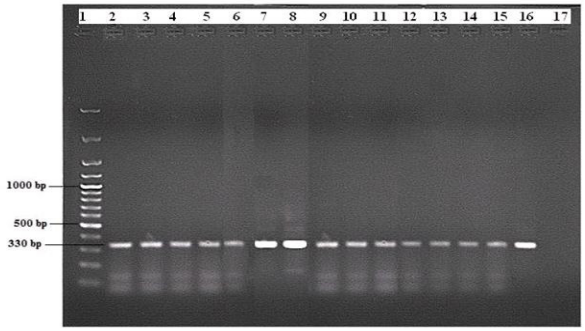
[DOR: 20.1001.1.22285458.1393.4.15.3.0]

جدول (۴): شمارش باکتری های هتروتروف و تجزیه کننده در نمونه های پساب و خاک جمع آوری شده (CFU/ml)

نام نمونه	تعداد باکتری های هتروتروف	تعداد باکتری های تجزیه کننده
A	۱۰۴ × ۱/۵	۱۰۱ × ۲
B	۱۰۴ × ۱/۲	صفر
C	صفر	صفر
D	۱۰۶ × ۴	صفر
E	۱۰۵ × ۹	۱۰۳ × ۲
F	۱۰۷ × ۱	۱۰۵ × ۱
G	۱۰۷ × ۱/۲	صفر
H	۱۰۶ × ۱/۶	۱۰۴ × ۴
K	۱۰۴ × ۴/۵	صفر
L	۱۰۵ × ۲	۱۰۳ × ۲
M	۱۰۶ × ۲	۱۰۳ ×۲/ ۲
N	۱۰۷ × ۲	۱۰۴ × ۱
O	۱۰۷ × ۳	۱۰۷ × ۱
P	۱۰۸ × ۱/۳	۱۰۷ × ۴
Q	۱۰۶ × ۳	۱۰۵ ×۴
R	۱۰۷ × ۱	۱۰۶ × ۲

نتایج کلی حاصل از PCR با پرایمرهای Alk جهت شناسایی ژن آلکان هیدروکسیلاز:

۱۵سویه‌ی تجزیه کننده هگزادکان که جداسازی شده بودند به جز یک سویه باکتریایی P۲ هیچگونه رشدی روی ترکیبات آلیفاتیک ندارد. پس از بهینه شدن شرایط PCR جهت اثبات وجود ژن آلکان هیدروکسیلاز در آنها، همگی مورد PCR قرار گرفتند. کلیه‌ی سویه‌هایی که قادر بودند به عنوان تنها منبع کربن بر روی هگزادکان رشد کنند، پس از PCR بر روی ژل آگارز دارای یک باند bp ۳۳۰ بودند.تصویر ژل اگارز در شکل ۱می باشد. این نتیجه بدین معنی می‌باشد که کلیه‌ی این ایزوله‌ها واجد ژن آلکان هیدروکسیلاز هستند که این ژن قابلیت رشد بر روی هگزادکان را به این سویه‌ها می‌دهد.



شکل(۱): تصویر ژل الکتروفورز حاصل از PCR سویه‌ها با پرایمرهای آلکان هیدروکسیلاز تحت شرایط بهینه شده. چاهک (۱): DNA مارکر bp ۱۰۰، چاهک (۲): کنترل مثبت *P. aeruginosa AS* جدا شده ، چاهک (۳): سویه M۱ ، چاهک (۴): سویه B، چاهک (۵): سویه G۲، چاهک (۶): سویه Q۳، چاهک (۷): سویه L۱، چاهک (۸): سویه L۲، چاهک (۹): سویه G۱ ، چاهک (۱۰): سویه O۲، چاهک (۱۱): سویه F ، چاهک (۱۲(: سویه M۲، چاهک (۱۳(: سویه O۱، چاهک (۱۴(: سویه Q۱، چاهک (۱۵(: سویه Q۲ ، چاهک (۱۶(: سویهP۱ چاهک (۱۷(: شاهد منفی(آب دو بار تقطیر شده فاقد DNA الگو).

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1393.4.15.3.0]

بحث

Mishra و همکاران در سال ۲۰۱۲ نیز باکتری که قادر به تخریب هگزادکان بودند از لجن نفت جداسازی کردند که این باکتری ها شامل*Pseudomonas aeruginosa PSA*۵, *Rhodococcus sp.Nj*۲, *Ochrobactrum intermedium P*۲ بودند (۱۱). Es-peche و همکاران در سال ۱۹۹۴ نیز از آب رودخانه آلوده به هیدروکربن های نفتی باکتری به نام *Acinetobacter* جداسازی کردند که قادر به تخریب هگزادکان بود (۳). Suyama و همکاران در سال ۱۹۹۸ باکتری های تخریب کننده ترکیبات آلیفاتیک را از رودخانه Labraki prefecture واقع در ژاپن جداسازی و شناسایی کرده اند که این باکتری ها از گونه های *Pseudo-monas* و *Variovorax* می باشد (۱۳). در این تحقیق باکتری های تجزیه کننده ترکیبات آلیفاتیک از اکوسیستم های خاک و آب آلوده که پساب ناشی انبار نفت (تهران،سمنان و کرمان) به عنوان منبع جداسازی به کار برده شد. همچنین از خاک های که به مدت طولانی در معرض آلاینده های هیدروکربنی بوده اند فرآیند جداسازی انجام شد. اکوسیستم های انتخاب شده در این تحقیق با اکوسیستم های انتخاب شده توسط محققین ذکر شده هم خوانی دارد زیرا طبق اصل تطابق باکتری های تجزیه کننده در مکان های یافت می شوند که در تماس با آلودگی هیدروکربنی یا نفتی باشند و در این پژوهش از همین اصل جهت دستیابی به این باکتری ها استفاده گردید. از آنجای که بیش از ۶۰٪ ترکیب نفت خام را آلکان ها تشکیل می دهد که طبیعی است گونه های باکتریایی متفاوتی قادر به تجزیه آلکان ها باشند. سیستم ژنتیکی تجزیه در باکتری های تجزیه کننده آلکان ها دارای تنوع است. درک این تنوع ژنتیکی در یک اکوسیستم می تواند در اتخاذ یک مدیریت مناسب در جهت حذف هیدروکربن ها کمک کند مهمترین سیستم ژنتیکی تجزیه آلکان ها مربوط به ژن های آلکان هیدروکسیلاز است. که کد کننده پروتئین آلکان هیدروکسیلاز می باشد کرد که آنزیمی کلیدی در وارد کردن اکسیژن به زنجیره هیدروکربنی و شکست زنجیره آلکانی می باشد. شناسایی این ژن بر مبنای PCR توسط محققین متعددی در باکتری های تجزیه کننده گزارش شده است که در ادامه این پژوهش ها آورده شده است.

Meintanis و همکاران در سال ۲۰۰۶ صد و پنجاه باکتری ترموفیلیک مختلف از جزیره آتشفشانی جداسازی کردند که با غربالگری نیز دو باکتری به نام های *Pseudomonas putida* و *Pseudomonas oleovorans* انتخاب شدند که دارای ژن آلکان هیدروکسیلاز بوده اند و ۱۰جدایه دیگر آنها ژن alkj را به همراه داشتند، که ۹ جدایه آنها از نظر فیلوژنتیکی به *Geobacillus* و دیگر آنها آن به گونه *Bacillus* شباهت داشتند و این باکتری ها که جداسازی شدند می توانستند بر روی کشت های حاوی آلکان های با زنجیره بلند رشد کنند و دامنه تغییرات آنها بین ۴۶,۶۴٪ تا۸۷,۶۸٪ بود (۸). Vombereg و Klinner در سال ۲۰۰۰ نیز ۴۵ باکتری تجزیه آلکان را جداسازی کردند که توزیع ژنalkB را در بین باکتری های جدا شده به روش PCR hybrid-ization مطالعه کردند و آنها نتیجه گیری کردند که گروه سوم آلکان هیدروکسیلاز در جدا شده ها غالب است. ولی در مطالعات Hassanshahian و همکاران در سال ۲۰۱۲ نشان دادند که توزیع ژن های alkB در گروه سوم و دوم در میان ۱۱ باکتری جدا شده یکسان بوده اند و با این حال دسته های ژن آلکان هیدروکسیلاز که در گروه سوم هستند نیز، بهتر توانایی تخریب نفت خام را دارند. در این مطالعات توزیع ژن آلکان هیدروکسیلاز در دو محیط دریایی ایران مقایسه شده اند و نتیجه نشان می دهد که ژن های alkB در خلیج فارس به عنوان گروه سوم غالب نیز از گروه دوم ژن های alkB در دریایی خزر شایع تر است و این نوع از توزیع ژن آلکان هیدروکسیلاز مرتبط به نوع اکوسیستم و نوع آلودگی است (۵). در این آزمایش حضور ژن آلکان هیدروکسیلاز در بین ۱۵ باکتری جداسازی شده با روش PCR بررسی شد این ژن در بین کلیه با کتری های جدا شده وجود داشت به جزء یک سویه که آن قادر به مصرف هگزادکان نبود این امر نشان می دهد باکتری های که توانایی تجزیه آلکان ها را دارند بایستی واجد این ژن نیز باشند به طوریکه فقدان ژن آلکان هیدروکسیلاز با عدم تجزیه برابر است.

نتیجه گیری

نتایج عنوان شده در این مقاله نشان می دهد باکتری های شناسایی شده که قادر به تجزیه هگزادکان می باشند دارای ژن آلکان هیدروکسیلاز بوده و به جزء یک سویه P۲ که قادر

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1393.4.15.3.0]

به تجزیه هگزادکان نبود و با یک مدیریت مناسب از این باکتری های شناسایی شده ،می توان توانایی تجزیه ترکیبات آلیفاتیک موجود در فرآورده های نفتی را به حداکثر رساند.

سپاسگزاری

این مقاله با حمایت مالی باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمان انجام شده است که در اینجا از این باشگاه تشکر و قدردانی می شود.

منابع

1. Abduli M.A,Nasrabadi T,Hoveidi H,Razmkhah N,Solid Waste Management In Tabriz Petrochemical Complex. Iranian Journal Of Environmental Health Science And Engineering, Iran. J. Environ. Health. Sci. Eng, 2006; (3),192-185.
2. Carpenter D.O,S.J.C.A,The Generation, Use And Disposal Of Waste Crankcase Oil In Developing Countries, A Case For Kampala District. Uganda, J. Hazard. Mater,2009;161,835-841.
3. Espeche M.P, Walter M.R,Elda F,Factors affecting growth of an n-hexadecane degrader Acinetobacter species isolated from a highly polluted urban river,International Biodeterioration & Biodegradation,1994 ;33(2), 187-196.
4. Fan C.Y,Krishnamurthy S,Enzymes For Enchancing Bioremediation Of Petroleum-Contaminated Soils, A Brief Review J.Air Waste Manag Associat,1995;45,453-460.
5. Hassanshahian M, Emtiazi G, and Cappello S, Isolation and characterization of crude-oil-degrading bacteria from the Persian Gulf and the Caspian Sea. Mar. Pollut. Bull,2012a;64,7-12.
6. Hua J,Biodegradation Of Dispersed Marine Fuel Oil In Sediment Under Engineered Pre-Spill Application Strategy. Ocean Engineering,2006;67.
7. Ijah U.J.J,Studies on relative capabilities of bacterial and yeast isolates from tropical soil in degrading crude oil. Waste Management,1998;18 (98)293-299.
8. Kalliopi C,Meintanis C,Konstantinos K,Amalia K,Biodegradation of crude oil by thermophilic bacteria isolated from a volcanoisland,Biodegradation,2006;11,289-294.
9. Kohno T,Sugimoto Y,Sei K,Mori K,Design of PCR Primers and gene probes for general detection alkane-degrading bacteria,Microbes and Environment,2002;17(3),114-212.
10. Luis Y,Mara E,Corbella M,Turie gano U.K,Antonio P, Fernando R,Characterization of bacterial strains able to grow on high molecular mass residues from crude oil processing. FEMS Microbiol. Ecol,2000; 32, 69-75.
11. Mishra S,Singh S.N,Microbial degradation of n-hexadecane in mineral salt medium as mediated by degradative enzymes,BioresourceTechnology,2012;111(0),148-154.
12. Muslim Sphy V.S. A,S.N.A,The role of bacteria isolated from oil contaminated soil in cleaning the environment, Journal - of Biological Science Research,Spring 1387;3,
13. Suyama T,Hosoya T,Yutaka H, Bacterial isolates degrading aliphatic polycarbonates,FEMS Microbiology Letters,1998;161(2), 255-261.
14. Viñas V,Biodegradation of a crude oil by three microbial consortia of different origins and metabolic capabilities. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology,2002; 28, 252-260.
15. Wrenn B.A,Venosa A,Selective enumeration of aromatic and aliphatic hydrocarbon degrading bacteria by a most probable number procedure, Canadian Journal of Microbiology,1996;42(3)252-258.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1393.4.15.3.0]