



جامعة الموصل  
كلية العلوم

## عزل وتشخيص بعض انواع الجراثيم المحللة للمركبات الهيدروكاربونية من ترب محافظة نينوى

إيمان محمد طاهر عزيز

رسالة ماجستير  
علوم الحياة/ أحياء مجهرية

بإشراف  
الأستاذ  
الدكتورة أديبة يونس شريف حمو النعمان

## الخلاصة

تضمنت الدراسة جمع (100) عينة تربة من مناطق مختلفة من محافظة نينوى والاقضية التابعة لها بعضها مناطق ملوثة كمصفاى الكسك وقرية العلوية وقرية البوير ومنطقة الشخان بهدف عزل وتشخيص الانواع الجرثومية للتربة ودراسة قابلية بعض الجراثيم المعزولة على تحليل النفط الابيض وزيت الغاز والنفط الخام.

أظهرت نتائج العزل الحصول على 137 عزلة جرثومية من الأنواع الموجبة والسالبة لصبغة جرام. وبنسبة 74.45% للأنواع الموجبة لصبغة جرام و 25.55% للأنواع السالبة لصبغة جرام، شكل الجنس *Bacillus* نسبة 69.6% من الجراثيم الموجبة لصبغة كرام وإن أكثر الأنواع عزلاً كان النوع *B.circulans* وبنسبة 26.47% من مجموع الجراثيم الموجبة وشكلت *Proteus mirabilis* أكثر الأنواع عزلاً من الجراثيم السالبة لصبغة كرام وبنسبة 28.57% من مجموع الجراثيم السالبة لصبغة جرام. وعند التحري عن قابلية عدد من أنواع الجراثيم المعزولة من الترب المحلية لتحليل المركبات الهيدروكربونية والتي شملت أنواع من جنس *Bacillus* وهي *B.cereus* و *B.subtilis* و *B.mycoides* و *B.megaterium* و *B.circulans*، وأنواع من جنس *Micrococcus* وهي *M.roseus* و *M.luteus* و *M.varians* وذلك باستخدام وسط الأملاح المعدنية الحاوي على المصادر الهيدروكربونية وبنسبة 1%. أظهرت نتائج الدراسة زيادة في معدلات نمو معظم عزلات *M.roseus* و *M.luteus* و *M.varians* إذ كانت معدل أعدادها عند بداية التجربة  $42 \times 10^9$  و  $31 \times 10^9$  و  $24 \times 10^9$  و  $25 \times 10^7$  و  $30.4 \times 10^9$  و  $25.3 \times 10^9$  للنوعين *M.roseus* و *M.luteus* على المصادر الهيدروكربونية النفط الابيض وزيت الغاز والنفط الخام على التوالي ووصلت إلى  $36 \times 10^6$  و  $36 \times 10^8$  و  $31.2 \times 10^9$  و  $30 \times 10^6$  و  $28.5 \times 10^7$  و  $22.5 \times 10^6$  لهذين النوعين من الجراثيم على التوالي وعلى المصادر الهيدروكربونية نفسها في حين لم تتمكن احدى عزلات *M.luteus* من النمو في الوسط الحاوي على النفط الابيض زيت الغاز والنفط الخام وإحدى عزلات *M.varians* وعزلتي *M.roseus* على النفط الابيض والنفط الخام.

أما الأنواع التابعة لجنس *Bacillus* والنامية على النفط الأبيض وزيت الغاز والنفط الخام فقد أظهر نمواً جيداً وبأعداد أعلى  $30 \times 10^5$  لمعظم أنواعها ما عدا *B.circulans* التي لم تتمكن من النمو على النفط الأبيض وإحدى عزلات *B.megaterium* و *B.subtilis* و *B.cereus* على النفط الخام وسجلت زيادة في الامتصاصية الضوئية خلال أوقات التجربة وبتناسق مع الزيادة في الأعداد الحية للبكتريا للأنواع التابعة لجنس *Micrococcus* و *Bacillus* النامية على النفط الأبيض وزيت الغاز والنفط الخام.

كما سجل انخفاض في الدالة الحامضية لجميع العزلات التي أظهرت نموا جيدا على المصادر الهيدروكربونية المختلفة في الدراسة والتي عدت دليلا على قدرتها لتحليلها. فيما بقيت الدالة الحامضية عند pH 7.0 للعزلتين *M.roseus* النامية على النفط الأبيض وإحدى عزلات *M.luteus* وعزلتين لـ *M.roseus* وإحدى عزلات *M.luteus* النامية على النفط الخام وكان الانخفاض في الأس الهيدروجيني قليلا إذ وصل إلى 6.5 للعزلتين *M.luteus* و *M.varians* النامية على النفط الأبيض والنفط الخام وإحدى عزلات *M.roseus* النامية على زيت الغاز والنوع *B.circulans* النامية على النفط الأبيض و *B.cereus* و *B.subtilis* و *B.megaterium* النامية على النفط الخام وإنّ هذا الانخفاض ظهر في العزلات التي توقف نموها في اليوم الرابع للتجربة وعد استحلاب الوسط واختفاء الطبقة الزيتية من على سطحه دليلا على قدرة الجراثيم لاستهلاكه. إذ أظهرت معظم الأنواع والعزلات المحللة استحلابا كاملا. كما تم اعتماد تقنيتي Gas-Chromatography GC و Infra-IR إذ لوحظ اختفاء أعداد كبيرة من الحزم العائدة للنفط الابيض وزيت الغاز المعامل بالعزلات الجرثومية المستخدمة في الدراسة مقارنة مع عينة النفط الابيض وزيت الغاز غير المعامل. ولوحظ كذلك اختفاء عدد من الأواصر عند استخدام تقنية IR إذ ظهرت اواصر الحامض الكاربوكسيلي والأميد والإستر في العينات المعاملة بالعزلات الجرثومية المحللة. ومن النتائج لوحظ أنّ الأنواع المعزولة من مناطق ملوثة أظهرت قابلية جيدة لتحليل المركبات الهيدروكربونية.

**University of Mosul  
College of Science**



**Isolation and Identification of some  
Hydrocarbon Degrading Bacteria  
from Soil in Nenavha Governorate**

**Eman M. T. Azeez**

**Master Thesis  
in  
Biology/Microbiology**

**Supervised by**

**Professor**

**Dr. Adeeba Y. Sh. Al-Nuaman**

## Abstract

The study include the collection of 100 soil sample from Nenavah and it's vicinity, some of them were pollutant areas from Al-Kassic, Alalolia, Al-bwer Village, and Al Shikhan to isolated and identify and study the ability of some bacteria to degrade kerosene, diesel and crud oil. The results showed that the isolation of (137) bacterial isolates of both gram negative and positive bacteria, (74.45)% represent gram positive bacteria and (25.55)% were of the gram negative. *Bacillus* formed (69.6)% of the gram positive isolates, *B.circulans* was (26.47)% the most frequent isolate while *Proteus mirabilis* form (28.57)% of all gram negative bacteria. The ability of some isolated bacteria to degrade hydrocarbons including kerosene, diesel, crude oil was studied for *Bacillus* and *Micrococcus* which includes, *B.circulans*, *B.cereus*, *B.mycoids*, *B.subtilis*, *B.megaterium*, *B.circulans*, *M.luteus*, *M.roseus* and *M.varians* in mineral salts medium containing (1)% of hydrocarbon sources.

The results showed an increase in the growth rates for most strain of *M.roesus*, *M.luteus* and *M.varians* as the mean count were  $42 \times 10^9$ ,  $31 \times 10^9$ ,  $24 \times 10^9$ ,  $25 \times 10^7$ ,  $30.4 \times 10^9$  and  $25.3 \times 10^9$  for *M.roseus* and *M.luteus* grown on kerosene, diesel and crude oil respectively, at the beginning and reached  $36 \times 10^6$ ,  $36 \times 10^8$ ,  $31.2 \times 10^9$ ,  $30 \times 10^6$ ,  $28.5 \times 10^7$ ,  $22.5 \times 10^6$  for mentioned species respectively on the same hydrocarbonic source at the end, whereas one strain of *M.luteus* didn't grow in the media containing kerosene diesel, and crude oil, and one strain of *M.varians* and two strain of *M.roseus* didn't grow in the media containing kerosene and crude oil all *Bacillus* species growing on kerosene, diesel and crude oil showed a good growth with colony count more than  $30 \times 10^5$  for all strains except *B.circulans* which didn't grow on kerosene and of

the strains of *B.megaterium*, *B.subtilis* and *B. cereus* which didn't grow on crude oil. An increase in photo absorption was recorded during the experimental period which were corresponding with increased viable counts of bacteria belonging to the genera of Micrococcus and Bacillus on kerosene, diesel, and crude oil. A decrease in pH was also recorded for all strain which showed a good growth on the different hydrocarbon sources used in the study which was considered as an indicator of their ability for degradation. While pH remained at (7.0) for two strains of *M.roseus* on kerosene one strain of *M. luteus* on diesel and two strains of *M.roseus* and one strain of *M. luteus* on crude oil. The decrease in pH was few as it reased (6.5) for two strains of *M. luteus* and *M. varians* growing on kerosene and crude oil one strain of *M. roseus* on diesel, *B.circulans* on kerosene and *B. cereus*, *B. subtilis*, *B. megaterium* on crude oil, this little decrease appeared in the strains which stopped growth at day four of the experiment Emulsification of media and disappeared of oil later of the surface was regarded as indicator for the ability of bacteria to consume hydrocarbon sources as most of hydrolytic strains showed complete emulsification.

Gas chromatography (GC) and Infrared-IR techniques were used as indicators as disappearance of number of bands kerosene and diesel treated with the bacterial isolates used in the study compared with untreated sample of kerosene and diesel. And the disappearance of number of bonds was observed using IR technique, the carboxylic acid, amid and ester bonds appeared in bacterial treated sample. The bacteria isolated from polluted area have a good ability in the their hydrolytic activity.