مروری بر سازوکارهای مقاومت به فلزهای سنگین در ریزاندامگان و کاربرد آن‌ها در زیست پالایی

نازنین بهاءلو هوره، سید محمد موسوی*+

گروه بیوتکنولوژی، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه تربیت مدرس، صندوق پستی ۱۱۴ ـ ۱۴۱۱۵ تهران، ایران

احمد خدادادی دربان*+

گروه فرآوری مواد معدنی، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه تربیت مدرس، صندوق پستی ۱۴۳ ـ ۱۴۱۱۵ تهران، ایران

چکیده: یکی از مهم‌ترین مسئله‌های دنیای امروز، آلودگی محیط‌زیست با فلزهای سنگین سمی و خطرناک است. فعالیت‌های انسانی ازجمله استخراج فلزها از معادن و تولید پسماندهای صنعتی باعث انباشتگی بیش‌ازحد فلزهای سنگین در محیط‌زیست شده است که این امر می‌تواند باعث ایجاد اثرهای سمی بر موجودات زنده شود. از سویی، ازآنجاکه این فلزها تجزیه‌پذیر نیستند، تنها راه پاک‌سازی محیط از این فلزها، خارج کردن آن‌ها از محیط، بازیابی و استفاده دوباره از آن‌ها در صورت امکان است. بدین منظور، یکی از راه‌حل‌های اتخاذ شده برای پاک‌سازی، استفاده از فرایندهای زیستی است. فرایند پاک‌سازی زیستی بر اساس برهم‌کنش‌های بین فلزها و ریزاندامگان است. شناسایی ریزاندامگان‌های مقاوم به فلزها نقش مهمی در زمینه رفع آلودگی محیط و پاک‌سازی آن بازی می‌کند. ریزاندامگان‌هایی که در تماس با فلزها قرار می‌گیرند، می‌توانند سازوکارهای مقاومتی گوناگونی را به‌منظور زنده ماندن در محیط دارای فلزها اتخاذ کنند. در این مقاله اثرهای فلزهای سنگین سمی بر ریزاندامگان‌ها، سازوکارهای مقاومت و نیز کاربردهای گوناگون سازوکارهای مقاومت به فلزها ازجمله انباشتگی زیستی، جذب زیستی، زیست دگرگونی، معدنی‌سازی زیستی و فروشویی زیستی فلزها موردبررسی قرارگرفته است. نتیجه‌ها نشان می‌دهد استفاده از ریزاندامگان‌ها به‌منظور پاک‌سازی محیط از فلزها و همچنین بازیابی این فلزها، یک راه‌حل طبیعی، پایدار و اقتصادی است و می‌تواند تا درصد بالایی از فلزهای سنگین ارزشمند و سمی مانند نیکل، مس، روی و ... را سمیت‌زدایی و یا استخراج کند.

واژه‌های کلیدی: فلزهای سنگین؛ سمیت؛ سازوکارهای مقاومت؛ زیست پالایی.

KEYWORDS: *Heavy metals; Toxicity; Mechanisms of resistance; Bioremediation.*

مقدمه

آلودگی فلزهای سنگین، یکی از بزرگ‌ترین مشکل‌های زیست‌محیطی در قرن بیست و یکم است. فعالیت‌های انسانی ازجمله استخراج از معادن، تولیدهای شیمیایی، کشاورزی، پساب بیمارستان‌ها، زباله‌های الکترونیکی و ... باعث انباشتگی بیش‌ازحد فلزهای سنگین در محیط‌زیست می‌شوند [۱]. فلزهای سنگین این توانایی را دارند که به‌تدریج در خاک و آب‌های زیرزمینی

*عهده دار مکاتبات +E-mail: mousavi_m@modares.ac.ir ; akdarban@modares.ac.ir

یا سطحی حل شوند [۲]. فلزهای سنگین با ورود به محیط وارد چرخه‌ای می‌شوند که طی آن بین محیط و موجودات زنده مورد تبادل قرار می‌گیرند و اثرهای سمی بر موجودات زنده می‌گذارند [۳]. صدمه‌هایی که فلزهای سنگین به محیط‌زیست و سلامت انسان وارد می‌کنند، لزوم حذف این آلاینده‌ها را دوچندان می‌نماید [۴]. اگرچه برخی فلزها به مقدار ناچیز برای عملکرد طبیعی بدن ضروری هستند اما ورود بیش از اندازه آن‌ها به بدن، ایجاد سمیت خواهد کرد [۵]. فلزهای سنگین پس از ورود به بدن، دیگر از بدن دفع نشده و در بافت‌های بدن انباشته می‌شوند، همین امر موجب بروز بیماری‌ها و عوارض بسیاری در بدن می‌شود. همچنین فلزهای سنگین جایگزین دیگر املاح و مواد معدنی موردنیاز در بدن می‌شوند و در بافت رگ‌ها، عضله‌ها، استخوان‌ها و مفصل‌ها رسوب می‌کنند. تأثیر فلزهای سنگین بر بدن عبارت‌اند از: اختلال‌های عصبی، انواع سرطان‌ها، کاهش مواد مغذی، برهم خوردن تعادل هورمون‌ها، چاقی، اختلال‌های تنفسی و پوکی استخوان. به‌طور مثال، فلز نیکل باعث شکل‌گیری برونشیت مزمن، کاهش عملکرد ریه و سرطان ریه می‌شود. آرسنیک نیز سرطان‌زا بوده و باعث ایجاد تومورهای کبد و اثرهای گوارشی می‌شود [۶]. ورود کادمیم به بدن نیز باعث بیماری ایتای- ایتای(۱) و ورود سرب باعث جلوگیری از تولید ماده‌ای به نام هم(۲) در بدن شده و باعث کم‌خونی می‌شود [۷].

فلزها بر اساس اثرهای زیستی و نقش‌هایشان به سه گروه اصلی تقسیم می‌شوند:

الف) فلزهای ضروری با یک نقش زیستی شناخته‌شده (مانند سدیم، کلسیم، پتاسیم، منگنز، منیزیم، وانادیم، آهن، مس، کبالت، مولیبدن، نیکل، مس، روی و تنگستن) که نقش حیاتی را در فرایندهای متابولیکی و فیزیولوژیکی گیاهان، انسان‌ها و ریزاندامگان‌ها(۳) بازی می‌کنند [۸].

ب) فلزهای غیرضروری و سمی (مانند نقره، قلع، کادمیم، طلا، تیتانیوم، جیوه، سرب، آلومینیوم و شبه فلزهای ژرمانیم، آنتیموان، آرسنیک و سلنیم) که تابه‌حال برای این فلزها هیچ نقش بیوشیمیایی مفیدی یافت نشده است و زمانی که در زیست‌بوم(۴) یافت شوند، بسیار سمی خواهند بود. آرسنیک، سرب، جیوه و کادمیم، ازجمله رایج‌ترین فلزهای سمی از نظر زیست‌محیطی هستند [۱۰ ـ ۸].

ج) فلزهای غیرضروری و غیر سمی بدون اثرهای زیستی (مانند روبیدیم، استرانسیم، سزیم و تریتیوم) [۸].

فلزهای سنگین می‌توانند با معیارهای گوناگونی ازجمله چگالی، وزن اتمی، عدد اتمی، ویژگی‌های شیمیایی و رفتار اسید لوئیس(۵) (پذیرنده زوج الکترون) تعریف شوند؛ بااین‌حال، ویژگی بارز و اصلی، چگالی محسوب می‌شود. فلزهای سنگین دارای چگالی اتمی بیش از ۵ گرم بر سانتی‌متر مکعب و عدد اتمی بالای ۲۰ هستند. به‌طورمعمول اصطلاح فلز سنگین در مورد فلزهای واسطه (مانند مس، روی، کبالت، تنگستن، نیکل، مولیبدن و ...) به کار می‌رود. ۵۳ عنصر از ۹۰ عنصر موجود در طبیعت، فلزهای سنگین هستند. فلزهای سنگین صفر ظرفیتی هیچ‌گونه فعالیت زیستی ندارند، درحالی‌که شکل ساده و یا کمپلکس فلزهای سنگین یونیزه شده می‌تواند به‌طور چشمگیری عملکرد سامانه‌های زیستی را تحت تأثیر قرار دهد [۹]. برای مثال، روی، نیکل، مس، کبالت، وانادیوم و کروم از نظر متابولیکی عنصرهای با اهمیت زیستی هستند ولی آرسنیک، جیوه، کادمیم، سرب و بیسموت از دسته ریزمغذی‌های ضروری برای موجود زنده نبوده و برای ریزاندامگان‌ها سمی هستند [۱۱].

آگاهی فزاینده راجع به مشکل‌های زیست‌محیطی مرتبط با فلزهای سنگین و بازیافت فلزهای با ارزش، این ضرورت را ایجاب می‌کند که یک فرآیند اقتصادی و دوست‌دار محیط‌زیست برای پاک‌سازی و بازیافت فلزهای سنگین یافت شود [۱۲]. روش‌های مرسوم برای بازیافت فلزها شامل فرآیندهای پیرومتالورژی(۶)، هیدرومتالورژی(۷) و یا ترکیبی از هر دو است. مصرف بسیار زیاد انرژی، شرایط عملیاتی سخت، قیمت بالا، بازدهی پایین و آلودگی‌های ثانویه خطرناک ناشی از استفاده از فرایندهای پیرومتالورژی و هیدرومتالورژی، فرآیند بازیافت را به سمت روش‌های زیستی رهنمون شده است [۱۳]. در روش‌های زیستی، بازیافت فلزها توسط فرایندهایی همانند با چرخه‌های زیستی طبیعی رخ دهد و به این ترتیب روش‌های زیستی با صرف انرژی و هزینه کم، دوستدار محیط‌زیست هستند [۱۴].

(۱) Itai-itai
(۲) Hem
(۳) Microorganism
(۴) Ecosystem
(۵) Lewis Acid
(۶) Pyrometallurgy
(۷) Hydrometallurgy

در این پژوهش به اثرهای فلزهای سنگین بر ریزاندامگان، سازوکارهای مقاومت در برابر فلزهای سنگین و کاربردهای گوناگون آن در زیست پالایی[۱] پرداخته‌شده است.

نقش بیوشیمیایی فلزهای سنگین در ریزاندامگان‌ها

فلزها قادر به تأثیرگذاری بر رشد میکروبی، فعالیت و بقا از طریق دخالت مستقیم یا غیرمستقیم در همه مرحله‌های سوخت‌وساز[۲] میکروبی، رشد و تمایز هستند [۸]. نقش‌های اصلی بیوشیمیایی فلزهای سنگین ضروری عبارت‌اند از [۱۵]:

(الف) کاتالیز واکنش‌های بیوشیمیایی (این فلزهای ضروری بخشی از آنزیم‌ها یا کوفاکتورها برای واکنش‌های بیوشیمیایی هستند). برای مثال فلز روی برای عملکرد بیش از ۳۰۰ آنزیم موردنیاز بوده و به ویژه به‌صورت کاتالیست و کوکاتالیست آنزیم‌ها فعالیت می‌کند و به این وسیله در کنترل بسیاری از پروسه‌های سلولی مثل سنتز DNA، پاسخ‌های رفتاری، تولیدمثل و ثبات غشاها دخالت دارد.

(ب) تثبیت پروتئین. برای مثال روی به‌عنوان یک یون مهاری و یا تحریکی، پایداری پروتئین‌ها را تنظیم می‌نماید.

(ج) تنظیم بیان ژن. برای مثال عنصر روی به دلیل دارا بودن ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی خاص در بسیاری از پروتئین‌های دخیل در همانندسازی DNA و رونویسی معکوس، نقش ساختاری و عملکردی داشته و برای فعالیت تعدادی از متالوپروتئین‌ها ضروری است. روی از طریق‌های گوناگونی شامل شرکت در ساختار کروماتین و غشاهای زیستی، همانندسازی DNA، ترجمه RNA از طریق فعالیت فاکتورهای ترجمه و پلیمرازهای DNA و RNA و نیز شرکت در ترمیم DNA و مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول، در بیان ژن و ثبات ژنتیکی نقش دارد.

(د) کنترل شیب فشار اسمزی در غشاهای گوناگون میکروبی.

حضور برخی فلزهای سنگین برای مسیرهای بیوشیمیایی خاصی ضروری است و برخی از ریزاندامگان‌ها در غیاب برخی فلزهای سنگین قادر به رشد نیستند [۹]. فلزهایی مانند پتاسیم، کبالت، کروم، نیکل، مس، روی، منیزیم، آهن، سدیم، پتاسیم و منگنز عناصر کم‌مقدار و موردنیاز سلول‌ها هستند که در واکنش‌های اکسایش ـ کاهش نقش دارند. این عنصرهای کم‌مقدار باعث تثبیت مولکول‌ها با برهمکنش‌های الکترواستاتیک (مانند عملکرد منیزیم و روی) و تنظیم فشار اسمزی (مانند عملکرد آهن، منیزیم، نیکل و کبالت) می‌شوند. همچنین، به‌عنوان کوفاکتور برای آنزیم‌های بسیاری نقش بازی کرده و شیب غلظت و بار را از طریق غشاهای سیتوپلاسمی شکل می‌دهند (مانند عملکرد پتاسیم و سدیم) [۱۶].

سمیت فلزهای سنگین

افزایش غلظت فلزهای ضروری یا غیرضروری باعث ایجاد سمیت در ریزاندامگان‌ها می‌شود. غلظت بالای فلزها بر تنوع، جمعیت، اندازه و فعالیت کل ریزاندامگان‌ها تأثیر می‌گذارد. فلزهای سنگین باعث اختلال عملکردی در سلول، تخریب انسجام سلول یا واسرشته[۳] شدن پروتئین‌ها شده و بر سوخت‌وساز، رشد و ریخت شناسی ریزاندامگان‌ها تأثیر می‌گذارند. متنوع بودن اثرهای زیستی و سمی فلزهای سنگین در محیطزیست در نتیجه شکل‌های گوناگون (اکسایش) فلزهای سنگین رخ می‌دهد. حالت اکسایش تابعی از نوع و مقدار پتانسیل احیای فلزهای سنگین، pH و فعالیت میکروبی است [۱۸, ۱۷]. برای نمونه کروم دارای حالت‌های اکسایشی بسیاری از ۲- تا ۶+ است ولی تنها حالت‌های سه و شش ظرفیتی آن در طبیعت پایدارند. ترکیب‌های Cr(VI) در محیطزیست و به‌ویژه خاک نسبت به ترکیب‌های Cr(III) محلول‌تر بوده، در نتیجه دارای سمیت بیش‌تری هستند [۱۹]. آرسنیک نیز به طور عمده به شکل گونه‌های شیمیایی معدنی As(V) آرسنات و As(III) آرسنیت حضور دارد. گونه As(III) در شرایط احیا، گونه غالب آرسنیک است اما در شرایط اکسیدی (pH=5-8, Eh>200 mV) آرسنیک به طور معمول به شکل As(V) در خاک حضور دارد. در این بین ترکیب‌های آرسنیت سمی‌تر از آرسنات‌ها هستند [۲۰].

گونه‌های گوناگون ریزاندامگان‌ها یا حتی نژادهای گوناگون از گونه‌های همانند، ممکن است حساسیت‌هایی به طور کامل متفاوت نسبت به فلزهای سنگین از خود نشان دهند. برای نمونه دیده شده است که قارچ *آسپرژیلوس نایجر* توانایی رشد در غلظت‌های بالاتر از ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیکل [۲۱] و ۷۰۰ میلی‌گرم بر لیتر آهن را ندارد [۲۲]، این در حالی است که قارچ *پنی‌سیلیوم سیمپلیسیسیموم* در حضور غلظت‌های بیش از ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیکل و ۳۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر آهن قادر به رشد نیست [۱۷].

(۱) Bioremediation
(۲) Metabolism
(۳) Denature

جدول ۱ـ اثرهای سمی فلزهای سنگین بر باکتری‌ها [۳, ۱۸].

فلز سنگین	سازوکارهای فعالیت
جیوه، سرب و کادمیم	واسرشته کردن پروتئین‌ها
جیوه، سرب، کادمیم و روی	مهار تقسیم سلولی
جیوه، سرب، کادمیم، نیکل و مس	اختلال در غشا سلولی
جیوه، سرب، کادمیم، نیکل، مس و روی	مهار فعالیت‌های آنزیمی
جیوه، سرب، کادمیم و آرسنیک	آسیب به نوکلئیک اسیدها
جیوه، سرب و کادمیم	مهار نسخه‌برداری
مس	افزایش فراوانی نوکلئوتیدهای اشتباه در همانندسازی DNA

به‌طورکلی سمیت فلزهای سنگین باعث تغییر در ساختار صورت‌بندی(۱) نوکلئیک اسیدها و پروتئین‌ها و تداخل در فسفرگیری اکسایشی(۲) و تعادل اسمزی شده و سرانجام باعث کاهش یا مهار رشد ریزاندامگان‌ها می‌شود [۸]. اثرهای سمی برخی فلزهای سنگین در جدول ۱ نشان داده‌شده است.

تعیین سمیت فلزی

روش‌های بسیاری برای تعیین میزان سمیت فلزی در سامانه‌های میکروبی ارایه شده است. روش‌هایی که به طور عموم به کار گرفته می‌شوند عبارت‌اند از: اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی، اندازه‌گیری نرخ تنفسی، تعیین عامل‌های گوناگون رشد، اندازه‌گیری رشد سلول توسط شمارش و استفاده از روش‌های فلوئورسنت و زیست تابی(۳) [۲۳]. برای نمونه روش اندازه‌گیری رشد سلول توسط شمارش بر این اساس است که تعداد باکتری‌ها در محیط کشت حاوی فلز بسیار کم‌تر از تعداد باکتری‌ها در محیط کشت بدون فلز است. وجود فلز موجب توقف رشد و مرگ و کاهش تعداد باکتری‌ها در محیط دارای فلز می‌شود [۲۴]. روش زیست تابی نیز فرایندی است که طی آن نور در پی تعدادی واکنش‌های آنزیمی در درون سلول تولید می‌شود. تولید این آنزیم‌ها فراورده بیان ژن‌های LUX می‌باشند. در این فرایند زیستی، لوسیفرین باکتریایی که یک منونوکلئید فلاوین است، در حضور یک آلدئید بلند زنجیره، اکسیژن و آنزیم لوسیفراز اکسید می‌شود. با اکسید شدن لوسیفرین، نور سبز رنگ مایل به آبی با طول‌موج ۴۹۰ نانومتر تولید می‌شود که میزان این نور تولیدشده متناسب با تعداد این واکنش‌ها در درون سلول‌های باکتریایی است [۲۵]. اساس این روش، مهار نور زیست تابی تولیدشده بر پایه تغییرهای شدت نور تحت تأثیر مواد سمی است. باکتری‌های نورافشان در شرایط مناسب، سطوح بالا و پایداری از نور را ساطع می‌کنند که به دلیل این ویژگی یگانه آن‌ها در ارزیابی سمیت مورداستفاده قرار می‌گیرند. ازاین‌رو، بسیاری از مواد سمی مانند فلزهای سنگین می‌توانند یک تأثیر نمایان و قابل اندازه‌گیری روی سامانه زیست تابی باکتریایی بگذارند که به‌عنوان حسگرهای زیستی توسعه داده‌شده‌اند. پارامتر اصلی اندازه‌گیری در این روش، سنجش کاهش نورافشانی است [۲۶].

این روش‌ها به‌طورمعمول نشان‌دهنده وجه کیفی مسئله در زمینه اثرهای فلزهای سنگین خاص بر رشد میکروبی هستند که البته هیچ‌کدام از آن‌ها در توافق با تأثیرهای کمی نیستند [۲۳].

عامل‌های زیست‌محیطی نیز می‌توانند بر سمیت فلزهای سنگین تأثیر بگذارند. برخی عامل‌های زیست‌محیطی یا فیزیکی مانند pH، غلظت فلز، گونه‌های فلزی، قابل‌دسترس بودن فلزهای سنگین، غلظت جامدهای معلق در مایع مخلوط، سن محیط کشت (سن لجن فعال)، حضور و غلظت دیگر فلزهای سنگین، یا دیگر مواد فعال و غیرفعال می‌توانند بر سمیت ریزاندامگان‌ها تأثیر بگذارند. عامل دیگر سابقه کشت میکروبی با توجه به میزان تماس با فلزهای سنگین است. اثرهای سمی فلزهای سنگین بر رشد کشت‌های میکروبی، تنها تابعی از غلظت فلزهای سنگین نیست، بلکه به میزان زمان تماس نیز بستگی دارد. صرف‌نظر از عامل‌های فیزیکی، مانند دما که به‌طور واضح می‌تواند بر سمیت

(۱) Conformation

(۲) Oxidative Phosphorylation

(۳) Bioluminescence

فلزهای سنگین مؤثر باشد، به‌طورمعمول پیشینه شیمیایی به شکلی ویژه بر عملکرد زیستی فلزهای سنگین تأثیرگذار است. مقدار و نوع سوبسترا، حضور مواد شیمیایی خاص، گونه‌های فلز سنگین و حضور دیگر فلزها می‌توانند به‌طور چشمگیری بر عملکرد سامانه میکروبی تأثیرگذار باشند [۲۷].

همان‌گونه که گفته شد، یکی از مهم‌ترین عامل‌های تأثیرگذار pH است. گزارش‌شده است که هرچه pH افزایش یابد، سمیت فلز افزایش می‌یابد. برای نمونه افزایش pH سمیت فلز روی را برای قارچ‌ها و جلبک‌ها و سمیت فلز کادمیم را برای باکتری‌ها و سمیت فلز مس را برای سویه *کلرولا* (۱) افزایش می‌دهد [۲۸]. برای نمونه تأثیر pH بر میزان سمیت کروم به این صورت است: کروم در محیط به شکل‌های گوناگون (با حالت‌های اکسایش ۲- تا ۶+) بسته به pH و شرایط کاهندگی یافت می‌شود، اما کروم (III) و (VI)، پایدارترین شکل‌ها با ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی و اثرهای زیستی متفاوت هستند. کروم (III) به دلیل جذب شدن بر خاک رس و مواد معدنی اکسیدی در pH زیر ۵، قابلیت حل شدن کم‌تری دارد و تقریباً بدون تحرک است. درحالی‌که در pH بالای ۵ به دلیل حضور به شکل $Cr(OH)_3(s)$ قابلیت حل شدن بیش‌تری دارد. کروم شش ظرفیتی Cr(VI)، اکسیدترین شکل کروم و یک ماده خطرناک بالقوه به دلیل تحرک و حلالیت بالا است که می‌تواند به درون غشاهای زیستی نفوذ کند [۱۸].

غلظت پلیمر برون سلولی با افزایش غلظت جامدهای معلق در مایع مخلوط افزایش می‌یابد. پلیمر برون سلولی مکان‌هایی برای جذب یون‌های فلزها را داراست. گروه‌های عاملی مانند فسفریل، کربوکسیل، هیدروکسیل و سولفیدریل موجود در این پلیمرهای برون سلولی ممکن است با فلزهای گوناگون برهمکنش داشته باشند و در نتیجه آن‌ها را بی‌تحرک کنند. دیده شده است که درجه سمیت در غلظت‌های بالای جامدهای معلق کاهش می‌یابد. سن لجن نیز در میزان سمیت نقش مهمی بازی می‌کند. مطالعه‌ها نشان داده‌اند که محیط کشت‌هایی با سن بالاتر، کم‌تر تحت تأثیر سمیت فلزها قرار می‌گیرند [۲۹].

پاسخ به تنش فلزهای سنگین

به خاطر فعالیت‌های صنعتی و آلودگی زیستگاه‌های آبی و زمینی، ریزاندامگان‌ها به‌طور فزاینده‌ای در معرض شرایط بالقوه سمی از جمله فلزهای سنگین قرار می‌گیرند. تنش ناشی از فلزهای سنگین باعث تغییر در شرایط بهینه زندگی ریزاندامگان‌ها و سبب بروز پاسخ‌هایی خاص در تمام سطوح فیزیولوژیکی می‌شود. گاهی این تنش دارای اثرهای منفی بر موجود زنده و نمو آن بوده و باعث مرگ ریزاندامگان می‌شوند، اما در مقابل بسیاری از ریزاندامگان‌ها قادر به مقاومت و زنده ماندن در برابر تنش القاشده فلزهای سنگین هستند. در واقع، ریزاندامگان‌ها می‌توانند نسبت به یک آلاینده مقاوم یا متحمل باشند. تحمل به‌عنوان توانایی یک ریزاندامگان برای زنده ماندن در یک محیط آلوده از طریق ویژگی‌های ذاتی تعریف می‌شود؛ درحالی‌که مقاومت، توانایی ریزاندامگان برای زنده ماندن در غلظت بالایی از یک ماده سمی است. زمانی که غلظت فلزهای سنگینی که یک سلول باکتریایی می‌تواند تحمل کند بیش‌ازحد مجاز شود، سازوکارهای مقاومت به‌منظور زنده ماندن در محیط نامطلوب ایجاد می‌شوند [۳۰]. توانایی زنده ماندن در این شرایط بستگی به ویژگی‌های اکتسابی بیوشیمیایی و ساختاری، فیزیولوژیکی و/یا سازگاری ژنتیکی مانند تغییرهای سلول و تغییرهای مورفولوژیکی دارد. برای غلبه بر این شرایط سمی، ریزاندامگان‌ها ممکن است با استفاده از راهبردهای گوناگون که ضامن بقا و تولیدمثل آن‌ها است، به تنش به دست آمده از فلزهای سنگین پاسخ دهند [۳۱].

سلول ممکن است در تلاش برای محافظت از اجزای حساس سلولی، سامانه‌های مقاومت به فلز را ایجاد کند. محدود کردن دسترسی به فلز و یا تغییر اجزای سلولی باعث کاهش حساسیت آن‌ها به فلزها می‌شود. عامل‌های بسیاری میزان مقاومت در ریزاندامگان را تعیین می‌کنند که عبارت‌اند از: نوع و تعداد سازوکارها برای جذب فلز، نقشی که هر فلز در سوخت‌وساز طبیعی بازی می‌کند و حضور ژن‌های واقع در پلاسمیدها، کروموزوم‌ها، یا ترانسپوزون‌ها که مقاومت به فلز را کنترل می‌کنند. مقاومت طبیعی ممکن است به‌صورت جهش‌هایی در اجزای سلولی درآید که از برهمکنش با فلزها یا تغییر در ترکیب غشاء سلول جلوگیری می‌کند [۹]. با درک شیوه‌های گوناگون واکنش باکتری با فلزها می‌توان توانایی باکتری‌ها را برای حذف یون‌های سمی از محیط روشن ساخت [۱۸].

سازوکارهای مقاومت به فلزهای سنگین

باکتری‌های مقاوم قادرند با انتقال عناصر ژنتیکی به سویه‌های دیگر تعداد سویه‌های مقاوم را افزایش دهند. ریزاندامگان‌ها با سازوکارهای گوناگونی می‌توانند اثرهای سمی فلزهای سنگین را

(۱) Chlorella

کاهش دهند و به‌اصطلاح با شرایط موجود سازگار شوند. همچنین ریزاندامگان‌ها می‌توانند یک یا ترکیبی از چند سازوکار مقاومت داشته باشند. برحسب میزان آلودگی ممکن است ظرفیت پلاسمیدی یا ساختار سلولی ریزاندامگان‌ها تغییر یابد، به طوری که قدرت تحمل غلظت‌های بالاتر ترکیب‌های سمی را نیز داشته باشند و به‌عبارت‌دیگر با غلظت‌های بالاتر نیز سازگار شوند (خوسازی) [۳۲]. بااین‌حال، به‌طورکلی تمام این راهبردها هم در جلوگیری از ورود فلز به درون سلول هدف و هم در پمپ کردن فلز به خارج از سلول به‌طور فعال هدف‌گذاری می‌شوند [۳۱]. سازوکارهای دخیل در مقاومت به فلزها شامل مانع‌های نفوذپذیر(۱)، جداسازی درون و برون سلولی، پمپ‌های انتشار به بیرون(۲)، سم‌زدایی آنزیمی، کاهش حساسیت هدف‌های سلولی نسبت به فلز و تغییر ریخت شناسی سلول است. برخی از پژوهشگران، جداسازی درون و بیرون سلولی را به‌عنوان یک نوع سازوکار طبقه‌بندی می‌کنند [۳۳].

جلوگیری از ورود فلز توسط مانعی نفوذپذیر

کاهش نفوذپذیری غشاء یک سازوکار مقاومت مهم است که در آن فلز نمی‌تواند به سیتوپلاسم سلول‌ها وارد شود. تغییر در دیواره غشاء یا پوشش سلولی، سد چربی و نفوذپذیری به‌واسطه پورین، نمونه‌هایی از سازوکار جلوگیری از ورود فلز توسط مانعی نفوذپذیر هستند که به‌عنوان یک سد حفاظتی برای حفاظت ریزاندامگان‌ها از فلزهای سنگین و سمی عمل می‌کنند. این سازوکار، تلاش موجود زنده را برای محافظت از اجزای سلولی حساس به فلز سنگین نشان می‌دهد که به طور معمول به خاطر جهش یک ژن است که نفوذپذیری غشاء را نسبت به یون‌های فلزی کاهش می‌دهد. همچنین ممکن است این سازوکار به خاطر اتصال غیراختصاصی فلزها با غشا یا پوشش خارجی رخ دهد. در واقع اشباع شدن جایگاه‌های اتصال باعث حفاظت محدودی نسبت به فلز سنگین می‌شود [۹].

در باکتری‌ها، تغییر ترکیب اسید چرب لیپیدها، یکی از سازوکارهای دفاعی است که برای حفظ سیالیت غشاء استفاده می‌شود. تغییرهای ساختار زنجیره آسیل لیپیدی با تغییر نسبت اشباع بودن به غیراشباع بودن، آرایش شاخه‌ای به غیر شاخه‌ای و همچنین طول زنجیره آسیل و شکل‌های انشعاب، به‌عنوان پاسخی به عامل‌های سمی رخ می‌دهد. تنش فلزهای سنگین نیز باعث تغییر در ترکیب اسیدهای چرب با تغییر کمی و کیفی لیپیدها، مهار مسیرهای سنتز زیستی و پراکسیداسیون چربی می‌شود [۱۶]. برای مثال در برخی از گونه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*(۳)، پلاسمیدهای مولد پنی‌سیلیناز می‌توانند با تغییر نفوذپذیری غشای سلولی نسبت به Cd(II) و همچنین نسبت به دیگر فلزها باعث ایجاد مقاومت شوند. در این مورد به نظر می‌رسد تغییرهای کنفورماسیونی در غشاء از ورود یون‌های فلزی جلوگیری می‌کند که این امر، معمولا مقاومت سطح پایینی را در بازه‌ی ۰/۰۱–۰/۱ نانومولار Cd(II) ارایه می‌دهد [۹].

ازآنجاکه اکثر برهمکنش‌های ریزاندامگان با فلزهای سنگین در سطح جذب آغاز می‌شود، به‌احتمال‌زیاد ارتباط نزدیکی بین سازوکار جذب با سازوکار مقاومت به فلزهای سنگین در ریزاندامگان‌ها است [۳۳]. جذب زیستی نشان‌دهنده همه برهمکنش‌های غیر آنزیمی یون‌های فلزی با دیواره سلولی است که شامل واکنش‌های جذب و واکنش‌های تبادل یونی با گروه‌های عاملی در سطح سلول است. دیواره‌های سلول میکروبی متشکل از پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها، گلوکان‌ها، کیتین، مانان‌ها و فسفومانان‌ها دارای گروه‌های متصل شونده به فلز مانند کربوکسیل، سولفات، فسفات و گروه‌های آمینه است که منجر به شکل‌گیری بار منفی در سطح سلول‌ها در pH خنثی می‌شود و در نتیجه جذب مقدار چشمگیری از فلزهای کاتیونی با بار مثبت را قادر می‌سازد. این لیگاندها در چنگاله(۴) کردن فلزها نقش دارند [۳۴]. شکل ۱ شمایی از فلزهای جذب‌شده روی میسلیوم‌های قارچ *پنی‌سیلیوم کرایزوژنوم*(۵) را نشان می‌دهد [۳۵].

فاز رشد باکتریایی، چگالی و وضعیت حیات زیست‌توده به‌طور مستقیم با ظرفیت جذب زیستی متناسب است. کاهش سمیت فلزهای سنگین می‌تواند با بیان بیش‌ازحد پپتیدهای متصل شونده به فلز سنگین روی سطح سلول میکروبی صورت گیرد تا ظرفیت جذب افزایش یابد [۳۶]. پاسخ‌های متغیر سویه‌ها به فلزهای سنگین ممکن است به خاطر تفاوت در ترکیب‌های دیواره سلولی یا متفاوت بودن در سازوکارهای مقاومت باشد [۳۳].

جذب زیستی می‌تواند فعال یا غیرفعال باشد. جذب غیرفعال یون‌های فلزی سریع، غیرقابل‌برگشت، مستقل از سوخت‌وساز سلولی و غیراختصاصی نسبت به گونه‌های فلزی، شرایط فیزیکی

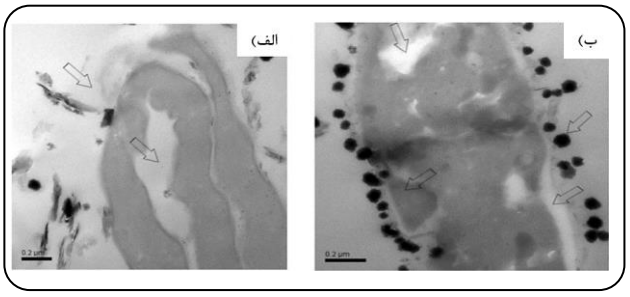
(۱) Permeability Barrier

(۲) Efflux

(۳) *Staphylococcus aureus*

(۴) Chelate

(۵) *Penicillium chrysogenum*



شکل ۱- شمایی از میسلیوم‌های *پنی‌سیلیوم کرایزوژنوم* در حالت الف) کنترل، ب) جذب فلزهای روی سطح سلول [۳۵].

و قدرت یونی است؛ درحالی‌که در مقابل، فرایند جذب فعال آهسته و وابسته به سوخت‌وساز سلولی است [۳۷].

دوریان(۱) و *همکاران* ظرفیت جذب زیستی باکتری *دلفتی سوروهاتنسیس*(۲) را بررسی کردند. این سویه نسبت به ۶ میلی‌مولار سرب و ۲۵ میلی‌مولار روی مقاومت نشان داد و بیش‌ترین جذب برای سرب و روی به ترتیب ۰٫۲۱۶ میلی‌مولار بر گرم و ۰٫۲۰۷ میلی‌مولار دیده شد [۳۸].

وی(۳) و *همکاران* انباشتگی درون‌سلولی ۴ فلز سنگین را توسط سویه باکتریایی جداشده از معادن طلا که ۹۸٫۹ درصد شباهت با سویه *آگروباکتریوم تومفاسینس*(۴) داشت را گزارش کردند. نتیجه‌ها نشان داد که ۰٫۱۰۱ میلی‌مولار مس پس از ۴ ساعت انباشته می‌شود، درحالی‌که انباشتگی کادمیم از ۰٫۲۲۵ میلی‌مولار در ۴ ساعت به ۰٫۳۵۳ میلی‌مولار در ۱۲ ساعت رسید و انباشتگی سرب نیز به ۰٫۲ میلی‌مولار در ۱۲ ساعت رسید [۳۹].

سازوکار اتصال فلزها به دیواره سلولی

سه سازوکار اصلی در اتصال فلزها به دیواره‌های سلول باکتری نقش دارند، در واقع این سازوکارها شامل اثرهای متقابل الکترواستاتیک، نیروهای واندروالسی، پیوند کووالانسی، برهمکنش‌های اکسایش-کاهش و رسوب برون سلولی و یا ترکیبی از این فرایندهاست [۳۱]:

(الف) رسوب از طریق واکنش‌های هسته‌زایی مواد معدنی(۵): سازوکار رسوب از طریق سطح‌های باکتریایی شامل دو مرحله است. اولین مرحله شامل اتصال کاتیون‌های فلزی به گروه‌های با بار منفی (کربوکسیل، هیدروکسیل و فسفریل) دیواره سلولی باکتریایی است. در مرحله دوم با هسته‌زایی مواد معدنی، این کاتیون‌ها در سطح سلول نگه‌داشته می‌شوند [۴۰].

(ب) کمپلکس با لیگاندهای نیتروژن و اکسیژن: لیگاندهای اکسیژن در سطح سلول تمایل به برقراری اتصال با فلزهای قلیایی یا قلیایی خاکی مانند K^+، Mg^{2+}، Ca^{2+} و بعضی فلزهای واسطه مانند Fe^{3+} را دارند، درحالی‌که لیگاندهای نیتروژن و گوگرد به تعدادی از فلزهای واسطه مانند Ni^{2+}، Co^{2+}، Cu^{2+}، Zn^{2+}، Cd^{2+}، Fe^{2+} متصل می‌شوند [۴۱].

(ج) واکنش‌های تبادل یونی با تیکوئیک اسید و پپتیدوگلیکان باکتری‌های گرم مثبت: تمایل زیاد باکتری‌های گرم مثبت برای جذب کاتیون‌های فلزی به دلیل غلظت زیاد پپتیدوگلیکان و تیکوئیک اسید در دیواره سلولی آن‌ها است. به تقریب ۹۰ درصد دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت از پپتیدوگلیکان ساخته‌شده است. درحالی‌که این مقدار در باکتری‌های گرم منفی حدود ۱۰ تا ۲۰ درصد است. پپتیدوگلیکان دارای گروه‌های عاملی فعالی مانند کربوکسیل و آمین‌ها است. این ترکیب‌ها به دلیل بار منفی خود، نقش مهمی در جذب فلزهای سنگین دارند [۴۲].

برای نمونه، هنگامی‌که دیواره سلولی سویه‌های *باسیلوس*(۶) دارای مقدار بالای تیکوئیک اسید(۷) و پپتیدوگلیکان باشد، ظرفیت جذب بالا خواهد بود. از سوی دیگر، غشاء سلول باکتری‌های گرم منفی که دارای مقدار کمتری از این اجزاء هستند، جاذب‌های ضعیف‌تر فلزها هستند [۴۰]. در واقع دیواره باکتری‌های گرم مثبت، چنگالنده(۸)های فلزی کارآمدی هستند. در *باسیلوس*، گروه کربوکسیل گلوتامیک اسید(۹) پپتیدوگلیکان، جایگاه اصلی برای رسوب فلز است. تیکوئیک اسید و تیکورونیک اسید(۱۰) نیز جایگاه‌های اتصال مهم در *باسیلوس* هستند. این پلیمرهای برون سلولی در ذخیره مواد مغذی، چسبندگی و در شکل‌گیری مانع در برابر سموم زیست‌محیطی ازجمله فلزها دخیل هستند. به‌ویژه، اورونیک اسید(۱۱) و گروه‌های سولفات موجود در این پلیمرهای برون سلولی ممکن است با فلزهای گوناگون برهمکنش داشته باشند و در نتیجه آن‌ها را بی‌تحرک(۱۲) کنند [۳۱].

گوردون(۱۳) و *همکاران* نیز در مطالعه‌ای با مقایسه جذب

(۱) Dorian
(۲) *Delftia tsuruhatensis*
(۳) Wei
(۴) *Agrobacterium tumefaciens*
(۵) Mineral Nucleation
(۶) *Bacillus*
(۷) Teichoic Acid
(۸) Chelator
(۹) Glutamic Acid
(۱۰) Teichuronic Acid
(۱۱) Uronic Acid
(۱۲) Immobilize
(۱۳) Gourdons

زیستی کادمیم به‌وسیله باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی دیدند که مقدار جذب کادمیم در باکتری‌های گرم مثبت به تقریب ۲۰ برابر بیش‌تر از باکتری‌های گرم منفی بوده و در نتیجه مقاومت باکتری‌های گرم مثبت در مقابل این کاتیون‌ها بیش‌تر از باکتری‌های گرم منفی است [۴۳].

انتقال فعال فلز به بیرون از سلول/ موجود زنده

انتقال فعال یا سامانه‌های انتشار به بیرون، بزرگ‌ترین دسته از سامانه‌های مقاومت به فلز هستند. انتشار به بیرون فرایندی است که طی آن ریزاندامگان‌ها فلزهای سمی را از سیتوپلاسم به بیرون سلول دفع و از ایجاد غلظت کشنده این مواد جلوگیری می‌کنند. این سازوکارها می‌توانند کروموزومی یا پلاسمید کدگذاری شده باشند. یون‌های فلزی ضروری و غیرضروری به‌طورمعمول از طریق سامانه‌های طبیعی انتقال مواد مغذی وارد سلول می‌شوند اما به‌سرعت به سمت بیرون رانده می‌شوند. بااین‌حال در شرایطی که یون‌های فلزی بیش‌ازحد هستند، سامانه‌های اختصاصی انتشار به خارج می‌توانند برای دفع فلزهای غیرضروری سنتز شوند. این سامانه‌های انتشار به خارج می‌توانند بدون مصرف انرژی یا همراه با مصرف انرژی باشند و برای کاتیون یا آنیونی که بیرون می‌برند بسیار اختصاصی باشند. دفع فلز سمی As(V) در حین جذب فسفات نمونه‌ای در این مورد است. آرسنات یک شبه‌فلز و آنالوگ فسفات است. آرسنیک می‌تواند در واکنش‌های آنزیمی به‌جای فسفر وارد شود که این موضوع باعث اختلال در فرایندهای زیستی درون‌سلولی می‌شود. دفع آرسنات در سلول از طریق یک سامانه اختصاصی‌تر که فسفات را ۱۰۰ برابر اختصاصی‌تر نسبت به مکانیسم‌های طبیعی جذب می‌کند، صورت می‌گیرد. موجودات دیگر می‌توانند مکانیسم‌های اختصاصی‌تر مقاومت به فلز مانند پمپ انتشار به خارج As(V) و Cd(II) را ایجاد کنند [۹].

در پژوهشی سویه *اسیدی‌تیوباسیلوس فرواکسیدانس*(۱) که ۷۰۰ میلی‌گرم Cu(II) جذب می‌کرد، به رشد در حضور ۶۰۰ میلی‌مولار Cu(II) خوسازی شد. نتیجه‌ها نشان داد که خوسازی باعث کاهش جذب Cu(II) به ۶۰ میلی‌گرم شد. این کاهش جذب مربوط به بیرون رفتن Cu(II) از طریق سامانه انتشار به بیرون القایی است [۴۴].

ناقل‌های انتشار به خارج در ریزاندامگان‌های مقاوم به فلزهای سنگین

هر باکتری گرم منفی یک فضای پری‌پلاسمی، غشای خارجی و سیتوپلاسم داخلی دارد که یون‌های فلزی باید برای رسیدن به سیتوزول از آن‌ها عبور کنند. در مقابل، باکتری‌های گرم مثبت فاقد پری‌پلاسم هستند و حضور پورین‌ها روی غشای خارجی، به یون‌های فلزی اجازه استفاده از نفوذ غیرفعال غیرانتخابی در سراسر غشای خارجی را می‌دهد.

ناقل‌های اختصاصی و غیراختصاصی در انتقال یون‌های فلزی ضروری به سیتوپلاسم کمک می‌کنند. این امر در ناقل‌های غیراختصاصی با یک شیب اسمزی در عرض غشای سیتوپلاسمی باکتری انجام می‌شود تا یون‌های فلزی اضافی به درون سلول انتقال یابند. همچنین این حالت که به‌عنوان دریچه باز(۲) شناخته می‌شود، باعث سمیت در اثر یون‌های فلزهای سنگین می‌شود. این امر در ناقل‌های اختصاصی نیازمند یک وضعیت متابولیکی خاص یا گرسنگی(۳) است و تنها در زمان نیاز بیان می‌شود [۴۵].

سه دسته اصلی از ناقل‌های انتشار به خارج وجود دارد: (الف) ATPase نوع P که در غشای داخلی جای گرفته و از ATP استفاده می‌کند تا یون‌های فلزی را از سیتوپلاسم به پری‌پلاسم انتقال دهد. (ب) ناقل‌های CBA که در باکتری‌های گرم منفی وجود دارند و به‌عنوان آنتی‌پورتر(۴) عمل می‌کنند و (ج) ناقل‌های CDF که تسهیل‌کننده نفوذ کاتیون هستند.

هرکدام از این ناقل‌ها دارای عملکردی ویژه به خود هستند. ATPase نوع P با مصرف ATP یون‌های فلزی را از سیتوپلاسم به پری‌پلاسم منتقل می‌کند؛ ناقل‌های CDF یون‌ها را از سیتوپلاسم به پری‌پلاسم می‌برد و توسط نیروی محرکه پروتونی تحریک می‌شود؛ ناقل‌های CBA مانند پلی در کل دیواره سلولی عمل می‌کنند (در باکتری‌های گرم منفی) و با استفاده از یک شیب اسمزی یون‌های فلزی را از پری‌پلاسم و سیتوپلاسم به قسمت بیرونی سلول منتقل می‌کنند و مقاومت سطح بالایی را نسبت به فلزهای سنگین ارایه می‌دهند. همچنین ناقل‌های CBA یون‌هایی را که توسط ناقل‌های CDF و ATPase به پری‌پلاسم منتقل می‌شوند، حذف می‌کنند. ناقل‌های CDF و ATPase نوع P از نظر عملکرد یکسان هستند و می‌توانند جایگزین یکدیگر شوند اما ناقل‌های CBA این‌گونه نیستند. [۳۷].

جداسازی درون‌سلولی فلز توسط اتصال‌های پروتئینی

جداسازی درون‌سلولی عبارت است از انباشتگی زیستی فلزها در سیتوپلاسم برای جلوگیری از قرار گرفتن در معرض

(۱) *Acidithiobacillus ferrooxidans*
(۲) Open Gate
(۳) Starvation
(۴) Antiporter

اجزای ضروری سلولی. انباشتگی زیستی، یک سامانه انتقال فلزهای سنگین وابسته به انرژی است که درگیر حفظ غلظت فلزهای سنگین توسط سلول‌های زنده است. فلزهای سنگین موجود در بیرون از سلول باکتری از طریق غشای سلولی به سیتوپلاسم منتقل می‌شوند و پس از آن فلزهای سنگین به‌صورت درون‌سلولی توسط پروتئین‌های متصل شونده به فلز مانند متالوتیونین‌ها(۱) و فیتوکلاتین‌ها(۲) که کمپلکس‌هایی را با فلزها تشکیل می‌دهند، جدا می‌شوند. MTs و PCs پروتئین‌های کوچک متصل شونده به فلز غنی از سیستئینی هستند که با تنش فلزهای سنگین در باکتری‌ها القا می‌شوند. آن‌ها نقش مهمی در حفاظت از فرایندهای سوخت‌وساز باکتریایی دارند که توسط آنزیم‌هایی که فلزهای سنگین سمی را بی‌تحرک می‌کنند، کاتالیز می‌شوند [۸].

همچنین در بررسی هر فلز، رابطه معکوسی میان سمیت آن فلز و مقدار متالوتیونین تولیدشده توسط سلول برقرار است. در پاسخ به فلزهای سمی متالوتیونین بیش‌تری تولیدشده و در نتیجه مقدار آن فلز در سلول کم‌تر بود و برعکس مقدار فلزهای غیرسمی در سلول بیشتر و متالوتیونین تولیدشده در پاسخ به آن‌ها کم‌تر بود. این شواهد نشان‌دهنده اهمیت متالوتیونین‌ها در سم‌زدایی فلزهای سنگین است [۳]. مطالعه‌هایی بر روی ریزاندامگان‌های مهندسی ژنتیک شده صورت گرفته است. *دنگ*(۳) و *همکاران* از پلاسمید *اشرشیاکلی*(۴) همراه با ژن‌های متالوتیونین استفاده کردند که انباشتگی زیستی جیوه را بهبود بخشید [۴۶].

در پژوهشی پاسخ سویه *یاروویا لیپولیتیکا*(۵) نسبت به ۲ فلز ضروری روی و کبالت و ۲ فلز سمی نیکل و کادمیم بررسی شد. مشخص‌شده که غشاء و دیواره سلولی محل‌های عمده انباشتگی مقدارهای اضافی این یون‌ها هستند. همچنین در بررسی هر فلز، رابطه وارونی میان سمیت آن فلز و مقدار متالوتیونین تولیدشده توسط سلول برقرار بود. در پاسخ به فلزهای سمی کادمیم و نیکل، متالوتیونین بیشتری تولید شده و در نتیجه مقدار آن فلز در سلول کم‌تر بود و بالعکس مقدار فلزهای غیر سمی در سلول بیش‌تر و متالوتیونین تولیدشده در پاسخ به آن‌ها کم‌تر بود. این شاهد نشان‌دهنده اهمیت متالوتیونین‌ها در سم‌زدایی فلزهای سنگین است [۳].

این سازوکار تحت تأثیر تغییرهای زیست‌محیطی، در دسترس بودن و سمیت فلز سنگین، ویژگی‌های بیوشیمیایی و ساختاری ذاتی و همچنین سازگاری ژنتیکی و فیزیولوژیکی است. این سازوکار شامل پمپ‌های یونی، کانال‌های یونی، انتقال به‌واسطه حامل، درون‌بری(۶)، نفوذ کمپلکس و نفوذ لیپیدی است. نمونه‌های معمول این سازوکار فعال، در انتقال روی، سرب، مس، کروم و نیکل دیده‌شده است [۱۸].

مطالعه‌های انجام‌شده، حضور فلزهای سنگین را در بسیاری از سویه‌های باکتریایی و سیانوباکتریایی نشان داده‌اند. نمونه‌ای برای این سازوکار مقاومت به فلز سنگین عبارت است از: تولید متالوتیونین در سویه *سینوکوکوس*(۷). مقاومت به فلز سنگین در *سینوکوکوس* شامل یک جایگاه کروموزومی smt است که از دو ژن SmtA و SmtB که مقاومت به روی و کادمیم را ایجاد می‌کنند، تشکیل‌شده است. smtA متالوتیونینی را که به Cd(II) و Zn(II) متصل می‌شود، کد می‌کند. این ژن توسط سطوح بالای Cu(II)، Zn(II) و Cd(II) القا می‌شود و توسط فراورده‌ی ژن smtB مهار می‌شود. پروتئین smtB به‌عنوان یک مهارکننده ترانس اکتینگ رونویسی(۸) که بیان smtA و تولید متالوتیونین را خاموش می‌کند، عمل می‌کند. سیستئین در متالوتیونین ممکن است به‌عنوان مخزنی برای کاتیون‌های سمی اضافی عمل کند. به‌تازگی، ساختار smtB تعیین‌شده است. تحلیل‌های ساختاری اشاره دارد که این پروتئین ممکن است دارای چهار جایگاه اتصال به Zn(II) باشد [۴۷].

جداسازی برون سلولی

در این سازوکار مقاومت زمانی شکل می‌گیرد که فلز سمی به ترکیب‌های ترشح‌شده توسط ریزاندامگان در محیط اطراف متصل شود. در واقع فلز در یک کمپلکس محدود می‌شود و نمی‌تواند وارد غشای سلول شود. این امر اساس مقاومت به فلز بر اساس جداسازی برون سلولی را تشکیل می‌دهد. بعضی از متابولیت‌های تولیدی توسط ریزاندامگان به سطح خارجی سلول متصل می‌شوند و برخی دیگر در محیط پیرامون آن آزاد می‌شوند. ترکیب‌های برون سلولی که توانایی برقراری پیوند با فلزها را دارند

(۱) Metallothioneins (MTs)
(۲) Phytochelatins (PCs)
(۳) Deng
(۴) *Escherichia coli*
(۵) *Yarrowia lipolytica*
(۶) Endocytosis
(۷) *Synechococcus*
(۸) Transacting Transcriptional *Repressor*

شامل طیف گسترده‌ای از ترکیب‌ها ازجمله اسیدهای آلی تا ماکرومولکول‌هایی مانند پلی‌ساکاریدها هستند. باکتری‌هایی که به‌طور طبیعی پوشش پلی‌ساکاریدی بیرون سلولی را می‌سازند، توانایی جذب زیستی یون‌های فلزی و جلوگیری از برهمکنش آن‌ها با اجزای حیاتی سلول را از خود نشان داده‌اند. پوشش اگزوپلی‌ساکاریدی این باکتری‌ها ممکن است جایگاه‌هایی برای اتصال کاتیون‌های فلزی فراهم کند. این لایه محافظ باعث جلوگیری از جذب و دور نگه‌داشتن یون‌های فلزی از قطعه‌های حساس سلولی می‌شود. برای مثال یک لایه محافظ اگزوپلی ساکاریدی ماندگاری سویه *کلبسیلا آئروژنز*(۱) را در محلول دارای Cd(II) بهبود می‌بخشد. این سویه‌ها انباشتگی دو برابری Cd(II) را نسبت به گونه‌های بدون لایه محافظ نشان می‌دهد [۹].

یکی از شکل‌های مقاومت به Ni(II) در مخمرها ممکن است بر اساس این سازوکار باشد. *ساکارومایسس سرویزیه*(۲) ممکن است جذب Ni(II) را با ترشح مقدار زیادی از گلوتاتیون(۳) کاهش دهد. گلوتاتیون با تمایل بسیار زیادی به فلزهای سنگین متصل می‌شود. مخمرهای حامل ژن مقاومت متیل‌گلی‌اکسال(۴)، توانایی تشکیل کمپلکس‌های برون سلولی فلز ـ گلوتاتیون را در محیط غنی از فلز از خود نشان دادند. مولکول‌های آلی مانند کربوکسیلیک اسیدها که متعلق به دیواره بیرونی سلول نیستند توسط قارچ‌ها ترشح می‌شوند [۹]. مانند سیترات که آنیون به‌جای مانده از سیتریک اسید است با یون Al^{+3} موجود در محیط کشت پیوند برقرار می‌کند. در این حالت یون‌های فلزی نمی‌توانند به درون سلول وارد شوند. یک سازوکار همانند در قارچ‌های مقاوم به Cu(II) وجود دارد. این قارچ‌ها، اگزالات را برای تشکیل کمپلکس فلز ـ اگزالات ترشح می‌کنند [۴۸]. موجودات دیگری مانند مخمرها یا سیتروباکترها(۵)، کمپلکس‌های نامحلول کادمیم فسفات را برای ایجاد مقاومت شکل می‌دهند. مخمرها کمپلکس‌ها را در زمان تولید هیدروژن سولفید تشکیل می‌دهند و سیتروباکترها از فسفات استفاده می‌کنند. سویه *کلبسیلا آئروژنز* توانایی حذف یون‌های Cd(II) را از محیط اطراف با ترشح گوگرد برای محدود کردن جریان ورود فلز از طریق رسوب دادن بیرون سلولی دارد [۹].

گروه دیگری از مولکول‌های برون سلولی، سیدروفورها(۶) یا آهن‌برها هستند که با فلزها کمپلکس تشکیل می‌دهند. سیدروفورها، مواد برون سلولی با جرم مولکولی پایین و چنگاله کننده آهن هستند. افزون بر آهن، سیدروفورها می‌توانند با سایر فلزها مانند آلومینیوم، کادمیم، مس، سرب و روی و همچنین با رادیونوکلئیدهای اورانیم و نپتونیم نیز کمپلکس تشکیل دهند. کمپلکس سیدوفورها با فلزها سبب بالا رفتن غلظت محلول فلزها و پایین آوردن سمیت فلزها برای سلول‌ها می‌شود. مواد فعال سطحی زیستی(۷) نیز همانند سیدوفورها ترکیب‌های برون سلولی هستند که قادر به تشکیل کمپلکس با فلزهایی مانند روی، مس و کادمیم و به دنبال آن سبب افزایش محلولیت این فلزها و کاهش سمیت آن‌ها می‌شوند [۴۹].

زیست دگرگونی(۸) و سمیت زدایی آنزیمی فلز برای ایجاد شکلی با سمیت کم‌تر

باکتری‌ها قادر به برهمکنش با فلزهای سنگین و تغییر دادن ساختار فلزی از طریق سازوکارهای مکانیکی و بیوشیمیایی هستند که بر تحرک و گونه‌زایی(۹) فلزهای سنگین تأثیر می‌گذارند. دگرگون‌سازی شیمیایی فلزهای سنگین از طریق فرایندهای بسیاری مانند اکسایش، کاهش، متیله شدن و متیل‌زدایی رخ می‌دهد که گاهی اوقات فراورده‌های جانبی سوخت‌وساز طبیعی باکتری هستند [۵۰]. دگرگونی زیستی فلزهای سنگین، یک سازوکار سم‌زدایی مهم است که توسط گونه‌های گوناگون باکتری انجام‌شده است. عمل زیستی باکتری‌ها روی فلزهای سنگین، منجر به تغییرهایی در ظرفیت و/یا تبدیل فلزهای سنگین به ترکیب‌های آلی‌فلزی که فرّار یا کم‌تر سمی هستند، می‌شود. استفاده از بعضی فلزهای سنگین مانند Fe(II)، Cu(II) و منگنز، نیازمند تغییر در ظرفیت این فلزها است. این امر نشان‌دهنده این است که موجودات برای استفاده از فلزها و تنظیم(۱۰) دارای سامانه اکسایش ـ کاهش هستند. تغییر در ظرفیت و یا بار فلزها از طریق سامانه اکسایش ـ کاهش، برای تنظیم و مقاومت سلول ضروری است. این امر از طریق سامانه‌های انتقال الکترون در سطح سلول

(۱) *Klebsiella aerogenes*
(۲) *Saccharomyces cerevisiae*
(۳) Glutathione
(۴) Methylglyoxal
(۵) Citrobacter
(۶) Siderophores
(۷) Biosurfactant
(۸) Biotransformation
(۹) Speciation
(۱۰) Regulation

و سامانه‌های احیاکننده آنزیمی انجام می‌شود. به‌عنوان نمونه باکتری‌ها می‌توانند Cr(VI) را در هر دو شرایط هوازی و بی‌هوازی از طریق سامانه‌های انتقال الکترون شامل سیتوکروم‌ها احیا کنند. احیای فلزهای سنگین توسط باکتری منجر به انحلال فلزهای سنگین شده که باعث افزایش تحرک مؤثر فلزها می‌شود. به حرکت درآوردن فلزها، باعث تبدیل فلزهای سنگین به یک حالت اکسایش پایین‌تر و افزایش عناصر فلزی (بار صفر) می‌شود در نتیجه سمیت فلز سنگین را کاهش می‌دهد [۸].

احیای آنزیمی توسط باکتری‌های بی هوازی که باعث تبدیل فرم بسیار محلول و متحرک اورانیوم (VI) به اورانیوم (IV) بسیار نامحلول می‌شود، نمونه‌ای دیگر در این زمینه است [۸].

اکسایش آرسنیت (III) به آرسنات (V) و احیای یون‌های جیوه به جیوه فلزی (Hg^{2+} به Hg^0) نیز تا حد زیادی باعث افزایش فراریت جیوه شده و ممکن است در منتقل کردن آن به بیرون از ریزاندامگان کمک کند. در متیله شدن زیستی، دگرگون‌سازی فلزهای سنگین مانند جیوه، آرسنیک، کادمیم و سرب منجر به افزایش تحرک و سازگاری آن‌ها برای مشارکت در فرایندهای منجر به کاهش سمیت می‌شود. متیله شدن زیستی یک سازوکار آنزیمی است که شامل انتقال گروه متیل (CH_3) به فلزها و شبه فلزها است. در نتیجه ترکیب‌های متیله در حلالیت، فراریت و سمیت نسبت به فلز اصلی، متفاوت هستند. به‌عنوان نمونه، باکتری‌ها فلز جیوه را به‌صورت ترکیب‌های فرّار متیلات جیوه درآورده و دوباره به محیط خارج منتقل می‌کنند. این ترکیب، فرّار بوده و به‌صورت گازی از محیط خارج می‌شود. شکل غیر آلی جیوه در مقایسه با متیل و دی‌متیل جیوه سمی‌تر است. همچنین شکل‌های غیر آلی آرسنیک از گونه متیله شده (اسیدها و متیل ـ دی متیل آرسنات ـ آرسنات) سمی‌تر است [۵۱].

مطالعه‌ها در ارتباط با سمیت‌زدایی جیوه نشان داده است که میکروجلبک‌های فوتوسنتزکننده و سیانوباکتری‌ها قادر به تبدیل هوازی Hg(II) به ترکیب غیر محلول HgS هستند [۴۹]. *چانگ*(۱) و *همکاران*، برهمکنش باکتریایی با آرسنیک را در معادن طلا–نقره آلوده به آرسنیک مورد ارزیابی قرار دادند. سویه‌های جداشده *سودوموناس پوتیدا*(۲) قادر به اکسایش ـ کاهش As(V) و As(III) بودند. سویه *سودوموناس پوتیدا* OS-3 و OS-18 در طی مدت‌زمان ۳۵–۴۰ ساعت، می‌توانند به‌طور کامل ۱ میلی‌مولار As(V) را به As(III) اکسید کنند [۵۲].

کاهش حساسیت هدف‌های سلولی نسبت به فلز

بعضی ریزاندامگان‌ها با تغییر دادن حساسیت ترکیب‌های سلولی، به فلزهای سمی خو می‌گیرند؛ این امر درجه‌ای از حفاظت طبیعی را فراهم می‌کند. حفاظت از طریق جهش‌هایی که حساسیت را کاهش داده اما عملکرد اصلی را تغییر نمی‌دهند یا تولید ترکیب‌های خاص سلولی را به‌منظور غیر فعال‌سازی فلزها افزایش می‌دهد، به دست می‌آید. همچنین سازوکارهای ترمیم DNA، حفاظت محدودی نسبت به پلاسمید و DNA ژنومی فراهم می‌کنند. همچنین ممکن است ریزاندامگان با تولید ترکیب‌های مقاوم به فلز یا تولید مسیرهایی جایگزین به‌منظور دور زدن ترکیب‌های حساس، از خود محافظت کند.

مقاومت طبیعی، می‌تواند از عملکردهای معمول سلولی ناشی شود که به ارگانیسم یک سطح تحمل پایه را می‌دهند. به‌عنوان‌مثال گلوتاتیون ممکن است باعث حفاظت یون‌های فلزی مانند Ag(I)، Cu(I,II)، Cd(II) و Hg(II) شود. گلوتاتیون ممکن است حفاظت از Fe(II) و Cu(II) را از طریق سرکوب تشکیل رادیکال‌های آزاد شکل دهد [۹].

تغییر ریخت شناسی سلول

سازوکار دیگری که باکتری‌ها برای مقاومت در برابر تنش فلزهای سنگین اتخاذ می‌کنند، تغییر ریخت شناسی سلول است. قرار گرفتن باکتری‌ها در معرض شرایط ناخواسته زیست‌محیطی در مکان‌های آلوده با فلزهای سنگین/شبه فلزهای سمی، مکان‌هایی با pH بسیار اسیدی یا قلیایی و مکان‌هایی با درجه گرمای بالا و پایین، به‌طورمعمول باعث القا پاسخی به تنش شده که در نتیجه تغییرهایی در شکل و آرایش سلول صورت می‌گیرد. این پاسخ‌ها در حفاظت از فرایندهای حیاتی و افزایش مقاومت سلولی در برابر چالش‌های تنش کمک می‌کنند [۱۸]. باکتری‌ها به دلیل اندازه کوچکشان، دارای یک نسبت سطح به حجم زیادی هستند که به آن‌ها یک سطح تماس زیادی را برای برهمکنش با محیط اطرافشان می‌دهد. در غلظت‌های بالاتر، یون‌های فلزی ترکیب‌های سمی را در سلول باکتری‌ها تشکیل می‌دهند. برخی باکتری‌ها از طریق کاهش سطح مرتبط با نسبت حجم، باعث کاهش سمیت فلزهای سنگین می‌شوند [۹].

در بررسی که بر سویه *لیستریا مونوسیتوژنز*(۳) صورت گرفته بود،

(۱) Chang

(۲) *Pseudomonas putida*

(۳) *Listeria monocytogenes*

دیده شد که سلول‌ها بعد از قرارگیری در برابر تنش فلزهای سنگین کوچک و گرد می‌شوند [۵۳]. در بررسی دیگری که بر سویه *سودوموناس آئروژینوزا*(۱) انجام‌شده بود، دیده شد که سلول‌ها با قرار گرفتن در معرض فلز مس به هم فشرده می‌شوند.

عامل‌های ژنتیکی مقاومت به فلز

عامل‌های ژنتیکی مسئول مقاومت به فلزهای سنگین در سویه‌های باکتریایی گوناگونی یافت شده است. این عامل‌های مقاومت باواسطه ژنوم کروموزومی، پلاسمیدها یا ترانسپوزون‌ها و شامل اپرون‌های بسیاری مانند czcD، czcD، nccA، pco، cop، mer، ars و غیره هستند [۳۳]. برای مثال پلاسمید منتقله(۲) czc، مقاومت به کادمیم، روی و کبالت و پلاسمید منتقله ncc مقاومت به کبالت، نیکل و کادمیم و پلاسمید منتقله cnr مقاومت به کبالت و نیکل را ایجاد می‌کنند [۱۸].

ژن‌های مقاوم در حضور فلزهای خاص القا و بیان‌شده و در غلظت مشخصی از فلزها تنظیم می‌شوند. پروموترها و ژن‌های تنظیمی که مسئول مقاومت هستند و به‌عنوان حسگرهای زیستی فلزهای خاص (پروموتور – همجوشی ژن گزارشگر(۳)) استفاده می‌شوند، بیان ژن مقاوم به فلز را در حضور فلزهای خاص و در غلظت‌های خاص تنظیم می‌کنند [۳۷].

بین سامانه‌های مقاومت به فلزها بر پایه کروموزومی و پلاسمیدی تفاوت وجود دارد. سامانه‌های مقاومت به فلزهای ضروری به طور معمول بر پایه کروموزومی بوده و پیچیده‌تر از سامانه‌های پلاسمیدی هستند. سازوکار مقاومت به فلزهای سنگین که گاهی اوقات در ژن‌های پلاسمیدی کدگذاری شده است، انتقال عامل مقاومت به فلزهای سمی را از یک سلول به سلول دیگر آسان می‌کند [۳۳]. مقاومت به فلزها می‌تواند توسط انتقال هم یوغی(۴) و ترانسداکسیون(۵) در بین ریزاندامگان‌ها منتقل شود. به نظر می‌رسد ژن‌های کد کننده مقاومت به طور عمده باواسطه پلاسمید هستند که این پلاسمیدها به‌احتمال‌زیاد توسط انتقال افقی(۶) منتشر می‌شوند. از سوی دیگر، سازوکارهای انتشار به بیرون نیز به‌احتمال‌زیاد به‌صورت پلاسمید منتقله هستند زیرا آن‌ها می‌توانند به‌سرعت به سایر موجودات منتقل شوند [۹].

کاربردهای گوناگون سازوکارهای مقاومت به فلز

استخراج معادن، فعالیت‌های صنعتی و کشاورزی باعث آزاد شدن فلزهای سنگین و سمی در محیط می‌شوند. این فلزها سنگین حیات زیست‌بوم‌ها و سلامتی انسان را به خطر می‌اندازند. فلزهای سنگین به دلیل محلول بودن در آب، وارد زیست‌بوم‌های آبی شده و سبب تخریب این زیست‌بوم‌ها می‌شوند. همچنین با راه یافتن به زنجیره‌های غذایی باعث تهدید سلامت انسان و سایر جانداران می‌شوند [۱۸]. در چند دهه اخیر به دنبال افزایش آلودگی محیط‌زیست توسط فلزهای سنگین، توجه دانشمندان به روش‌های زیستی تصفیه و پاک‌سازی محیط‌زیست جلب شده است، زیرا بیش‌تر روش‌های معمول تصفیه شیمیایی و فیزیکی دارای نقص‌ها و عیب‌هایی هستند ازجمله نیاز به تجهیزات فنی و سامانه‌های پایشی، مصرف زیاد انرژی، نبود توجیه اقتصادی، کارایی پایین، بهره‌برداری با مشکل بالا، انتخابی عمل نکردن فرایند تصفیه، نبود جداسازی کامل فلزها و برجای گذاشتن باقیمانده‌های آلوده‌کننده [۵۴]. از سویی این روش‌ها، هنگامی‌که غلظت یون‌های فلزی کم‌تر از ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر باشد، به‌اندازه کافی توانایی حذف فلزهای سنگین را ندارند. استفاده از روش‌های زیستی یا زیست پالایی در حذف فلزهای سنگین، سمیت زدایی و بازیابی آن‌ها می‌تواند برخی از محدودیت‌ها و مشکل‌های مربوط به روش‌های فیزیکوشیمیایی را برطرف نماید و راه‌حل اقتصادی‌تری محسوب می‌شود [۴۹]. غربال و انتخاب گونه‌های مقاوم به فلز سنگین در محیط آلوده باعث غلبه بر محدودیت استفاده از ریزاندامگان‌ها می‌شود [۱۸].

راهکارهای گوناگونی در زیست پالایی استفاده می‌شود که عبارت‌اند از: انباشتگی زیستی، فروشویی زیستی، جذب زیستی، زیست دگرگونی و معدنی‌سازی زیستی. از این راهبردها می‌توان در محل و یا خارج از محل آلودگی برای رفع آلودگی استفاده نمود [۴۹].

جذب زیستی

جذب زیستی یک فرایند فیزیکوشیمیایی است که به‌واسطه آن آلاینده به‌صورت غیرفعال به ساختار سلولی متصل می‌شود. باکتری‌ها سطوح بسیار واکنش‌پذیری دارند. در شرایط نزدیک به pH خنثی

(۱) *Pseudomonas aeruginosa*
(۲) Plasmid-Borne
(۳) Reporter Gene Fusion
(۴) Conjugation
(۵) Transduction
(۶) Horizontal Gene Transfer (HGT)

باکتری‌ها دارای بار منفی هستند. گروه‌های عاملی موجود بر سطح دیواره سلولی می‌توانند با یون‌های فلزی که بار خالص مثبت دارند پیوند دهند. فلز به‌سرعت با سطح سلول طی فرایندهای مستقل از انرژی پیوند می‌دهد. این فرایندها در اساس برگشت‌پذیر هستند. پیوند سطحی فلزها به‌آسانی از دیواره باکتری به‌وسیله عامل چنگاله کننده یا اسید رقیق حذف می‌شوند. به‌طور نمونه حذف پیوندهای سطحی کبالت با *باسیلوس* توسط اتیلن‌دی‌آمین تترا استیک اسید(۱) در پژوهش‌ها گزارش‌شده است. در مقایسه بین ظرفیت پیوندهای سطحی از مخمر و باکتری، باکتری‌ها پیوندهای اولیه بیش‌تری با فلزها نسبت به بیش‌تر مخمرها نشان دادند، پس این مفهوم قابل استنباط است که در جایی که پیوند سریع همراه با حذف فلزها موردنیاز است، سامانه باکتریایی ترجیح داده می‌شود [۵۵].

پنویچیان(۲) و *همکاران* جذب زیستی فلزهای سنگین Cd(II)، Zn(II) و Cu(II) را با استفاده از *رودوبیوم مارینوم*(۳)، *رودوباکتر اسفروئیدیس*(۴) موردبررسی قراردادند. برتری استفاده از این ریزاندامگان‌ها، تولید مقدارهای زیاد پلی‌ساکارید بیرون سلولی توسط آن‌هاست که باعث انباشتگی فلزهای سنگین و همچنین محافظت در برابر سمیت فلزهای سنگین می‌شود. بازدهی حذف فلزهای سنگین توسط پلی‌ساکاریدهای بیرون سلولی این دو سویه به ترتیب ۹۷٫۲۹ درصد برای سرب، ۹۱٫۸۴ درصد برای روی، ۹۰٫۹۷ درصد برای کادمیم و ۹۰٫۵۲ درصد برای مس گزارش‌شده است [۵۶].

احمدی اسبچین و *همکاران* جذب زیستی یون‌های نیکل و روی را به وسیله جلبک قهوه‌ای *فوکوس سراتوس*(۵) در راکتور بسته موردبررسی قرار دادند. نتیجه‌ها نشان داد که گروه‌های کربوکسیل سطحی آلژینات، نقش کلیدی را در جذب یون نیکل و روی دیواره جلبک برعهده دارند. همچنین بیش‌ترین میزان جذب نیکل و روی به ترتیب ۰٫۷۱ و ۰٫۹۵ میلی‌مول بر گرم بود [۵۷].

ثنا(۶) و *همکاران* نیز جذب زیستی U(VI) را از پساب به وسیله قارچ *آسپرژیلوس نایجر* موردبررسی قرار دادند. بیشینه حذف اورانیم از پساب ۹۸٫۴۳ درصد در غلظت ۰٫۳ گرم بیومس خشک در ۱۰۰ میلی‌لیتر بود. بهینه pH موردنیاز برای جذب نیز برابر ۵ بود [۵۸].

داس(۷) و *همکاران* جذب زیستی نیکل توسط توده زیستی غیرفعال سیانوباکتر *اوسیلاتوریا لاتویرنس*(۸) را بررسی کردند و دیدند که بیشینه ظرفیت جذب به میزان ۸۴۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود [۵۹].

در پژوهشی نشان داده شد که توانایی پودر جلبک سبز *اسپیروژیرا پرتیکالیس*(۹) حتی با دوزهای پایین در حذف کروم شش ظرفیتی از محلول‌های آبی و پساب‌های صنعتی اسیدی و حاوی مقدارهای بالای کروم دلخواه است و این جلبک جاذب زیستی مؤثر، مقرون‌به‌صرفه و در دسترسی برای حذف یون‌های کروم شش ظرفیتی محلول است [۶۰].

در طی مطالعاتی، *کیم*(۱۰) و *همکاران* توانایی باکتری *باسیلوس* CPB4 را در حضور فلزهای سرب، کادمیوم، مس، نیکل، کبالت، منگنز، کروم و روی در دمای ۲۰–۴۰ درجه سلسیوس و در غلظت‌های ۴۰–۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر پس از مدت زمان ۲۴ ساعت موردبررسی قرار دادند. بیش از ۹۰ درصد جذب توسط غشای خارجی سلول باکتری انجام شد، زیرا فلزهای سنگین به پروتئین‌های لایه خارجی سلول متصل می‌شوند. نتیجه‌ها نشان داد که این گونه توانایی بالایی در جذب زیستی فلزهای سنگین دارد [۶۱].

انباشتگی زیستی

برخلاف جذب زیستی که شامل یک مرحله است، انباشتگی زیستی شامل دو مرحله است: مرحله اول که اتصال یون‌های فلزی به سطح سلول است (همان جذب زیستی) و مرحله دوم انتقال یون‌ها به درون سلول (از طریق سامانه انتقال فعال و با مصرف انرژی) است [۴۶]. انباشتگی زیستی زمانی صورت می‌گیرد که نرخ دفع یک ماده (به‌طورمعمول سمی)، کم‌تر از نرخ جذب آن ماده باشد. توانایی انباشته کردن فلزها می‌تواند برای حذف، تغلیظ و بازیابی فلزهای سنگین از پساب‌های صنعتی و باطله‌های معدن به‌کاربرده شود. در انباشتگی زیستی، ریزاندامگان‌ها فلزها را از طریق جذب درون‌سلولی و برون سلولی حرکت داده و حذف می‌کنند که این امر به سه روش انجام می‌شود:

(۱) Ethylenediaminetetraacetic Acid
(۲) Panwichian
(۳) *Rhodobium marinum*
(۴) *Rhodobacter sphaeroides*
(۵) *Fucus serratus*
(۶) Sana
(۷) Das
(۸) *Oscillatoria laetevirens*
(۹) *Spirogyra porticalis*
(۱۰) Kim

۱- انباشتگی بیرون سلولی فلزهای متابولیکی یا غیر متابولیکی به‌وسیله پیوند یا رسوب کردن آن‌ها روی دیواره سلولی

۲- انباشتگی درون سلولی فلزهای متابولیکی ضروری (پتاسیم، آهن، منگنز، مقدارهای کمی مس و نیکل) که نخست با دیواره سلولی پیوند می‌دهند و سپس به درون سلول‌ها منتقل می‌شوند.

۳- انباشتگی درون‌سلولی مقدارهای بالایی از فلزهای غیرمتابولیکی (کبالت، نیکل، مس، کادمیم و نقره) که در درجه اول از طریق مسیرهای موجود برای جذب فلزهای متابولیکی ضروری انجام می‌شود [۵۵].

عبدالنبی[۱] و *همکاران* انباشتگی زیستی فلز Cd(II) را با استفاده از باکتری *ویبریو هارویی*[۲] بررسی کرده و دیدند که باکتری *ویبریو هارویی* پتانسیل انباشتگی زیستی کادمیم را تا ۲۳٫۳ میلی‌گرم به ازای هر گرم سلول خشک دارد [۶۲].

در پژوهشی که بر روی انباشتگی زیستی و جذب زیستی جنس‌های *باسیلوس*، *استافیلوکوکوس* و *اکتینومیست* صورت گرفت، دیده شد که هر دو روش انباشتگی زیستی و جذب زیستی پتانسیل بالایی برای پالایش محیط‌های آبی دارند. با این تفاوت که انباشتگی زیستی در غلظت‌های کم و جذب زیستی در غلظت‌های بالای فلزها کارایی بیش‌تری دارند [۴۲].

زیست دگرگونی

به‌طورکلی امکان تجزیه و تخریب زیستی فلزهای سنگین وجود ندارد، درنتیجه این آلاینده بدون تغییر در محیط باقی می‌مانند. با این وجود، ریز جانداران خاک می‌توانند طیف گسترده‌ای از فلزهای چند ظرفیتی را که تهدید اصلی برای سلامتی محیط‌زیست به شمار می‌آیند، دگرگون سازند. در دگرگون‌سازی زیستی وضعیت شیمیایی آلاینده در داخل سلول مورد تغییر قرار می‌گیرد [۸]. به‌عنوان نمونه، در میان شکل‌های گوناگون کروم، شکل شش ظرفیتی آن به دلیل برخورداری از انحلال‌پذیری بالا در آب، نفوذپذیری سریع در غشاهای زیستی و پس از آن برهمکنش نشان دادن با ماکرومولکول‌های درون‌سلولی دارای بیش‌ترین سمیت و قدرت سرطان‌زایی است. احیای کروم شش ظرفیتی سمی به فرم سه‌ظرفیتی کروم، به‌عنوان فرایندی سودمند برای پالایش خاک‌های آلوده به این فلز سنگین در نظر گرفته می‌شود. سم‌زدایی یا احیای کروم شش ظرفیتی توسط میکروب‌ها، فرایندی کم‌هزینه و روشی ایمن برای محیط‌زیست است و گزینه‌ای مؤثر برای حفاظت از محیط خاک در مقابل سمیت فلز سنگین کروم، فراهم می‌آورد [۶۳].

لفور[۳] و *همکاران* از سیانوباکترها برای زیست دگرگونی Hg(II) استفاده کردند و دیدند که این سیانوباکتری‌ها توانستند در شرایط هوازی و غلظت زیر ۲۰۰ppb، Hg(II) را به Hg(0) و HgS نامحلول تبدیل نمایند [۶۴].

احیای U(VI) محلول به U(IV) جامد توسط سویه *دسولفو ویبریو ولگاریس*[۴] نیز نمونه دیگری از زیست دگرگونی توسط ریزاندامگان‌ها است [۶۵].

متیله شدن سلنیوم توسط ریزاندامگان‌ها نمونه‌ای دیگر از زیست دگرگونی است. سلنیوم در ۴ حالت سلنید (۲-)، سلنیوم عنصری (۰)، سلنیت (۴+) و سلنات (۶+) وجود دارد. شکل غالب سلنیوم در آب به‌صورت سلنیت و سلنات است که هردو بسیار محلول در آب هستند. سلنیت ۵-۱۰ برابر سمی‌تر از سلنات است. متیلاسیون زیستی سلنیوم غیرآلی منجر به تولید دی‌متیل سلنید (DMSe) و دی‌متیل دی‌سلنید (DMDSe) می‌شود [۶۶].

کادونگ[۵] و *همکاران* نیز زیست دگرگونی $ZnSO_4.7H_2O$، $CuSO_4.5H_2O$، $Pb(NO_3)_2$ و $3CdSO_4.8H_2O$ را با استفاده از قارچ‌های چوب‌زی بررسی کردند. این قارچ‌ها قابلیت تبدیل روی سولفات به روی اگزالات دی هیدرات ($C_2O_2Zn.2H_2O$)، تبدیل مس سولفات به مس اگزالات هیدرات ($C_2CuO_4.xH_2O$)، تبدیل کادمیم سولفات به کادمیم اگزالات تری هیدرات ($C_2CdO_4.3H_2O$) و تبدیل سرب نیترات به سرب اگزالات (PbC_2O_4) را از خود نشان دادند [۶۷].

معدنی‌سازی زیستی

معدنی‌سازی زیستی نیز تبدیل یک ماده معدنی یا آلی به یک ماده معدنی دیگر است [۶۸]. *گوارتانان*[۶] و همکاران با استفاده از گونه‌های *باسیلوس* جداشده از باطله معدن، معدنی‌سازی زیستی $Pb(NO_3)_2$ را موردبررسی قراردادند. تبدیل بیرون سلولی سرب نیترات ($Pb(NO_3)_2$) به سولفید سرب (PbS) و سرب اکسید سیلیکون ($PbSiO_3$) توسط این سویه‌ها گزارش‌شده است [۶۹].

(۱) Abd-Elnaby
(۲) *Vibrio harveyi*
(۳) Lefebvre
(۴) *Desulfovibrio vulgaris*
(۵) Kaewdoung
(۶) Govarthanan

همچنین تبدیل برون سلولی یون‌های سرب به PbS توسط سویه فوتوتروف *رودوباکتر اسفروییدس* توسط *بایی*(۱) و *ژانگ*(۲) گزارش شده است [۷۰].

نمونه دیگر معدنی‌سازی زیستی U(VI)–فسفات است. ریزاندامگان‌ها ژن‌هایی را برای آنزیم‌های فسفاتاز کد می‌کنند که این آنزیم‌ها هیدرولیز ارگانوفسفات‌ها را کاتالیز کرده و ارتوفسفات‌ها را رها می‌کنند. تنش اورانیوم ممکن است بیان فسفاتاز را به‌عنوان یک مکانیسم سمیت‌زدایی فلز القا کند. مطالعات نشان داده‌اند که هیدرولیز میکروبی ارگانوفسفات‌ها باعث بی‌تحرک‌سازی بیش از ۹۸ درصد از U(VI) به‌صورت U(VI)–فسفات می‌شود [۷۱].

رسوب کربناتی یکی از جنبه‌های مهم معدنی‌سازی زیستی است. رسوب کربناتی القایی میکروبی یک راه مؤثر برای به دام اندازی عناصر رادیونوکلوتیدی و عناصر کم مقدار مانند استرانسیم و باریم است. فرایندهای بسیاری وجود دارند که می‌توانند رسوب کربناتی را سبب شوند. یکی از این فرایندها با هیدرولیز اوره با آنزیم اورئاز و تشکیل آمونیاک و کربنیک اسید صورت می‌گیرد. این ترکیب‌ها در آب باعث شکل‌گیری بی‌کربنات، آمونیوم و یون‌های هیدروکسید می‌شوند. یون‌های هیدروکسید باعث افزایش pH شده و در نتیجه می‌توانند باعث تغییر تعادل بی‌کربنات و در نتیجه تشکیل یون‌های کربنات شوند. این تغییر می‌تواند باعث معدنی‌سازی یون‌های فلزهای سنگین در خاک یا آب شود [۷۲].

فروشویی زیستی

به تبدیل فلزهای جامد به حالت محلول براساس برهم‌کنش بین ریزاندامگان‌ها و فلزها از منابع اولیه یا پسماندها، فروشویی زیستی گویند [۷۳]. مطالعه‌های پیشین ثابت کرده‌اند که ریزاندامگان‌هایی که متعلق به یک گروه هتروتروف هستند، قادر به متحرک کردن فلزها از طریق تولید اسیدهای آلی هستند [۷۴]، درحالی‌که باکتری‌های اتوتروف، مانند *تیوباسیلوس*(۳) ها، قادر به تولید سولفوریک اسید برای فروشویی فلزها توسط اکسید کردن گوگرد عنصری هستند [۷۵]. برخی از باکتری‌ها مانند *اسیدی‌تیوباسیلوس فرواکسیدانس* برای تحمل درصد مشخصی از یون‌ها نیاز به خوسازی دارند. بدین‌صورت که به‌صورت پله‌ای با افزایش میزان یون موجود در محیط، باکتری را می‌توان به غلظت مشخصی عادت داد [۵۴].

سانتیا(۴) و *همکاران* در سال ۲۰۰۶ میلادی، فروشویی زیستی کاتالیست‌های فرسوده پالایشگاهی را با قارچ *آسپرژیلوس نایجر* موردبررسی قراردادند. *آسپرژیلوس نایجر* خوسازی نشده، هیچ‌گونه رشدی در حضور پسماند از خود نشان نداد؛ در صورتی پس از خوسازی قادر به تحمل ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیکل، ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر مولیبدن و ۶۰۰ میلی‌گرم بر لیتر آلومینیوم بود. فروشویی زیستی با سویه خوسازی شده منجر به بازیابی ۷۸/۵ درصد نیکل، ۸۲/۳ درصد مولیبدن و ۶۵/۲ درصد آلومینیوم از خاکستر بادی با چگالی توده ۱ درصد بود [۲۱].

یانگ(۵) و *همکاران* در سال ۲۰۰۹ میلادی، بر خوسازی قارچ *آسپرژیلوس نایجر* برای تحمل غلظت بالای فلزها به‌منظور فروشویی زیستی خاکستر بادی(۶) تمرکز کردند. سویه *آسپرژیلوس نایجر* هم به فلزهای آلومینیوم و آهن به‌صورت منفرد تا غلظت ۳۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر آلومینیوم و ۷۰۰ میلی‌گرم بر لیتر آهن و هم به مخلوطی از این دو فلز تا غلظت ۳۲۰۸ میلی‌گرم بر لیتر سازگار شد. بازیابی فلزهای خاکستر بادی توسط سویه‌هایی که به مخلوطی از فلزها خو گرفته بودند، بیش‌تر بود. این سویه‌ها توانستند باعث انحلال ۸۷/۴ درصد کادمیم، ۶۴/۸ درصد منگنز، ۴۹/۴ درصد روی و ۴۵/۹ درصد سرب شوند [۲۲].

ایلیاس(۷) و *همکاران* در سال ۲۰۱۰ میلادی، فروشویی زیستی زباله‌های الکترونیکی با سویه‌های خوسازی شده *ترموپلاسما اسیدوفیلوم*(۸)، *سولفوباسیلوس ترموسولفیدواکسیدانس*(۹) را مطالعه کردند. پیش از انجام فرایند خوسازی، با افزودن ۴ گرم بر لیتر از مخلوط فلزها (Sn^{2+}، Fe^{3+}، Ni^{2+}، Cu^{2+}، Al^{3+}، Ag^{+}، Pb^{2+} و Zn^{2+}) به محیط کشت باکتری، تأخیر ۷ روزه در فاز رشد دیده شد. با افزودن ۸ گرم بر لیتر از مخلوط فلزها، ریزاندامگان‌ها رشد بسیار کندی داشتند و با ۱۲ گرم بر لیتر ریزاندامگان‌ها مردند.

(۱) Bai
(۲) Zhang
(۳) *Thiobacillus*
(۴) Santhiya
(۵) Yang
(۶) Fly Ash
(۷) Ilyas
(۸) *Thermoplasma acidophilum*
(۹) *Sulfobacilllus thermosulfidooxidans*

درحالی‌که پس از خوسازی، ریزاندامگان‌ها رشد زیادی را در ۱۲ گرم بر لیتر و با فاز تأخیر ۶ روزه نشان دادند. درحالی‌که سلول‌ها در حضور ۱۶ گرم بر لیتر از مخلوط فلزها، رشد ضعیفی از خود نشان دادند و در حضور ۲۰ گرم بر لیتر مردند. این امر می‌تواند به‌این‌علت باشد که زمانی که ریزاندامگان‌ها با غلظت‌های رو به افزایش یون‌های فلزی توسط کشت‌های دوباره سازگار می‌شوند، تغییرهای فیزیولوژیکی در آن‌ها رخ می‌دهد که مقابله با غلظت‌های بالای فلزها در محیط کشت را در طول فروشویی زیستی برای باکتری آسان می‌نماید [۷۶].

کیو(۱) و *همکاران* در سال ۲۰۱۳ میلادی، با کمک قارچ *آسپرژیلوس نایجر*، بازیابی فلزهای سنگین از گل قرمز با چگالی توده ۱ تا ۵ درصد (وزنی/حجمی) را طی مرحله‌های گوناگون فروشویی زیستی انجام دادند. عامل اصلی فروشویی سیتریک اسید بود و بالاترین درصد بازیابی برای عنصرها، در مرحله استفاده از متابولیت‌های زیستی (محیط کشت مستعمل(۲)) در چگالی توده ۱ درصد (وزنی/حجمی) به دست آمد. همچنین آزمون سمیت نشان داد که سمی بودن باقیمانده به دست آمده از فروشویی، زیر حد استاندارد شاخص سمیت بوده است [۷۷].

ایجادی(۳) و *همکاران* در سال ۲۰۱۴ میلادی، در پژوهشی از باکتری *اسیدی‌تیوباسیلوس فرواکسیدانس* خوسازی شده برای فروشویی زیستی باتری‌های نیکل ـ متال هیدرید و نیکل ـ کادمیم استفاده کردند و نتیجه این فروشویی، بازیافت بیش از ۸۷ درصد نیکل و ۹۳/۷ درصد کبالت و نزدیک به ۶۷ درصد فلز سنگین کادمیم بود. توانایی سویه *اسیدی‌تیوباسیلوس فرواکسیدانس* در خو گرفتن به فلزهای سنگین به‌مراتب بیش‌تر از سویه *اسیدیانوس بریرلی*(۴) است، به‌طوری‌که خوسازی *اسیدی‌تیوباسیلوس فرواکسیدانس* به فلزهای سنگین نیکل، کادمیم و کبالت تا چگالی توده جامد ۱۰ گرم بر لیتر انجام و بازیابی ۱۰۰ درصد برای هریک از فلزها به دست آمد. ازاین‌رو استفاده از این باکتری به‌منظور فرایند فروشویی زیستی از ارزش بیش‌تری برخوردار است [۷۸].

جانگ(۵) و *همکاران* در سال ۲۰۱۶ میلادی، خوسازی باکتری *اسیدی‌تیوباسیلوس تیواکسیدانس*(۶) را به فلزهای موجود در سنگ معدن نیکل بررسی کردند. ریزاندامگان‌ها در حضور فلزهای نیکل، آهن، کبالت، منیزیم، کروم و منگنز در غلظت‌های ppm ۲۴۰۰ تا ۲۴۰۰۰ کشت داده شدند. این پژوهشگران بر اساس ارزیابی شاخص تحمل به این نتیجه رسیدند که فرایند خوسازی به غلظت فلزها، تولید اسید و مدت زمان خوسازی بستگی دارد و تنش فلزهای سنگین باعث افزایش تحریک زیستی رشد سلول و تولید اسید می‌شود. با انجام فرایند خوسازی، بازیابی فلز نیکل و کبالت، به ترتیب به میزان ۲۰ و ۷ درصد افزایش یافت [۷۹].

جدول ۲ استخراج برخی فلزها از منابع گوناگون توسط ریزاندامگان‌ها را نشان می‌دهد.

نتیجه‌گیری

در سال‌های اخیر، نگرانی‌های بهداشت عمومی و زیست‌محیطی به خاطر آلودگی محیط‌زیست توسط فلزهای سنگین افزایش پیداکرده است. فلزهای سنگین باعث اختلال عملکردی در سلول، تخریب انسجام سلول یا واسرشته شدن پروتئین‌ها، تغییر در ساختار صورت‌بندی نوکلئیک اسیدها، تداخل با فسفرگیری اکسایشی و تعادل اسمزی شده و بر سوخت‌وساز، رشد و ریخت شناسی ریزاندامگان‌ها تأثیر می‌گذارند و سرانجام باعث کاهش یا مهار رشد ریزاندامگان‌ها می‌شوند. افزایش غلظت فلزها در زیستگاه‌های میکروبی که ناشی از فرایندهای زیست‌محیطی و طبیعی است، ریزاندامگان‌ها را به سمت ایجاد سازوکارهای گوناگون برای تحمل حضور این یون‌های فلزی سوق می‌دهد. ریزاندامگان‌هایی که در تماس با محیط دارای این فلزها قرار می‌گیرند با سازوکارهای گوناگونی ازجمله استفاده از مانع‌های نفوذپذیر، جداسازی درون و برون سلولی، پمپ‌های انتشار به بیرون، سم‌زدایی آنزیمی، کاهش حساسیت هدف‌های سلولی نسبت به فلز و تغییر ریخت شناسی سلول، به این فلزهای سنگین سازش پیدا می‌کنند. شناسایی ریزاندامگان‌های مقاوم به فلزها نقش مهمی در زمینه رفع آلودگی محیط و پاک‌سازی آن بازی می‌کند. از کاربردهای گوناگونی سازوکارهای مقاومت به فلز می‌توان به انباشتگی زیستی، جذب زیستی، زیست دگرگونی، معدنی‌سازی زیستی و فروشویی زیستی فلزها اشاره کرد. استفاده از ریزاندامگان‌ها برای پاک‌سازی محیط از فلزهای سنگین یک راه‌حل طبیعی، پایدار و اقتصادی است و می‌تواند تا درصد بالایی از فلزهای ارزشمند و سمی مانند نیکل، روی و ... را استخراج و یا سمیت‌زدایی کند.

(۱) Qu
(۲) Spent Medium
(۳) Ijadi
(۴) *Acidianus brierleyi*
(۵) Jang
(۶) *Acidithiobacillus thiooxidans*

جدول ۲ـ استخراج برخی فلزها از منابع گوناگون توسط ریزاندامگان‌ها.

نوع پسماند	فلزهای بازیافت شده	ریزاندامگان‌ها	مرجع
کاتالیست‌های فرسوده پالایشگاه نفت	آهن، نیکل، مولیبدن، آلومینیوم، تنگستن	*آسپرژیلوس نایجر*	[۸۰]
پسماند کوره‌های نیروگاهی	وانادیم، نیکل، مس	*اسیدی‌تیوباسیلوس فرواکسیدانس*	[۸۱]
خاکستر بادی نیروگاهی	آهن، وانادیم، نیکل	*پنی‌سیلیوم سیمپلیسیسیموم*(۱)	[۸۲]
زباله‌های الکترونیکی	مس، طلا	*باسیلوس مگاتریوم*(۲)	[۸۳]
کنسانتره مولیبدنیت	مولیبدن، مس، آهن	*اسیدیانوس بریرلی*	[۸۳]
کنسانتره پیریت	مس	*اسیدی‌تیوباسیلوس فرواکسیدانس*	[۵۸]
کانه طلا	طلا	*فانروکیت کرایزوسپوریوم*(۳)	[۸۴]
لجن آبکاری	نیکل، کروم	*اسیدی‌تیوباسیلوس فرواکسیدانس*	[۸۳]
گل قرمز	آلومینیوم، آهن، تیتانیم	*آسپرژیلوس نایجر، پنی‌سیلیوم سیمپلیسیسیموم*	[۸۵, ۸۶]
باتری‌های فرسوده	کبالت، لیتیم، نیکل، مس، منگنز، آلومینیوم	*آسپرژیلوس نایجر، پنی‌سیلیوم سیمپلیسیسیموم*	[۴۸, ۷۳]
کود خوک	مس، آهن، روی	*اسیدی‌تیوباسیلوس فرواکسیدانس*	[۸۷]
پسماند کارخانه‌های کاغذسازی	آهن، مس، روی	*اسیدی‌تیوباسیلوس فرواکسیدانس*	[۸۷]
لجن فاضلاب	فلزهای سنگین	*تیوباسیلوس*	[۸۷]
گرد و غبار فیلترها	کروم، مس، روی	*اسیدی‌تیوباسیلوس تیواکسیدانس*	[۸۷]
لجن کارخانه‌های چرم‌سازی	کروم	*اسیدی‌تیوباسیلوس تیواکسیدانس*	[۸۸]

۱) *Penicillium simplicissimum*
۲) *Bacillus megaterium*
۳) *Phanerocate chrysosporium*

مطالعه انتقال، ژنتیک و سازوکارهای مقاومت به فلزهای سنگین در ریزاندامگان‌ها ممکن است در درک عملکرد ریخت شناسی سلول‌ها، افزایش دادن توانایی ریزاندامگان‌ها برای خارج کردن یون‌های فلزی زیان‌آور و استفاده بهتر از سازوکارهای طبیعی به‌منظور بهبود کیفیت محیط‌زیست همه موجودهای زنده مفید باشد.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۲/۸ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۸/۲۹

مراجع

[1] Motaghed M., Mousavi SM., Rastegar SO., Shojaosadati SA., Platinum And Rhenium Extraction From A Spent Refinery Catalyst Using *Bacillus megaterium* As A Cyanogenic Bacterium: Statistical Modeling And Process Optimization, *Bioresour Technol*, **171**: 401–09 (2014).

[2] Li L., Ge J., Chen R., Wu F., Chen S., Zhang X., Environmental Friendly Leaching Reagent For Cobalt and Lithium Recovery from Spent Lithium-ion Batteries., *Waste Manag*, **30**(12): 2615–21 (2010).

[۳] حسنی، ع؛ اعتمادی فر، ز؛ نحوی، ا؛ بررسی تحمل و جذب فلزات مس و سرب توسط سه سویه استاندارد مخمر، *مجله پژوهش‌های سلولی و مولکولی (مجله زیست‌شناسی ایران)*، (۲)**۲۷**: ۹۱ تا ۱۷۹ (۱۳۹۳).

[4] Arshadi M., Mousavi S.M., Simultaneous Recovery Of Ni and Cu from Computer-Printed Circuit Boards Using Bioleaching: Statistical Evaluation and Optimization, *Bioresour Technol*, **174**: 233–42 (2014).

[5] Kalkan E., Nadaroglu H., Dikbas N., Tasgin E., Celebi N., Bacteria-Modified Red Mud for Adsorption of Cadmium Ions from Aqueous Solutions, *Pol. J. Env. Stud.*, **22**: 105–17 (2013).

[6] Ahmed M.J.K., Ahmaruzzaman M., A Review on Potential Usage of Industrial Waste Materials for Binding Heavy Metal Ions from Aqueous Solutions, *J Water Process Eng*, **10**: 39-47 (2016).

[۷] طیبان، س؛ ترابی، ا، نجف پور، ع؛ علیدادی، ح؛ ززولی، م؛ بررسی روش‌های بیوجذب فلزات سنگین کروم و کادمیوم از پساب‌های صنعتی با استفاده از زائدات کشاورزی (مطالعه مروری)، *نوید نو*، (۵۸)**۱۶**، (۱۳۹۱).

[8] Gadd G.M., Metals, Minerals, and Microbes: Geomicrobiology and Bioremediation, *Microbiology Society*, **156**(3): 609–43 (2010).

[9] Bruins M.R., Kapil S., Oehme F.W., Microbial Resistance to Metals in the Environment, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **45**(3): 198-207 (2000).

[10] Harrison J.J., Ceri H., Turner R.J., Multimetal Resistance and Tolerance in Microbial Biofilms, *Nat Rev Microbiol*, **5**(12): 928-38 (2007).

[۱۱] مرادی پور، ه؛ آبنوسی، م؛ امیرجانی، م؛ مهدیه، م، تأثیر فلز کادمیم بر توانائی زیستی و فعالیت برخی آنزیم‌های پاداکسندگی در پینه گیاه پریوش (Catharanthus Roseus)، *علوم باغبانی ایران*، (۱)**۴۷**: ۲۱ تا ۳۱ (۱۳۹۵).

[12] Huang K., Li J., Xu Z., Characterization and Recycling of Cadmium from Waste Nickel–Cadmium Batteries, *Waste Manag*, **30**(11): 2292-98 (2010).

[13] Zeng G., Luo S., Deng X., Li L., Au C., Influence Of Silver Ions On Bioleaching Of Cobalt From Spent Lithium Batteries, *Miner Eng*, **49**:40–44 (2013).

[14] Jadhav U.U., Hocheng H., A Review of Recovery of Metals from Industrial Waste, *J. Achiev. Mater. Manuf. Eng.*, **54**(2): 159-67 (2012).

[۱۵] خردمند، ف؛ موسوی، ع؛ نورمحمدی، ع؛ سینایی، ب، عنصر روی و مکانیسم‌های مولکولی دخیل در هموستاز آن، *مجله دانشکده پیراپزشکی ارتش جمهوری اسلامی ایران*، (۱)**۴**: ۳۳ تا ۳۸ (۱۳۸۸).

[16] Markowicz A., Płociniczak T., Piotrowska-Seget Z., Response of Bacteria to Heavy Metals Measured as Changes in FAME Profiles, *Polish J Environ Stud*, **19**(5): 957-65 (2010).

[17] Amiri F., Yaghmaei S., Mousavi S.M., Bioleaching of Tungsten-Rich Spent Hydrocracking Catalyst Using *Penicillium simplicissimum*, *Bioresour Technol*, **102**(2):1567–73 (2011).

[18] Fashola M.O., Ngole-Jeme V.M., Babalola O.O., Heavy Metal Pollution from Gold Mines: Environmental Effects and Bacterial Strategies for Resistance, *Int J Environ Res Public Health*, **13**(11): 1-20 (2016).

[۱۹] حسینی، س؛ اوستان، ش؛ اصغرزاد، ن؛ نجفی ن، عوامل مؤثر بر اکسایش Cr(III) به Cr(VI) در تعدادی از خاک‌های شمال و شمال غرب ایران, *نشریه دانش آب و خاک*, (۴)**۲۲**: ۳۱ تا ۴۹ (۱۳۹۱).

[۲۰] منصوری، ط؛ گلچین، ا؛ نیستانی، م؛ کوهستانی، ح، بررسی تأثیر جاذب‌های نانوذرات هماتیت و کوپلیمر اکریلیکی بر توزیع اجزاء آرسنیک در خاک، *نشریه پژوهش‌های خاک (علوم خاک و آب)*، (۱)**۳۱**: ۸۹ تا ۱۰۲ (۱۳۹۶).

[21] Santhiya D., Ting Y-P., Use of Adapted *Aspergillus niger* in the Bioleaching of Spent Refinery Processing Catalyst., *J Biotechnol*, **121**(1):62–74 (2006).

[22] Yang J., Wang Q., Wang Q., Wu T., Heavy Metals Extraction from Municipal Solid Waste Incineration Fly Ash Using Adapted Metal Tolerant *Aspergillus niger*., *Bioresour Technol*, **100**(1):254–60 (2009).

[23] Kelly C.J., Tumsaroj N., Lajoie C.A., Assessing Wastewater Metal Toxicity With Bacterial Bioluminescence in a Bench-Scale Wastewater Treatment System, *Water Res*, **38**(2):423–31 (2004).

[۲۴] کفیل زاده، ف؛ چیت تایی، م، بررسی میزان رشد، مقاومت و توانایی حذف فلز روی در باکتری‌های مقاوم جداشده از آب و رسوبات رودخانه کارون، *مجله سلامت و بهداشت*، (۲)**۵**: ۱۴ تا ۱۰۳ (۱۳۹۳).

[۲۵] لکزیان، ا، تعیین آستانه سمیت فلزات مس و روی در باکتری *E. Coli* (حسگر زیستی), *مجله آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)*, (۱)**۲۳**: ۱ تا ۷ (۱۳۸۸).

[۲۶] محسنی، م؛ معقول، ش، سنجش سمیت فلزات سنگین سرب، کادمیوم و مس توسط باکتری نورافشان جدا شده از دریای مازندران، *مجله پژوهش‌های سلولی و مولکولی (مجله زیست شناسی ایران)*، (۴)**۲۸**: ۵۸۸ تا ۵۹۸ (۱۳۹۴).

[27] Gikas P., Single and Combined Effects of Nickel (Ni (II)) and Cobalt (Co (II)) Ions on Activated Sludge and on other Aerobic Microorganisms: A Review, *J. Hazard. Mater.*, **159**(2):187–203 (2008).

[28] Sandrin T.R., Maier R.M., Effect of pH on Cadmium Toxicity, Speciation, and Accumulation During Naphthalene Biodegradation, *Environ. Toxicol. Chem.*, **21**(10): 2075–79 (2002).

[29] Hunter M.T., Painter J.C., Eckenfelder Jr WW., The Effects of Sludge Age and Metal Concentration on Copper Equilibrium in the Activated Sludge Process, *Environ. Technol.*, **4**(11): 475–484 (1983).

[30] Dupont C.L., Grass G., Rensing C., Copper Toxicity and the Origin Of Bacterial Resistance—New Insights and Applications, Metallomics, *Metallomics*, **3**(11):1109–18 (2011).

[31] Murthy S., Bali G., Sarangi SK., Lead Biosorption by a Bacterium Isolated From Industrial Effluents, *Int J Microbiol Res*, **4**(3):192 (2012).

[۳۲] مشکینی، م؛ ایران نژاد، م؛ آزادمهر، ا؛ سمیعی بیرق، ع، بررسی امکان استخراج روی از کانی‌های کم عیار اکسیدی با استفاده از باکتری هتروتروف *Pseudomonas aeruginosa* و تطبیق باکتری به غلظت بالای یون روی، *نشریه شیمی و مهندسی شیمی ایران*، (۱)**۳۲**: ۹۳ تا ۱۰۰ (۲۰۱۳).

[33] Kang C-H., So J-S., Heavy Metal and Antibiotic Resistance of Ureolytic Bacteria and Their Immobilization of Heavy Metals, *Ecol. Eng.*, **97**: 304-312 (2016).

[34] Ahalya N., Ramachandra T.V., Kanamadi R.D., Biosorption of Heavy Metals, *Res. J. Chem. Env.*, **7**(4): 71–79 (2003).

[35] Deng X., Chai L., Yang Z., Tang C., Tong H., Yuan P., Bioleaching of Heavy Metals from a Contaminated Soil Using Indigenous *Penicillium chrysogenum* Strain F1., *J. Hazard. Mater.*, **233**–**234**:25–32 (2012).

[36] Park J.H., Chon H-T., Characterization of Cadmium Biosorption by *Exiguobacterium* Sp. Isolated From Farmland Soil Near Cu-Pb-Zn Mine, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, **23**(12): 11814–22 (2016).

[37] Prabhakaran P., Ashraf M.A., Aqma W.S., Microbial Stress Response to Heavy Metals in the Environment, *RSC Adv.*, **6**(111): 109862-77 (2016).

[38] Bautista-Hernández D.A., Ramírez-Burgos L.I., Duran-Páramo E., Fernández-Linares L., Zinc and Lead Biosorption by *Delftia Tsuruhatensis*: A Bacterial Strain Resistant to Metals Isolated from Mine Tailings, *J. Water Resour. Prot,*. **4**(4): 207- (2012).

[39] Wei G., Fan L., Zhu W., Fu Y., Yu J., Tang M., Isolation and Characterization of the Heavy Metal Resistant Bacteria CCNWRS33-2 Isolated from Root Nodule of Lespedeza Cuneata in Gold Mine Tailings in China, *J Hazard Mater*, **162**(1): 50-56 (2009).

[40] Monachese M., Burton J.P., Reid G., Bioremediation and Tolerance of Humans to Heavy Metals Through Microbial Processes: A Potential Role for Probiotics?, *Appl Environ Microbiol*, **78**(18): 6397-404 (2012).

[41] Konhauser KO.,"Introduction to Geomicrobiology", John Wiley & Sons (2009).

[۴۲] محمدزاده کرکرق، ر؛ چرم، م؛ معتمدی، ح؛ محبت، ع، جذب زیستی و تجمع زیستی کادمیم و نیکل در محلول رقابتی توسط سه جدایه باکتری از خاک آلوده به لجن فاضلاب، *مجله دنیای میکروب‌ها*، (۳)**۷**: ۲۴۱ تا ۲۵۱ (۱۳۹۳).

[43] Gourdon R., Bhende S., Rus E., Sofer S.S., Comparison of Cadmium Biosorption by Gram-positive and Gram-negative Bacteria from Activated Sludge, *Biotechnol. Lett.*, **12**(11): 839–42 (1990).

[44] Dopson M., Baker-Austin C., Koppineedi P.R., Bond PL., Growth in Sulfidic Mineral Environments: Metal Resistance Mechanisms in Acidophilic Micro-organisms, *Microbiology Society*, **149**(8):1959–70 (2003).

[45] Choudhury R., Srivastava S., Zinc Resistance Mechanisms in Bacteria, *Curr. Sci.*, **81**(7):768–75 (2001).

[46] Chojnacka K., Biosorption and Bioaccumulation–the Prospects for Practical Applications, *Environ. Int.*, **36**(3): 299-307 (2010).

[47] Botello-Morte L., Gonzalez A., Bes M.T., Peleato M.L., Fillat M.F., Functional Genomics of Metalloregulators in Cyanobacteria, *Genom Cyanobact*, **65**: 107-156 (2013).

[48] Bahaloo-Horeh N., Mousavi S.M., Enhanced Recovery of Valuable Metals from Spent Lithium-ion Batteries Through Optimization of Organic Acids Produced By *Aspergillus niger*, *Waste. Manag.*, **60**: 666-679 (2017).

[۴۹] اسلامی، ا؛ نعمتی، ر، بررسی حذف فلزات سنگین از محیطهای آبی با استفاده از فناوری زیست پالایی (مطالعه مروری), *فصلنامه بهداشت در عرصه*، (۲)**۳**: ۴۳ تا ۵۱ (۱۳۹۴).

[50] Singh S., Barla A., Shrivastava A., Bose S., Interplay of Arsenic Alteration in Plant Soil and Water: Distribution, Contamination and Remediation, *Glob J Multidiscip Stud Available online www gjms co*, **3**(11) (2014).

[51] Gadd G.M., Microbial Influence on Metal Mobility and Application for Bioremediation, *Geoderma*, **122**(2): 109–119 (2004).

[52] Chang J-S., Kim Y-H., Kim K-W., The Ars Genotype Characterization of Arsenic-resistant Bacteria from Arsenic-Contaminated Gold–silver Mines in the Republic of Korea, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **80**(1): 155-165 (2008).

[53] Kazemi S., Faezi-Ghasemi M., Effect of Heavy Metals Stresses on Growth, Surface Structure and Biochemical Features of *Listeria monocytogenes* PTCC 1297: An in Vitro Study, *Avicenna. J. Clin. Microbiol. Infect.*, **2**(4): 15-19 (2015).

[54] Asghari I., Mousavi S.M., Amiri F., Tavassoli S., Bioleaching of Spent Refinery Catalysts: A Review, *J. Ind. Eng. Chem.*, **19**(4): 1069-1081 (2013).

[55] Hoque M.E., Philip O.J., Biotechnological Recovery of Heavy Metals from Secondary Sources—An Overview, *Mater. Sci. Eng. C*, **31**(2): 57-66 (2011).

[56] Panwichian S., Kantachote D., Wittayaweerasak B., Mallavarapu M., Removal of Heavy Metals by Exopolymeric Substances Produced by Resistant Purple Nonsulfur Bacteria Isolated from Contaminated Shrimp Ponds, *Electron. J. Biotechnol.*, **14**(4): 1-13 (2011).

[۵۷] احمدی اسبچین، س؛ پوربابایی، ا؛ آندره، ا، بررسی فرایند جذب زیستی همزمان دو فلز روی/ نیکل به وسیله جلبک قهوه‌ای *فوکوس سراتوس*، *نشریه شیمی و مهندسی شیمی ایران*، (۱)**۳۲**: ۸۵ تا ۹۱ (۲۰۱۳).

[58] Sana S., Roostaazad R., Yaghmaei S., Biosorption of Uranium (VI) from Aqueous Solution by Pretreated *Aspergillus niger* Using Sodium Hydroxide, *Iran. J. Chem. Chem. Eng. (IJCCE)*, **34**(1): 65–74 (2015).

[59] Das S., Biosorption of Chromium and Nickel by Dried Biomass of *Cyanobacterium Oscillatoria Laetevirens*, *Int. J Environ. Sci.*, **3**(1): 341-352 (2012).

[۶۰] آسمان، ا؛ سیاف، ح، حذف کروم شش ظرفیتی با استفاده پودر جلبک سبز *اسپیروژیرا پرتیکالیس* از محلول‌های آبی، *مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار*، (۳)**۲۴**: ۱۶۵ تا ۱۷۱ (۱۳۹۶).

[61] Kim S.U., Cheong Y.H., Seo D.C., Hur J.S., Heo J.S., Cho J.S., Characterisation of Heavy Metal Tolerance and Biosorption Capacity of Bacterium Strain CPB4 (*Bacillus* Spp.), *Water. Sci. Technol.*, **55**(1–2): 105-111 (2007).

[62] Abd-Elnaby H., Abou-Elela G.M., El-Sersy N.A., Cadmium Resisting Bacteria in Alexandria Eastern Harbor (Egypt) and Optimization of Cadmium Bioaccumulation by *Vibrio harveyi*, *African. J. Biotechnol.*, **10**(17): 3412-3423 (2011).

[۶۳] گلبابایی، ف؛ قهری، ا؛ صعودی، م؛ رحیمی فروشانی، ع؛ تیرگر، آ؛ مطالعه‌های تعادل و سینتیک جذب زیستی کروم شش ظرفیتی از محلول‌های آبی با استفاده از دانه‌های پلیمر زانتان B82، *نشریه شیمی و مهندسی شیمی ایران*، (۲)**۳۰**: ۱۱ تا ۲۴ (۲۰۱۱).

[64] Lefebvre D.D., Kelly D., Budd K., Biotransformation of Hg (II) By Cyanobacteria, *Appl. Environ. Microbiol.*, **73**(1): 243-249 (2007).

[65] Francis A.J., Biotransformation of Uranium and Other Actinides in Radioactive Wastes, *J. Alloy.s Compd.*, **271**: 78–84 (1998).

[66] Stasinakis A.S., Thomaidis N.S., Fate and Biotransformation of Metal And Metalloid Species in Biological Wastewater Treatment Processes, *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*, **40**(4): 307-364 (2010).

[67] Kaewdoung B., Sutjaritvorakul T., Gadd G.M., Whalley A.J.S., Sihanonth P., Heavy Metal Tolerance and Biotransformation of Toxic Metal Compounds by New Isolates of Wood-rotting Fungi from Thailand, *Geomicrobiol. J.*, **33**(3–4): 283-288 (2016).

[68] Dixit R., Malaviya D., Pandiyan K., Singh U.B., Sahu A., Shukla R., Singh B.P., Rai J.P., Lade H., Bioremediation of Heavy Metals from Soil and Aquatic Environment: an Overview of Principles and Criteria of Fundamental Processes, *Sustainability*, **7**(2): 2189–2212 (2015).

[69] Govarthanan M., Lee K-J., Cho M., Kim J.S., Kamala-Kannan S., Oh B-T., Significance of Autochthonous *Bacillus* Sp. KK1 on Biomineralization of Lead in Mine Tailings, *Chemosphere*, **90**(8): 2267–2272 (2013).

[70] Bai H-J., Zhang Z-M., Microbial Synthesis of Semiconductor Lead Sulfide Nanoparticles Using Immobilized *Rhodobacter sphaeroides*, *Mater. Lett.*, **63**(9):764–66 (2009).

[71] Salome K.R., Beazley M.J., Webb S.M., Sobecky P.A., Taillefert M., Biomineralization of U(VI) Phosphate Promoted by Microbially-mediated Phytate Hydrolysis in Contaminated Soils, *Geochim. Cosmochim. Acta.*, **197**: 27–42 (2017).

[72] Li M., Cheng X., Guo H., Heavy Metal Removal by Biomineralization of Urease Producing Bacteria Isolated from Soil, *Int Biodeterior Biodegradation*, **76**: 81–85 (2013).

[73] Horeh N.B., Mousavi S.M., Shojaosadati S.A., Bioleaching of Valuable Metals from Spent Lithium-ion Mobile Phone Batteries Using *Aspergillus niger*, *J. Power. Sources.*, **320**: 257–266 (2016).

[74] Amiri F., Mousavi S.M., Yaghmaei S., Barati M., Bioleaching Kinetics of A Spent Refinery Catalyst Using *Aspergillus niger* at Optimal Conditions, *Biochem. Eng. J.*, **67**: 208-217 (2012).

[75] Arshadi M., Mousavi SM., Multi-objective Optimization of Heavy Metals Bioleaching from Discarded Mobile Phone PCBs: Simultaneous Cu and Ni Recovery Using *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Sep. Purif. Technol.*, **147**: 210–219 (2015).

[76] Ilyas S., Ruan C., Bhatti H.N., Ghauri M.A., Anwar M.A., Column Bioleaching of Metals from Electronic Scrap, *Hydrometallurgy*, **101**(3): 135-140 (2010).

[77] Qu Y., Lian B., Mo B., Liu C., Bioleaching of Heavy Metals from Red Mud Using *Aspergillus niger*, *Hydrometallurgy*, **136**: 71–77 (2013).

[78] Ijadi Bajestani M., Mousavi S.M., Shojaosadati S.A., Bioleaching of Heavy Metals from Spent Household Batteries Using *Acidithiobacillus ferrooxidans*: Statistical Evaluation and Optimization, *Sep. Purif. Technol.*, **132**: 309-316 (2014).

[79] Jang H-C., Valix M., Overcoming The Bacteriostatic Effects of Heavy Metals on *Acidithiobacillus thiooxidans* for Direct Bioleaching of Saprolitic Ni Laterite Ores, *Hydrometallurgy*, **168**: 21-25 (2017).

[80] Amiri F., Yaghmaei S., Mousavi S.M., Sheibani S., Recovery of Metals from Spent Refinery Hydrocracking Catalyst Using Adapted *Aspergillus niger*, *Hydrometallurgy*, **109**(1): 65–71 (2011).

[81] Rastegar S.O., Mousavi S.M., Shojaosadati S.A., Mamoory R.S., Bioleaching of V, Ni, and Cu From Residual Produced in Oil Fired Furnaces Using *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Hydrometallurgy*, **157**:50–59 (2015).

[82] Rasoulnia P., Mousavi S.M., Rastegar S.O., Azargoshasb H., Fungal Leaching of Valuable Metals from A Power Plant Residual Ash Using *Penicillium simplicissimum*: Evaluation of Thermal Pretreatment and Different Bioleaching Methods, *Waste. Manag.*, **52**:309-317 (2016).

[83] Arshadi M., Mousavi S.M., Rasoulnia P., Enhancement of Simultaneous Gold and Copper Recovery from Discarded Mobile Phone PCBs Using *Bacillus megaterium:* RSM Based Optimization of Effective Factors and Evaluation of Their Interactions, *Waste. Manag.*, (2016).

[۸۴] نجف آبادی، ع؛ عبدالهی، م؛ خدادادی دربان، ا؛ موسوی، س، پیش‌فرآوری زیستی کانه‌ی مقاوم طلا با استفاده از قارچ *فانروکیت کرایسوسپوریوم*، *نشریه شیمی و مهندسی شیمی ایران*، (۳)**۳۴**: ۴۹ تا ۵۹ (۲۰۱۵).

[85] Ghorbani Y., Oliazadeh M., Shahverdi A.R., Microbiological Leaching of Al from the Waste of Bayer Process by Some Selective Fungi, *Iran. J. Chem. Chem. Eng. (IJCCE)*, **28**(1):109–15 (2009).

[86] Vakilchap F., Mousavi S.M., Shojaosadati S.A., Role of *Aspergillus niger* in Recovery Enhancement of Valuable Metals from Produced Red Mud in Bayer Process, *Bioresour. Technol.*, **218**:991-998 (2016).

[87] Simsek O., Arısoy M., A New Approach for Evaluating Wastes: Bioleaching, *Hacettepe J. Biol. Chem.*, **35**: 17–24 (2007).

[88] Mishra D., Rhee Y.H., Microbial Leaching of Metals from Solid Industrial Wastes, *J. Microbiol.*, **52**(1):1–7 (2014).