

## عزل وتشخيص البكتيريا المتحسسة والمقاومة لعنصري الرصاص والزنبق وتقدير نشاطهما في التحسس والإزالة

علي حازم عبد الكريم\*

ادهام علي عبد\*\*

احمد محمد تركي\*

\*قسم علوم الحياة – كلية العلوم – جامعة الانبار  
\*\*قسم علوم التربة و المياه – كلية الزراعة – جامعة الانبار

### الخلاصة

تم عزل وتشخيص البكتيرية المتحسسة والمقاومة لعنصري الرصاص و الزنبق وقيمت قدرة هذه العزلات المقاومة في إزالة التراكيز العالية للعنصرين الرصاص Pb و الزنبق Hg من وسط مستخلص التربة المزيجية الطينية. شخّصت العزلة المتحسسة بانها *Enterobacter cloacae* 2W المعزولة من مستخلص التربة الزراعية، وتتحسس لوجود تركيز 5 ملغم Pb / لتر و 0.25 ملغم Hg / لتر، كما وجد أن العزلة المقاومة والمعزولة من مستخلص التربة للمنطقة الصناعية *Pseudomonas putida* 1N قاومت تركيز 150 ملغم Pb / لتر و 3.5 ملغم Hg / لتر، واستطاعت العزلة المقاومة المضافة بكثافة لقاح للوسط 6.2 Log cfu/ml ( لوغاريتم وحدة تكوين مستعمرة \ مل ) من النمو بكثافة 6.5 Log cfu/ml بوجود الرصاص في الوسط بتركيز 90 ملغم Pb / لتر وإزالة 60% منه، كما تمكنت نفس العزلة من النمو بكثافة 4.5 Log cfu/ml بوجود تركيز 3.5 ملغم Hg \ لتر وإزالة 68.9% منه خلال مدة حضن 48 ساعة.

## Isolation and Identification of Sensor and Resistance Bacteria to Lead and Mercury and Assess an Activity in Sensor and Removal

Ahmad M. Turki\*

IA Assaffii\*\*

AH Mansur\*

\*College of Sciences – Anbar University.

\*\*College of Agriculture – Anbar University.

Accepted on 1/6/2011

### Summary

Study was conducted to isolate and diagnosis of bacterial which sensitive and resistance for components of Hg and Pb, and the ability of these isolate for resistance to remove high concentrations of Pb and Hg from components derived soil extract. Personalize *Enterobacter cloacae* 2w isolated filename as isolated from soil extract wetthass to a concentration of 5 mg Pb/L and 0.25 mg Hg/l. It also found that isolation resistance and treatable with ordinary two *Pseudomonas putida* 1N resisted concentration was 150 mg Pb/L and 3.5 mg Hg/l. And isolation resistance added massively vaccine Center 6.2 Log cfu/ml of growth density 6.5 Log cfu/ml with a shot in the Center to focus 90 mg Pb/L and remove 60% of It also has the same isolation of growth-intensive 4.5 Log cfu/ml a concentration 3.5 mg Hg/L and remove 68.9 percent during a incubation of 48 hours.

**Keywords:** bacteria , sensitive, resistance, Hg, Pb

### المقدمة

درس الباحثون ( 1 ) تلوث التربة بالمعادن الثقيلة للسنوات من 2004 – 2006 في ترب منطقة صناعية لحد ولايات الصين وأشارت نتائجها الأولية إلى تواجد عناصر الكاديوم والرصاص والزنك والألمنيوم والحديد وأكد على ضرورة الانتباه من الارتفاع المتزايد لهذه الملوثات البيئية , حيث وجد ان هذه العناصر تضاف سنويا إلى التربة بمعدلات 0.05 و 2.9 و 10 و 100 و 130 ملغم / كغم على التوالي، وتعد هذه التراكيز عالية إذا ما اخذ بنظر الاعتبار العمر التراكمي لها خاصة مع عنصري الرصاص والزنك مما يتطلب إجراء عمليات المعالجة والإزالة. كما يعد عنصر الزئبق بصورته العضوية أو المعدنية غير سام بالتراكيز الدنيا إلا أن خطره يظهر مع إجراء عملية التحول وارتباطه بالميثان عن طريق الإحياء المجهرية اللاهوائية وتزداد هذه العملية بوجود نسبة من المواد العضوية المتحللة ( 2 ) إذ يؤدي إلى تدمير الأنسجة والبيئة لذلك لأتعد عملية تقديره في بيئة التربة والمياه والترسبات كافية لحماية البيئة من الإضرار المترتبة على زيادة تراكيزه ، ويجب وضع سلسلة من الضوابط على منتجي الملوثات وفحص الاغذية ( 3، 4 و 5 ). ويتحول عنصر الزئبق بدورة الطبيعة بين الهواء والتربة والمياه ونتيجة لنشاط العمليات الصناعية والبايولوجية في مجالات مختلفة أصبح تراكمه يشكل مشكلة مهمة إذ تعتمد عملية تراكمه على مصادره وصيغة طرح الفضلات. كما انه يتواجد في بيئة التربة بشكل بقع أو بصورة منتشرة ( 6 ). أجرى الباحثون ( 7 ) معالجة بايولوجية باستعمال البكتريا المختزلة للكبريت مع استعمال مركب  $(NH_4)_2S_2O_3$  لتسريع إزالة مركبات الزئبق من المياه البحرية الملوثة بالزئبق. وجد ( 8 ) ان استعمال الكثافة الميكروبية العالية  $1.5 \times 10^6$  cfu/ml من طحالب *Chlorell vacori* وفرت حماية بايولوجية من تراكيز الزئبق العالية للنباتات النامية في الوسط ، وحدد ( 9 ) نصف التركيز المثبط للإحياء المائية من الزئبق بين 0.027 و 0.061 ملغم / لتر. كما أشار ( 10 ) الى ان تلوث التربة بعنصر الرصاص يؤثر على نشاط الإحياء المجهرية وأكد ذلك ( 11 ) إذ استعمل بعض أنواع الإحياء المجهرية كمجس أو متحسس بايولوجي لكشف تلوث التربة بالعناصر الثقيلة. وبين الباحثون ( 12 ) أن حساسية الخلايا للمعادن تعتمد على آلية امتصاص المعدن وتأثيره في الإنزيمات الخلوية الخارجية وطريقة تراكمه داخل الخلية واستهلاكه وقابليتها على إجراء التحوير أو المقاومة حسب ظاهرة الانتحاء الكيميائي للمعدن. استعمل ( 13 ) بكتريا *Pseudomonas* المنتجة للمركبات المخيلية لإزالة معادن الزئبق والرصاص والكروم من المياه الملوثة وتبين له انه بوجود تراكيز عالية من هذه المعادن يثبط إنتاج مركبات السايروفور.

وجد ( 14 ) أن وجود تركيز 10 ملغم / لتر من الرصاص في الوسط يؤثر على كمية المتطلب الحيوي للأوكسجين BOD وتزداد درجة التأثير بارتفاع درجة الحرارة مما يتوجب إجراء عملية التخفيف للمياه المعالجة بايولوجيا قبل إدخالها إلى نظام المعالجة البيولوجية . ولاحظ ( 15 ) أن إضافة اغلب المعادن الثقيلة ومنها الرصاص والزرنيق إلى بيئة الإحياء المجهرية تعمل على خفض النشاط الميكروبي للخلايا والذي ظهر من خلال زيادة مدة طور التطبع من 6- 10 إضعاف. ونظرا لزيادة كمية الفضلات غير المعالجة المطروحة الى البيئة، هدفت هذه الدراسة الى محاولة عزل و تشخيص عزلات بكتيرية تتحسس لوجود عنصر الرصاص والزرنيق في البيئة بهدف الكشف المبكر لهما وهدفت الى الحصول على عزلات مقاومة وذات قدرة في تحليل وازالة التراكيز العالية لعنصري Hg و pb من البيئة .

### المواد وطرائق العمل

عزل وتشخيص العزلات الحساسة والمقاومة لعنصري الرصاص والزرنيق: جلبت عينة من تربة زراعية رسوبية ذات نسجه مزيجيه طينية تحتوي على 18%  $CaCO_3$  واخرى من المنطقة الصناعية لمدينة الرمادي ، وحضر منهما مستخلص عجينه مشبعة وقدر فيه الرقم الهيدروجيني والايصالية الكهربائية والمادة العضوية والمحتوى الميكروبي، ثم جهز مستخلص التربة بمعدل 5 غم كلوكوز / لتر لاستعماله وسطا زرعيا ووزع في دوارق حجمية ( 100 مللتر) بمعدل 95 مللتر/

دورق وأكمل الحجم إلى 100 مللتر من محلول يحتوي على تراكيز مختلفة من عنصر الرصاص ( 0, 5, 10, 20, 40, 60, 90, 120, 150, 180 و 200 ) ملغم Pb / لتر أو عنصر الزئبق بتركيز ( 0, 0.25, 0.10, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0 و 4.5 ) ملغم Hg / لتر حيث استعمل  $HgCl_2$  و  $PbSO_4$  مصدر للرصاص والزئبق حسب الترتيب، و عدل الرقم الهيدروجيني إلى رقم 7 ثم عقت بالموصدة على درجة حرارة 121°م ولمدة 15 دقيقة تحت ضغط 1.5 جو . وزعت الأوساط حسب التراكيز على ثلاثة أطباق بمعدل 20 مللتر ملقحة بمعدل 1 مللتر من مستخلص كل تربة يحتوي  $10^5$  Log cfu/ml ( لو غار يتم وحدة تكوين مستعمرة \ مل) وحضنت بدرجة حرارة  $28 \pm 2$ °م لمدة 24 ساعة. حسبت الكثافة الميكروبية ونوع وعدد المستعمرات النامية، كما حسبت علاقة الارتباط بين تركيز العنصر (con) والكثافة الميكروبية (TM) ( ونوع المستعمرات ( Type colony ) وعدد المستعمرات No. colonies حسب الباحثون (16). انتخبت مستعمرات العزلة الحساسة لكل عنصر والعزلة المقاومة وشخصت حسب الطرائق العلمية -sequencing of PCR-amplified 16S rRNA (17 و 18).

حضر وسط المرق المغذي Nutrient broth ووزع في دوارق زجاجية حجمية ( 250 مللتر) بمعدل 200 مللتر وعقت بالموصدة ، ثم لقحت بمليء حلقة لوب من العزلة البكتيرية المنتخبة والمشخصة الحساسة والمقاومة لعنصر الزئبق أو الرصاص وحضنت بدرجة حرارة  $28 \pm 2$ °م لمدة 24 ساعة وبعد ذلك قدر عدد الخلايا الحية في الوسط لغرض تحديد كثافة الخلايا في اللقاح لكل عزلة (19). استعمل وسط مستخلص التربة الزراعية المجهز 5 غم كلوكوز المعقم ومعدل الرقم الهيدروجيني إلى 7.5 وجهاز بتركيز 3.5 ملغم Hg / لتر أو 150 ملغم Pb / لتر موزع في أنابيب اختبار بمعدل 10 مل في كل أنبوبة لقح باستعمال لقاح العزلة *P. putida* 1N بمعدل Log 2.9 أو cfu/ml 6.2 وحضنت الأنابيب الملقحة بمعدل خمسة مكررات للمعاملة بدرجة حرارة  $28 \pm 2$ °م و قدرت الكثافة الميكروبية والكمية المزالة بعد 12, 24, 36 و 48 ساعة كذلك قدرة كمية العنصر المتبقي في الوسط من خلال استخدام جهاز الامتصاص الذري اللهيبي ( Atomic ) (19). استعمل وسط مستخلص التربة الزراعية المجهز 5 غم كلوكوز ووزع في أنابيب اختبار بمعدل 10 مل لكل أنبوبة وجهاز بتركيز من عنصري الرصاص ( 0 و 5 و 10 و 20 و 40 و 60 و 90 و 120 و 150 ) ملغم / لتر ومن الزئبق ( 0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 و 3.5 ) ملغم / لتر باستعمال  $HgCl_2$  و  $PbSO_4$  وبمعدل ثلاثة مكررات لكل تركيز و عدل الرقم الهيدروجيني 7.5 وعقت ثم لقحت بمعدل Log cfu/ml 6.2 من لقاح العزلة المقاومة *P. putida* 1N وحضنت لمدة 48 ساعة بدرجة حرارة  $28 \pm 2$ °م قدر بعدها قدرة الإزالة للعناصر والكثافة الميكروبية.

### النتائج والمناقشة

أظهرت البيانات المسجلة لنمو العزلات البكتيرية من لقاح مستخلص التربة تحت تأثير تراكيز مختلفة من الرصاص والزئبق في وسط مستخلص التربة المدعم 5 غم كلوكوز / لتر بعد 48 ساعة حضن وجود نمو بكثافة ميكروبية بمعدل 10.5 و 10.6 Log cfu/ml ( لو غار يتم وحدة تكوين مستعمرة \ مل) وبمعدل 200 مستعمرة باختلاف معامل تخفيف الزرع و 24 نوع مستعمرة حسب الشكل واللون على التتابع ( جدول 1). وقد انخفضت جميع دلائل النمو الميكروبي مع زيادة تراكيز عنصري الرصاص او الزئبق كلا على حده في الوسط . حيث سجل اختفاء نوع واحد من المستعمرات بإضافة 5 ملغم Pb / لتر و 0.05 ملغم Hg / لتر لتصبح الكثافة 10.2 و 9.8 Log cfu/ml وبعدها مستعمرات ( 175 و 160 ) على التتابع . واستمر الانخفاض في جميع دلائل النمو للعزلات باستمرار زيادة تركيز العنصرين في الوسط حتى أصبح النمو الميكروبي بنوع واحد من المستعمرات (18 مستعمرة) وبكثافة 4.6 Log cfu/ml عند تركيز 150 ملغم Pb / لتر، وبمعدل نوع واحد (12 مستعمرة) وبكثافة 3.0 Log cfu/ml عند تركيز 3.5 ملغم Hg / لتر ( جدول 1 ). واختفى النمو الميكروبي في الوسط مع تركيز 200 ملغم Pb / لتر و 4.5 ملغم Hg / لتر. وقد تبين من علاقات الارتباط المحسوبة لدلائل النمو مع تركيز العنصرين في الوسط ان 50% من التنوع

الميكروبي في الوسط يختفي مع تركيز تراوح بين ( 15 - 20 ) ملغم Pb / لتر وانخفضت الكثافة الميكروبية بمعدل 50 % بتركيز 90 – 120 ملغم Pb / لتر كما انخفض عدد المستعمرات إلى 50 % بحدود تركيز ( 30 – 40 ) ملغم Pb / لتر بالمقارنة مع معاملة السيطرة، و وجد إن العلاقة بين تركيز عنصر الرصاص والكثافة الميكروبية علاقة خطية سالبة (  $y=0.045 + 10.3$  ) بمعامل تحديد  $R^2= 0.967$  ومعامل ارتباط  $-0.980$  ، كذلك سجلت علاقة الارتباط بين التركيز والتنوع أو عدد المستعمرات علاقات خطية سالبة ( جدول 1 ) . كما وجد إن العلاقة بين تركيز عنصر الزئبق والكثافة الميكروبية هي علاقة خطية سالبة (  $y=1.73x + 8.19$  ) وبمعامل تحديد  $R^2 = 0.83$  ومعامل ارتباط  $r = - 0.91$  وكذلك سجلت العلاقات الأخرى اتجاه خطي سالب مع زيادة تركيز الزئبق في الوسط ( جدول 1 ) . أظهرت نتائج الفحوصات والاختبارات الميكروبيولوجية للعزلات ان النوع البكتيري الذي اختفى بإضافة 5 أو 0.5 ملغرام من Pb أو Hg / لتر على التتابع يعود للنوع *Enterobacter cloacae* 2W ولذلك اعتبر النوع المتحسس لعنصر الرصاص والزرنيق في الوسط . كما شخص النوع البكتيري المتواجد بتركيز 150 – 180 و 3.5 – 4 ملغرام pb و Hg / لتر بأنة يعود إلى *P. putida*1N واعتبر هذا النوع هو المقاوم لعنصري الرصاص والزرنيق ضمن التراكيز المشار إليها ( جدول 1 ) . وأكد ذلك ( 11 ) الذي استعمل بعض أنواع الإحياء المجهرية كمجس أو متحسس بايولوجي لكشف تلوث التربة بالعناصر الثقيلة ، كما وجد ( 12 ) أن حساسية الخلايا للمعادن تعتمد على وطريقة تراكمه داخل الخلية واستهلاكه وقابليتها على إجراء التحويل أو المقاومة .

جدول 1 المستعمرات البكتيرية والكثافة الميكروبية تحت تراكيز مختلفة من عنصر الرصاص والزرنيق

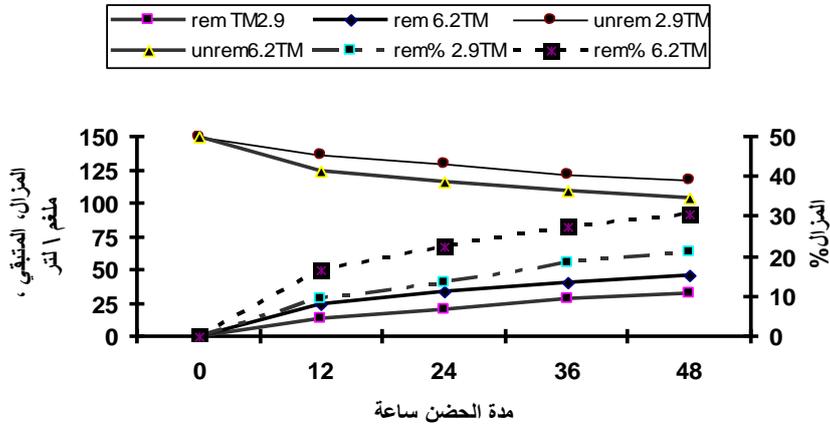
Hg	Pb	No col	Typ. col.	TM. cfu/m l	Con. Hg mg/l	No Col	Typ. col	TM. cfu/m l	تركيز Pb mg/l
		Hg	Hg	Hg		Pb	Pb	Pb	
Con, TM, $Y = -1.73X + 8.19$ $R^2 = 0.83$ , $R = -0.91$	Con, TM, $Y = -0.045X + 10.3$ $R^2 = 0.967$ , $r = -0.980$	200	24	10.5	0.0	200	24	10.6	0
		160	23	9.8	0.05	175	23	10.2	5
		130	16	7.6	0.1	146	15	9.6	10
Con, total-col $Y = -4.96X + 18.75$ $R^2 = 0.877$ , $R = -0.936$	Con, total-col $Y = -0.095X + 15.6$ $R^2 = 0.647$ , $r = -0.804$	110	12	5.6	0.5	112	8	9.1	20
		80	10	4.9	1.0	85	6	8.3	40
		60	18	4.4	1.5	44	4	7.3	60
		46	6	4.1	2.0	30	3	6.5	90
Con, typ. col $Y = -41.82X + 156$ $R^2 = 0.869$ , $R = -0.932$	Con, typ. col., $Y = -0.85X + 145.4$ $R^2 = 0.785$ , $r = -0.886$	35	4	3.8	2.5	22	2	5.6	120
		16	2	3.2	3.0	18	1	4.6	150
		12	1	3.0	3.5	15	1	2.3	180
		6	1	2.2	4.0	0	0	0.0	200
		0	0	0.0	4.5				

R:isolate : *P. putida*1N= 3.5 mg Hg / l , S:isolate : *Ent. Cloacae*2W= 0.0 5 mg Hg / l , R:isolate : *P. putida*1N 1=50 mg Pb / l , S:isolate : *Ent. Cloacae* 2W= 5 mg Pb / l , ( TM=Total microbes , Typ. Col= type colonies collar and form )

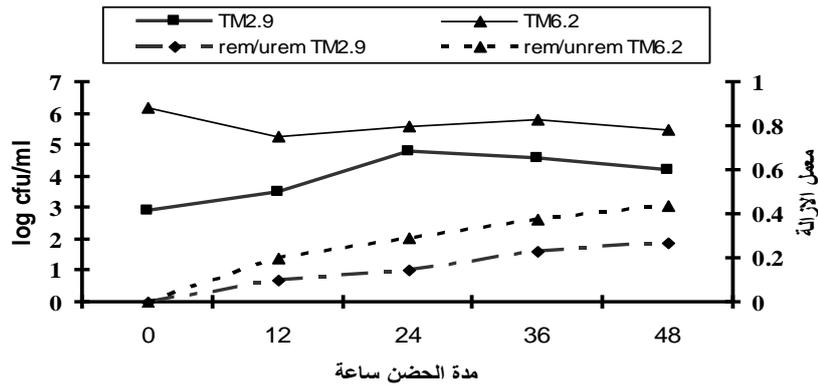
قدرة العزلة *P. putida*1N على إزالة الرصاص:

يبين الشكل ( 1 ) قدرة العزلة *P. putida*1N المضافة بكثافة ميكروبية 6.2 Logcfu/ml للوسط الذي يحتوي 150 ملغم Pb / لتر على إزالة 30.66 % ( 40 ملغرام Pb / لتر ) بعد 48 ساعة من النمو وبمعامل إزالة 0.442. بينما انخفضت قدرة العزلة *P. putida*1N المستعملة بكثافة 2.9 Log cfu/ml بإزالة الرصاص لتصل 21.3 % ( 32 ملغم Pb / لتر ) وبمعامل إزالة 0.27 بعد 48 ساعة من النمو شكل ( 2 ) . وتبين وجود علاقة ارتباط خطية موجبة عند استعمال الكثافة الميكروبية 6.2 Log cfu/ml بين المزال من الرصاص مع الزمن (  $y = 10.8 x - 3.2$  ) بمعامل تحديد  $R^2 = 0.887$  ومعامل ارتباط  $r = 0.941$  ، وعند استعمال الكثافة الميكروبية 2.9 Log

cfu/ml بين المزال من الرصاص مع الزمن (  $y=7.8-4.6$  ) بمعامل تحديد  $R^2=0.955$  ومعامل ارتباط  $r=0.977$  شكل ( 1 ) .



شكل 1 المزال والمتبقي ونسب الازالة لعنصر الرصاص خلال مدة الحضن

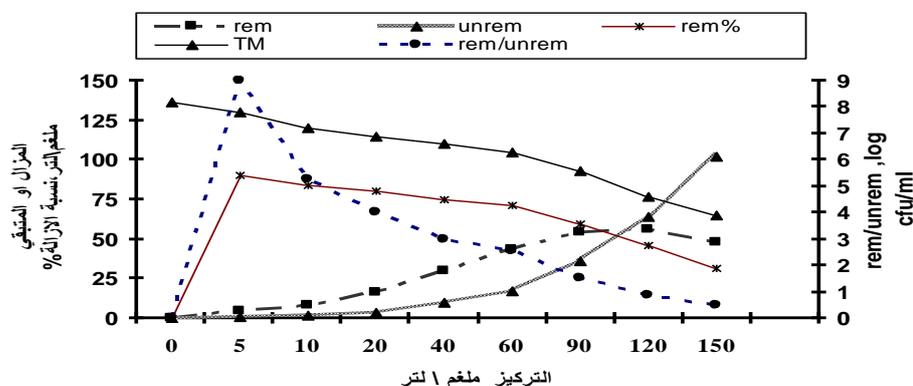


شكل 2 الكثافة الميكروبية log cfu/ml ومعامل الازالة للرصاص

أكدت نتائج ( 12 ) أن حساسية الخلايا للمعادن تعتمد على آلية امتصاص المعدن وتأثيره على الإنزيمات الخلوية الخارجية وطريقة تراكمه داخل الخلية واستهلاكه وقابليتها على إجراء التحويل أو المقاومة، وتشابهت هذه النتائج مع ما حصل عليه ( 13 ) بان بكتريا *Pseudomonas* المنتجة للمركبات المخيلية تمكنت من إزالة معادن الزئبق والرصاص والكروم من المياه الملوثة وتبين له انه بوجود تراكيز عالية من هذه المعادن يثبط إنتاج مركبات السايروفور.

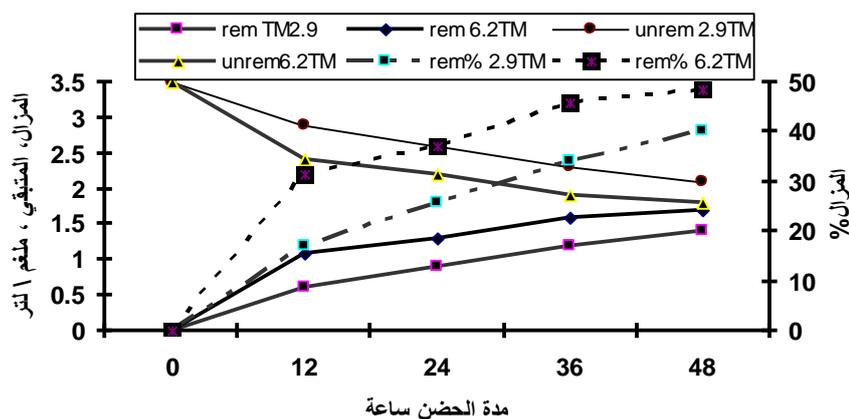
تأثير كثافة خلايا العزلة *P. putida*1N على إزالة عنصر الرصاص: يبين الشكل 3 قدرة خلايا العزلة *P. putida*1N في إزالة عنصر الرصاص، حيث اضيف لقاحها إلى الوسط بكثافة 6.2 Log cfu/ml، وحضر الوسط بتراكيز مختلفة من عنصر الرصاص تراوحت من ( 0 – 150 ) ملغم /Pb لتر، حيث تمكنت من إزالة الرصاص من الوسط بكفاءة عالية ولحد 54 ملغم /Pb لتر (60%) عند تركيز 90 ملغم /Pb لتر في الوسط، وبلغ معامل الإزالة 1.5. وحققت العزلة قدره عالية في إزالة عنصر الرصاص من الوسط مع تراكيز 5 – 60 ملغم /Pb لتر وبنسبة إزالة تراوحت بين 71.6 – 90% وبمعامل إزالة تراوح بين 2.53 - 9.0، وارتبطت قدرة الإزالة مع قدرة العزلة على النمو والتكاثر في الوسط حيث حافظت العزلة على كثافة خلايا 6.5 Log cfu/ml اعلي من معدل اضافة اللقاح للوسط ( 6 Log cfu/ml). ثم انخفضت قدرة الإزالة مع زيادة تركيز

الرصاص فوق 60 ملغم /Pb لتر شكل ( 3 ). وأظهرت علاقة الارتباط المحسوبة بين تراكيز الرصاص المضافة والكمية المزالة منه أنها علاقة خطية موجبة (  $Pb-Rem.con. TM6.2, Y=7.74 X - 9.84, R^2=0.912, r = 0.954$  ). وتبين له انه بوجود تراكيز عالية من هذه المعادن يثبط إنتاج مركبات السايذروفور (13).

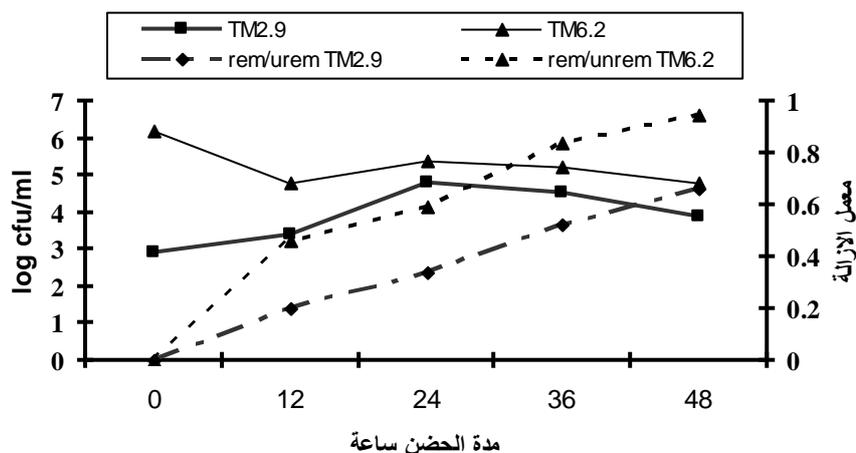


شكل 3 المزال والمتبقي ومعامل الازالة وكثافة الخلايا تحت تراكيز مختلفة للرصاص

تأثير كثافة خلايا العزلة ومدة الحضانة في قدرها *P. putida*1N في إزالة الزئبق : يبين الشكل ( 4 ) و ( 5 ) قدرة خلايا العزلة *P. putida*1N والمستعملة بكثافة 6.2 Log cfu/ml في الوسط المجهز بتركيز 3.5 ملغم / Hg / لتر على إزالة نسبة 48.57 % ( 1.7 ملغم / Hg / لتر ) بعد 48 ساعة حضانة وبمعامل إزالة 0.944 مع قدرتها على النمو بكثافة خلايا بلغت 4.8 Log cfu/ml، بينما انخفضت نسبة الإزالة لتصل 40 % ( 1.4 ملغم / Hg / لتر ) ومعامل إزالة 0.66 مع استعمال لقاح للوسط بكثافة ميكروبية 2.9 Log cfu/ml . ووجد إن علاقة الارتباط المحسوبة بين كمية المزال من الزئبق مع زمن الحضانة عند كثافة اللقاح 6.2 Log cfu/ml أنها علاقة خطية موجبة (  $y = 0.39x - 0.03$  ) بمعامل تحديد  $R^2=0.221$  ومعامل ارتباط  $r = 0.906$  شكل ( 1 ) . ويتبين من الشكل (4) إن قدرة خلايا العزلة على النمو والانقسام تحت تركيز 3.5 ملغم / Hg / لتر كانت منخفضة وظلت دون الكثافة المستعملة 6.2 Log cfu/ml اما عند استعمال كثافة خلايا في الوسط بمعدل 2.9 Log cfu/ml تحققت زيادة في كثافة الخلايا تراوحت بين 3.4 و 4.8 Log cfu/ml خلال مدة الحضانة 48 ساعة. وهذا ما اكده ( 7 ) عند اجراءه معالجة بايولوجية باستعمال البكتريا لتسريع إزالة مركبات الزئبق من المياه البحرية. كما اوضح ( 8 ) ان استعمال الكثافة الميكروبية العالية  $1.5 \times 10^6$  cfu/ml من طحالب *Chlorell vacori* وفرت حماية بايولوجية من تراكيز الزئبق العالية.

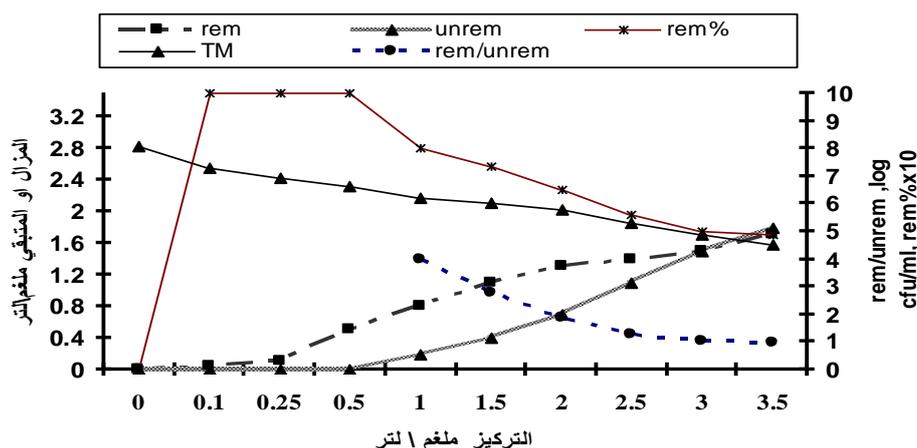


شكل 4 المزال والتمتقي ونسب الازالة لعنصر Hg خلال مدة الحضان



شكل 5 الكثافة الميكروبية log cfu/ml ومعامل الازالة للزئبق

قدرة العزلة *P. putida1N* على إزالة الزئبق تحت تراكيز مختلفة: تمكنت خلايا العزلة *P. putida1N* المضافة بكثافة 6.2 Log cfu/ml إلى الوسط المحضر بتراكيز من الزئبق تراوحت بين 0- 3.5 ملغم / لتر، من تحقيق إزالة كاملة بنسبة 100% لحد التركيز 0.5 ملغم / لتر وبنسبة إزالة 80 % للتركيز 1.0 ملغم / لتر بمعامل إزالة قدرة 4 (شكل 6)، كذلك تحققت نسبة إزالة لعنصر الزئبق بنسبة 73.3 % و 65 % مع تركيز 1.5 و 2.0 ملغم / لتر وبمعامل إزالة 2.75 و 1.85 على التتابع. وانخفضت نسبة الإزالة مع تركيز 2.5 و 3.0 ملغم / لتر لتصل 56 و 50 % بمعامل إزالة 1.27 و 1.0 على الترتيب. وحافظت الخلايا على معدل كثافة للخلايا في الوسط اعلي أو يقترب من محتوى كثافة اللقاح المضاف لحد تركيز 1.0 ملغم / لتر . ووجد أن علاقة الارتباط المحسوبة بين تركيز الزئبق والكمية المزالة علاقة خطية موجبة (  $Y = 0.21 X - 0.31$  ,  $R^2 = 0.967$ ,  $r = 0.983$  ).



شكل 6 المزال والتمتقي ومعامل الازالة وكثافة الخلايا تحت تراكيز مختلفة Hg

وقد اكد ( 13 ) بان بكتريا Pseudomonas المنتجة للمركبات المخيلية تتمكن من إزالة معادن الزئبق والرصاص والكروم من المياه الملوثة ، ولاحظ ( 15 ) أن إضافة اغلب المعادن الثقيلة ومنها الرصاص والزئبق إلى بيئة الإحياء المجهرية تعمل على خفض النشاط الميكروبي للخلايا من خلال زيادة مدة طور التطبع من 6- 10 اضعاف .

#### المصادر

1. Zhongqin LI Chuanjin LI Yuefaug LI Waugferiteug LI and Huilin LI (2007). Preliminary results from measurements of selected trace metals in the snow – firn panv on Urumqi glacier . No. 1, eastern Tien Shan , China J Galacioiogv 53: 182 , 318 – 373.
2. Teresa Ramirez Perez and Sarma SSS (2008). Combind effects of heavy metals (Hg) Concertation and algal (*Chlorella vulgaris* ) food density on the Population growth Brachinus Calyciflorus ( Rotifera : Brachouidae . J Environmental Biol . 29(2): 139 -142 .
3. Farkas A Satanki J and Pecziar A (2002). Relation between growth and the heavy metal concentrations in oranges of bream. Abramis bramal . Populating lake Balatum . Arch. Environ. Coutan Toxicol 43(2): 236-243.
4. Vtgikay VP Tabak HH Haines JR and Gouind R (2003). Quantification of toxic and inhibitory impact of Copper and Zinc an mixed cultures of sulfate – redacting bacteria Biotechn and Bioenegin. 83:306 -312.
5. Wangi F and Otters (2006). Seasonal evolution of aerosol starting –raphy in Vruwqi glacier :1: Percolation zone eastern Tian . shan Cuina – Ann. Blaciol . 43: 243-249.
6. Hinton JJ and Veiga MM (2001). Mercury contaminated sites : a review of remedial solution in proceedings of the National Institute for Mina Mata Disease forum . Mina Mata Japan: 19-20.
7. Phytoextration from base – metal mine tailings . Environmental pollution 136: 341- 352.
8. 8-Werber JH (1993). Review of possible paths for a biotic methylation of mercury (11) in the aquatic Environment Chemmoshere 26(1): 2063- 2077.
9. Ramirez – perz T. Sama SSS and Nandini S (2004). Effects of mercury on the life table demography of the rotifer , Brachionus caiyclflorus palls Ecotoxicdgy. 13: 535-544.

10. Majer BJ Tscherko D and Paschue N (2002). Effect of heavy metal contamination of soils on Micronucleus induction in *tradesautia* Anton Microbial enzyme activates: Comparative investigation . Mut Res 515:111- 124.
11. Yao HY He ZL Wilson MJ and Cambell CD (2000). Vb Microbial biomass and community structure in a sequence of soil with increasing fertility and changing land use. Microbial Ecol 40:223- 237 .
12. Cho M. Chardonnens AN and Dietz KJ (2003). Deferential heavy metal tolerance of *Arabidopsis shalleri* and *Arabidopsis thalianer* a leaf slice test New phytol 158, 287-293.
13. Armelle B Karine J and Thierry L (2006). Impact of substrates and cell .Immobilization on siderphore activity by *pseudomonas* in a Fe and or Cr, Hg, Pb contaming - medium . J Hazardous materials . 68: 08-13.
14. Susheel K.M. Silani G Ajay S (2004). Metal ton effect on Bob Exertion at different temperatures . Internat J Environ. Res and public Health tss N 1660-4601 (2): 132- 137.
15. Glas P Sengor SS Ginn T Moberly J and Peyton B (2009) The effects of heavy metals and temperature on Microbial growth and Log . Global Nest J. 11(3): 325 – 332.
16. Baton EJ Finedgold SM (1990) Diagnostic Microbiology 8<sup>th</sup> ed Mosby –yeat – book . Inc.. Missouri .
17. Holt JG Krieg NR Sneath PH Staley JT and Williams ST (1994). Bergy,s manual of determinative Bacteriology 9<sup>th</sup> ed. Williams and Wikins – Co . Baltimore – London.
18. Juan MEL Huang AM Domènech EV Zully M Puyen (2005). Isolation and identification of a bacterium with high tolerance to lead and copper from a marine microbial mat in Spain.
19. Philips (1988). Scientific books, Atomic absorption data books 5<sup>th</sup> ed England.