

عزل وتشخيص مذهري وجزيئي للبكتريا من التربة الملوثة بالنفط الخام في مصفى بيجي وقياس فعاليتها الحيوية باستخدام مستخلص السماد الحيواني كمعزز

أكثم حميد جاسم

جامعة تكريت /كلية العلوم /قسم علوم حياة Aktham.hameed@st.tu.ed.iq

أ.د. هوازن احمد عبد

جامعة تكريت /كلية العلوم /قسم علوم حياة Haadrbiology@tu.edu.iq

مستخلص:

هدفت هذه الدراسة إلى عزل وتشخيص أنواع من البكتيريا القادرة على تحليل النفط الخام من التربة الملوثة في مصفاة بيجي، مع تقييم فعاليتها الحيوية باستخدام مستخلص السماد الحيواني كمحفز، تم عزل خمس سلالات بكتيرية هي *Aeromonas sobria*، و *Pseudomonas aeruginosa*، و *Enterobacter cloacae*، و *Acinetobacter haemolytica*، و *Sphingomonas paucimobilis*، وتم تشخيصها مختبرياً وجزيئياً عبر تقنيات الاستخلاص والترحيل الكهربائي وتفاعل سلسلة البلمرة (PCR). أظهرت النتائج أن جميع السلالات تمتلك قابلية على تحليل النفط الخام بدرجات متفاوتة، وسُجلت أعلى كفاءة لدى *P. aeruginosa*، تلتها *A. haemolytica*، ثم *E. cloacae* كما تبين أن إضافة مستخلص السماد الحيواني أدى إلى زيادة فعالية التحلل الحيوي للمركبات الهيدروكربونية الكلية والأليفاتية والأروماتية. توضح هذه الدراسة الدور الإيجابي للبكتيريا المحلية والمحفزات العضوية في معالجة التربة الملوثة بالنفط.

الكلمات المفتاحية: التحلل الحيوي، التلوث النفطي، السماد الحيواني، مصفاة بيجي، البكتيريا المحللة، PCR، الهيدروكربونات النفطية.

Phenotypic and Genotypic Characterization of Bacteria from Oil-Contaminated Soil in Baiji Refinery and Evaluation of Their Bioremediation Effectiveness Using Animal Manure Extract as an Enhancer

Aktham Hameed Jasim¹ (Department of Biology, College of Science, Tikrit University)

Email: Aktham.hameed@st.tu.edu.iq

Hawazen Ahmed Abd² (Department of Biology, College of Science, Tikrit University, Tikrit, Iraq)

Email2 : Haadrbiology@tu.edu.iq

Abstract:

This study aimed to isolate and identify crude oil-degrading bacteria from petroleum-contaminated soils in Baiji refinery and assess their biodegradation efficiency, particularly using animal manure extract as a bio-stimulant. Five bacterial strains were isolated: *Aeromonas sobria*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Acinetobacter haemolytica*, and *Sphingomonas paucimobilis*. These were identified both morphologically and molecularly using DNA extraction, agarose gel electrophoresis, and PCR amplification. All strains exhibited varying capacities for crude oil degradation, with *P. aeruginosa* showing the highest efficiency, followed by *A. haemolytica* and *E. cloacae*. The addition of animal manure extract significantly enhanced the biodegradation of total petroleum hydrocarbons (TPH), aliphatic, and polyaromatic hydrocarbons. The findings underscore the potential of native bacterial strains and organic amendments in the bioremediation of oil-contaminated environments.

Keywords: Biodegradation, crude oil, animal manure, Baiji refinery, hydrocarbon-degrading bacteria, PCR, petroleum hydrocarbons.

1 - المقدمة :

السامة للنفايات البتروكيميائية التي يتم إطلاقها للبيئة اتجهت الدراسات الحديثة بتطوير تقنيات التنظيف والازالة للنفط والملوثات الأخرى من خلال استخدام العديد من الأحياء المجهرية القادرة على التحليل البيولوجي بدرجة كبيرة وذلك لكونها تعتمد على الأنشطة التحفيزية والانزيمية للكائنات المجهرية الدقيقة (Dvorak وآخرون، 2017).

برز التحلل البيولوجي كمثال لحل تكنولوجيا - اقتصادي لاستعادة النفط المتسرب للبيئة، فهو حل اقتصادي كفوء جدا ويعتبر صديق للبيئة لعلاج الملوثات النفطية على الشواطئ والتراب التي بالقرب من الحقول النفطية. وإن مقدار تأثير النفط على التربة يعتمد على حجم ونوع المتدفق من النفط ومقدار تغطيته للتربة وكذلك الفصل السنوي الذي حدث فيه التدفق للنفط إذ تمتد التأثيرات السامة لمخلفات النفط الخام الى النباتات والأحياء المجهرية الدقيقة المتواجدة في التربة (الشمري، 2018).

جميع الكائنات المجهرية الدقيقة تحفز التفاعلات الايضية وتساهم بشكل عام في النشاط الحيوي ولكل كائن حي مكانة محددة لأداء وظائف معينة في الطبيعة (Marco-Urea وآخرون، 2015). وإن معدل التحلل البيولوجي يعتمد بشكل كبير على الحالة الفسيولوجية للكائنات المجهرية والتي تكون حساسة للعوامل البيئية وعلى التركيب الكيميائي للهيدروكربونات النفطية، ومن أكثر هذه الكائنات المجهرية الدقيقة القادرة على التحلل البيولوجي هي الفطريات والبكتريا مقارنة بالأنواع الأخرى، إذ إن لكل منها مميزات خاصة تجعلها الأكثر استخدام من غيرها في العلاج البيولوجي للتلوث النفطي أو تختلف البكتريا في قدرتها على

يعد القرن العشرين فترة للديناميكية الصناعية والتطور التكنولوجي مثل التصنيع والحروب وكذلك الاستخدام المكثف للمعادن الثقيلة، والملوثات البيولوجية وعلى نطاق واسع، وادت هذه الى العديد من المشاكل البيئية التي يجب أن ينظر إليها بجدية واهتمام كبير (Dzionic وآخرون، 2016)، لما تنتجه من ملوثات للهواء والمياه والتربة وما تشكله من تهديد كبير على الصحة العامة، إذ يبلغ مقدار الملوثات النفطية الواصلة الى البيئة حوالي (8.2) مليون طن سنوياً في أنحاء العالم. برز النفط الخام لأنه المسبب الرئيس والأكثر أهمية للتلوث ومادة لأغنى عنها للاقتصاد العالمي وكذلك النمو الصناعي في الوقت الحاضر ومصدر رئيس للطاقة، إذ يبلغ حوالي 32% من الاحتياجات الكلية للطاقة في العالم (Sakthipriya وآخرون، 2015)، وان مصادر التلوث النفطي الهيدروكربوني فتكون تسرب النفط العرضي مثال على ذلك ما حدث في خليج المكسيك 2010 وكذلك ما حدث في حرب الخليج عام 1991، اذا اطلق الملايين من البراميل النفطية الى المياه (Dzionic وآخرون، 2016).

وتعتبر المصافي النفطية من أهم المصادر للتلوث النفطي حيث تستهلك كميات كبيرة جدا من المياه تفوق 1م مكعب لكل طن من النفط المكرر مع مقدار من الهيدروكربونات قد يصل تركيزها 100 ملغم لتر⁻¹ أو أكثر تلقى في الأنهار.

ونتيجة لتزايد المخاوف حول الاضرار البيئية وخاصة بعد الإنسكابات النفطية الخطيرة في الآونة الاخيرة ولإزالة هذه المخاوف والتخفيف من الآثار

المقطر ومن ثم تعقيم الوسط بالمؤصدة بدرجة 121م وضغط 15 باوند/أنج² ولمدة 15 دقيقة وبعدها ترك ليبرد ومن ثم صب في اطباق بتري واستخدم في تنمية البكتريا .

2-2-2- وسط اكار الدم Blood agar

تم تحضير الوسط حسب التعليمات للشركة المجهزة من خلال إذابة 40 غم من الوسط في لتر من الماء المقطر ومن ثم تعقيم الوسط بالمؤصدة بدرجة 121م وضغط 15 باوند/أنج² ولمدة 15 دقيقة وبعدها ترك ليبرد ومن ثم تم إضافة 5 مل من الدم لكل 500 مل من الوسط وصب في اطباق بتري واستخدم في تنمية البكتريا.

2-2-3- وسط نقيع المخ والدماغ السائل

Brain heart infusion broth

حُضِر حسب تعليمات الشركة المجهزة بإذابة 3.7 غم من الوسط في لتر من الماء المقطر وسخن حتى الإذابة كلياً، ثم عقم بالمؤصدة بدرجة 121م وضغط 15 باوند/أنج² ولمدة 15 دقيقة وبرّد في أنابيب اختبار ويستخدم لحفظ العينات مع الكليسيرين .

3-2-3- وسط الاملاح المعدنية Mineral Salt

(MSM) Media

يستخدم هذا الوسط لأختبار قدرة الفطريات وكذلك البكتيريا على تحلل النفط ويحضر ويحضر بإذابة المواد التالية:

2غم NH₄SO₄, 4 غم KH₂PO₄, 6 غم NaH-
PO₄, 0.2 غم FeS₀₄.7H₂O, 0.001 غم CaCl₂,
0.00015 غم H₃BO₃, 0.00001 غم MnSo₄
0,00007 غم ZnSo₄, 0.00001 غم CuSo₄ في لتر
من الماء المقطر، يوضع في جهاز التعقيم البخاري
Autoclave على درجة حرارة 121م وضغط

استخدام النفط الخام بما فيه من هيدروكربونات متنوعة في تركيبها الكيميائي كمصدر للكربون والطاقة، والتأكسد للهيدروكربونات النفطية (Bao وآخرون، 2014) والتي تتدرج في سرعة تحللها حسب أوزانها الجزيئية ومحتواها .

ودرس حسين وجماعتها (2017) قابلية التحلل لأربع عزلات من البكتيريا وهي *Aeromonas sp* - *Pseudomonas fluorescens* - *Proteus vulgaris* - *Micrococcus luteus* - على تحليل مخلفات النفط الخام في الوسط السائل بصورة إنفرادية وكذلك بالتأزر بين العزلات وأظهرت بكتريا *P. fluo-rescens* قابلية عالية على تحليل المركبات النفطية إذا كانت الافضل بين الأنواع بالفعل المفرد وبلغت قدرتها 93% وبالفعل المتأزر كانت بكتريا *P. fluo-rescens* و *Aeromonas sp* الأفضل بنسبة 86% .

2- المواد وطرق العمل

2-1- جمع العينات من التربة الملوثة

تم جمع العينات من التربة الملوثة بالنفط الخام من أماكن متعددة داخل مصفى بيجي وكانت التربة ملوثة بالنفط على مدى عقود من الزمن، وتم جمع العينات بشكل عشوائي وعلى مسافة تتراوح من 15-20 سم من سطح التربة بواسطة أداة حفر معقمة بواسطة الكحول الأيثيلي، وأخذت العينات من التربة الملوثة بالنفط وضعت في أكياس نايلون المعقمة وتم تسجيل المعلومات عليها كتاريخ جمع العينات ورقم العينة ونقلت إلى مختبر.

2-2- تحضير الأوساط الزرع البكتيرية

2-2-1- وسط أكار المغذي Nutrient agar

تم تحضير الوسط حسب التعليمات للشركة المجهزة بأذابة 23 غم من الوسط في لتر من الماء

درجة حرارة الخليط 50-60م وضع المشط في نهاية tray casting لعمل حفر للعينات في الهلام، صب الاكاروز في casting electrophoresis tray وترك ليتصلب بدرجة حرارة المختبر. ومن ثم بعد أن تصلب الهلام صب فوقه TBE buffer لارتفاع 2 - 5 ملم ورفع المشط من الهلام برفق ومزج 9 مايكروليتر من DNA المستخلص بصورة جيدة مع 3 مايكروليتر من صبغة 3:1 Bromophenol blue بواسطة ماصة دقيقة Micropipette ووضع المزيج في الحفر التي عملت في الهلام وغطي بغطاء، ووصلت الأقطاب الكهربائية إلى التيار الكهربائي وشغل الجهاز على 60 فولت . عمل التيار الكهربائي على ترحيل DNA باتجاه القطب الموجب وعندما وصلت صبغة Bromophenol blue الى ثلاثة أرباع الهلام جرى إيقاف التيار الكهربائي وفحص الهلام تحت الأشعة فوق البنفسجية .

2-3-2-3-2 - تفاعل سلسلة البلمرة للبكتريا

PCR) Polymerase Chain Reaction

استعملت المواد التالية في الجدول (1-2) من اجل التضخيم 16 rDNA S وكان المجموع الكلي بعد الإضافات 50 مايكروليتر.

15 باوند/أنج لمدة 20 دقيقة.، يضبط الأس الهيدروجيني (5.5). (Cui واخرون 2017)

2-3-2-3-2 - عزل وتشخيص البكتريا

2-3-2-1-3-2 - التشخيص مختبريا

عزلت العينات البكتريا بعد ان تم اخذ 1 غم من عينة التربة الملوثة وتخفيفها في 9 مل من المحلول الفسيولوجي للحصول على تخفيف من 1-10 ، ومن ثم اخذ عينة من كل تخفيف وزراعتها على الأوساط الزرعية ومن ثم شخصت الأنواع المعزولة بجهاز الفايك .

2-3-2-2-3-2 - التشخيص جزيئيا

2-3-2-1-2-3-2 - أستخلاص الحمض النووي DNA

للبكتريا

تم اخذ عذلة مفردة من البكتريا المزروعة سابقا والمراد استخلاص الحامض النووي DNA لها وزرعت في أنبوبة اختبار تحتوي على وسط خلاصة القلب والدماع السائل (BHI) وحضنت بدرجة حرارة 37 م ولمدة 24 ساعة، ثم طردت مركزيا بسرعة 14000 دورة في الدقيقة لمدة 5 دقائق ثم اخذ الراسب البكتيري إلى انبوبة ابندروف ذات حجم 1.5 مل وجرى بعد ذلك استخلاص DNA حسب الطريقة المرفقة مع ال-Kit .

2-3-2-2-2-3-2 - الترحيل الكهربائي للحمض

النووي DNA Electrophoresis

أتبعت طريقة (Mousa 2021)، للترحيل الكهربائي للحمض النووي DNA المستخلص من البكتريا وكالاتي: وزن 0.2 غم من الأكاروز و أضيف إلى 25 مل من TBE buffer و 0.2 مايكروليتر من صبغة Ethedium bromide واذيب الخليط على صفيحة التسخين لحين ذوبان مادة الاكاروز بشكل كامل و ترك بعدها ليبرد حتى أصبحت

جدول (1-2) المواد المستعملة من اجل التضخيم 16s rDNA

المادة	الحجم
DNA template	2µl (20ng)
Forward primer	2µl(20 pmol)
Reverse primer	2µl(20 pmol)
Master mix	25 µl
Nuclease-free water	19 µl
Total volumes	50 µl

- برنامج تضخيم 16s rDNA

أتبع البرنامج أدناه في الجدول لسلسلة تفاعل البلمرة PCR للبكتيريا وفقا لطريقة (Mousa.,2021)

جدول (2-2) برنامج تضخيم PCR

الخطوات Steps	الحرارة TM	الوقت Time	الدورات عدد No. of cycle
Initial denaturation	95 C°	5 min	1
Denaturation	95 C°	30 sec	35
Annealing	55 C°	30 sec	
Extension	72 C°	1 min	
Final extension	72 C°	5 min	1

أيام. وعملت دوارق سيطرة وضع فيها نطف خام دون العزلة البكتيرية لضمان عدم حدوث التحلل الحيوي بسبب التلوث. لوحظ بعد التحضين لمدة 7 أيام ان الوسط في بعض الدوارق قد تغير اللون بشكل كبير وقد أعطيت درجة (+++) وذلك دل على قابلية التحلل الحيوي العالية أما بقية الأنواع فتراوحت درجة التفسير الحيوي لها ما بين المتوسطة (++) والضعيفة (+) بالاعتماد على درجة التغير اللوني للوسط .

2-5- اختبار قابلية الأنواع البكتيرية على

التحلل الحيوي بشكل منفرد

تبعث طريقة (Patil واخرون 2012) لتقدير قابلية الأنواع البكتيرية والتي اختبرت مسبقا على

2-4- الاختبار الاولي لقابلية الانواع البكتيرية

المعزولة على التحلل الحيوي

نشطت العزلات البكتيرية على وسط Nutrient agar وحضنت بدرجة حرارة 37 م° لمدة 24 ساعة، وحضرت دوارق حجمية سعة 250 مل ووضع في كل دورق 100 مل من وسط M.S.M المحضر سابقا والمعقم وأضيف 1 مل من النفط الخام بعد تعقيمه بأوراق الترشيح GFF لكل دورق، لقحت كل دورق بقطعة من الوسط الزراعي النامي عليه العزلة البكتيرية والمأخوذة من حافة المستعمرة بواسطة ثاقب الفلين والذي قطره 6 ملم، ثم حضنت الدوارق في حاضنة هزازة على سرعة 120 دورة / دقيقة تحت درجة حرارة 37 م° لمدة 7

سابقا (بقري) و اضافته الى 100 مل من المحلول الفسيولوجي 0.85% .

2- رج المزيج لمدة 30 دقيقة يدويا او باستخدام جهاز الهزاز .

ترشبح الخليط بأستخدام ورق ترشبح نوع (Whatman1) معقمة كترشبح اولي .

3- الترشبح الدقيق بأستخدام فلتر ترشبح جاهز ذات قطر 0.22 مايكرومتر .

4- اجراء فحص مختبري للتأكد من خلو

المستخلص من الاحياء المجهرية من خلال نشر 1 مل من المستخلص على طبقين من وسط M.S.M

والتحضين بدرجة حرارة 25 م° للطبق الأول ولمدة 5 أيام والتحضين بدرجة حرارة 37 م° للطبق الثاني ولمدة 48-24 ساعة .

5- بعد التأكد من خلو المستخلص يتم إضافة 5

مل من المستخلص الى الدوارق الزجاجية المحضرة والمحتوية على الاحياء المجهرية النامية على الوسط

الزرعي M.S.M والمحتوية على 1 مل من النفط الخام بنفس الخطوات السابقة .

6- بعد التحضين لمدة 15 و 30 يوم يتم تقدير

المركبات الهيدروكاربونية والاليفاتية والاروماتية لمعرفة التغير الحاصل في تركيز هذه المركبات ومقارنته مع القياسات السابقة .

3- النتائج والمناقشة

3-1- عزل وتشخيص البكتريا مختبريا

تم تشخيص خمس أنواع من البكتريا من خلال التشخيص المجهرى وباستخدام جهاز الفايترك وهي (*Aeromonas Sobria* و *Pseudomonas aerogi-*

nosa و *Enterobacter cloacae* و *Acinetobacter hae-*

molyticas و *Sphingomonas paucimobilis*) .

تحلل النفط الخام، إذ اختيرت الانواع البكتيرية التي أعطت درجة (+++) فقط في الاختبار الاولي لمعرفة قابليتها على التحلل الحيوي للنفط الخام بصورة عزلات مفردة وبنفس الطريقة السابقة مع التحضين لمدة 15 و 30 يوم وبدرجة حرارة 37 م°.

2-6- قياس الهيدروكاربونات النفطية الكلية

قيست تراكيز الهايدروكاربونات النفطية الكلية المستخلصة من التربة و الاوساط السائلة بأستعمال جهاز التفلور Spectrofluorometer ، وتم اجراء الاختبار في مختبر قسم البحوث والسيطرة النوعية في مصفى بيجي .

2-7- قياس أنواع وتراكيز المركبات الاليفاتية

قيست أنواع وتراكيز المركبات الاليفاتية في التربة وفي أوساط النمو الزرعية السائلة للفظريات والبكتريا بجهاز كروموتوغرافيا الغاز (GC) Gas Capillary Chromatography نوع -103-5KHP125 و ChemStation Agilent وجرى ذلك في مختبر قسم البحوث والسيطرة النوعية في مصفى بيجي .

2-8- قياس أنواع وتراكيز المركبات الروماتية

متعددة الحلقات PAHs

تم قياس أنواع وتراكيز المركبات الروماتية متعددة الحلقات (PAHs) بجهاز كروموتوغرافيا السائل العالي الاداء (HPLC) Chromatography High Liquid Performance في مختبر قسم البحوث والسيطرة النوعية في مصفى بيجي .

2-9- تحضير مستخلص السماد الحيواني

تم إضافة مستخلص السماد الحيواني والمحضر حسب طريقة (Obiakalaje و اخرون 2015)

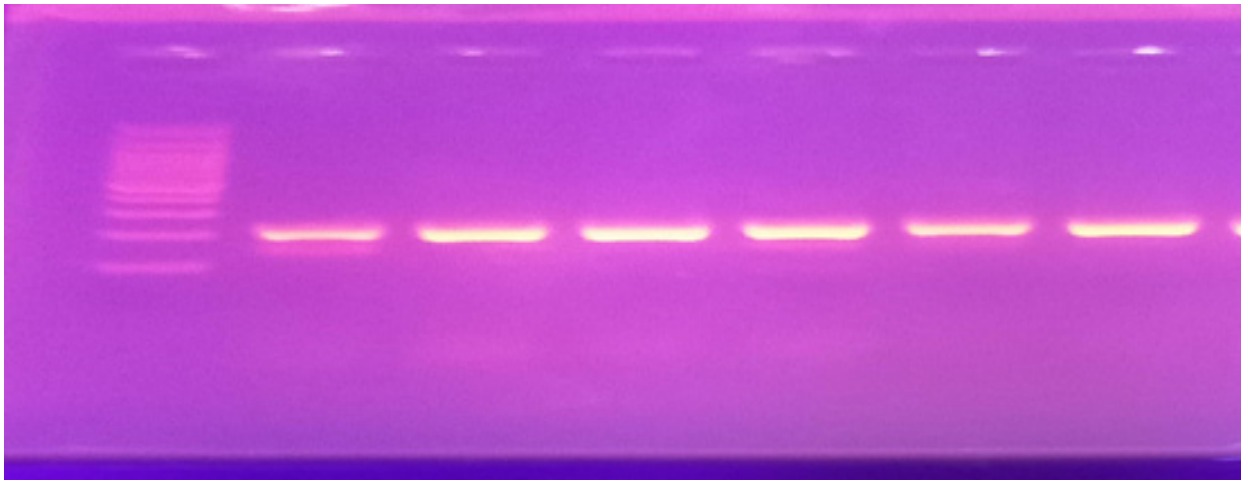
لدراسة قابليته على تحفيز البكتريا المعزولة على تحليل النفط الخام وكالتالي :

1- اخذ 10 غم من السماد الحيواني المستخدم

تشخيص البكتيريا جزيئياً بالأعتقاد على S16rDNA
وبينت نتائج الاستخلاص الجيني للبكتيريا ظهور
حزم DNA بأستعمال هلام الاكاروز يظهر حزم DNA
الاشعة الفوق بنفسجية كما في الصورة (1-3).

2-3- التشخيص الجزيئي
عزلت خمس أنواع بكتيرية خلال فترة الدراسة
من عينات التربة الملوثة بالنفط الخام وكانت
البكتيريا السالبة لصبغة كرام هي السائدة ، وجرى

صورة (1-3) توضح الترحيل الكهربائي باستعمال هلام الاكاروز يظهر حزم DNA
تحت الأشعة فوق البنفسجية للأنواع البكتيرية .



أولية على تحليل النفط الخام من خلال ملاحظة
التغير في لون الوسط الزراعي المستخدم MSM
وكذلك النمو البكتيري على في الدوارق الزجاجية
المختبرية المستخدمة وكما موضح في الجدول (1-3)
والصور (2-3) .

أظهرت نتائج تضخيم الحمض النووي DNA
للعزلات البكتيرية أن حجم الازواج القاعدية كان
بين 1000-1500 base pair زوج قاعدي .

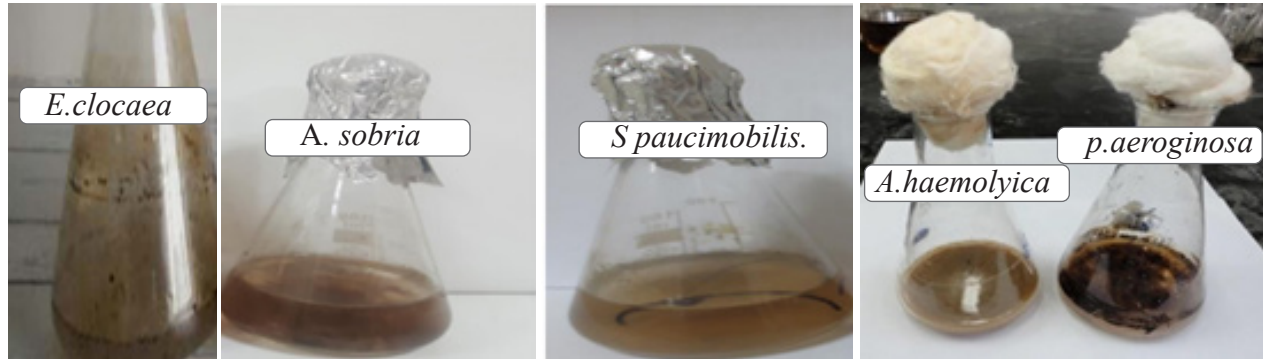
3-3- الاختبار الأولي لقابلية الأنواع البكتيرية
على تحليل مركبات النفط الخام
أظهرت جميع الأنواع البكتيرية المعزولة قابلية

جدول (1-3) قابلية تحليل النفط الخام بواسطة البكتيريا المعزولة خلال 7 أيام

التحلل الحيوي خلال 7 أيام	البكتيريا المحللة للنفط الخام
+++	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
++	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>
+++	<i>Acinetobacter haemolyticus</i>
+	<i>Aeromonas sobria</i>
+++	<i>Enterobacter cloacae</i>

* (+++) تحلل عالي (++) تحلل متوسط (+) تحلل ضعيف

صورة (2-3) توضح عملية التحلل الأولي للنفط الخام بواسطة البكتريا بعد مدة تحضين 7 أيام



وباستخدام جهاز الفلورة Spectrofluorometer وتبين من خلال الفحص ان لبكتريا- *Pseudomonas aerogino* sa الفعالية الأكبر من بين الأنواع البكتيرية على تحليل المركبات الهيدروكاربونية الكلية TPH حيث انخفض تركيز هذه المركبات من 1.77 الى 1.21 مايكروغرام/ لتر بعد فترتي التحضين 15 و30 يوم، وجاءت بكتريا *A. haemolytica* في المرتبة الثانية من حيث القدرة على تحليل TPH حيث انخفض التركيز من 1.88 الى 1.32 مايكروغرام/ لتر بعد فترتي التحضين وكانت البكتريا *E. cloacae* الأقل فعالية من بين الأنواع الثلاثة حيث انخفض التركيز من 1.99 الى 1.65 مايكروغرام/ لتر بعد فترتي التحضين مع العلم ان تركيز العينة القياسية كان 2.4 مايكروغرام/ لتر في كل العينات القياسية وكما موضحة في الجدول (2-3).

ويظهر من خلال الصورة (2-3) على وجود دلائل أشارات على أن البكتيريا تمكنت من تحلل النفط الخام منها التغير في اللون الذي حصل لوسط (MSM) و اختفاء كل أو جزء من النفط الخام أو في بعض الأحيان تشتته وكذلك تكون كتلة من النمو البكتيري أسفل الدورق وهذا يتفق مع ما أشار إليه (AL-Nasrawi, 2012) وهذا يتفق مع الدراسات السابقة حول قابلية البكتريا على التحليل مثل عبود (2018).

3-4- قياس تحليل الهيدروكاربونات النفطية الكلية TPH في الأوساط السائلة بواسطة البكتيريا اختيرت الأنواع البكتيريا التي أعطت اعلى قابلية على التحلل في الاختبار الاولي لقياس قابليتها على تحليل المركبات الهيدروكاربونية بشكل منفرد

جدول (2-3) يبين الاختلاف في تركيز المركبات الهيدروكاربونية بين الأنواع البكتيرية الثلاثة

النسبة المئوية لتحلل الحيوي	معدل TPH بعد 30 يوم	النسبة المئوية لتحلل الحيوي	معدل TPH بعد 15 يوم	نوع البكتريا
73%	1.21 ^a	55%	1.77 ^a	<i>Pseudomonas aeroginosa</i>
65%	1.32 ^a	40%	1.88 ^a	<i>Acinetobacter haemolyticus</i>
45%	1.65 ^b	20%	1.99 ^a	<i>Enterobacter cloacae</i>
-	2.3	-	2.4	Control
-	0.5	-	1.02	RSLD

* الاحرف المتشابه تشير الى عدم وجود فارق معنوي والمختلفة تشير لوجود فارق معنوي

جدول (3-3) يبين تركيز
المركبات الاليفاتية المتبقية بعد التحضين
للبكتريا *Pseudomonas aeruginosa*

تراكمات المركبات الاليفاتية بعد 30 يوم بـ $\mu\text{g/L}$	تراكمات المركبات الاليفاتية بعد 15 يوم بـ $\mu\text{g/L}$	عينة السيطرة	نوع المركب
0.02990	0.05450	0.15120	C12
0.13665	0.15480	0.50440	C13
0.19551	0.29880	0.76401	C14
0.22824	0.35880	0.80803	C15
0.18520	0.35350	0.76062	C16
0.17950	0.34490	0.72052	C17
0.17350	0.32250	0.64410	C18
0.18560	0.32090	0.63011	C19
0.21320	0.36195	0.70244	C20
0.15060	0.27800	0.52990	C21
0.13870	0.25570	0.49440	C22
0.12280	0.22620	0.49950	C23
0.11840	0.21220	0.39600	C24
0.11950	0.21600	0.39770	C25
0.12040	0.23820	0.40408	C26
0.11770	0.20560	0.34052	C27
0.15763	0.19920	0.30010	C28
0.13280	0.21850	0.31020	C29
0.12755	0.21866	0.21540	C30
0.04620	0.09790	0.14102	C31
0.03510	0.11280	0.13890	C32
0.04253	0.09940	0.09993	C33
0.02480	0.03450	0.04430	C34
0.04270	0.05355	0.07690	C35
0.01766	0.02151	0.03490	C36
0.01250	0.02670	0.03800	C37
0.00179	0.01640	0.02770	C38
3.0566	5.3016	10.1748	التركيز الكلي

أظهرت نتائج التحليل الاحصائي عدم وجود فارق معنوي ($P > 0.05$) بين الأنواع الثلاثة في معدل تراكم الهيدروكاربونات النفطية الكلية المتبقية في الوسط بعد 15 يوما من الحضانة، بينما وجد فارق معنوي ($P < 0.01$) في معدل التراكم المتبقية بعد 30 يوم، كذلك أظهرت نتائج التحليل الاحصائي وجود فارق معنوي ($P < 0.01$) في معدل تراكم TPH المتبقية في الوسط بين 15 و 30 يوما، وهذه النتائج تتفق مع (الشمري واخرون، 2018) الذي وجد ان عزلات *Pseudomonas* قادرة على تحليل TPH بنسبة 65 الى 75% خلال 30 يوم. وكذلك وجد (Prince, 2010) ان أنواع *Acinetobacter* تلعب دورا فعالا في تحليل المشتقات النفطية لكن بكفاءة اقل من أنواع *Pseudomonas*.

3-5- قياس تحليل المركبات الاليفاتية في النفط الخام بواسطة البكتيريا

استخدمت تقنية كروتوغرافيا الغاز لهذا الفحص وتعتبر المركبات الاليفاتية من اهم المركبات الهيدروكاربونية في النفط الخام وتتواجد بشكل سلسلة من المركبات الكاربونية تتراوح ما بين C12 و C38 في العينة المدروسة وتبين من خلال الدراسة ان بكتريا *P. aeruginosa* كانت الأكثر فعالية بين الأنواع البكتيرية حيث انخفض التركيز من 5.3016 الى 3.0566 مايكروغرام/ لتر في حيث انخفض التركيز عند استخدام بكتيريا *A. haemolyticus* انخفض التركيز من 6.5396 الى 4.8546 مايكروغرام/ لتر، وانخفض من 8.1641 الى 6.1222 مايكروغرام/ لتر عند استخدام بكتيريا *E. cloacae* وهي الأقل فعالية من بين الأنواع.

جدول (3-5) يبين تركيز المركبات الاليفاتية المتبقية

بعد التحضين للبكتريا *Enterobacter cloacae*

تراكم المركبات الاليفاتية بعد 30 يوم بـ /L µg	تراكم المركبات الاليفاتية بعد 15 يوم بـ /L µg	عينة السيطرة	نوع المركب
0.0000	0.01930	0.15120	C12
0.19020	0.21470	0.50440	C13
0.39965	0.45890	0.76401	C14
0.48495	0.56750	0.80803	C15
0.45850	0.54350	0.76062	C16
0.42590	0.51190	0.72052	C17
0.40008	0.46850	0.64410	C18
0.39230	0.47750	0.63011	C19
0.43520	0.54110	0.70244	C20
0.40540	0.43190	0.52990	C21
0.31102	0.39590	0.49440	C22
0.28210	0.36895	0.49950	C23
0.25100	0.32785	0.39600	C24
0.24210	0.34150	0.39770	C25
0.27500	0.39870	0.40408	C26
0.21480	0.38110	0.39800	C27
0.27234	0.47820	0.49201	C28
0.16813	0.35790	0.36020	C29
0.16750	0.20612	0.21540	C30
0.11234	0.13009	0.14102	C31
0.05630	0.13926	0.19890	C32
0.05265	0.16780	0.18566	C33
0.03370	0.11123	0.12366	C34
0.03240	0.05355	0.07690	C35
0.02250	0.02750	0.03490	C36
0.02741	0.03150	0.03800	C37
0.00873	0.01220	0.02770	C38
6.1222	8.1641	10.1748	التركيز الكلي

جدول (3-4) يبين تركيز المركبات الاليفاتية المتبقية

بعد التحضين للبكتريا *A. haemolyticus*

تراكم المركبات الاليفاتية بعد 30 يوم بـ /L µg	تراكم المركبات الاليفاتية بعد 15 يوم بـ /L µg	عينة السيطرة	نوع المركب
0.0000	0.07260	0.15120	C12
0.0000	0.16601	0.50440	C13
0.02475	0.03220	0.76401	C14
0.11870	0.20360	0.80803	C15
0.26310	0.37990	0.76062	C16
0.26850	0.46201	0.72052	C17
0.24490	0.50390	0.64410	C18
0.28370	0.45323	0.63011	C19
0.34570	0.50430	0.70244	C20
0.24550	0.39266	0.52990	C21
0.23120	0.35480	0.49440	C22
0.21270	0.31620	0.49950	C23
0.19790	0.29101	0.39600	C24
0.22950	0.29610	0.39770	C25
0.26780	0.34120	0.40408	C26
0.24201	0.29510	0.34052	C27
0.14367	0.28770	0.30010	C28
0.23655	0.28260	0.31020	C29
0.16750	0.20612	0.21540	C30
0.09650	0.13009	0.14102	C31
0.10560	0.17926	0.19890	C32
0.07120	0.16788	0.18566	C33
0.02660	0.11123	0.12366	C34
0.04640	0.05355	0.07690	C35
0.02350	0.02151	0.03490	C36
0.03018	0.02366	0.03800	C37
0.00940	0.01120	0.02770	C38
4.8546	6.5396	10.1748	التركيز الكلي

الى 4.509 مايكروغرام/ لتر وانخفض التركيز من 6.444 الى 4.854 مايكروغرام/ لتر في بكتيريا *A. haemolytica* وفي بكتيريا *Cloacae* انخفض التركيز من 7.155 الى 5.711 ميكروغرام/ لتر وكان تركيز العينة القياسية 8.51 ميكروغرام/ لتر.

3-6- اختبار قابلية البكتيريا على تحليل المركبات الاروماتية ذات الحلقات المتعددة استخدم لهذا الغرض تقنية HPLC لقياس تحلل هذه المركبات بواسطة الأنواع البكتيرية وتبين خلال الدراسة ان بكتريا *P. aeruginosa* هي الأكثر فعالية حيث انخفض التركيز من 5.584

جدول (3-6) يبين تركيز المركبات الاروماتية بعد التحضين للبكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*

نوع المركب	عينة السيطرة L/ μ g	التركيز بعد 15 يوم ب L/ μ g	التركيز بعد 30 يوم ب L/ μ g
Naphtalene	0.775	0.220	0.210
Flouranthene	0.823	0.321	0.310
Pyrene	0.876	0.370	0.240
Chrysene	0.786	0.420	0.305
Benzo[a]pyrene	1.75	1.523	1.032
Dibenzo[a,h]anthracene	1.43	1.10	1.066
Benzo[g,h,i]perylene	1.27	1.11	1.023
Indenol{1-2-3-c d} pyrene	1.22	0.520	0.323
التركيز الكلي	8.51	5.584	4.509

جدول (3-7) يبين تركيز المركبات الاروماتية بعد التحضين للبكتيريا *Acinetobacter haemolytica*

نوع المركب	عينة السيطرة μ g/L	التركيز بعد 15 يوم ب L/ μ g	التركيز بعد 30 يوم ب L/ μ g
Naphtalene	0.775	0.420	0.211
Flouranthene	0.823	0.390	0.347
Pyrene	0.876	0.410	0.390
Chrysene	0.786	0.532	0.423
Benzo[a]pyrene	1.75	1.60	1.05
Dibenzo[a,h]anthracene	1.43	1.22	1.012
Benzo[g,h,i]perylene	1.27	1.14	1.001
Indenol{1-2-3-c d} pyrene	1.22	0.732	0.420
التركيز الكلي	8.51	6.444	4.854

جدول (3-8) يبين تركيز المركبات الاروماتية بعد التحضين للبكتريا *Enterobacter cloacae*

نوع المركب	عينة السيطرة L/ μ g	التركيز بعد 15 يوم بـ μ g/ L	التركيز بعد 30 يوم بـ μ g/ L
Naphtalene	0.775	0.534	0.411
Flouranthene	0.823	0.420	0.402
Pyrene	0.876	0.621	0.597
Chrysene	0.786	0.543	0.486
Benzo[a]pyrene	1.75	1.69	1.12
Dibenzo[a,h]anthracene	1.43	1.31	1.001
Benzo[g,h,i]perylene	1.27	1.21	1.14
Indenol{1-2-3-c d} pyrene	1.22	0.822	0.543
التركيز الكلي	8.51	7.15	5.71

انخفض تركيز المركبات الهيدروكاربونية المتبقية في الوسط السائل للبكتيريا *P.aeuroginosa* من 1.18 مايكروغرام/ لتر الى 0.87 مايكروغرام/ لتر بعد التحضين لمدة 15 و 30 يوم على التوالي وكما مبين في الجدول (3-9) وكذلك الأنواع *Acinetobacter haemolytica* و *Enterobacter cloacae* انخفض فيها تركيز المركبات الهيدروكاربونية ولكن بدرجة اقل من البكتريا السابقة .

3-7- اختبار قابلية الأنواع البكتيرية على التحلل عند استخدام مستخلص السماد الحيواني كمعزز

تم اختبار الأنواع البكتيرية السابقة لمعرفة قدرتها على التحلل الحيوي بوجود مستخلص السماد الحيواني في الوسط الزراعي كمعزز لنمو هذه الأنواع البكتيرية لما يحتويه من عناصر غذائية تزيد من نمو البكتيريا وتعزز من فعالية النظام الانزيمي،

جدول (3-9) تركيز الهيدروكاربونات الكلية بعد إضافة المستخلص الى العينات البكتيرية

نوع البكتريا	معدل TPH بعد 15 يوم	النسبة المئوية لتحلل الحيوي	معدل TPH بعد 30 يوم	النسبة المئوية لتحلل الحيوي
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1.18 ^a	55%	0.87 ^a	73%
<i>Acinetobacter haemolytica</i>	1.29 ^a	40%	0.99 ^a	55%
<i>Enterobacter cloacae</i>	1.37 ^a	20%	1.02 ^b	48%
Control	2.4	-	2.3	-
RSLD	1.02	-	0.5	-

تبين من خلال الدراسة انخفاض تراكيز المركبات الاليفاتية بعد إضافة المستخلص الى البكتريا *P.aeuroginosa* من 2.990 مايكروغرام/ لتر الى 1.530 مايكروغرام/ لتر بعد انتهاء التحضيم لمدة 15 و 30 يوم على التوالي كما مبين في الجدول (3-10) وكانت هذه البكتريا الأكثر فعالية من بين الأنواع الثلاثة المدروسة .

بين من خلال الدراسة انخفاض تراكيز المركبات الاليفاتية بعد إضافة المستخلص الى البكتريا *P.aeuroginosa* من 2.990 مايكروغرام/ لتر الى 1.530 مايكروغرام/ لتر بعد انتهاء التحضيم

الانتهاء من التحضين لمدة 15 يوم، وازداد الانخفاض بعد التحضين لمدة 30 يوم ليصل الى 2.429 مايكروغرام/ لتر وكما مبين في الجدول (3-11). في حين سجلت البكتيريا *E. cloacae* الفعالية الأقل من بين الأنواع البكتيرية الثلاثة بعد إضافة المستخلص ولكن بنسبة اعلى من الاختبارات السابقة حيث انخفض تركيز المركبات الليفاتية من 4.102 مايكروغرام/ لتر الى 2.663 مايكروغرام/ لتر بعد انتهاء فترتي التحضين لمدة 15 و 30 يوم وكما مبين في الجدول (3-12).

جدول (3-11) أنواع وتركيز المركبات الليفاتية

بعد إضافة المستخلص للبكتيريا *A. haemolytica*

نوع المركب	عينة السيطرة	تراكيز المركبات الليفاتية بعد 15 يوم بـ $\mu\text{g/L}$	تراكيز المركبات الليفاتية بعد 30 يوم بـ $\mu\text{g/L}$
C12	0.1512	0.00177	0.00000
C13	0.5044	0.00561	0.00415
C14	0.7640	0.01677	0.00465
C15	0.8080	0.01789	0.00660
C16	0.7606	0.06618	0.01760
C17	0.7205	0.08415	0.03300
C18	0.64410	0.17640	0.11845
C19	0.63011	0.15180	0.11760
C20	0.70244	0.16398	0.11785
C21	0.52990	0.18886	0.12523
C22	0.49440	0.16798	0.12387
C23	0.49950	0.21761	0.13181
C24	0.39600	0.26762	0.19610
C25	0.39770	0.18910	0.12197
C26	0.40408	0.26795	0.17881
C27	0.34052	0.18899	0.15799
C28	0.30010	0.15925	0.12495
C29	0.31020	0.19997	0.13129

جدول (3-10) أنواع وتركيز المركبات الليفاتية

بعد إضافة المستخلص للبكتيريا *P. auroginosa*

نوع المركب	عينة السيطرة	تراكيز المركبات الليفاتية بعد 15 يوم بـ $\mu\text{g/L}$	تراكيز المركبات الليفاتية بعد 30 يوم بـ $\mu\text{g/L}$
C12	0.1512	0.00147	0.00000
C13	0.5044	0.00389	0.00315
C14	0.7640	0.00651	0.00340
C15	0.8080	0.00779	0.00411
C16	0.7606	0.06418	0.01585
C17	0.7205	0.07310	0.01200
C18	0.64410	0.16595	0.09845
C19	0.63011	0.14981	0.10760
C20	0.70244	0.16288	0.10785
C21	0.52990	0.18775	0.10523
C22	0.49440	0.16687	0.10387
C23	0.49950	0.21675	0.12181
C24	0.39600	0.26687	0.16510
C25	0.39770	0.18899	0.11197
C26	0.40408	0.25793	0.13881
C27	0.34052	0.17895	0.11799
C28	0.30010	0.14899	0.10495
C29	0.31020	0.18987	0.11129
C30	0.21540	0.16979	0.03861
C31	0.14102	0.12420	0.02297
C32	0.13890	0.11668	0.00823
C33	0.09993	0.07759	0.00998
C34	0.04430	0.01986	0.00499
C35	0.07690	0.01897	0.00560
C36	0.03490	0.00909	0.00210
C37	0.03800	0.00673	0.00423
C38	0.02770	0.00871	0.00000
التركيز الكلي	10.1748	2.990	1.530

وجاءت البكتيريا *A. haemolytica* في المرتبة الثانية وكما في الاختبارات السابقة حيث انخفضت تراكيز المركبات الليفاتية الى 3.127 مايكروغرام/ لتر بعد

0.18991	0.29850	0.40408	C26
0.16809	0.21910	0.34052	C27
0.13995	0.19945	0.30010	C28
0.15239	0.22997	0.31020	C29
0.14991	0.18851	0.21540	C30
0.12397	0.13650	0.14102	C31
0.10960	0.12751	0.13890	C32
0.05991	0.08914	0.09993	C33
0.01499	0.03041	0.04430	C34
0.00991	0.01995	0.07690	C35
0.00210	0.01103	0.03490	C36
0.00661	0.01779	0.03800	C37
0.00141	0.00987	0.02770	C38
2.482	3.963	10.1748	التركيز الكلي

نوع المركب	عينة السيطرة	تراكيز المركبات الاليفاتية بعد 15 يوم بـ $\mu\text{g/L}$	تراكيز المركبات الاليفاتية بعد 30 يوم بـ $\mu\text{g/L}$
C30	0.21540	0.17743	0.13861
C31	0.14102	0.13530	0.12297
C32	0.13890	0.12668	0.01823
C33	0.09993	0.08876	0.01998
C34	0.04430	0.02921	0.01499
C35	0.07690	0.01987	0.00980
C36	0.03490	0.00103	0.00100
C37	0.03800	0.00779	0.00540
C38	0.02770	0.00980	0.00000
التركيز الكلي	10.1748	3.127	2.429

جدول (3-12) أنواع وتركيز المركبات الاليفاتية

بعد إضافة المستخلص للبكتريا *E. cloacae*

وعند قياس تركيز المركبات الاروماتية وجد ان هناك انخفاض في تركيز هذه المركبات بعد إضافة المستخلص وللانواع البكتيرية الثلاث ولكن بدرجات متفاوتة وبشكل اعلى من الانخفاض في الاختبارات السابقة، حيث انخفض تراكيز المركبات من 3.124 الى 1.902 مايكروغرام/ لتر بعد التحضين لمدة 15 و30 يوماً وعند استخدام البكتريا *Paeruginosa* وكما مبين في الجدول (3-13)، حيث كانت مركبات Naphtalene و Flou-ranthe هي الأقل تركيز والأكثر تحلل من بين المركبات الاروماتية بسبب وزنها الجزيئي في حين كانت مركبات Benzo[g,h,i]perylene و Inde-pyrene هي الأعلى تركيز والأقل تحلل بسبب وزنها الجزيئي العالي وتعقيد تركيبها الكيميائي .

نوع المركب	عينة السيطرة	تراكيز المركبات الاليفاتية بعد 15 يوم بـ $\mu\text{g/L}$	تراكيز المركبات الاليفاتية بعد 30 يوم بـ $\mu\text{g/L}$
C12	0.1512	0.00199	0.00093
C13	0.5044	0.00694	0.00498
C14	0.7640	0.01766	0.00767
C15	0.8080	0.01810	0.00740
C16	0.7606	0.06718	0.01965
C17	0.7205	0.08651	0.04400
C18	0.64410	0.27640	0.13845
C19	0.63011	0.26170	0.13896
C20	0.70244	0.29410	0.17890
C21	0.52990	0.29915	0.17667
C22	0.49440	0.27891	0.15387
C23	0.49950	0.25871	0.14681
C24	0.39600	0.26852	0.19910
C25	0.39770	0.24981	0.13597

جدول (3-13) تركيز وأنواع المركبات الاروماتية بعد إضافة المستخلص للبكتريا *Pauroginosa*

نوع المركب	عينة السيطرة L/ μ g	التركيز بعد 15 يوم بـ μ g/ L	التركيز بعد 30 يوم بـ μ g/ L
Naphtalene	0.775	0.303	0.182
Flouranthene	0.823	0.427	0.191
Pyrene	0.876	0.432	0.204
Chrysene	0.786	0.496	0.216
Benzo[a]pyrene	1.33	0.301	0.276
Dibenzo[a,h]anthracene	1.43	0.560	0.361
Benzo[g,h,i]perylene	1.27	0.630	0.387
Indenol{1-2-3-c d} pyrene	1.22	0.590	0.271
التركيز الكلي	8.51	3.733	2.088

وانخفض التركيز عند استخدام بكتريا *A.haemolytica* بنسبة اقل من البكتريا السابقة حيث انخفض التركيز من 4.110 الى 2.608 اعلى نسبة تحلل لهذه البكتريا وكما مبين في الجدول. خلال المقارنة مع الاختبارات السابقة نجد انها مايكروغرام/ لتر بعد انتهاء فترتي التحضين ومن

جدول (3-15) تركيز وأنواع المركبات الاروماتية بعد إضافة المستخلص للبكتريا *A.haemolytica*

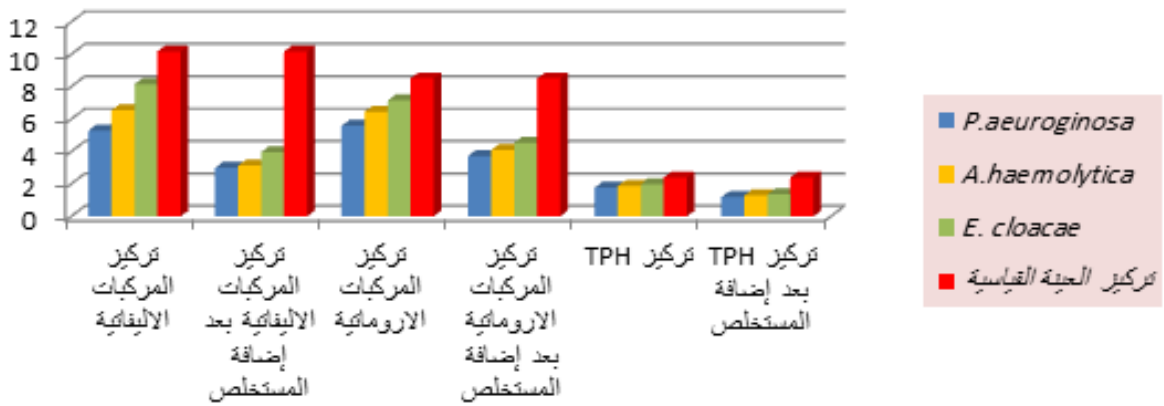
نوع المركب	عينة السيطرة L/ μ g	التركيز بعد 15 يوم بـ μ g/ L	التركيز بعد 30 يوم بـ μ g/ L
Naphtalene	0.775	0.370	0.201
Flouranthene	0.823	0.385	0.221
Pyrene	0.876	0.343	0.287
Chrysene	0.786	0.510	0.312
Benzo[a]pyrene	1.33	0.545	0.391
Dibenzo[a,h]anthracene	1.43	0.740	0.410
Benzo[g,h,i]perylene	1.27	0.654	0.399
Indenol{1-2-3-c d} pyrene	1.22	0.613	0.387
التركيز الكلي	8.51	4.101	2.608

اما البكتريا *E. cloacae* فقد سجلت اقل فعالية من بين الأنواع الثلاث بعد إضافة المستخلص حيث انخفض التركيز من 4.542 الى 2.901 و30 يوم على التوالي وكما مبين في الجدول ادناه . مايكروغرام/ لتر بعد انتهاء فترتي التحضين 15

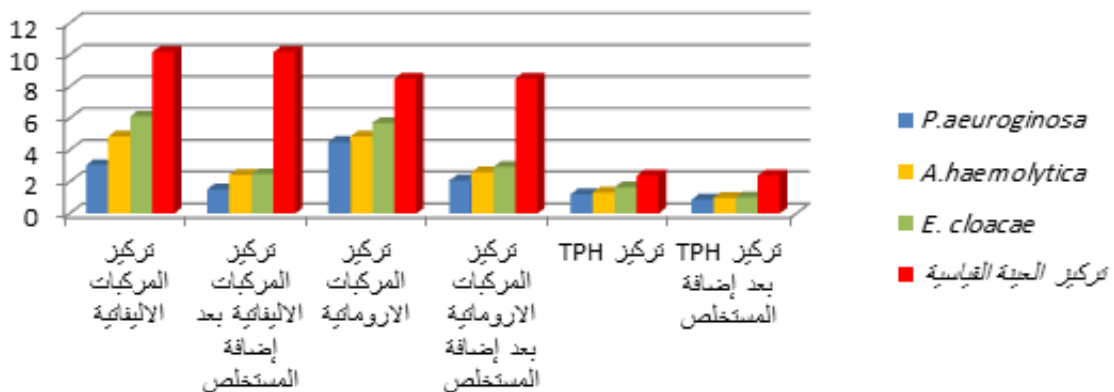
جدول (3-16) تركيز وأنواع المركبات الاروماتية بعد إضافة المستخلص للبكتريا *E. cloacae*

نوع المركب	عينة السيطرة $\mu\text{g/L}$	التركيز بعد 15 يوم بـ $\mu\text{g/L}$	التركيز بعد 30 يوم بـ $\mu\text{g/L}$
Naphtalene	0.775	0.388	0.307
Flouranthene	0.823	0.495	0.243
Pyrene	0.876	0.510	0.299
Chrysene	0.786	0.545	0.361
Benzo[a]pyrene	1.33	0.551	0.410
Dibenzo[a,h]anthracene	1.43	0.761	0.455
Benzo[g,h,i]perylene	1.27	0.659	0.478
Indenol{1-2-3-c d} pyrene	1.22	0.633	0.392
التركيز الكلي	8.51	4.542	2.945

شكل (3-1) يوضح الاختلاف ما بين تركيز المركبات الهيدروكاربونية الكلية والاليفاتية والاروماتية المتحللة بفعل البكتيريا بعد إضافة المستخلص وقبلها بعد التحضين لمدة 15 يوم



شكل (3-2) يوضح الاختلاف ما بين تركيز المركبات الهيدروكاربونية الكلية والاليفاتية والاروماتية المتحللة بفعل البكتيريا بعد إضافة المستخلص وقبلها بعد التحضين لمدة 30 يوم



ik, U. (2016). Natural carriers in bioremediation: A review. *Electronic Journal of Biotechnology*, 23, 28–36.

- Dvorak, P., Nikel, P. I., Damborsky, J., & de Lorenzo, V. (2017). Bioremediation 3.0: Engineering pollutant-removing bacteria in the times of systemic biology. *Biotechnology Advances*, 35(7), 845–866.
- Hussein, A. H., Al-Maliky, S. K., & Salih, H. S. (2017). Ability of some bacterial isolates to degrade petroleum hydrocarbons in liquid media. *Journal of Environmental Science and Pollution Research*, 3(2), 32–41.
- Marco-Urrea, E., García-Romera, I., & Aranda, E. (2015). Potential of non-ligninolytic fungi in bioremediation of chlorinated and polycyclic aromatic hydrocarbons. *New Biotechnology*, 32(6), 620–628.
- Miyoshi, N., Kawakami, T., Iwahashi, H., & Iwahashi, Y. (2005). Use of DNA microarray technology for monitoring yeast responses to stress. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 100(3), 267–279.
- Mousa, A. A. (2021). Enzymatic properties of crude oil-degrading fungi isolated from Maysan province. *Basrah Journal of Science*, 39(1), 90–101.
- Obiakalije, C. A., Okerentugba, P. O., & Okpokwasili, G. C. (2015). Biodegradation of refined petroleum hydrocarbons in soil using mixed bacterial cultures. *Journal of Environmental Science and Technology*, 8(6), 297–307.
- Patil, J. A., Jadhav, J. P., & Govindwar, S. P. (2012). Biodegradation of triphenyl-

المصادر

– العربية

- عبود، أحمد حسن. (2018). التحلل البيولوجي للمركبات النفطية بواسطة البكتيريا المحلية. *المجلة العراقية للعلوم البيئية*، 14(2)، 101–110.
- الشمري، خالد عبد الله، وآخرون. (2018). تقييم فعالية بعض العزلات البكتيرية في إزالة التلوث النفطي. *مجلة علوم البيئة*، 9(3)، 55–62.

– الإنكليزية

- Al-Nasrawi, A. H. (2012). Biodegradation of crude oil by bacteria isolated from contaminated soil and water. *Research Journal of Environmental and Earth Sciences*, 4(5), 525–528.
- Bao, M. T., Wang, L. N., Sun, P. Y., Cao, L. X., & Li, Y. M. (2014). Biodegradation of crude oil using an efficient microbial consortium in a simulated marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, 83(1), 79–86.
- Cui, Z ; Zhang, X ; Yang, H and Sun, L. (2017). Bioremediation of heavy metal pollution utilizing composite microbial agent of *Mucor circinelloides*, *Actinomyces* sp and *Mortierella* sp. <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.jece.2017.07.021>.
- Das, N., & Chandran, P. (2011). Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: An overview. *Biotechnology Research International*, 2011, 941810.
- Dzionek, A., Wojcieszynska, D., & Guz-

methane dye by *Pseudomonas* species. *Acta Biologica Szegediensis*, 56(2), 217–224.

- Prince, R. C. (2010). Bioremediation of marine oil spills. *Oil & Gas Science and Technology*, 65(4), 541–546.
- Rahman, K. S. M., Rahman, T. J., McClean, S., Marchant, R., & Banat, I. M. (2002). Rhamnolipid biosurfactants production by strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Biotechnology*, 7(3), 327–338.
- Sakthipriya, N., Doble, M., & Sangwai, J. S. (2015). Bioremediation of petroleum oil contaminated soil and water. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(5), 3431–3444.