جداسازی و شناسایی باکتری های تجزیه کننده فنل از رودخانه کر و بررسی سینتیک رشد آنها

فرشید کفیل زاده[1]، فاطمه دهقانی[1]، محمد صادق فرهنگ دوست[2]

۱- گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، جهرم، ایران.

۲- جهاد دانشگاهی واحد فارس، شعبه فیروزآباد، فیروز آباد، ایران.

یافته / دوره چهاردهم / شماره ۵ / زمستان ۹۱ / مسلسل ۵۴

چکیده

دریافت مقاله: ۹۱/۴/۲۱۳ ، پذیرش مقاله: ۹۱/۸/۱۴

مقدمه: درگذشته از روش های فیزیکوشیمیایی برای حذف فنل ومشتقات آن استفاده می شد ولی امروزه تصفیه زیستی در اولویت قرار دارد. باکتری ها با تکثیر سریع در حضور فنل و ترکیبات آن توانایی فوق العاده ای را در حذف این ترکیبات نشان داده اند. هدف از این پژوهش جداسازی و شناسایی باکتری های تجزیه کننده فنل ازآب و رسوب رودخانه کر و بررسی سینتیک رشد آنها در حضور این ماده سمی می باشد.

مواد و روش‌ها: ۶۰ نمونه آب و رسوب از مناطق مختلف رودخانه کر جمع آوری گردید. جداسازی باکتری های تجزیه کننده فنل با کشت نمونه ها بر روی محیط پایهٔ نمکی فنل براث انجام شد. برای غربالگری باکتری های تجزیه کننده فنل معرف برموتیمول بلو به محیط اضافه گردید. در نهایت با کشت باکتری ها در غلظت های مختلف فنل، که از ۰/۲ تا ۰/۹ گرم برلیتر بود، توانایی باکتری ها در تجزیه غلظت های مختلف فنل اندازه گیری شد. به منظور بررسی سینتیک رشد باکتریها از ثبت مداوم OD_{600} استفاده گردید. در این روش پس از ثبت اولیه جذب نوری، محیطهای کشت در دمای 30^{0C} به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور شیکردار و با دور ۱۰۰ rpm قرار داده شد و تا ۳۰۰ ساعت جذب نوری قرائت گردید.

یافته‌ها: سودوموناس ها از جمله مهمترین باکتری های تجزیه کننده فنل جداشده از رودخانه کر بودند که فراوانی وسیعی را در قسمت های مختلف رودخانه نشان دادند. اسینتوباکتر نیز به نوبهٔ خود قابل توجه بود. اکثر باکتری های جدا شده قدرت قابل ملاحظه ای در تجزیه فنل نشان دادند. به طوری که سودوموناس تا غلظت ۰/۹ گرم برلیتر، اسینتوباکتر تا غلظت ۰/۸ گرم بر لیتر، شیگلا، سالمونلا، کلبسیلا و سیتروباکتر تا غلظت حدود ۰/۶ گرم بر لیتر و بقیه باکتری ها تا غلظت ۰/۳-۰/۲ گرم بر لیتر فنل را توانستند حذف کنند. بررسی میزان OD_{600} نیز تائیدی بر نتایج به دست آمده بود به طوری که بالاترین میزان OD_{600} مربوط به باکتری سودوموناس به دست آمد و ماکزیمم جذب نوری هر باکتری در حداکثر غلظت تجزیه به وسیله آن مشاهده گردید.

بحث و نتیجه‌گیری: رودخانه کر دارای تعداد زیادی از باکتری های تجزیه کننده فنل است که قدرت تجزیه ای بالایی دارند. از مهمترین این جنس ها می توان به سودوموناس و اسینتوباکتر اشاره کرد.

واژه‌های کلیدی: فنل، تجزیه، سودوموناس، اسینتوباکتر، رودخانه کر.

آدرس مکاتبه: جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، گروه زیست شناسی

پست الکترونیک: Kafilzadeh@jia.ac.ir

مقدمه

فنل ها ترکیباتی با فرمول عمومی ArOH می باشند که به شدت سمی بوده ودر اشکال گوناگون و یا در ارتباط با عناصر دیگر به فراوانی یافت می شوند (۱).

فنل در مقابل تجزیه باکتریایی مقاوم می باشد، زیرا این ماده برای باکتری ها حتی در غلظت های کم سمی است. روش های زیادی جهت حذف فنل از آب ها و پساب ها بکار می رود که شامل تجزیه زیستی، فیلترهای غشایی، جذب، اکسیداسیون و استخراج به وسیله غشاء مایع می باشد. روش های فیزیکوشیمیایی دارای معایبی از قبیل قیمت بالا، بازده پایین، مصرف انرژی زیاد و تولید لجن حاوی آهن بوده در حالیکه روش تجزیه زیستی آسان، موثر و ارزان قیمت می باشد (۲).

ترکیبات فنلی درمحیط زیست اثرات مضری همچون کاهش رشد، کاهش مقاومت در برابر بیماری، مرگ ومیر موجودات آبزی وافزایش رشد گیاهان هرز راایجاد می کنند و چنانچه آلودگی فنلی به آب های زیرزمینی راه پیدا کند مسائل اکولوژیک جدی را در بر خواهد داشت. به همین دلیل مقدار مجاز فنل درخروجی صنایع نبایستی از ۵/. میلی گرم در لیتر بیشتر باشد. با توجه به موارد فوق الذکر حذف فنل از محیط زیست خصوصا آب و منابع آبی اهمیت زیادی دارد (۱).

تجزیه ی هوازی فنل مثل سایر ترکیبات آروماتیک ابتدا با هیدروکسیلاسیون حلقه ی فنلی شروع می شود.آنزیم مسئول این مرحله آنزیم فنل هیدروکسیلاز می باشد که آنزیم کلیدی مرحله ی تجزیه ی هوازی است. هیدروکسیلاسیون حلقه منجر به ایجادکاتکول می شود که ازطریق مسیر اورتو یا پارا می شکند. تمامی ترکیبات حاصله از هر دو مسیر (استیل کوآنزیمA، سوکسینات، اسید پیرووبک و استالدهید) در نهایت واردچرخه ی کربس (TCA) می شوند و برای تولیدانرژی به کار می روند. تجزیه بی هوازی فنل به وسیله ی باکتری های متعدد مشاهده شده است. درهمه ی این موارد فنل به ۴-هیدروکسی بنزوات، کربوکسیله می شود. تجزیه بی هوازی در نهایت منجر به ایجاد بنزوئیل کوآنزیمA می شود. متابولیسم بیشتر ماده اخیر منجر به تشکیل ۳ مولکول استیل کوآنزیمA و یک مولکول CO_2 می گردد (۳). [1]

تاکنون میکروارگانیسم‌های متعددی اعم از باکتری‌ها، مخمرها، قارچها و جلبک‌ها به عنوان تجزیه کننده‌ی فنل از منابع مختلف جداسازی شده‌اند ولی در این بین باکتری ها از اهمیت خاصی برخوردارند. از بین مخمرهای تجزیه کننده فنل می‌توان *Trichosporon cutaneum*، *Phanerochaete chrysosporium*، *Pleurotutus ostreatus* و *Candida tropicalis* رانام برد. ازانواع قارچ های تجزیه کننده ی فنل می توان به*Aspergillus fumigatus* و *Fusarium flucciferum* اشاره کرد. جلبک *Ochromonas danica* نیز قادربه تجزیه ی فنل از مسیر متا می باشد. از بین باکتری های تجزیه کننده نیز می توان به *Pseudomonas sp* و *Acinetobacter sp* اشاره کرد(۶-۴).

اولین گزارش تجزیه باکتریایی فنل توسط تیبلس[1] و بکر[2] در سال ۱۹۸۹ انجام شد. در این تحقیق میزان تجزیه فنل توسط باکتری ها ۳۰۰ میلی گرم بر لیتر بدست آمد (۲). در سال ۲۰۰۷، آداو[3] و همکارانش گزارش کردند که سویه ATCC 11171 (DQ 831531) قادر به تجزیه فنل تا غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر می باشد (۷). در صورتیکه وانگ[4] و همکاران گزارش نمودند که سویه ای از باکتری Acinetobacter sp قادر به تجزیه این ترکیب تا غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر است (۸).

1 .Tibbles
2. Baecker
3. Adav
4. Wang

هدف از این پژوهش جداسازی و شناسایی باکتری های تجزیه کننده فنل از آب و رسوب رودخانه کر در استان فارس و بررسی سینتیک رشد آن ها و همچنین سنجش میزان حذف فنل توسط باکتری های جدا شده می باشد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی-آزمایشگاهی[1] در ۳ فصل زمستان، بهار و تابستان بر روی آب و رسوب رودخانه کر انجام شد. رودخانه کر با طول تقریبی ۲۸۰ کیلومتر و حوزه آبخیزی به مساحت ۹۷۰۰ کیلو متر مربع می باشد. شکل ۱ موقعیت جغرافیایی رودخانه کر را نشان می دهد.

نمونه برداری با ظروف کاملا استریل و در هر بار ۲۰ نمونه (۱۰ نمونه رسوب / ۱۰ نمونه آب) که جمعا ۶۰ نمونه شد، جمع آوری گردید. نمونه ها کمتر از مدت زمان ۶ ساعت و در فلاسک حاوی یخ به آزمایشگاه منتقل گردیدند.

جداسازی و شناسایی باکتری ها ی تجزیه کننده ی فنل :

در مورد نمونه های رسوب، جداسازی بدین صورت بود که ۱۰ گرم از نمونه ی رسوب با ۱۰۰ میلی لیتر ازمحیط کشت فنل براث مخلوط و به مدت یک هفته دردمای ^{0C} ۳۰ و با هوادهی قرار داده شد. بعدازاین زمان ۱ میلی لیتر از محیط مذکور به ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت جدید فنل براث تلقیح گردید و مجدداً به مدت ۱ هفته در دمای ^{0C} ۳۰ و با هوادهی قرار داده شد. پس از پاساژ دوم ۱ میلی لیتر به محیط کشت جدید فنل براث تلقیح گردید و به مدت یک هفته دیگر در شرایط مذکور انکوبه شد. این پاساژ دادن تا زمانی تکرار گردید که کدورت به دست آمده ناشی از رشد باکتری و نه از کدورت رسوب مخلوط شده با اولین محیط کشت باشد. پس از پاساژ نهایی به صورت ایزوله روی محیط کشت فنل آگار کشت داده شد و باکتری ها به صورت کلنی تک جداسازی گردیدند.

درمورد نمونه های آب نیز روش به همین صورت بود با این تفاوت که مقدار اولیه ۱۰ میلی لیتر نمونه آب با ۱۰۰ میلی لیتر ازمحیط کشت فنل براث مخلوط و همگی مراحل قبل تکرار گردید (۹).

در مرحله بعد باکتری های جداشده بر اساس مشاهدات مرفولوژیک و اختصاصات بیوشیمیایی تعیین هویت شدند. بدین منظور آزمایش های رنگ آمیزی گرم، تولید آمیلاز و ژلاتیناز، مصرف سیترات، تست ایندول و غیره انجام گردید. روش برگی[2] جهت شناسایی باکتری ها بکار رفت.

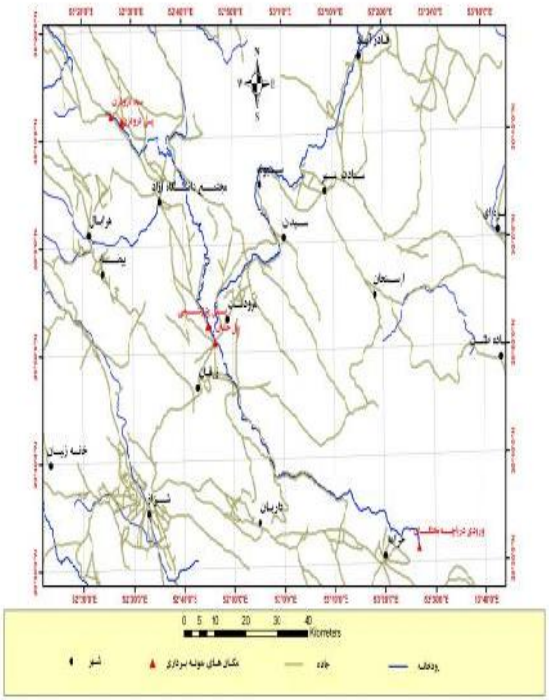
بررسی توانایی حذف فنل توسط باکتری ها :

در این تحقیق برای بررسی توانایی حذف فنل توسط باکتری ها، از محیط پایه ی نمکی فنل براث با غلظت های مختلف فنل استفاده گردید. برای هر باکتری ۱۰ لوله از محیط فنل براث در نظر گرفته شد و غلظت های فنل از ۲/. تا ۹/. گرم بر لیتر به ترتیب به لوله ها اضافه گردید. باکتری ها به مدت ۱ هفته با هوادهی منظم در انکوباتور با دمای ۳۰ درجه سانتیگراد کشت داده شدند.

جهت ارزیابی حذف فنل توسط باکتری های تجزیه کننده ی جدا شده، روش گیبس[3] به کار رفت. دراین روش از 2,6-Dichloroquinone chloroimide-4- (معرف گیبس) که با فنل واکنش داده و یک ترکیب آبی رنگ ایجاد می کند، استفاده شد. نحوه ی انجام سنجش با معرف گیبس بدین صورت است که ۱۵۰ میکرولیتر ازمایع رویی محیط کشت پس از سانتریفیوژ که pH آن برابر ۸ است را با ۳۰ میکرولیتر از $NaHCO_3$ با pH=۸ مخلوط کرده و ۲۰ میکرولیتر از معرف گیبس (۱ میلی گرم برلیتر) به مخلوط اضافه می گردد. سپس آن را به مدت ۴۵-۱۵ دقیقه دردمای اتاق با دستگاه ترمومیکسر به هم زده و درنهایت جذب مخلوط در۶۳۰ نانومتر خوانده می شود (۱۰).

تعیین رشد باکتری‌های جدا شده درغلظت‌های مختلف فنل توسط بررسی جذب نوری آن ها (سینتیک رشد):

در این روش بهترین سویه‌های تجزیه‌کننده فنل از بین باکتری‌های تجزیه‌کننده فنل، با مطالعه جذب نوری آنها مشخص شدند. روش کار به این صورت است که در ارلن‌های جداگانه به میزان ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت فنل براث (با غلظت‌های متفاوت فنل) ریخته شد. سپس به میزان ۵ میلی‌لیتر محیط کشت حاوی باکتری به هر کدام اضافه گردید. برای هر کدام از باکتری‌ها ۸ ارلن در نظر گرفته شد و در هر ارلن غلظت‌های ۰/۲ تا ۰/۹ گرم بر لیتر فنل اضافه گردید. برای هر باکتری یک ارلن به صورت شاهد در نظر گرفته شد. در محیط شاهد تنها محیط کشت پایه بدون فنل با سویه مشخص وجود داشت. پس از ثبت اولیه جذب نوری، محیطها به مدت ۲۴ ساعت در دمای 30^{0C} انکوبه گردیدند و سپس جذب آن‌ها تا ۳۰۰ ساعت در ۶۰۰ نانومتر خوانده شد (۱۱).



شکل ۱- موقعیت جغرافیایی رودخانه کریافته‌ها

یافته‌ها

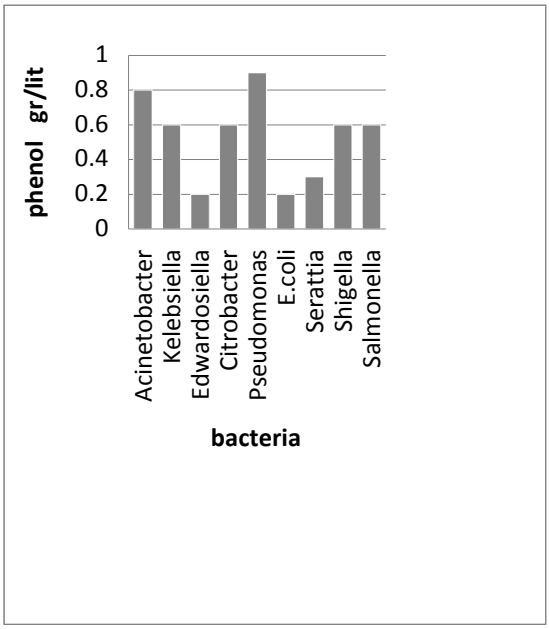
باکتری های جداشده در این تحقیق عبارت بودند از: سودوموناس، اسینتوباکتر، اشریشیا کلی، باسیلوس، استافیلوکوکوس، شیگلا، آلکالی ژنز، سراشیا، سیتروباکتر، سالمونلا و ادواردوسیلا. فراوانی این باکتری ها در فصول مختلف، متفاوت می باشد، ولی باکتری سودوموناس بیشترین فراوانی را در فصول نمونه برداری نشان داد. به طوری که در زمستان، بهار و تابستان به ترتیب ۱۵، ۲۰ و ۱۳ درصد فراوانی را به خود اختصاص داد (نمودار۱).

نتایج نشان داد که باکتری‌های جدا شده غلظت های متفاوتی از فنل را تجزیه می کنند. باکتری سودوموناس تا غلظت ۰/۹ گرم بر لیتر، اسینتوباکتر تا غلظت ۰/۸ گرم بر لیتر، شیگلا، سالمونلا، کلبسیلا و سیتروباکتر تا غلظت حدود ۰/۶ گرم بر لیتر و بقیه باکتری ها تا غلظت ۰/۳-۰/۲ گرم بر لیتر فنل را توانستند حذف کنند. همانطور که در نمودار ۲ نیز نشان داده شده بیشترین توانایی تجزیه و حذف فنل به ترتیب مربوط به باکتری های سودوموناس و اسینتوباکتر می باشد.

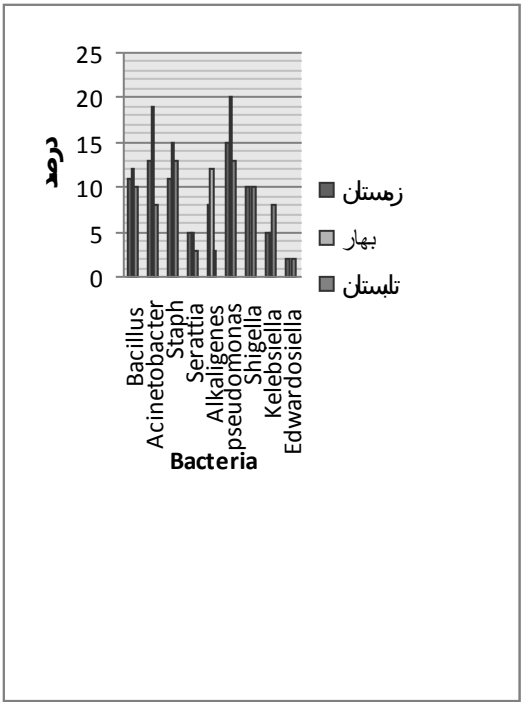
نتایج جذب نوری (سینتیک رشد) در ۶۰۰ نانومتر نیز نشان می دهد که بیشترین رشد باکتری سودوموناس در غلظت ۰/۹ گرم بر لیتر، اسینتوباکتر در غلظت ۰/۸ گرم بر لیتر، شیگلا، سالمونلا، کلبسیلا و سیتروباکتر در غلظت ۰/۶ گرم بر لیتر، و بقیه باکتری ها در غلظت ۰/۲ گرم بر لیتر فنل می باشد. کلیه باکتری های جدا شده، پس از حدود ۲۰۰ ساعت ماکزیمم جذب نوری را نشان دادند.

با توجه به نمودار ۳، بیشترین جذب نوری مربوط به باکتری سودوموناس می باشد. پس از آن باکتری های سیتروباکتر، اسینتوباکتر، کلبسیلا، سالمونلا و شیگلا بوده که تقریبا" میزان جذب نوری ماکزیمم یکسانی را نشان دادند. باکتری اشریشیا کلی در درجه بعدی قرار دارد. سایر باکتری

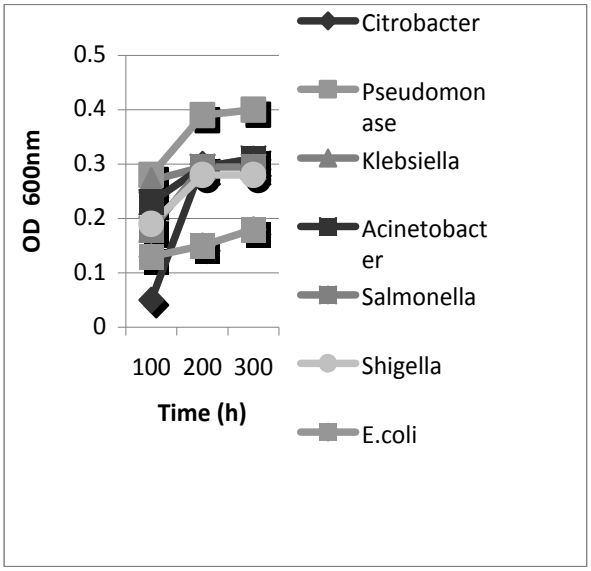
های جدا شده در این تحقیق ماکزیمم جذب نوری کمی نشان دادند.



نمودار۲- مقدار حذف فنل توسط باکتری های جدا شده



نمودار۱- درصد حضور باکتری های جدا شده در فصول مختلف



نمودار۳- بررسی جذب نوری (OD600) باکتری های جدا شده طی ۳۰۰ساعت

بحث و نتیجه‌گیری

باکتری ها با تکثیر سریع در حضور فنل و ترکیبات آن توانایی فوق العاده ای را در حذف این ترکیبات نشان داده اند. بنابراین می توان با جداسازی، خالص سازی و تکثیر گونه هایی که توانایی بالایی در حذف این ترکیبات دارند، در مناطقی که آلودگی فنلی وجود دارد از آن ها استفاده کرد. باکتری های مختلفی ازجنس های گوناگون بعنوان تجزیه کننده فنل جداسازی شده اند. اکثراین باکتری ها، باکتری های گرم منفی هستند که عمدتاً متعلق به خانواده سودوموناسه می باشند (۱۲).

محیطه[1] و همکاران در سال ۲۰۱۰، باکتری های هوازی را از خاک آلوده به ترکیبات زنوبیوتیک[2] با استفاده از تکنیک غنی سازی به وسیله فنل به عنوان منبع کربن و انرژی جداسازی کردند. باکتری خاک به عنوان Streptococcus epidermis شناسایی گردید. این باکتری قادر به به تجزیه

1. Mohite
2. Xenobiotic

فنل تا ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر بود (۱۳). در تحقیق حاضر باکتری مذکور جداسازی نگردید.

لو[1] و همکاران در سال ۲۰۰۹، باکتری های تجزیه کننده ۴-کلرو فنل را از آب رودخانه Qinhuair جداسازی کردند. باکتری های جدا شده به عنوان Mycopiana، Alcaligenes، Psudomonas و Flavobacterium شناسایی شدند (۱۴). در تحقیق جاری نیز دو باکتری سودوموناس و آلکالی ژنز از رودخانه کر جدا گردیدند.

حسن شاهیان و همکارانش در سال ۲۰۰۷، باکتری های تجزیه کننده فنل را در خاک آلوده به این ماده جداسازی و شناسایی کردند. تمام ایزوله ها ۰/۲ گرم بر لیتر فنل را مصرف نموده و به عنوان گونه های سودوموناس شناسایی شدند (۱۵). در تحقیق حاضر نیز سودوموناس جدا شده از رودخانه کر بیشترین فراوانی را داشت ولی قادر به مصرف فنل تا غلظت ۰/۹ گرم بر لیتر بود.

احمد و همکاران در سال ۲۰۱۱، تعداد ۳۷ باکتری را از نمونه های آب و خاک در مالزی که توانایی تجزیه فنل را داشتند جداسازی کردند. بیشترین فعالیت تجزیه فنل مربوط به سویه ای از اسینتوباکتر بود که قادر به تجزیه ۱۵۰۰ میلی گرم بر لیتر فنل بود (۲). در تحقیق جاری نیز این باکتری مشاهده گردید و میزان تجزیه فنل به وسیله آن حدود ۸۰۰ میلی گرم بر لیتر بدست آمد.

کفیل زاده و همکاران در سال ۲۰۱۱، تجزیه زیستی فنل را در دریاچه پریشان مورد بررسی قرار دادند. باکتری های سودوموناس، اسینتوباکتر، کلبسیلا، سیتروباکتر و شیگلا به ترتیب غالب ترین باکتری های تجزیه کننده فنل در این دریاچه بودند. سودوموناس و اسینتوباکتر بیشترین توانایی را در تجزیه فنل داشتند. تمام باکتری های جداشده در غلظت ۰/۲ گرم بر لیتر فنل بیشترین جذب نوری را نشان دادند (۱۲). در تحقیق حاضر نیز دو باکتری مذکور به عنوان قوی ترین باکتری های تجزیه کننده فنل تعیین گردیدند. ولی ماکزیمم جذب نوری باکتری های جدا شده در غلظت های متفاوتی از فنل بدست آمد.

موحدیان و همکاران در سال ۲۰۰۹، باکتری های تجزی کننده فنل در لجن فعال را با استفاده از تکنیک PCR شناسایی کردند. از ۱۰ ایزوله، ۶ ایزوله به عنوان سودوموناس پوتیدا تعیین گردیدند. بهترین باکتری های تجزیه کننده فنل که مقدار ۶۰۰-۵۰۰ میلی گرم بر لیتر فنل را بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون تجزیه کردند متعلق به سویه های باکتری مذکور بود. میزان حذف فنل با میزان رشد باکتری های جدا شده ارتباط داشت. به طوری که ماکزیمم رشد باکتری ها (بیشترین جذب نوری در ۶۰۰ نانومتر) در غلظت ۶۰۰-۵۰۰ میلی گرم بر لیتر فنل اتفاق افتاد (۱۶). در تحقیق جاری نیز مقدار ماکزیمم رشد باکتری ها با ماکزیمم غلظت تجزیه فنل در باکتری های مختلف رابطه داشت. به طوری که ماکزیمم $OD_{۶۰۰}$ برای هر باکتری در حداکثر غلظت تجزیه به وسیله آن ها مشاهده گردید.

توانایی تجزیه ترکیبات مختلف توسط باکتری ها می تواند مربوط به مقدار غلظت نیمه اشباع آن ها (K_S) باشد. باکتری ها از این لحاظ به ۳ دسته K_S کم، متوسط و زیاد تقسیم می شوند. مثلا" سودوموناس متعلق به گروه K_S زیاد می باشد. در نتیجه برای رسیدن به رشد ماکزیمم به غلظت بیشتری از فنل نیاز دارد (۱۶).

کوتنی[2] و همکارانش درسال ۲۰۰۳، طی تحقیقی باکتری های تجزیه کننده فنل را از خاک های سیبری جداسازی کردند. آنها به این نتیجه رسیدند که جنس غالب در تجزیه فنل

1.Lu

2.Koutny

در این خاک ها *Pseuodomons* و بویژه گونه *putida* می باشد (۹).

روش‌های مختلفی توسط محققین برای سنجش حذف فنل بکاررفته است. بطوریکه واتانابه[۲] و همکاران درسال ۱۹۹۸، روش کالریمتری با استفاده از رنگ ۴-آمینوآنتی پیرین را جهت اندازه گیری میزان باقیمانده درمحیط کشت بکار بردند (۱۷).

محققین دیگری همچون وایتلی[۳] و همکاران درسال ۲۰۰۱ و کوتنی درسال ۲۰۰۳ نیز از این روش برای سنجش مقدار فنل باقیمانده استفاده کردند. سلوارتنم[۴] و همکاران درسال ۱۹۹۷، به وسیله HPLC مقدارفنل را سنجش کردند. همچنین هینارو[۵] درسال ۲۰۰۰ و فریس[۶] در سال ۱۹۹۷ نیز از همین روش سود بردند (۹،۱۸،۱۹).

دراین تحقیق روش گیبس و با استفاده از معرف ۲و۶ دی کلرو کینون۴- کلروایمید برای سنجش حذف فنل بکار رفت. این روش توسط محققین دیگری همچون کینتانا[۷] و همکاران درسال ۱۹۹۷ بکاررفته است (۲۰).

در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که باکتری های تجزیه کننده فنل پراکندگی وسیعی در رودخانه کر دارند. گونه های تجزیه کننده فنل جداسازی شده عمدتا دارای توانایی بالقوه ای در تجزیه فنل می باشند. با بررسی مطالعات انجام شده و همچنین نتایج حاصل از تحقیق حاضر این نتیجه به دست می آید که باکتری های تجزیه کننده فنل عمدتا متعلق به جنس سودوموناس می باشند. اسینتوباکتر نیز در رتبه دوم از نظر اهمیت قرار دارد. البته شایان ذکر است که دیگر باکتری های جدا شده نیز توانایی های متفاوتی در تجزیه فنل از خود نشان دادند.

تشکر و قدر دانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم به خاطر حمایت های مالی و همچنین از کلیه پرسنل آزمایشگاه تحقیقاتی آن واحد سپاسگزاری می‌گردد.

1. Watanabe
2. Whiteley
3. Selvaratnam
4. Heinaru
5. Fries
6. Quintana

References

1. The environmental protection agency (EPA). Collation of toxicological data and intake values for humans. EPA report, 2004, pp. 44-64.
2. Ahmad SA, Syed MA, Arif NM, Abdul Shukor MY, Shamaan NA. Isolation, identification and characterization of elevated phenol degrading Acinetobacter sp. strain AQ5NOL 1. Aust J Basic Appl Sci. 2011; 5(8): 1035-1045.
3. Basha KM, Rajendran A, Thangavelu V. Recent advances in the Biodegradation of Phenol: A review. Asian J Exp Biol Sci. 2010; 1(2): 219-234.
4. Godjevargova T, Ivanova D, Alexieva Z, Dimova N. Biodegradation of toxic organic components from industrial phenol production wastewater by free and immobilized Trichosporon cutaneum R57. Process Biochem. 2003; 38(6): 915-920.
5. Quan X, Shi H, Zhang Y, Wang J, Qian Y. Biodegradation of 2,4-dichlorophenol and phenol in airlift inner-loop bioreactor immobilized with Achromobacter sp. Sep Purif Technol. 2004; 34(1-3): 97-103.
6. Ariana F., Elke B., and Thomas B. Rapid monitoring of the biodegradation of phenol-like compounds by the Candida maltosa using BOD measurements. Inter Biodeter Biodegr. 2004; 54(1): 69-76.
7. Adav SS, Chen MY, Lee DJ, Ren NQ. Degradation of phenol by Acinetobactor strain isolated from aerobic granules. Chemosphere. 2007; 67(8): 1566-1572.
8. Wang, Y, Tian Y, Han B, Zhao HB, Bi JN, Cai BL. Biodegradation of phenol by free and immobilized Acinetobacter sp. strain PD12. J Environ Sci. 2007; 19(2): 222-225.
9. Koutny M, Ruzicka J, Chlachula J. Screening for phenol-degrading bacteria in the pristine solids of south Siberia. Appl Soil Ecol. 2003; 23(1): 79-83.
10. Quintana MG, Didion C, Dalton H. Colorimetric method for a rapid detection of oxygenated aromatic biotransformation product. Biotechnol Tech. 1997; 11(8): 585-587.
11. Ali S, Fernandez- Lafuente R, Cowan DA. Meta-pathway degradation of phenolics by thermophilic Bacilli. Enzyme Microb Tech. 1998; 23(7-8): 462-468.
12. Kafilzadeh F, Farhangdoost MS, Rezaeian AA, Mahjour AA. Assessment of bioremediation of phenol using native bacteria isolated from water and sediments of Parishan Lake. J Microb World. 2009; 2(2): 89-95 [In Persian].
13. Mohite BV, Jalgaonwala RE, Pawar S, Morankar A. Isolation and characterization of phenol degrading bacteria from oil contaminated soil. Innovative Romanian Food Biotechnology. 2010; 7: 61-65.
14- Lu GH, Wang C, Sun Z. Biodegradation of complex bacteria on phenolic derivatives in river water. Biomed Environ Sci. 2009; 22(2): 112-117.
15. Hassanshahian M, Golbang N, Emtiazi G. Isolation and molecular determination of phenol degrading bacteria. Res J Univers Isfahan Sci. 2007; 28: 1-8.
16. Movahedyan H, Khorsandi H, Salehi R, Nikaeen M. Detection of phenol degrading

bacteria and Pseudomonas putida in activated sludge bypolymerase chain reaction. Iran J Environ Health Sci Eng. 2009; 6(2): 115-120.
17. Watanabe K, Yamamoto S, Hino S, Harayama S. Population dynamics of phenol-degrading bacteria in activated sludge determined by gyrB-targeted quantitative PCR. Appl Environ Microbiol. 1998; 64(4): 1203-1209.
18. Whiteley AS, Bailey MJ. Bacterial Community structure and physiological state within an industrial phenol bioremediation system. Appl Environ Microbiol. 2000; 66(6): 2400-2407.
19. Whiteley AS, Wiles S, Lilley K, Philp J, Bailey MJ. Ecological and physiological analyses of Pseudomonad species within an phenol remediation system. J Microbiol Methods. 2001; 44(1): 79-88.
20. Quintana MG, Diditon C, Dalton H. Colorimetric method for a rapid detection of oxygenated aromatic biotransformation products. Biotechnol Tech. 1997; 11(8): 585-587.