ISSN: 1991-8941

عزل وتشخيص العزلات البكتيرية المتحسسة والمقاومة لعنصري النحاس والنيكل وقابليتهما في الإزالة والتحسس

احمد محمد تركي* حسن علي مطر** علي حازم عبد الكريم* ادهام علي عبد**
جامعة الانبار- كلية العلوم
جامعة الانبار – كلية الزرعة

تاريخ الاستلام: ٢٠١٠/١١/٣٠ تاريخ القبول: ٢٠١١/٥/١٩

الخلاصة

استعمل وسط مستخلص التربة الزراعية المجهز ٥ غم كلوكوز / لتر ومضاف له تراكيز تراوحت بين ٥ إلى ١٥٠ ملغم Cu أوNi / لتر، لقح من مستخلص التربة الزراعية او مستخلص التربة للمنطقة الصناعية ، وعزلت ثم شخصت بكتريا Enterobacter sakazakii كمتحسسة لمعدل ٥ ملغم Cu او Ni / لتر من المعاملات الملقحة من التربة الزراعية ، كما عزلت وشخصت بكتريا Proteus vulgaris كعزلة مقاومة لتركيز ٦٠ ملغم Cu و ١٥٠ ملغم Ni / لتر من المعاملات الملقحة من تربة المنطقة الصناعية. وتمكنت العزلة المقاومة P. vulgaris التي استعملت بكثافة ميكروبية ٦.٢ Log cfu/ml (لوغاريتم وحدة تكوين مستعمرة \ مل) من تحقيق اعلى نسب إزالة للعنصرين بلغت ٤٦.٦%(٢٨ ملغم Cu/ لتر) و ٤٢% (٦٣ ملغم Ni / لتر) بعد ٤٨ ساعة حضن، عند استعمال تركيز ٦٠ و١٥٠ ملغم Cu و Ni\ لتر حسب الترتيب، كما تمكنت العزلة المقاومة P.vulgaris من تحقيق نسب إزالة بمعامل إزالة اعلى من ١.٠ لحد تركيز ٥٠ ملغم Cu / لتر و ٩٠ ملغم Ni / لتر.

كلمات مفتاحية : بكتريا، متحسسة، مقاومة، ازالة Cu, Ni

المقدمة

اصبحت المعالجة البايولوجية ضرورة مهمة لتخليص البيئة مما يطرح اليها من المخلفات المحتوية على المعادن الثقيلية والتي تشكل خطرا على النظام الحيوي فيها خاصة مع التراكيز المرتفعة وقد استعملت عدة انواع بكتيرية منها Descelfovibrio sp كمحاولة لوضع برنامج يلائم فعاليتها لتخليص البيئة من تراكيز المعادن السامة، واستطاعت بعض انواعها تحت ظروف التجارب من ازالة عدة انواع من المعادن شملت Cu , Mn , Ni , Zn وتباينت العزلات المستعملة في قدرتها على ازالة العناصر حسب نوع العنصر وتركيزه وتراوحت نسبة الازاله بين ١٥% لعنصر الكروم و٤٥ % لعنصر النحاس و٦٠ % لعنصر المنغنيز و٩٦ % لعنصر النيكل و٩٣ % لعنصر الزنك مع استعمال التركيز ١٥ و ٤ و١٠ و٨.٦ و ٢٠ ملغم / لتر. وقد امكن مضاعفة هذه التراكيز باستعمال نظام الازالة المتعاقب من تحديد اللقاحات لمضاعفة الازالة (١). وقد استعمل (٢) نظام المزارع الحرة والمقيدة باستعمال كالسيوم – الجينات Ca – algenate لتقيد خلايا Pseudomonas aeruginosa , Pseudomonas fluoreseans المنتجتين لمركبات السايدروفور لازالة التراكيز العالية للحديد والرصاص والكروم والنحاس والنيكل، وقد استطاع مضاعفة الكمية المزالة حوالي ٩ أضعاف مع استعمال النظام المقيد مقارنة بالنظام الحر . وقد بين (٣) امكانية استعمال القطع المعدنية في تقدير الاستجابة البايولوجية في بيئية التربة حيث قدر تركيز كلا من النحاس الحر النشط والمزال في ٢٤ عينة تربة مختلفة النسجة والمكونات وقد تراوح محتواها من النحاس الكلي المضاف ١٩ – ٨٦٤٥ ملغم / كغم وتراوح تركيز النحاس النشط الحر بين ٣.٩ و ١٠.٥ ملغم / كغم، وقد وجد ان زيادة نسبة النحاس المذاب على حساب النحاس الفعال الحر بوجود مصدر كاربوني عضوي في المراحل الاولى للتفاعل وتصل نسبة

النحاس الحر النشط دون ١% في الوسط الا انها تزداد في المراحل النهائية مع انخفاض الرقم الهيدروجيني للوسط دون رقم ٦ مما يزيد من نسبة النحاس الفعال الحر ليصل نسبة ٦٩ % من النحاس الكلي وبين ان الانظمة الميكروبية التي استعملت لعملية الازالة E . coli , P.flurcens حيث ازداد نشاط البكتريا P. flurcens مع زيادة تركيز النحاس الذائب وانخفاض النحاس الحر الفعال ، بينما كانت بكتريا E Coli . متساوية الفعالية للنوعين وبتراكيز اقل مع ما حصل مع بكتريا P. flurcens .

درس (٤) تاثير سمية كلا من النحاس والزنك على البكتريا المختزلة للكبريت حيث استعمل الكتلة الحيوية مقياسا لتقدير شدة التلوث وقد حصل على تاخر استجابة الميكروب وانخفاض النشاط البايولوجي بوجود تراكيز عالية من العنصرين . ولاحظ (٥) ان اغناء المزرعة بمصدر الكاربون يزيد من عملية الاستجابة خاصة مع بكتريا Pseudomonas sp وقد صمم (٦) نموذج لموديل رياضي لمتابعة مركبات النمو وازالة معدن النحاس والزنك من الوسط باستعمال بكتريا Pseudomonas sp بالتراكيز التي تتراوحت من ٠ – ١٦٠ ملغم / لتر وسط . وقد استعان بالسكريات من السكروز والبنتوز او مستخلص الخميرة كمصادر تسريع وتنشيط النمو لزيادة كفاءة الإزالة . ان زيادة تركيز بعض المعادن مثل النيكل والنحاس والكادميوم في بيئية التربة يمكن ان يؤثر على توزيع وانتشار الاحياء المجهرية وتنظيم الفعاليات الحيوية في التربة (٧) ورغم ان بعض انواع هذه المعادن تكون بتراكيز قليلة مهمة لاكمال دورة الحياة لاغلب الانظمة الحيوية في بيئية التربة الاانها في التراكيز العالية تشكل خطر على الانظمة الحيوية (٨) . وقد اشار (٩) ان وجود تركيز ١٠ ملغم / لتر من النحاس او النيكل في البيئات المائية يشكل زيادة في كمية المتطلب الحيوي للاوكسجين BOD وتزداد نسبة التاثر بزيادة درجات الحرارة بين ١٥ و٢٥ م° مما يتوجب اجراء عمليات التخفيف للمياه الصناعية الملوثة قبل ادخالهالوحدة المعالجة البيلوجية . وقد حصل (١٠) على قدرة بذور نبات الجت من النمو في التربة الملوثة ببعض المعادن الثقيلة من النحاس والنيكل والكادميوم والكروم والزنك وبتراكيز وصلت الى ٤٠ ملغم / كغم . واكدت دراسة اجراها (١١) ان زيادة كثافة الاحياء المزيلة للعنصر الملوث Chlorlla voljo توفر حماية بايولوجية وتزيد من قابلية الخلية المتبقية حية لمقاومة التراكيز السامة للعنصر الملوث .

المواد وطرائق العمل

١.عزل وتشخيص لبكتريا الحساسة والمقاومة لعنصري النحاس والنيكل

جلبت تربة زراعية رسوبية ذات نسجه مزيجيه طينية واخرى من المنطقة الصناعية لمدينة الرمادي ، جهز مستخلص التربة الزراعية بمعدل ٥ غم كلوكوز / لتر معقم، لاستعماله وسطا زرعيا حيث وزع بمعدل ٩٥ مل في دوارق حجمية سعة ٢٥٠ مل وأكمل الحجم إلى ١٠٠ مل من محلول يحتوي على تراكيز مختلفة من عنصر النحاس Cu والنيكل Ni (٠ و٥ و١٠ و٢٠ و٤٠ و ٦٠ و٩٠ و١٢٠ و١٥٠ و١٨٠) ملغم Cu ، Ni / لتر، حيث استعمل CuSO44.H2O و NiSO4 مصدر للنحاس والنيكل حسب الترتيب .عدل الرقم الهيدروجيني إلى ٧ ثم عقمت بالموصدة على درجة حرارة ١٢١°م ولمدة ١٥ دقيقة تحت ضغط ١.٥ جو . ثم وزع الوسط من كل قنينة على ثلاثة إطباق بمعدل ٢٠ مل لقحت بمعدل ١ مل من مستخلص التربة الزراعية او الصناعية ، وحضنت بدرجة حرارة ٢٨ ± ٢°م لمدة ٢٤ ساعة. حسبت الكثافة الميكروبية ونوع وعدد المستعمرات النامية وحسبت علاقة الارتباط بين التركيز للعنصر(con) و الكثافة الميكروبية(TM) ونوع المستعمرات (Ty.cel) وعدد المستعمرات (No.col) (١٢). انتخبت مستعمرات العزلة الحساسة لكل عنصر والعزلة المقاومة وشخصت حسب الطرائق العلمية المتبعة إذ أجريت الفحوصات المجهرية والكيموحيوية و sequencing of PCR-amplified 16S rRNA (١٣ و١٤).

٢.تحضير اللقاح البكتيري

حضر وسط المرق المغذي Nutrient broth في دوارق زجاجية سعة ٢٥٠ مللتر بمعدل ١٠٠ مللتر وعقمت بالموصدة بدرجة حرارة ١٢١°م لمدة ١٥ دقيقة وتحت ضغط ١.٥ جو ، ثم لقحت بحمله لوب من العزلة البكتيرية المنتخبة ومشخصة بالتحسس ومقاومة عنصر النحاس أو النيكل، وحضنت بدرجة حرارة ٢٨ ± ٢°م لمدة ٢٤ ساعة وبعد ذلك قدر عدد الخلايا الحية في الوسط TM (١٤).

٣ – تأثير كثافة اللقاح ومدة الحضن في إزالة عنصري النحاس والنيكل

استعمل وسط مستخلص التربة المجهز ٥ غم كلوكوز المعقم لوحده وعدل الرقم الهيدروجيني للوسط إلى ٧.٥ ومجهز بتركيز 60 ملغم Cu / لتر أو ١٥٠ ملغم Ni / لتر ستعمل CuSO44.H2O و و NiSO4 ، موزع في أنابيب اختبار بمعدل ١٠ مل في كل أنبوبة لقح باستعمال لقاح العزلة P.vulgaris بمعدل ٢.٩ Log أو ٦.٢ Log cfu/ml (لوغاريتم وحدة تكوين مستعمرة \ مل) وحضنت الأنابيب الملقحة بمعدل خمسة مكررات للمعاملة

بدرجة حرارة ٢٨ ± ٢°م ، وقدرت الكثافة الميكروبية والكمية المزالة للعنصرين بعد ١٢ و٢٤ و ٣٦ و ٤٨ ساعة حضن باستخدام جهاز الامتصاص الذري اللهبي (١٥) .

٤.اختبار قدرة خلايا اللقاح على إزالة النحاس والنيكل بتراكيز مختلفة

استعمل وسط مستخلص التربة الزراعية المجهز ٥ غم كلوكوز موزع في أنابيب اختبار بمعدل ١٠ مل لكل أنبوبة ومجهز بتراكيز من عنصر النحاس (٠ و٥ و١٠ و٢٠ و٣٠ و٤٠ و٥٠ و٦٠) ملغم Cu/ لتر ومن عنصر النيكل (٠ و٥ و ١٠ و ٢٠ و ٤٠ و٦٠ و٩٠ و ١٢٠ و ١٥٠) ملغم / لتر أستعمل CuSO44.H2O و و NiSO4 وبمعدل ثلاثة مكررات لكل تركيز وعدل الرقم الهيدروجيني ٧.٥ وعقمت ثم لقحت بمعدل ٦.٢ Log cfu/ml من لقاح العزلة المقاومة P.vulgaris وحضنت لمدة ٤٨ ساعة بدرجة حرارة ٢٨± ٢°م قدر بعدها الإزالة للعنصرين والكثافة الميكروبية ومعامل الازالة (١٥).

النتائج والمناقشة

يتبن من جدول (١) ان الكثافة الميكروبية للخلايا قد انخفضت مع زيادة تركيز كلا من النحاس والنيكل في الوسط اذ تراوح معدل الكثافة في معاملة السيطرة ١٠.٢ و ١٠.٣ Log cfu/ml واختفى النمو الميكروبي في الوسط مع تركيز ٨٠ ملغم Cu / لتر و١٨٠ ملغم Ni / لتر. واصل انخفاض الكثافة الميكروبية ليصل نسبة ٥٠ % من معاملة السيطرة مع استعمال تركيز تراوح بين (٣٠ - ٤٠) ملغم Cu / لتر وبين (٨٠ و١٠٠) ملغم Ni / لتر، وتبين ان التنوع الميكروبي الملاحظ من خلال أنواع المستعمرات النامية لم يظهر نمو احد الأنواع الميكروبية تحت تأثير إضافة ٥ ملغم Cu اوNi / لتر للوسط مقارنة بمعاملة السيطرة ،اذ انخفض عدد الانواع المسجلة من ٢٢ الى ٢١ نوع. حيث يمثل النوع الذي لم تتمكن خلاياه من النمو بوجود ٥ ملغم منCu او Ni / لتر حوالي ١٨.٦٢ % من الكثافة الميكروبية في الوسط لمعاملة السيطرة. وقد تم تنقية هذا النوع وشخصت العزلة المحصلة Ent. Sakazakii (5- ACGTCATGGTTCGGAAT-3 =G+C، 47.05%)، وعدت متحسسة للتراكيز القلية من النحاس والنيكل في الوسط . كما واصل التنوع الميكروبي انخفاضه بزيادة تركيز النحاس والنيكل ليصل الى تواجد نوع واحد تحت استعمال ٦٠ او ٧٠ ملغم Cu / لتر و١٢٠ –١٦٠ ملغم ىNi / لتر وبنسبة انخفاض كلي للكثافة ٣٠.٣% من الكثافة الميكروبية الكلية لمعاملة السيطرة ، وقد اعتمد هذا النوع بعد عزله وتشخيصه (61.66%,G+C,5- CGGCGGTGCTCAAGC -3) P. vulgaris بأنها العزلة المقاومة للتراكيز العالية من النحاس والنيكل . يضا انخفضت إعداد المستعمرات في الوسط مع زيادة تركيز النحاس او النيكل في الوسط وارتبط هذا الانخفاض مع انخفاض الكثافة والتنوع الميكروبي في الوسط .

أظهرت علاقة الارتباط المحسوبة بين تركيز النحاس والكثافة الميكروبية انها علاقة خطية سالبة (Y= - 0.104 + 8.98). كما سجلت علاقة الارتباط المحسوبة بين تركيز النحاس والتنوع الميكروبي او عدد المستعمرات في الوسط بانها علاقات خطية سالبة .ايضا بينت علاقات الارتباط المحسوبة بين تركيز النيكل ودلائل النمو الميكروبي المحسوبة في الوسط انها علاقات خطية سالبة (جدول ١). يعود ذلك الى تأثير زيادة تركيزالعنصرين في الوسط في الفعاليات البايولوجية وانخفاض قدرة المقاومة بوجود تراكيز عالية من العنصرين (٤). وان تدرج التنوع والكثافة مع زيادة التركيز للعنصرين توكد إن التراكيز القليلة من العنصرين في الوسط مهمة لإتمام دورة الحياة لأغلب الأنظمة الحيوية ،الا إنها في التراكيز العالية تشكل خطرا على الأنظمة الحيوية (٨). وربما يعود الانخفاض في الكثافة والتنوع ايضا الى ان وجود تركيز من النحاس او النيكل في الوسط اعلى من ١٠ ملغم / لتر أثر في كمية المتطلب الحيوي BOD في الوسط (٩). يتبين ان تركيز النحاس في الوسط اكثر تاثير من تركيز النيكل في دلائل النمو الميكروبي الملاحظة، لذلك يعد النحاس اكثر خطورة وسمية على البيئة ، وربما يعود ذلك الى تحول عنصر النحاس المضاف الى الصيغة الحره النشطة والتي تكون أكثر حدة في التأثير السمي على العزلات (١ و ٣) .

جدول ١ المستعمرات البكتيرية والكثافة الميكروبية النامية تحت تراكيز مختلفة من عنصر النحاس او النيكل

Ni	Cu	No.col.		Type col.		TM. Cfu/ml		Cons.
Con.TM.	Con.TM.	Ni	Cu	Ni	Cu	Ni	Cu	Cu , Ni mg/l
Y= - 0.044X + 8.85	Y= - 0.104X + 8.98	180	180	22	22	10.8	10.2	0

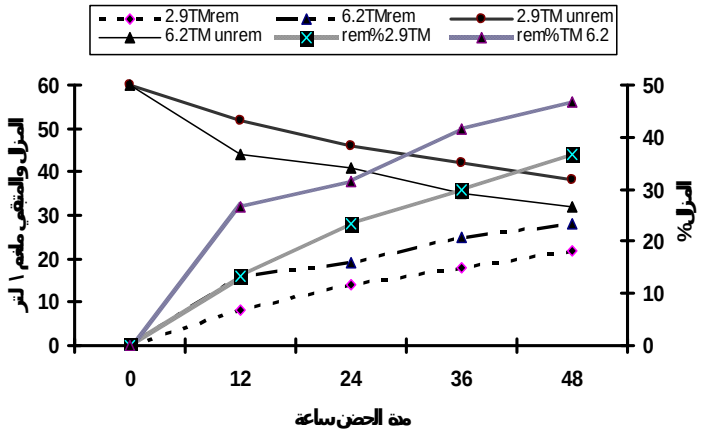
R^2 = 0.937 , r = -0.959	R^2 = 0.953 , r = -0.993	160	160	21	21	8.4	8.3	**5**
		112	120	14	12	7.9	6.9	**10**
		70	80	10	8	7.3	6.4	**20**
Con.typ.col. Y= - 0.102X + 14.58 R^2 = 0.673 , r = -0.819	**Con.typ.col.** Y= - 0.26X + 17.26 R^2 = 0.792 , r = -0.893	65	66	8	5	7.1	5.8	**30**
		60	48	8	3	6.6	4.9	**40**
		45	36	6	3	6.2	3.8	**50**
		39	32	4	2	5.7	3.1	**60**
Con.no.col. Y= - 0.824X + 117.33 R^2 = 0.694 , r = -0.833	**Con.no.col.** Y= -2.07X + 148.9 R^2 = 0.892 , r = -0.944	32	22	3	1	5.6	2.3	**70**
		28	18	3	1	5.4	0	**80**
		22	0	2	0	4.8	0	**100**
		20	0	1	0	3.9	0	**120**
		14	0	1	0	3.5	0	**140**
		8	0	1	0	2.7	0	**160**
		0	0	0	0	0	0	**180**

R:isolate *:P. vulgaris* = 150 mg Ni / l , S:isolate :*Ent. Sakazakii* = 5 mg Ni / l

S:isolate *:Ent. Sakazakii* = 5 mg Cu / l R:isolate *: P. vulgaris* = 60 mg Cu /l ,

تأثير كثافة *P. vulgaris* ومدة الحضن في إزالة عنصر النحاس

يبين الشكل (١) ان استعمال لقاح من العزلة المقاومة *P. vulgaris* بكثافة ميكروبية 6.2 Log cfu/ml قد تمكنت من ازالة ٤٦.٦ % (٢٨ ملغم Cu / لتر) بعد ٤٨ ساعة حضن وبوجود ٦٠ ملغم Cu\التر ،وبمعامل ازالة قدرة ٠.٥٨ وبفارق زيادة حوالي ١٠% مع استعمال كثافة ميكروبية ٢.٩ Log cfu/ml . و تبين من الشكل ١ ايضا ان استعمال الكثافة 6.2 Log cfu/ml قد تميزت في قدرتها للازالة خلال ساعات الحضن المبكرة (ساعة ١٢) ،اذ بلغت نسبة الإزالة ٢٦.٦ % (٦ ملغم Cu/ لتر) مقارنة بنسبة ازالة ١٣.٣ % (٨ ملغم Cu / لتر) مع استعمال كثافة ٢.٩ Log cfu/ml. كانت علاقة الارتباط المحسوبة بين كمية المزال لعنصر النحاس والمدة الزمنية للحضن علاقة خطية موجبة(١.٢ – ٦.٥ 1.2 Y=6.5x–) بمعامل تحديد ٠.٨٩ ومعامل ارتباط r=0.94 ، مع استعمال الكثافة الميكروبية 6.2 Log cfu/ml بينما كانت العلاقة 3.8 – Y=5.4x وبمعامل تحديد R^2=0.974 ومعامل ارتباط r = 0.986 مع استعمال كثافة ٢.٩ Log cfu/ml .

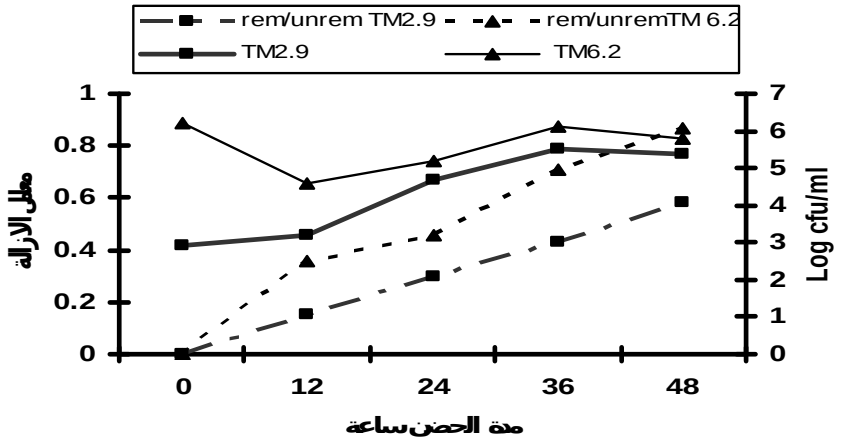


شكل ١ المزال والمتبقي ونسب الازالة لعنصر النحاس

يظهر الشكل (٢) الذي يمثل بيانات الكثافة الميكروبية المقدرة خلال مدة الحضن ومعامل الإزالة لعنصر النحاس بان استعمال الكثافة الميكروبية ٦.٢ Log cfu/ml قد تعرضت عدد خلايا اللقاح في الوسط للانخفاض بعد ١٢ ساعة لتصل ٤.٦ Log cfu/ml ثم عادت لتزداد في الوقت اللاحق، بينما حصلت زيادة في الكثافة الميكروبية مع استعمال ٢.٩ لتصل الى ٣.٢ Log cfu/ml بعد ١٢ ساعة حضن وقد تقارب عدد الخلايا الميكروبية المسجل بعد ٤٨

ساعة في الوسط رغم اختلاف معد الكثافة الميكروبية الأولية.

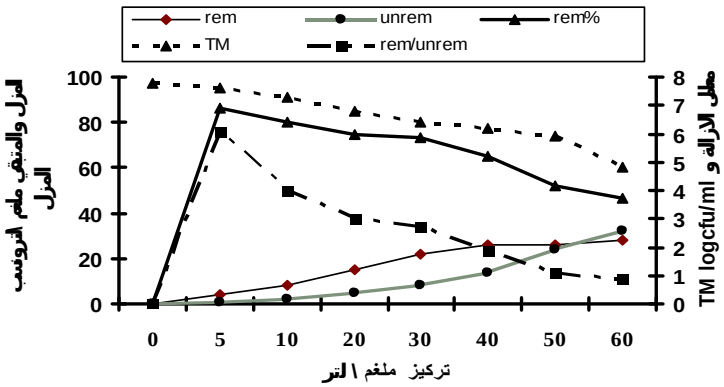
كما تبين ان معامل الازالة لعنصر النحاس كان يتزايد نسبيا مع الزمن وبمعدل اعلى مع استعمال الكثافة الميكروبية ٦.٢ Log cfu/ml (جدول ٢) . وربما يعود ذلك لتأثير زيادة الكثافة الميكروبية في الوسط للساعات الأولى من مدة الحضن والتي قد توفر حماية لبعضها وتزيد قدرتها بالاستيطان والمقاومة في الوسط واستمرار نشاطها وفعاليتها الحيوية افضل مما حقق مع استعمال الكثافة الأقل (١١).



شكل ٢ الكثافة الميكروبية ومعامل الازالة لعنصر النحاس

تاثير تراكيز مختلفة من النحاس في قدرة *P. vulgaris* للإزالة

يبن الشكل (٣) نسب الإزالة والمتبقي لعنصر النحاس بعد ٤٨ ساعة حضن في الوسط المجهز بتراكيز مختلفة تراوحت بين ٠ – ٦٠ ملغم Cu / لتر للوسط ،اذ تبين ان نسبة وكمية المزال من عنصر النحاس تقل مع زيادة تركيز النحاس في الوسط ،اذ بلغت نسبة المزال٨٤% مع تركيز ٥ ملغم Cu / لتر، وانخفضت لتصل ٤٦.٦ % مع تركيز ٦٠ ملغم Cu / لتر وبمعامل ازالة ٥.٨ ثم انخفض الى ٠.٨٧٥ . ولوحظ ان قيمة معامل الازالة بقى اعلى من ١.٠ لحد استعمال تركيز ٥٠ ملغم Cu / لتر . كما تبين من الكثافة الميكروبية المحسوبة في الوسط وجود معدلات نمو جيدة رغم انها انخفضت مع زيادة تركيز النحاس في الوسط ،وتراوحت بين ٧.٨ و ٤.٨ Log cfu/ml . وبقى عدد الخلايا الميكروبية في الوسط مساوي للعدد المضاف من اللقاح (٦.٢ Log cfu/ml) مع تركيز ٤٠ ملغم Cu /لتر .



شكل ٣ نسب الازالة والمتبقي لعنصر النحاس بعد ٤٨ ساعة

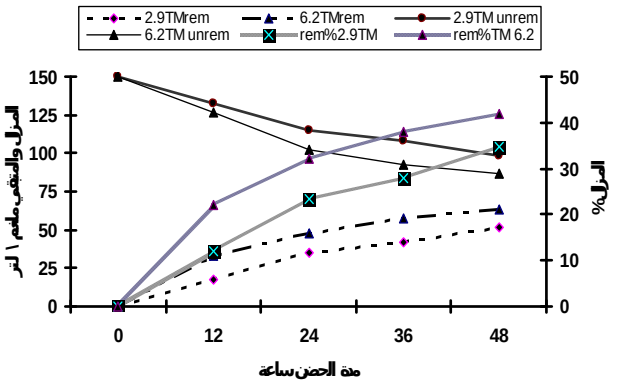
وقد أظهرت علاقة الارتباط بين التركيز المسموح به من النحاس من ٠ – ١٦٠ ملغم Cu / لتر (٦ و٨).

تاثير الكثافة ومدة الحضن على نسب الازالة للنيكل بتركيز

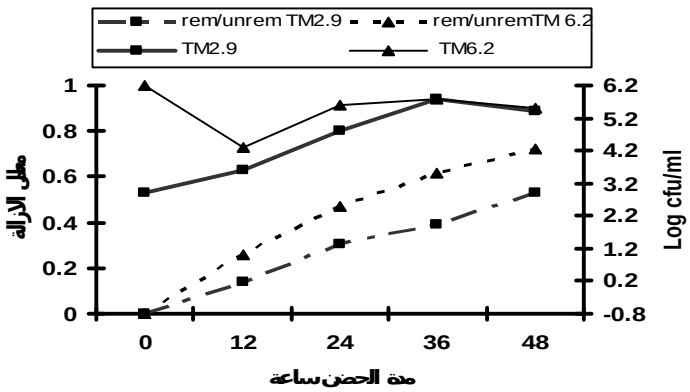
يتبن من الشكل (٤) ان كثافة خلايا العزلة *P. vulgaris* المضافة للوسط بمعدل ٦.٢ Log cfu/ml والذي يحتوي **١٥٠ ملغم Ni / لتر قد** تمكنت من تحقيق

والكمية المزالة للنحاس انها خطية موجبة تحت ظروف التجربة ((R^2= (Y = 4.35x – 3.41,r= 0.949 , 0.974)) . وقد لاحظ (١) بان العزلات التي استعملها قد تباينت في قدرتها على ازالة النحاس حسب نوع وتركيز العنصر كما أكد ذلك) عند متابعة حركيات النمو للعزلة Pseudomonas

اعلى نسبة معنوية للإزالة بلغت ٤٢ % (٦٣ ملغم / لتر)بعد ٤٨ ساعة حضن، وبمعامل ازالة قدره ٠.٧٢٤ مقارنة بنسبة ازالة قدرها ٣٤.٦ % (٥٢ ملغم **Ni** /لتر بمعامل ازالة ٠.٠٥٣ بكثافة ٢.٩ Log cfu/ml. كذلك كانت قدرة خلايا العزلة المقاومة تحت معدل كثافة خلايا ٦.٢ Log cfu/ml ذات مقدرة في إزالة نسبة ٢٢% (٣٣ ملغم**Ni** / لتر) بعد ١٢ ساعة ، مقارنة بنسبة ازالة بلغت ١٢% (١٨ ملغم**Ni** / لتر) مع استعمال كثافة خلايا ٢.٩ Log cfu/ml. وقد لوحظ حصول انخفاض شديد في عدد خلايا العزلة مع استعمالها بكثافة ٦.٢ Log cfu/ml خصوصا بعد ١٢ ساعة حضن ليصل عدد الخلايا ٤.٣ Log cfu/ml ، ثم عاد بالزيادة ليتساوى مع معدل عدد الخلايا الناتج من استعمال ثافة ٢.٩ بعد ٣٦ و ٤٨ ساعة حضن(شكل ٤) .كذلك حصل استمرار في زيادة معامل الازالة لعنصر التيكل مع زيادة مدة الحضن ، وقد سجلت علاقة الارتباط بين الكمية المزالة ومدة الحضن انها علاقة خطية موجبة تحت الكثافة ٢.٩ و٦.٢ Log cfu/ml ($Y = 15$ $Y = 12.8$ و $x - 4.8$, $R^2 = 0.889$, $r = 0.941$ $x - 9$, $R^2 = 0.966$, $r = 0.984$ على التتابع. وقد حصل (١) على نسبة ازالة ٩٦ % لعنصر النيكل من الوسط المحتوي ٨.٦ ملغم **Ni** / لتر واكد انه يمكن مضاعفة التركيزلعنصر النيكل في الوسط مع الحفاظ على نسب الازالة وذلك باستعمال تقنيات مضافة من تقيد الخلايا ونظام اللقاح المتعاقب للخلايا ، واكد ان استعمال زيادة في كثافة خلايا اللقاح تساهم في زيادة نسبة الازالة ،اذ علل ذلك بان قسم من الخلايا التي تهلك في المراحل الاولى من الحضن توفر فرصة لنجاح عملية الانتحاء الميكروبي ومقاومة التراكيز العالية من العنصر لبقية الخلايا الحية في الوسط.



شكل ٤ المزال والمتبقي ونسب الازالة لعنصر النيكل



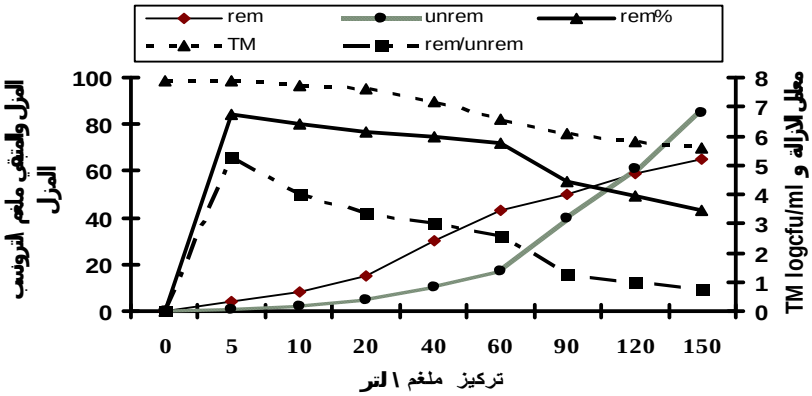
شكل ٥ الكثافة الميكروبية ومعامل الازالة لعنصر النيكل

تاثير تراكيز مختلفة من عنصر النيكل في قدرة *P. vulgaris* للازالة

يبن الشكل (٦) قدرة خلايا عزلة *P. vulgaris* في ازالة نسب مختلفة من عنصر النيكل المضاف للوسط بتراكيز تراوحت بين ٠ و١٥٠ ملغم Ni \ لتر من الوسط حيث بلغت نسبة ازالة ٩٢ % مع تركيز ٥ ملغم Ni/ لتر وبمعامل ازالة ١١.٥ ، وانخفضت مقدرة خلايا العزلة في الازالة مع زيادة تركيز عنصر النيكل ليصل ٤٣.٣ % مع التركيز ١٥٠ ملغم Ni / لتر وبمعامل ازالة ٠.٧٦٤ . وقد حافظت العزلة على ازالة عنصر النيكل من الوسط بمعامل ازالة اعلى من ١ لحد التركيز ٩٠ ملغم Ni / لتر وبمعدل كثافة للخلايا ٦.١ Log cfu/ml بعد ٤٨ ساعة حضن . كما اكدت ذلك علاقة الارتباط الخطية الموجبة بين تركيز

عنصر النيكل والكمية المزالة منه) Y= 8.93 x – 14.15 ((R² = 0.978 , r = 0.989)

وهذا يعني امكانية استعمال هذه العزلة بازالة التلوث بالنيكل لمثل هذه التراكيز والتي تعد من التراكيز الخطرة على الحياة البايولوجية في بيئية المياه والتربة (١ و ٧ و ٨).



شكل ٦ نسب الازالة والمتبقي لعنصر النيكل بعد ٤٨ساعة

المصادر

1-Cabrera G, R, Perez ; J.M.Gomez ; A. Abalos and D.Cantero(2006). Toxic effects of dissolved heavy metals on daesulfovibro vulgaris and desulfovibrio sp . strans . J.Haeard .Mater . 135 (1-3) 40 46 .

2-Armelle ,B.,J.Karine and L.Thierry (2007) . Tmpalt of substrates and cell impoilization on sidrophore activity by pseudomonas in a Fe and or Cr,Hg,Pb containing – medium J.Hazrd . Mater . 144, 1-2 (229-259).

3 – Fabio, N.M., W.N.Chris and B.S.Robeyt (2005) . Mercury volatilization and phytoextraction from base-medal mine tailings .Environmental pollution .136: 341 – 352 .

4- Vtgikar , V.P., H.H.Tabak; j.R.Haines and R.Govind (2003) . Quantification of toxic and inhibitory impact of copper and zinc on Bioengineering, 83 , 306-312.

5 – Sengor ,S.S., Barua ;P .Gikas ; T.R. Ginn ; B . Peyton ; R. K . Sani ; and N. Spycher . (2009) . Influence of heavy metals on microbial and experimental verification , Environmental Toxicology and chemistry , 28 (10) , 2020-2029 .

6 – Gikas , P . (2008) . Sigle and combined effects of nickel (Ni(11)) and cobalt (Co (11)) ions on activated sludge and on other aerobic microorganisms ; A review ,J .of Hazardous materials , 159 : 187-203 .

7 –Markwiese , J. T . and P. J. S. Colbery (2000) . Bacterial reduction of cooper –contaminated ferric oxide : coper toxiexy and the interaction between fermentative and iron –reducing bacteria , Archives of Environmental contamination and toxicology , 38 : 139 – 146 .

8 – Glkas ,P ; S.S. Sengor ; T .Ginn ; j . Moberly and B. Peyton (2009) . The effects of heavy metals and temperature on microbial growth and lag . Global Nest , J .1163 ; 325- 332 .

9 – Susheel , k. M ., G . Siloni and S. Ajay . (2004) . Metal ton effect on BOD Exertion at different temperatures int . J. Environ .Res . Pubic health . 1 (2) : 132-137

10 – Peralt ,J.R .; J. L . Gardea – Torresdey ; K . J . Tiemann ; E . Gomez , S. Arteaga, E . Roscon , and J. G . Parsons (2000) . Study of the effects of heavy metals on seed germination and plant growth on alfalfa plant cmedrcago satival growth in solid media .

conference of hazardous wajte Research . 135 – 140 .

11- Teresa R .P. and S. S. Sarma (2008) . Combined effects of heavy metal (Hg) concentration and algal (chlorella vulgaris) food density on the population growth of brchionus calyciflorus .J . of Enviromental Biology , 29 (2) : 139- 142 .

12-Baton , E.J . & Finedgold, S.M. (1990) Diagnostic Microbiology . 8th ed , Mosby –yeat – book . Inc.. Missouri .

13-Holt, J.G.; Krieg , N.R. ; Sneath , P.H. ;Staley , J.T.& Williams , S.T. (1994) Bergy,s manual of determinative Bacteriology 9th ed Williams & Wikins – co . Baltimore – London.

14-Juan, M. E., L. Huang, A. M. Domènech, E. V. Zully M. Puyen.(2005) Isolation and identification of a bacterium with high tolerance to lead and copper from a marine microbial mat in Spain .

15-Philips (1988) Scientific books , Atomic absorption data books , 5th ed England .

ISOLATION AND DIAGNOSIS OF SENSOR AND RESISTANCE BACTERIA TO COPPER, NICKEL, AND APPLICABILITY IN REMOVAL FUMBLING

AHMED M. TURKI HASSAN. A. MATAR ALI. H. ABDEL KARIM IDHAM.A.ABED
E.mail: scianb@yahoo.com

ABSTRACT: Agricultural soil extract using central processor glucose 5 g/l and added his concentration, ranging from 5 to 150 mg/l Cu or Ni, Immunized from derived soil or soil extract for industrial zone, And then isolated the bacteria Enterobacter sakazakii diagnosed sensitive of 5 mg/l Cu or Ni fertilised transactions from agricultural soils , As isolated and diagnosed bacteria Proteus vulgaris as isolated resistance of Cu concentration 60 mg and 150 mg Ni/l of inoculated transactions from soil industrial zone. And the P. vulgaris that resistance when used heavily microbes 6.2 Log cfu/ml of the highest ratios of remove components at 46.6% (28 mg Cu/l) & 42% (63 mg Ni/l) after 48 hours the lap, When you use focus 60 and 150 mg Cu, Ni\ l, order and isolation resistance P.vulgaris removals rate of removal coefficient higher than 1.0 reduce concentration of 50 mg Cu/l and 90 mg Ni/l