

## جداسازی میکروارگانیسم‌های هالوفیل و هالوتولرانت از دریاچه بختگان و اثر فاکتورهای فیزیکی-شیمیایی بر فراوانی آنها

فرشید کفیلزاده<sup>۱</sup> حسین جاوید<sup>۲</sup> محمد کارگر<sup>۱</sup>

(دریافت ۸۴/۱۰/۲۷ پذیرش ۸۶/۵/۱۱)

### چکیده

دریاچه ناحیه حفاظت شده بختگان، پناهگاه حیات وحش بوده و از نظر زیست‌محیطی و اکولوژیک اهمیت بسیار زیادی دارد. دریاچه مذکور از تنوع خاصی از نظر باکتری‌های هالوفیل و هالوتولرانت برخوردار است. طبق آزمایش‌های انجام شده، از بین شش جنس موجود در خانواده هالوباکتریاسه، چهار جنس هالوآرکولا، هالوباکتریوم، هالوکوکوس و هالوفرکس جداسازی گردیدند. از بین جنس‌های جدا شده بیشترین تعداد مربوط به هالوباکتریوم با میانگین ۵۴ درصد و کمترین آن هالوفرکس با میانگین ۴ درصد بود. باکتری‌های هالوتولرانت جدا شده متعلق به جنس‌های سودوموناس، فلاوباکتریوم، میکروکوکوس و باسیلوس بودند که بیشترین تعداد متعلق به جنس سودوموناس با میانگین ۷۲ درصد است. همچنین میزان کلیفرم‌های کل از کلیفرم‌های مدفوعی در دریاچه بیشتر بود. بررسی‌های آماری نشان می‌دهند که از نظر میانگین تعداد کلنی باکتری‌های هالوفیل و هالوتولرانت جدا شده، فقط در ایستگاههای طشک و گمبان با هم یکسان‌اند و اختلاف ایستگاه ده‌زیر با طشک و گمبان معنی‌دار است. همچنین با افزایش غلظت نمک و pH آب بر تعداد کلنی‌های هالوفیل افزوده ولی با افزایش میزان اکسیژن محلول از تعداد آنها کاسته می‌شود. در مورد باکتری‌های هالوتولرانت با افزایش غلظت نمک و pH آب از تعداد کلنی‌ها کاسته و با افزایش میزان اکسیژن محلول بر تعداد آنها افزوده می‌گردد. اثر افزایش غلظت نمک، pH و اکسیژن محلول بر تعداد کلیفرم‌های کل و مدفوعی، مانند هالوتولرانت‌ها می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** دریاچه بختگان، باکتری‌های هالوفیل، باکتری‌های هالوتولرانت، کلیفرم‌های کل، کلیفرم‌های مدفوعی.

## Isolation of Halophilic and Halotolerant Microorganisms from the Bakhtegan Lake and the Effect of Physicochemical Factors on Their Frequency

Farshid Kafilzadeh<sup>1</sup> Hossien Javid<sup>2</sup> Mohammad Kargar<sup>1</sup>

(Received Jan. 17, 2006 Accepted Aug. 2, 2007)

### Abstract

The lake in the protected Bakhtegan zone is the shelter to wildlife and very important from an ecological and environmental viewpoint. The lake has a unique diversity in terms of Halophilic and Halotolerant bacteria. Based on our experiments, from among the six genera of Halobacteriaceae, only the four Halobacterium, Haloarcula, Halococcus, and Haloferax genera were isolated, the greatest frequency (mean: 54%) belonging to Halobacterium and the least frequency (mean: 4%) belonging to Haloferax among the isolated genera. The Halotolerant bacteria isolated included Pseudomonas sp., Flavobacterium sp., Micrococcus sp. and Bacillus sp. genera. The greatest number of Halotolerant bacteria isolated from the lake water was Pseudomonas (mean: 72%). Furthermore, the number of total coliforms was greater than the number of fecal coliforms. Statistical analysis revealed that Halophilic and Halotolerant colonies had the same mean numbers only at Tashk and Gomban sampling sites but that the mean numbers obtained at Dehzir sampling site was significantly different from those

1. Assistant Prof., Azad Islamic University, Jahrom Branch,  
Dr. Kafilzadeh@yahoo.com  
2. Former Grad. Student of Microbiology. Azad Islamic  
University, Jahrom Branch.

۱- استادیار گروه بیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم،  
Dr. Kafilzadeh@yahoo.com  
۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم

obtained at the former two. It was also found that increasing salt concentration and pH level increased the number of halophilic colonies while increased levels of dissolved oxygen decreased their numbers. Salt concentration, pH level, and DO level had similar effects on the number of total and fecal coliform colonies.

**Keywords:** Bakhtegan Lake, Halophilic Bacteria, Halotolerant Bacteria, Total Coliforms, Fecal Coliforms.

## ۱- مقدمه

موفقیت همراه نبود. تحقیقات بعدی توسط دومبروسکی بر روی نمونه‌هایی از صخره‌های نمکی زشتین<sup>۱۱</sup> در اروپا و سیبری انجام گرفت که منجر به جداسازی باکتری‌هایی از جمله سودوموناس هالوکرینا<sup>۱۲</sup>، باسیلوس سیرکولانس<sup>۱۳</sup>، و سودوموناس آئروگینوز<sup>۱۴</sup> شد [۴].

تاش و همکاران دیپلوکوک‌هایی را از صخره‌های نمکی دوره پرمین در کاری‌مین<sup>۱۵</sup> (ناحیه‌ای در کانزاس) جداسازی کردند. بیبو<sup>۱۶</sup> و همکاران نیز موفق به جداسازی باکتری‌های هالوفیل میله‌ای و دیپلوکوک‌های زنده از ناحیه زشتین شدند [۵]. تعدادی از باکتری‌های هالوفیل که پیگمان‌های سفید و زرد تولید می‌کنند از مردابهای نمکی و حتی اخیراً از صخره‌های نمکی جدا شده‌اند [۵]. در این تحقیق ابتدا باکتری‌های هالوفیل، هالوتولرانت و کلیفرم در ایستگاههای مختلف دریاچه بختگان جداسازی، شمارش و شناسایی گردیده و سپس ارتباط آماری بین فاکتورهای مختلف فیزیکی-شیمیایی با تعداد باکتری‌های جدا شده در ایستگاهها مورد بررسی قرار گرفت.

## ۲- مواد و روش کار

با توجه به موقعیت جغرافیایی و زمین شناسی محل، روستاها و همچنین موقعیت دستیابی به دریاچه، محدوده مطالعاتی این تحقیق خط ساحلی روستاهای ده‌زیر (A)، طشک (B) و گمبان (C) تعیین گردید. فاصله ایستگاهها از یکدیگر حدود ۲۰ کیلومتر و نمونه‌برداری در اواخر بهار سال ۱۳۸۴ و بعد از اتمام بارندگیهای سالانه انجام شد. شکل ۱ تصویر ماهواره‌ای منطقه و محل ایستگاههای نمونه‌برداری شده را نشان می‌دهد.

### ۲-۱- جداسازی، شمارش و شناسایی باکتری‌های هالوفیل

نمونه‌برداری آب از قسمت سطحی دریاچه انجام شد. نمونه‌ها در ظروف شیشه‌ای که قبلاً با اسید شسته و استریل شده بودند، ریخته

دریاچه بختگان در استان فارس نزدیک به شهرستان نیریز قرار گرفته است. این دریاچه از دو ناحیه طشک و بختگان تشکیل شده و وسعت آن حدود ۱۰۸۰۰ هکتار است. از مهم‌ترین منابع آب آن رودخانه‌های گُر و سیوند می‌باشد و به عنوان یک زیستگاه آب شور محسوب می‌گردد. عمق متوسط دریاچه حدود ۳ متر است. آلودگیهای شیمیایی و میکروبی که از طریق صنایع مختلف و حتی از طریق جوامع انسانی تولید شده و وارد دریاچه می‌شوند، ممکن است باعث ایجاد مشکلات بهداشتی برای انسانهای ساکن در نزدیکی ساحل دریاچه شود و از طرفی باعث تهدید گونه‌های جانوری و گیاهی گردند [۱].

میکروارگانیسیم‌های هالوفیل<sup>۱</sup> به وسیله مقدار بالای نمک در درون سلول، تعادل اسمزی ایجاد می‌کنند. غلظت نمک (به خصوص کلرید پتاسیم) در درون سلول به ۵ مول می‌رسد. پروتئین‌های هالوفیل‌ها به نحوی سازگار شده‌اند که برای پایداری و فعالیت مناسب به این میزان نمک نیاز دارند [۲].

هالوتولرانت‌ها<sup>۲</sup> طیف وسیعی از باکتری‌ها را تشکیل می‌دهند که در برابر نمک مقاوم هستند؛ بدین معنی که در حضور نمک و یا غیاب آن می‌توانند تکثیر و رشد کنند. معمولاً این باکتری‌ها در مواد غذایی که ۵ درصد یا بیشتر نمک دارند قادر به رشد می‌باشند و شامل بعضی از انواع باسیلوس<sup>۳</sup>، میکروکوکوس<sup>۴</sup>، کورینه باکتریم<sup>۵</sup>، استرپتوکوکوس<sup>۶</sup> و کلاستریدیم<sup>۷</sup> هستند [۳].

دومبروسکی<sup>۸</sup>، ریسر<sup>۹</sup> و تاش<sup>۱۰</sup> برای اولین بار میکروارگانیسیم‌های زنده را از صخره‌های نمکی جداسازی کردند. گزارشهای بعدی، عمدتاً در اوایل سال ۱۹۳۵ میلادی بر وجود باکتری‌های میله‌ای شکل در بقایای صخره‌های نمکی دلالت داشتند، اما کشت این میکروارگانیسیم‌ها انجام نشد، یا اصولاً کشت آنها با

<sup>1</sup> Halophile

<sup>2</sup> Halotolerants

<sup>3</sup> Bacillus

<sup>4</sup> Micrococcus

<sup>5</sup> Corynebacterium

<sup>6</sup> Streptococcus

<sup>7</sup> Clostridium

<sup>8</sup> Dombrowski

<sup>9</sup> Reiser

<sup>10</sup> Tasch

<sup>11</sup> Zechstein

<sup>12</sup> Pseudomonas haloceranae

<sup>13</sup> Bacillus circulans

<sup>14</sup> Pseudomonas aeruginosa

<sup>15</sup> Careymine

<sup>16</sup> Bibo



شکل ۱- نقشه ماهواره‌ای ایستگاههای نمونه‌برداری شده

با جدول M.P.N میزان احتمالی کلیفرم مدفوعی در ۱۰۰ میلی‌لیتر نمونه آب تعیین شد [۶].

۲-۵- اندازه‌گیری فاکتورهای فیزیکی-شیمیایی آب دریاچه شوری آب دریاچه در ایستگاههای مختلف به وسیله نیترات نقره در مجاورت معرف کرومات پتاسیم تعیین گردید [۹]. همچنین پارامترهای اکسیژن محلول (DO) و اسیدیته (pH) آب، در محل توسط دستگاه DO سنسج مدل Multiline F/Set3-WTW اندازه‌گیری شد.

### ۲-۶- آزمونهای آماری

برای مقایسه ایستگاههای ده‌زیر، توشک و گمبان از نظر میانگین تعداد کلنی باکتری‌های هالوفیل و هالوتولرانت جدا شده، ابتدا آزمون آنالیز واریانس<sup>۷</sup> و سپس آزمون ال اس دی<sup>۸</sup> انجام گردید تا معنی‌دار بودن یا نبودن میانگینها با سطح خطای  $(\alpha=0/05)$  مشخص شود. همچنین برای مشخص نمودن ارتباط بین غلظت نمک، اکسیژن محلول و pH با تعداد کلنی‌های هالوفیل و هالوتولرانت از آزمون همبستگی<sup>۹</sup> و تعیین r استفاده گردید.

### ۳- نتایج

از بین شش جنس در خانواده‌ها، هالوباکتریاسه، تنها چهار جنس هالوآرکولا، هالوباکتریم، هالوکوکوس و هالوفراکس جداسازی شده و جنس‌های ناترونوباکتریم و ناترونوکوکوس جداسازی نشدند (جدول ۱). با توجه به شکل ۲، جنس‌های هالوباکتریم،

شد و در محفظه یخ به آزمایشگاه منتقل گردیدند [۶]. بعد از رقیق شدن با نمونه‌های استریل شده آب دریاچه از همان ایستگاه نمونه‌برداری، ۱۰۰ میکرولیتر از آن بر روی محیط نمک تریپتون-یست اکسترات<sup>۱</sup> کشت داده شد و تعداد کلنی‌ها شمارش گردید. بعد از خالص‌سازی، براساس جداول تعیین هویت افتراقی برگگی و خصوصیات بیوشیمیایی باکتری‌ها، تعیین هویت شدند [۷].

۲-۲- جداسازی، شمارش و شناسایی باکتری‌های هالوتولرانت نمونه‌های آب دریاچه توسط آب استریل شده همان ایستگاه نمونه‌برداری تارقت<sup>۱۰</sup> رقیق شده و ۱۰۰ میکرولیتر از آن بر روی محیط مارین آگار<sup>۲</sup> ۲۲۱۶ کشت داده شد. پس از پایان مدت زمان گرمخانه‌گذاری، تعداد کلنی‌ها شمارش و تک تک کلنی‌ها خالص‌سازی شده (روی محیط استریل) و توسط تست‌های افتراقی تعیین هویت گردیدند [۸].

### ۲-۳- تعیین میزان کلیفرم توتال در آب

برای انجام این آزمایش از محیط‌های لاکتوز برات<sup>۳</sup> و بریلیانت گرین بیل برات<sup>۴</sup> استفاده گردید و با مقایسه با جدول M.P.N میزان احتمالی کلیفرم‌ها در ۱۰۰ میلی‌لیتر از نمونه آب به دست آمد [۶].

### ۲-۴- تعیین میزان کلیفرم مدفوعی در آب

برای این منظور از محیط‌های لاریل سولفات تریپتوز برات<sup>۵</sup>، تریپتون واتر<sup>۶</sup> و معرف کواکس (اندول) استفاده گردید و با مقایسه

<sup>1</sup> Trypton-yeast Extract Salt

<sup>2</sup> Marine Agar 2216

<sup>3</sup> Lactose Broth

<sup>4</sup> Brilliant Green Bile Broth

<sup>5</sup> Luryl Sulfate Tryptose Broth

<sup>6</sup> Trypton Water

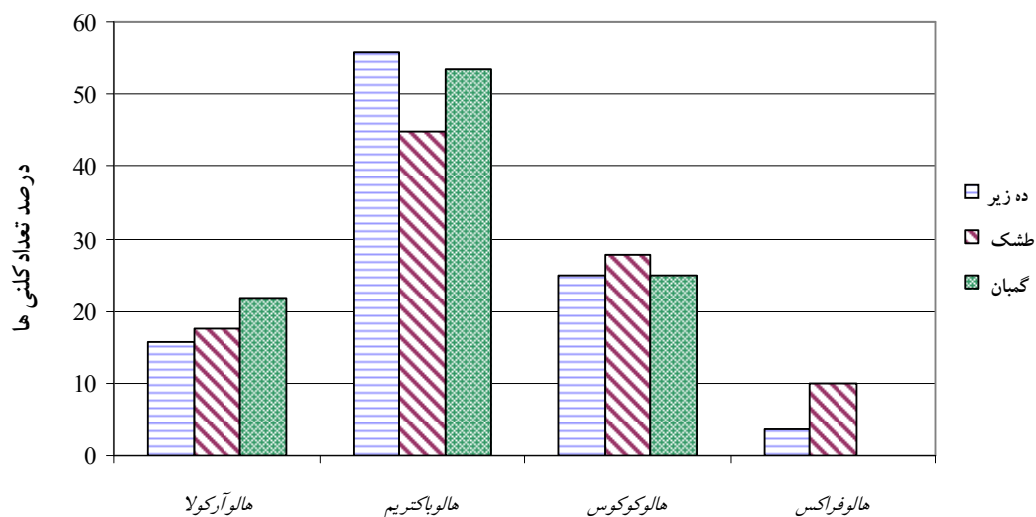
<sup>7</sup> ANOVA

<sup>8</sup> LSD

<sup>9</sup> Correlation

جدول ۱- نتایج تعیین هویت افتراقی جنس‌ها و گونه‌های باکتری هالوفیل جدا شده و تعداد کلنی‌های مربوط به هر جنس

| <i>Haloferax</i> |                    | <i>Halococcus</i> |   | <i>Halobacterium</i> |   | <i>Haloarcula</i> |                    | کلنی‌های<br>جدا شده در<br>۱۰۰ میلی لیتر | نمونه          | ایستگاه  |
|------------------|--------------------|-------------------|---|----------------------|---|-------------------|--------------------|---|----------------|----------|
| ۲(/.۴/۲)         | <i>H.gibbonsii</i> | ۱۰(/.۲۱/۳)        | <i>H.morrhuae</i><br><i>H.Saccharolyticus</i> | ۲۸(/.۵۹/۶)           | <i>H.salinarium</i><br><i>H.sodomense</i><br><i>H.saccharovororum</i> | ۷(/.۱۴/۹)         | <i>H.hispanica</i> | ۴۷                                      | A <sub>1</sub> |          |
| ۱(/.۳/۲)         | <i>H.gibbonsii</i> | ۹(/.۲۹/۳)         | <i>H.morrhuae</i><br><i>H.Saccharolyticus</i> | ۱۶(/.۵۱/۶)           | <i>H.salinarium</i><br><i>H.sodomense</i><br><i>H.saccharovororum</i> | ۵(/.۱۶/۱)         | <i>H.hispanica</i> | ۳۱                                      | A <sub>2</sub> | ده زیر A |
| ۲(/.۳/۲)         | <i>H.gibbonsii</i> | ۱۵(/.۲۴/۲)        | <i>H.morrhuae</i><br><i>H.Saccharolyticus</i> | ۳۵(/.۵۶/۴)           | <i>H.salinarium</i><br><i>H.sodomense</i><br><i>H.saccharovororum</i> | ۱۰(/.۱۶/۱)        | <i>H.hispanica</i> | ۶۲                                      | A <sub>3</sub> |          |
| ۲(/.۱۴/۳)        | <i>H.gibbonsii</i> | ۳(/.۲۱/۴)         | <i>H.morrhuae</i>                             | ۷(/.۵۰/۰)            | <i>H.salinarium</i><br><i>H.sodomense</i>                             | ۲(/.۱۴/۳)         | <i>H.hispanica</i> | ۱۴                                      | B <sub>1</sub> |          |
| ۱(/.۸/۳)         | <i>H.gibbonsii</i> | ۴(/.۳۳/۳)         | <i>H.morrhuae</i>                             | ۵(/.۴۱/۷)            | <i>H.salinarium</i><br><i>H.sodomense</i>                             | ۲(/.۱۶/۷)         | <i>H.hispanica</i> | ۱۲                                      | B <sub>2</sub> | طشک B    |
| ۱(/.۷/۱)         | <i>H.gibbonsii</i> | ۴(/.۲۸/۶)         | <i>H.morrhuae</i>                             | ۶(/.۴۲/۹)            | <i>H.salinarium</i><br><i>H.sodomense</i>                             | ۳(/.۲۱/۴)         | <i>H.hispanica</i> | ۱۴                                      | B <sub>3</sub> |          |
| ۰(/.۰/۰)         | -                  | ۲(/.۲۵/۰)         | <i>H.morrhuae</i>                             | ۴(/.۵۰/۰)            | <i>H.salinarium</i><br><i>H.sodomense</i>                             | ۲(/.۲۵/۰)         | <i>H.hispanica</i> | ۸                                       | C <sub>1</sub> |          |
| ۰(/.۰/۰)         | -                  | ۲(/.۲۲/۲)         | <i>H.morrhuae</i>                             | ۵(/.۵۵/۶)            | <i>H.salinarium</i><br><i>H.sodomense</i>                             | ۲(/.۲۲/۲)         | <i>H.hispanica</i> | ۹                                       | C <sub>2</sub> | گمبان C  |
| ۰(/.۰/۰)         | -                  | ۳(/.۲۷/۳)         | <i>H.morrhuae</i>                             | ۶(/.۵۴/۵)            | <i>H.salinarium</i><br><i>H.sodomense</i>                             | ۲(/.۱۸/۲)         | <i>H.hispanica</i> | ۱۱                                      | C <sub>3</sub> |          |



شکل ۲- مقایسه درصد تعداد کلنی جنس های باکتری هالوفیل در هر ایستگاه

جدول ۲- نتایج جداسازی باکتری های هالوتولرانت و شمارش آنها در هر میلی لیتر

| ایستگاه        | نمونه          | تعداد کلنی های جدا شده در هر (mL) | جنس های جدا شده و تعداد کلنی مربوط به آن |
|----------------|----------------|-----------------------------------|--|
| A<br>ده زیر    | A <sub>1</sub> | ۷                                 | <i>Pseudomonas sp.</i>                   |
|                | A <sub>2</sub> | ۹                                 | <i>Pseudomonas sp.</i>                   |
|                | A <sub>3</sub> | ۶                                 | <i>Pseudomonas sp.</i>                   |
| B<br>طشک       | B <sub>1</sub> | ۱۲                                | <i>Pseudomonas sp.</i>                   |
|                | B <sub>2</sub> | ۴                                 | <i>Flavobacterium sp.</i>                |
| C<br>گمبان     | B <sub>3</sub> | ۱۰                                | <i>Pseudomonas sp.</i>                   |
|                | C <sub>1</sub> | ۳                                 | <i>Flavobacterium sp.</i>                |
|                |                | ۹                                 | <i>Pseudomonas sp.</i>                   |
| C <sub>2</sub> | ۲              | <i>Flavobacterium sp.</i>         |  |
|                | ۱۴             | <i>Pseudomonas sp.</i>            |  |
|                | ۳              | <i>Flavobacterium sp.</i>         |  |
|                | ۴              | <i>Micrococcus sp.</i>            |  |
| C <sub>3</sub> | ۲              | <i>Bacillus sp.</i>               |  |
|                | ۱۵             | <i>Pseudomonas sp.</i>            |  |
|                | ۴              | <i>Flavobacterium sp.</i>         |  |
|                | ۴              | <i>Micrococcus sp.</i>            |  |
| C <sub>3</sub> | ۳              | <i>Bacillus sp.</i>               |  |
|                | ۱۳             | <i>Pseudomonas sp.</i>            |  |
|                | ۳              | <i>Flavobacterium sp.</i>         |  |
|                | ۳              | <i>Micrococcus sp.</i>            |  |
| C <sub>3</sub> | ۱              | <i>Bacillus sp.</i>               |  |

جدول ۳- نتایج اندازه‌گیری پارامترهای فیزیکی- شیمیایی محلهای نمونه‌برداری از آب دریاچه

| ایستگاه     | نمونه          | درجه حرارت (°C) | شوری (ppt) | اکسیژن محلول (mg/L) | pH  |
|-------------|----------------|-----------------|------------|---------------------|-----|
| A<br>ده زیر | A <sub>1</sub> | ۲۹              | ۱۲۳/۶      | ۰/۵                 | ۸/۱ |
|             | A <sub>2</sub> | ۳۰              | ۱۱۵/۳      | ۰/۸                 | ۸/۱ |
|             | A <sub>3</sub> | ۳۰              | ۱۳۰/۲      | ۰/۶                 | ۸/۲ |
| B<br>طشک    | B <sub>1</sub> | ۳۰              | ۹۰/۶       | ۱/۱                 | ۷/۲ |
|             | B <sub>2</sub> | ۳۰              | ۹۸/۸       | ۱/۰                 | ۷/۳ |
|             | B <sub>3</sub> | ۲۹              | ۱۱۱/۲      | ۰/۹                 | ۷/۲ |
| C<br>گمبان  | C <sub>1</sub> | ۲۹              | ۷۴/۲       | ۱/۷                 | ۶/۹ |
|             | C <sub>2</sub> | ۳۰              | ۷۰/۰       | ۱/۹                 | ۷/۰ |
|             | C <sub>3</sub> | ۲۹              | ۷۸/۳       | ۱/۹                 | ۶/۸ |

میزان غلظت نمک مستقیماً بر تعداد میکروارگانیسم‌های هالوفیل اثر می‌گذارد. در ایستگاه ده‌زیر با بیشترین غلظت نمک (میانگین ۱۲۳ ppt)، بیشترین تعداد کلنی هالوفیل و در ایستگاه گمبان با کمترین غلظت نمک (میانگین ۷۴ ppt)، کمترین تعداد کلنی هالوفیل جدا گردید. آزمون همبستگی نشان می‌دهد که با افزایش غلظت نمک، تعداد کلنی‌های هالوفیل دریاچه افزایش می‌یابد ( $r=+0/66$ ).

میزان اکسیژن محلول با حرکت از ایستگاه گمبان به سمت طشک و ده‌زیر کاهش می‌یابد. به طور کلی با افزایش میزان نمک در آب از انحلال اکسیژن در آب کاسته می‌شود و با افزایش میزان اکسیژن محلول تعداد کلنی‌های هالوفیل کاهش می‌یابد ( $r=-0/72$ ).

جدول ۳ نشان می‌دهد که با حرکت از ایستگاه گمبان به سمت طشک و سپس به سمت ایستگاه ده‌زیر میزان pH آب افزایش می‌یابد. آزمون همبستگی نشان می‌دهد که با افزایش میزان pH بر تعداد کلنی‌های هالوفیل افزوده می‌شود ( $r=+0/23$ ).

آزمون آنالیز واریانس نشان می‌دهد که از نظر درجه حرارت اختلاف ایستگاههای نمونه‌برداری شده با هم معنی‌دار نیست. همچنین ارتباطی بین تعداد باکتری‌های جدا شده و درجه حرارت نمی‌توان برقرار کرد. آزمونهای آنالیز واریانس و LSD نشان می‌دهند که از نظر میانگین تعداد کلنی باکتری‌های هالوتولرانت، فقط ایستگاههای ده‌زیر و طشک با هم یکسان‌اند و بقیه با هم اختلاف معنی‌دار دارند ( $\alpha=0/05$ ).

افزایش میزان غلظت نمک اثر معکوس بر تعداد میکروارگانیسم‌های هالوتولرانت دارد. بدین ترتیب که با افزایش غلظت نمک از تعداد کلنی‌های هالوتولرانت کاسته می‌شود ( $r=-0/79$ ). با افزایش میزان اکسیژن محلول بر تعداد کلنی‌ها افزوده می‌شود ( $r=+0/75$ ). همچنین با افزایش میزان pH از

هالوکوکوس، هالوآرکولا و هالوفراکس به ترتیب بیشترین میزان باکتری‌های هالوفیل در ایستگاههای مورد مطالعه در دریاچه می‌باشند.

میانگین تقریبی تعداد کلنی‌های جدا شده در هر ۱۰۰ میلی‌لیتر آب در ایستگاه ده‌زیر ۴۶۶۷ عدد، در ایستگاه طشک ۱۳۳۳ عدد و در ایستگاه گمبان ۹۳۳ عدد به دست آمد.

میانگین تعداد کلنی‌های هالوتولرانت جدا شده در هر ۱۰۰ میلی‌لیتر در ایستگاه ده‌زیر، طشک و گمبان به ترتیب ۷۳۳، ۱۳۳۳ و ۲۳۰۰ عدد به دست آمد. باکتری‌های سودوموناس، فلاوباکتریم، میکروکوکوس و باسیلوس به ترتیب بیشترین میزان باکتری‌های هالوتولرانت در ایستگاههای مورد مطالعه در دریاچه می‌باشند (جدول ۲).

میانگین کلیفرم‌های کل و مدفوعی در ایستگاه ده‌زیر ۱/۰ باکتری در ایستگاه طشک به ترتیب ۲/۷ و ۱/۰ باکتری در ۱۰۰ میلی‌لیتر و در ایستگاه گمبان به ترتیب ۷/۳ و ۲/۷ باکتری در ۱۰۰ میلی‌لیتر به دست آمد.

جدول ۳ نتایج اندازه‌گیری پارامترهای شیمیایی و فیزیکی محلهای نمونه‌برداری از آب دریاچه را نشان می‌دهد.

#### ۴- بحث و نتیجه‌گیری

آزمونهای آماری آنالیز واریانس و LSD نشان می‌دهد که از نظر میانگین تعداد کلنی باکتری‌های هالوفیل جدا شده، فقط ایستگاههای طشک و گمبان با هم یکسان‌اند و بقیه با هم اختلاف معنی‌دار دارند ( $\alpha=0/05$ ).

بر اساس نتایج به دست آمده در جدول ۳ با حرکت از ایستگاه گمبان به سمت طشک و سپس به سمت ایستگاه ده‌زیر به علت دور شدن از محل ورودی رودخانه کر به دریاچه، تبخیر و خصوصیات زمین‌شناختی دریاچه، بر میزان شوری آب افزوده می‌شود. افزایش

تعداد کلنی‌های هالوترانت کاسته می‌شود ( $r = -0/19$ ) بیشترین میزان باکتری‌های هالوتولرانت جدا شده از دریاچه مربوط به باکتری *Sordomonas* می‌باشد که به علت قابلیت تحمل این باکتری در مقابل غلظت بالای نمک است. بالغ بر ۳۰ گونه باکتری‌های هتروتروف هوازی از محیط دریایی به دست آمده‌اند که قادر به رشد در غلظت ۲۰ درصد نمک طعام و حتی عده کمتری قادر به رشد در غلظت ۳۰ درصد کلرید سدیم هستند [۱۰]. عده گوناگونی از باکتری‌های هالوفیل نیز از شنه‌های دریا و جلبک‌های دریایی جداسازی شده‌اند [۱۱].

مطالعه بر روی دریاچه آسل<sup>۱</sup> در فرانسه با حداکثر شوری ۲۷/۷ درصد در لایه‌های سطحی و حداکثر ۳۹/۸ درصد در عمق

۲۰ متری نشان داد از ۱۶۴ جنس جدا شده، ۱۱ جنس هالوفیل‌های معتدل بوده و به غلظت نمک ۳ تا ۱۵ درصد نیاز دارند. ۷ جنس نیز آرکی هالوفیل‌های بی‌نهایت بوده و ۲ جنس در مقابل نمک مقاوم نبودند. اکثریت جنس‌ها به میزان کمی هالوفیل بودند به طوری که به غلظت ۱ تا ۵ درصد کلرید سدیم نیاز داشتند [۱۲].

با توجه به کاربردهای مختلف هالوفیل‌ها از جمله در بیوتکنولوژی و اصلاح زیستی<sup>۲</sup> پیشنهاد می‌گردد که میزان حذف آلاینده‌ها توسط باکتری‌های هالوفیل جدا شده از دریاچه در تحقیقات بعدی مورد بررسی قرار گیرد و اثر غلظت نمک در میزان اصلاح زیستی توسط میکروارگانیزم‌های یاد شده مطالعه گردد.

<sup>2</sup> Bioremediation

<sup>1</sup> Assal

## ۵- مراجع

- ۱- کاشف، م. ح.، (۱۳۷۲). *تالاب های ایران*. اداره کل حفاظت محیط زیست استان فارس.
- 2- Kunte, H. (1995). "Halophilic microorganisms." *Can. J. Microbiol.*, 48, 185-197.
- 3- Madigan, M., and Oren, A. (1999). "Thermophilic and halophilic extremophils." *Curr. Opin. Micro.*, 2, 265-269.
- 4- Golinski, E. A. (1995). "Osmoadaptation in bacteria." *Adv. Micro. Physiol.*, 37, 273-284.
- 5- Reed, R. (1993). "Microbs in extreme environment." *Can. J. Microbiol.*, 43, 588-599.
- 6- *Manual of oceanographic observation and pollutant analysis methods (MOOPAM)*. (1999). ROPME., Kuwait.
- 7- Holt, J., and Krieg, N. (1994). *Bergey's manual of determinative bacteriology*, 9<sup>th</sup> Ed., Williams and Wilkins, ASM-Washington, D.C.
- 8- Gorshkova, N. (2003). "Marinobacter excellens sp.nov., isolation from sediments of the sea of Japan." *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 53, 2073-2078.
- 9- Greenbery, A. (1992). *Standard methods for examination of water and wastewater*, 18<sup>th</sup> Ed., American Public Health Association.
- 10- Forsyth, M. P., and Shindler, D. B. (1971). "Salt tolerance of intertidal marine bacteria." *Can. J. Microbiol.*, 17, 825-828.
- 11- Galinski, E. A., and Truper, H. G. (1994). Microbial behaviour in salt -stressed ecosystems." *FEMS Microbiol. Rev.*, 15, 95-108.
- 12- Brisou, J., Courtois, D., and Denis, F. (1997). "Microbiological study of a hyper saline lake in French Somali land." *Appl. Microbiol.*, 27, 819-822.