

الفعل الانفرادي والمشارك لبعض العزلات البكتيرية في التحلل الحيوي ١. لنفط خام القيارة

ياسين حسين عويد

قسم علوم الحياة - كلية التربية للبنات - جامعة تكريت - تكريت - العراق

الخلاصة

صممت هذه الدراسة للتعرف على مدى قابلية كل من العزلات البكتيرية *Pseudomonas aeruginosa* و *Bacillus Subtilis* و *Actinomyces spp*. لتحليل نفط خام القيارة الثقيل بصورة انفرادية وكذلك بالتأزر بين العزلات الثلاث اذ جاء التأزر بين العزلات الثلاث بالمرتبة الاولى وبلغ تحلل النفط الخام اكثر من ٧٧ % فيما كان الفعل الانفرادي لكل من الـ *Pseudomonas aeruginosa* و *Actinomyces spp*. لتحلل النفط الخام متقارباً جداً ليبلغ اكثر من ٦٨% واكثر ٦٧ % على التوالي فيما جاءت عزلة الـ *Bacillus Subtilis* بالمرتبة الاخيرة في قدرتها لتحليل نفط خام القيارة ليكون اكثر من ٤٥ % . كذلك اشارت الدراسة الى اعتماد التحليل باستخدام تقنية كروماتوغرافيا الغاز (Gas-Chromatography (G-C) وطيف الاشعة تحت الحمراء Infra-Red ، اذ كانت مؤشرات علمية كفوءة لبيان التحلل النوعي للنفط الخام، كذلك عكست الاعداد الحية الـ Viable Count لهذه العزلات التحلل الحيوي للنفط الخام، اذ كانت الاعداد الحية في تزايد مستمر خلال فترة النمو البالغة ٢٨ يوماً على نفط خام القيارة الثقيل مما يؤكد القدرة العالية للعزلات البكتيرية المستخدمة في الدراسة لاستغلال مكونات النفط الخام في النمو وتقليل التلوث البيئي.

المقدمة

يعلب النفط الخام دوراً بارزاً في حياة الشعوب ، ومنذ ان بدأ الانسان باستنزاف الموارد غير المتجددة ومنها - النفط الخام - بدأت مشكلة التلوث البيئي بالظهور واصبحت تشكل تحدياً جدياً يهدد مصير البشرية والحياة على ظهر هذا الكوكب [١]، وتشير الحقائق الى ان انتاج النفط واستخدامه يسهمان بشكل او بأخر في تلويث التربة ، كما ان استخراج واستهلاك النفط يرافقهما مجموعة من التأثيرات التلويثية فضلا عن الاثار السلبية الاخرى [٢].

ويعد التلوث النفطي من اشد انواع التلوث خطورة على جميع الانظمة البيئية [٣]. وتقف الصناعة النفطية وراء العديد من الكوارث البيئية التي تتعرض لها التربة والناجحة عن النفط المراق فوق سطح الارض من جراء الحوادث [٤].

المواد وطرائق العمل

العينات

١. عينات النفط الخام :-

تم الحصول على عينات نفط خام القيارة الثقيل من خزانات نفط خام القيارة الثقيل المستلمة للنفط الخام من ابار حقول نفط القيارة القريبة من المصفاة نفسه واستخدمت لجمع العينات فتاني زجاجية حجم ١٠٠ مليلتر معقمة ومظلمة.

٢. عينات الاحياء المجهرية :-

عزل وتشخيص الاحياء المجهرية المحللة للنفط الخام المستخدمة في هذه الدراسة :-

أ. استخدام وسط الاملاح المعدنية

وزع ٥٠ مليلتر من الوسط في دوارق مخروطية سعة ٢٥٠ مليلتر عقم ويرد الوسط واضيف النفط الخام بنسبة ١ % (حجم/ حجم) ، وحضنت الدوارق على درجة حرارة ٣٠م لمدة ٢١ يوماً ، بعدها اجريت التخافيف على اطباق من الوسط Trypticase soya agar المجهر من شركة Hemidia الهندية وحضنت على درجة حرارة ٣٠م لمدة ٢٤ ساعة . بعدها عزلت المستعمرات المختلفة في الصفات المظهرية على اطباق في نفس الوسط وثبتت صفاتها من حيث الشكل ونوع استجابتها لصبغة كرام واختبار الحركة بعدها شخصت العزلات باستخدام تقنية Appareils el Procèdes d' identification من نوع System ٢٠ والمجهز من شركة Bio Merieux Kits-api الفرنسية ، وبعد المقارنة مع الجدول الخاص بالتشخيص المجهر من الشركة نفسها وحضنت العينات المعزولة

تتعرض التربة للتلوث بالنفط الخام ومشتقاته واسترعت هذه المشكلة انتباه الباحثين في حقل الاحياء المجهرية لدراسة دورها في تقليل الاثار الناجمة عن التلوث البيئي ، ان بقاء وديمومة الملوثات العضوية في التربة والماء الارضي يعتمد على عوامل عديدة يستلزم توفرها لقيام الاحياء المجهرية بفعاليتها [٦،٥] ، ان تفكك هيدروكربونات النفط الخام وتحللها تعد ذات فائدة عظيمة لتحولها الى اصناف اخرى اقل سمية واقل خطراً على البيئة [٧].

وتشير الدراسات الى ان النفط الخام يوفر للبكتريا المحللة للنفط مصدراً للكربون والطاقة على الرغم من ان نواتج التحلل تعد سامة للبكتريا الا انها لا تكون بالمدى الكبير الذي يثبط نموها [٨] ، ويعد النفط الخام الثقيل كمصدر وحيد للكربون والطاقة وتحرز الخلايا البكتيرية اعلى كثافة لها بعد ١٥ يوماً [٩] ، ولعدم وجود دراسات سابقة لبيان الفعل الانفرادي لكل من العزلات البكتيرية *Pseudomonas aeruginosa* و *Actinomyces*

على موائل من الوسط الزرعي Trypticase soya agar في درجة حرارة التلابة لحين الاستخدام [١٠].

ب. تنمية البكتريا المعزولة على النفط الخام

استخدم وسط الاملاح المعدنية المجهز من قبل [١٠] لتنمية الاحياء المجهرية المحللة للنفط الخام بعد ان وزع ٥٠ ملليلتر من وسط الاملاح المعدنية في دوارق مخروطية سعة ٢٥٠ ملليلتر وبعدها عقم وبرد الوسط ثم اضيف النفط الخام بنسبة ١ % (حجم/حجم) واطيف ٢ مل من المعلق البكتيري الذي يحتوي كل ملليلتر منه على $10^4 \times 1$ (CFU/ML) Colony Forming Unit/CM³ لكل عزلة من العزلات الثلاث الى المحلول الفسلي وكذلك مزيج العزلات الثلاث (التأزر) بعدها حضنت الدوارق على درجة حرارة ٣٠ م لمدة ٢٨ يوما وتم حساب مايلي :

ج. حساب الاعداد الحية **Viable count** للعزلات الثلاث والتأزر بين هذه العزلات المستخدمة من هذه الدراسة :

تم حساب الاعداد الحية **Viable count** بعد التلقيح مباشرة (الزمن الابتدائي) **Zero time** وبعد ١، ٢، ٣، ٤، اسابيع وذلك بنشر ٠,١ مل من التخفيف 10^{-7} على اطباق من وسط الاكار المغذي **nutrient agar** وحضنت جميع الاطباق بدرجة ٣٠ م وحسب العدد الكلي (الحي) **viable count** للمستعمرات البكتيرية النامية على النفط الخام بواسطة العداد **Colony Counter** ايطالي المنشأ العلامة **Pool bio analysis Italiana (pbI)** [٤].

د. قياس نسبة الفقدان الكمي للنفط الخام المستخدم في هذه الدراسة :-

١- باستخدام الطرق الكيمائية غير المتخصصة :-

تم قياس معدل تحلل النفط الخام باستخدام الطريقة الوزنية وذلك عن طريق قياس الفرق بين وزن كمية النفط الخام المضافة الى الوسط الزرعي المستخدم قبل وبعد تنمية العزلات البكتيرية المستخدمة وكما متبع في [١١] وتم قياس النسبة المئوية لمعدل تحلل النفط الخام بفعل كل عزلة على حدة وكذلك بالتأزر بين العزلات الثلاث.

٢- الكشف عن تحلل النفط الخام باستخدام الطرق الكيمائية المتخصصة:

أ. باستخدام جهاز كروماتوغرافيا الغاز **Gas-chromatography (G-C)** [١٢].

ب. باستخدام طيف الاشعة تحت الحمراء **Infra-red (I-R)** [١٣].

هـ. دراسة التغيرات المظهرية للنفط الخام المتحلل بفعل العزلات البكتيرية المستخدمة في الدراسة:-

تم ملاحظة التغيرات في الصفات المظهرية لنفط خام القيارة الثقيل المتحلل بفعل العزلات البكتيرية المستخدمة في هذه الدراسة ، بعد فترة التحضين البالغة ٢٨ يوما وبدرجة حرارة تحضين ٣٠ م اذ لوحظ الاستحلاب **emulsion** للنفط الخام وصورت التغيرات المظهرية فوتوغرافيا [١٤].

النتائج والمناقشة

اولا :- الفقدان الكمي للنفط الخام باستخدام الطرق الكيمائية غير المتخصصة (الطرق الوزنية)

جدول ١ : النسب المئوية لتحلل نفط خام القيارة الثقيل بالفعل الانفرادي والتأزري بفعل العزلات البكتيرية المستخدمة في هذه الدراسة

ت	العزلات البكتيرية المعامل بها النفط الخام	وزن سم ^٣ من النفط الخام غير المعامل (غم)	وزن النفط الخام المتبقي غير المحلل (غم)	وزن النفط الخام المتحلل بفعل العزلات البكتيرية (غم)	النسب المئوية لتحلل النفط الخام %
١	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	٠,٩٦٠٧	٠,٣٠٥٦	٠,٦٥٥١	٦٨,١٨٩٨
٢	<i>Bacillus Subtilis</i>	٠,٩٦٠٧	٠,٥٢٢٥	٠,٤٣٨٢	٤٥,٦١٢٥
٣	<i>Actinomyces spp</i>	٠,٩٦٠٧	٠,٣١٤٥	٠,٦٤٦٢	٦٧,٢٦٣٤
٤	التأزر	٠,٩٦٠٧	٠,٢١٦٥	٠,٧٤٤٢	٧٧,٤٦٤٣

او الترابط بين الهيدروكربونات النفطية [٥]. او قد يعزى إلى الخصائص البايوكيمائية / الأنزيمية للعزلات [١٥].

وأشارت دراسة [١٦] الى قدرة عزلات من بكتريا *Pseudomonas* على تفكيك الهيدروكربونات وانتاج المستحلبات الحياتية ، فيما اشار [١٧] الى ان البكتريا *Bacillus Subtilis* استطاعت ان تحلل انواع من النفط الخام ، ام بالنسبة للتأزر البكتيري بين العزلات الثلاث المستخدمة في هذه الدراسة لتحليل مركبات نفط خام القيارة الثقيل فقد ارتفعت الى اكثر من ٧٧% واتفقت هذه الدراسة بنتائجها مع كثير من الدراسات ، اذ اشار الباحث [١٨] الى ان الفعل التأزري اكبر تأثيرا من الفعل الانفرادي في

من ملاحظتنا للجدول الخاص بتحلل نفط خام القيارة الثقيل بفعل العزلات البكتيرية المستخدمة في هذه الدراسة نلاحظ ان عزلتي *Pseudomonas aeruginosa* و *Actinomyces spp* . متقاربتان من حيث قدرتهما لتحليل مركبات نفط خام القيارة الثقيل اذ كانت نسب التحلل أكثر من ٦٨ % وأكثر من ٦٧ % على التوالي ، فيما انخفضت نسبة التحلل إلى أكثر من ٤٥ % بفعل العزلة *Bacillus Subtilis* في حين ارتفعت قدرة التأزر البكتيري بين العزلات الثلاث لتحلل مركبات نفط خام القيارة الثقيل الى اكثر من ٧٧% ، وتشير بعض الدراسات الى ان نسبة التحلل ترتبط بالتماسك

تحليل مكونات النفط الخام ، فيما افاد الباحث [١٩] ايضا ان سلالات بكتيرية محلية اظهرت قدرتها التأزرية في تحليل النفط الخام في الانظمة الأعداد الحية (CFU/ML) للعزلات المحللة لنتف خام القيارة الثقيل:

جدول (٢) : الاعداد الحية (CFU/ML) للتخفيف $10^{-٧}$ للعزلات المحللة لنتف خام القيارة الثقيل المحضنة بدرجة ٣٠ م⁰

الزمن					العزلات النامية	ت
$10^{-٧}$						
بعد اربعة اسابيع	بعد ثلاثة اسابيع	بعد اسبوعين	بعد اسبوع واحد	الزمن الابتدائي		
٦٨٧	٦٠١	٥٨٤	١٨٨	٨٣	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	١
٧٢٩	٥٩٢	٤٥٦	٢٠٨	٨٠	<i>Bacillus Subtilis</i>	٢
٥٦٣	٤١٣	٣٢٨	١٢٤	١٠٤	<i>Actinomyces spp</i>	٣
نمو كثيف	٣٨٩٦	٥٨٠	٥١٢	٢٢٨	التازر	٤

وقد يعزى ذلك إلى تأقلم البكتريا للبيئة الملوثة بالنتف الخام [٢٠]. وكذلك إلى تيسر مركبات النتف الخاضعة للتحلل البكتيري التي تعد غذاء لهذه البكتريا إذ أن العدد المايكروبي يعكس الارتباط بالتحلل الحيوي [٢١].

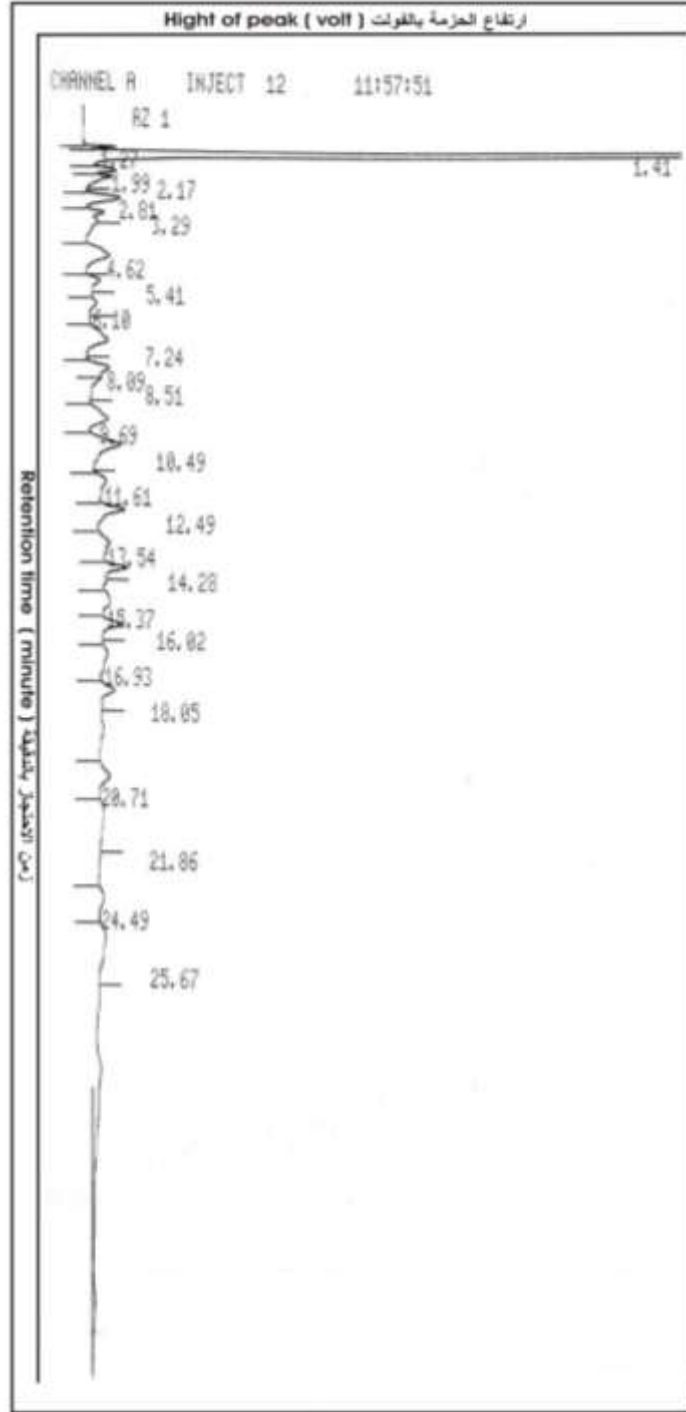
يظهر الجدول ٢ الاعداد الحية للعزلات النامية على نتف خام القيارة الثقيل أذ تتزايد اعداد العزلات النامية باضطراد متزايد بمرور الزمن إلى ان تصل الاسبوعين الثالث والرابع لتبدو هناك صعوبة في حسابها

ثانيا:- التحليل بالطرق الكيمائية المتخصصة :-

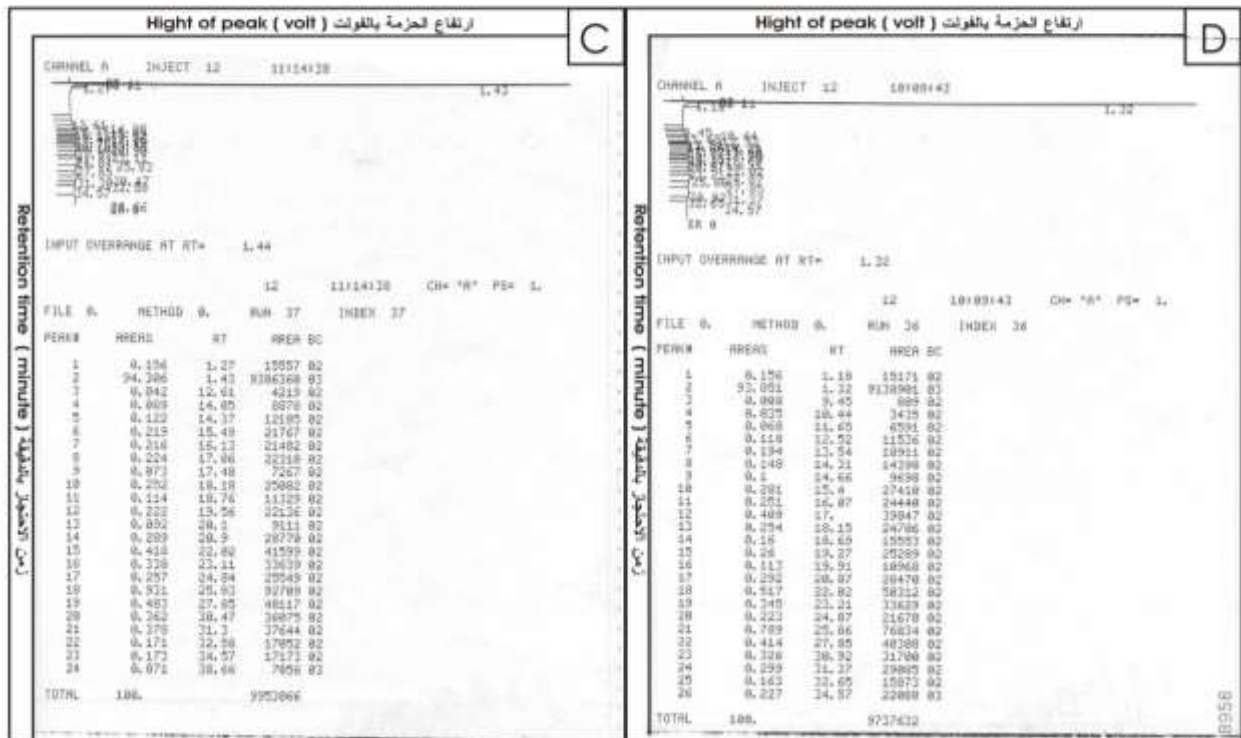
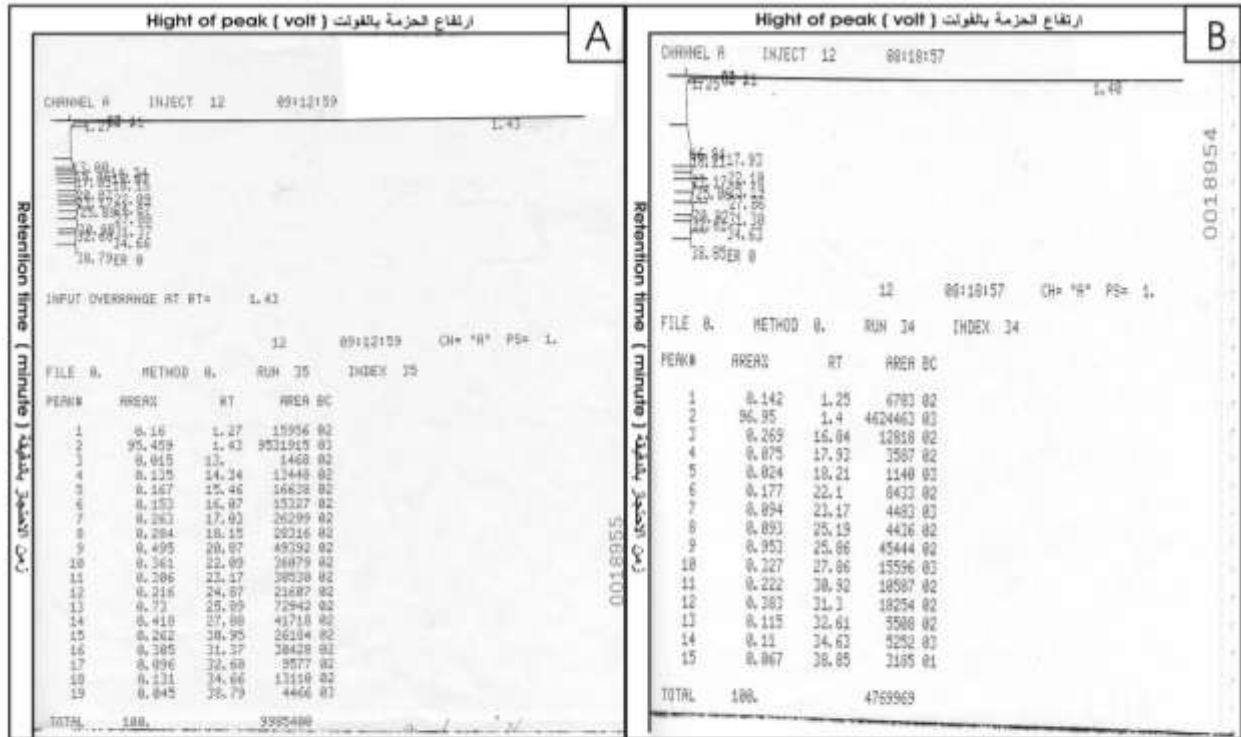
التحليل باستخدام كروماتوكرافيا الغاز Gas-Chromatography (G - C)

عينة المقارنة الشكل (1) وتشير قسم من الدراسات إلى استخدام تقنية كروماتوكرافيا الغاز لتوضيح التحلل الحاصل في المركبات النفطية [٢٣،٢٢] وهذه التقنية هي من الطرق الكيمائية المتخصصة التي يستدل من خلالها على نوع المركب المتحلل [٢٤].

من خلال ملاحظة الشكل (١) لوحظ اختفاء قسم من الحزم عند التحليل بأستخدام كروماتوكرافيا الغاز بالمقارنة مع الحزم الظاهرة في عينة المقارنة . وتبين اختفاء عدد من الحزم في عينة نتف خام القيارة الثقيل المعاملة مع العزلات البكتيرية ، لاحظ الاشكال (2A ، 2B ، 2C ، 2D) مقارنة مع



الشكل ١ . (عينة المقارنة) نتائج تحليل نפט خام القيارة الثقيل باستخدام كروماتوغرافيا الغاز (Gas-Chromatography) والمستخلص من وسط الاملاح المعدنية الحاوي على ١% نפט خام وفي رقم هيدروجيني ٧,٢ والمحضن لمدة ٢٨ يوما بدرجة حرارة ٣٠ م .

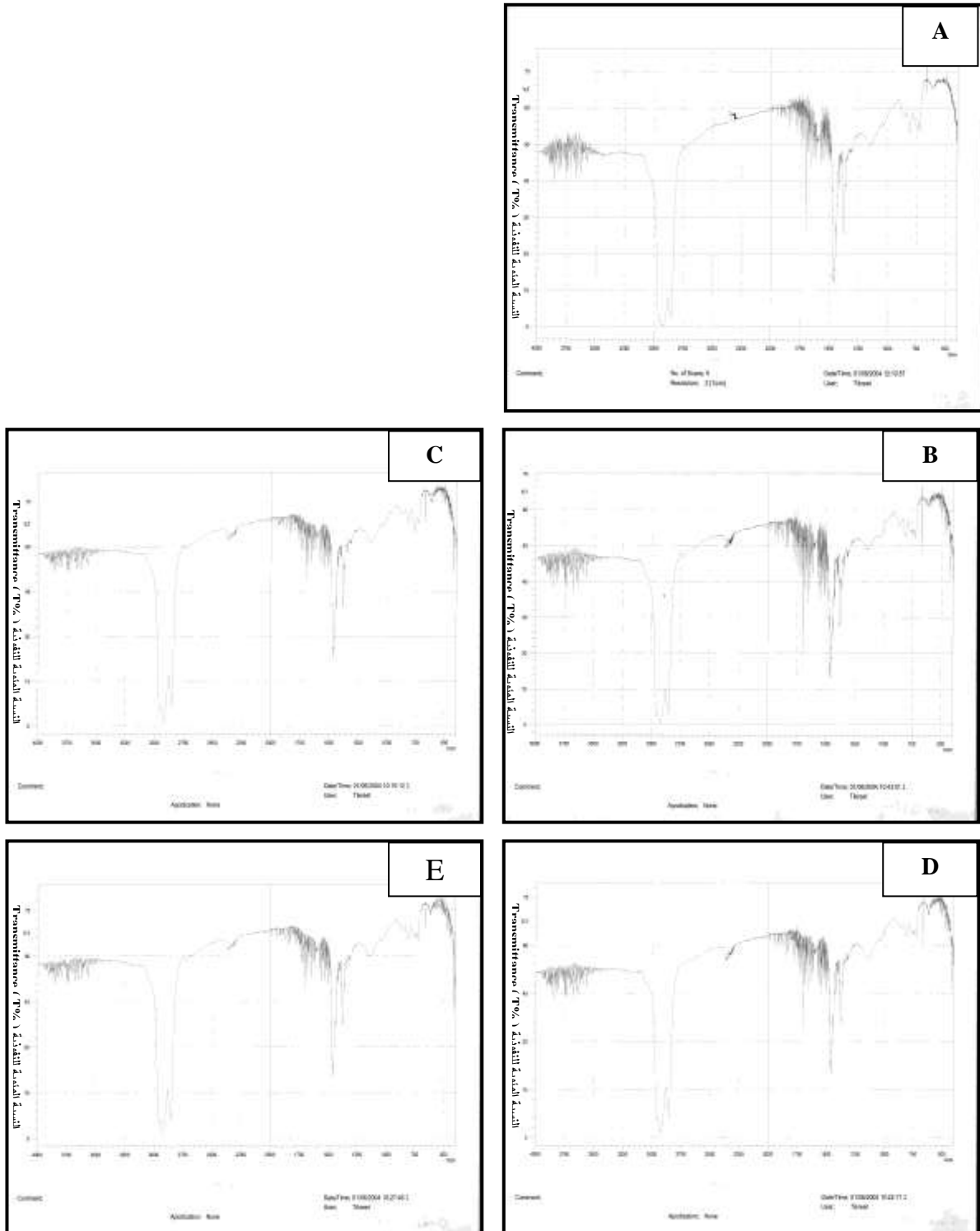


الشكل ٢. نتائج تحليل نفط خام القيارة الثقيل باستخدام جهاز كروماتوغرافيا الغاز (Gas-Chromatography) والمستخلص من وسط الاملاح المعدنية الحاوي على ١% نفط خام وفي رقم هيدروجيني ٧,٢ والمحمض لمدة ٢٨ يوما بدرجة حرارة ٣٠ م وحسب الحروف الآتية :
 A : عينة المقارنة Control ، B : بفعل البكتريا *Pseudomonas aeruginosa* ، C : بفعل البكتريا *Bacillus subtilis*
 D : بفعل البكتريا *Actinomyces spp* ، E : بفعل التآزر البكتيري .

ب- التحليل باستخدام تقنية طيف الأشعة تحت الحمراء

[٢٨] وهذه التقنية تظهر بالاساس المجاميع الفعالة مثل مجموعة الكربونيل او مجموعة النتريل او مجموعة الكاربوكسيل الخ

تشير قسم من الدراسات إلى استخدام تقنية الأشعة تحت الحمراء للتأكد من تحلل النفط الخام [٢٥-٢٧] ان حدوث التغيرات في مواقع الذرات والواصر يشير إلى دور العزلات البكتيرية في تحليل المركبات الاروماتية



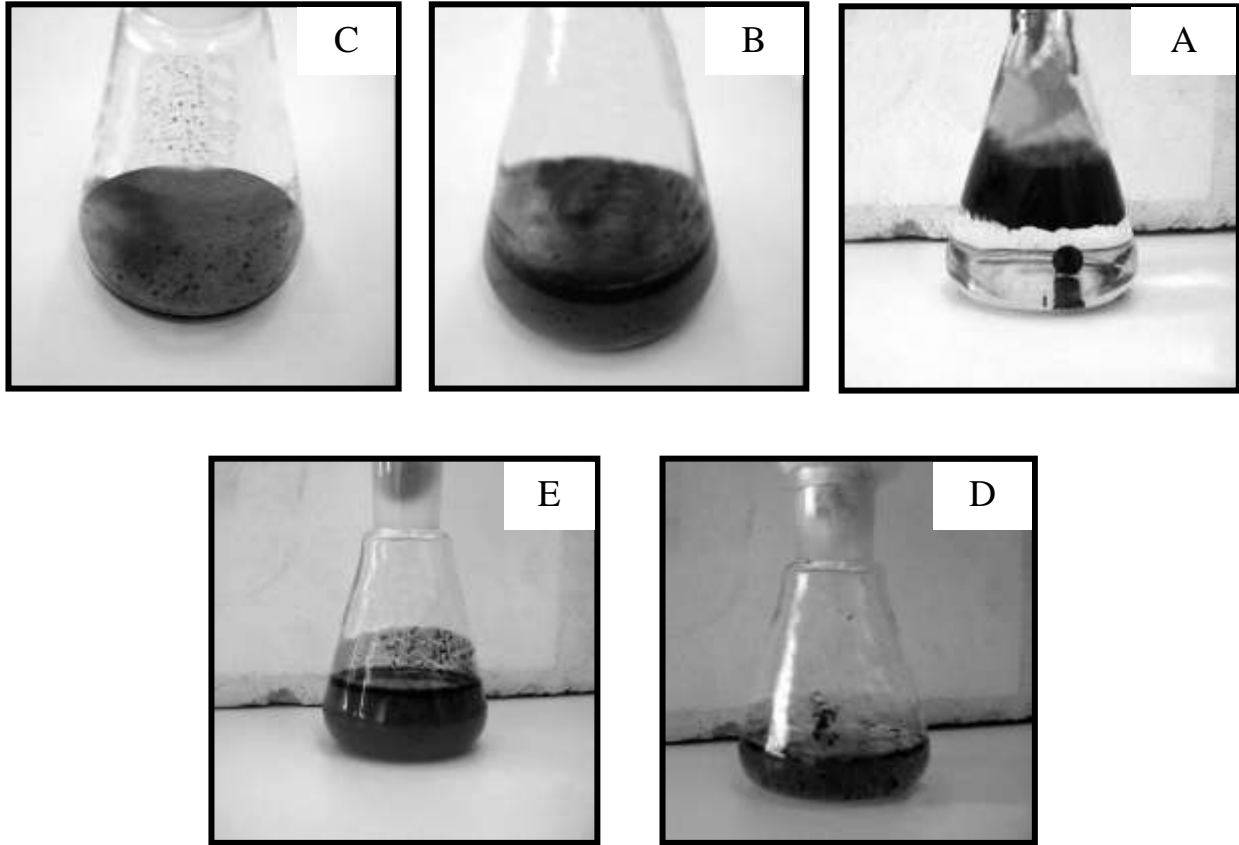
الشكل ٣. طيف امتصاص الأشعة تحت الحمراء لنتفط خام القيارة الثقيل الحاوي على ١% نطفط خام وفي رقم هيدروجيني ٧,٢ والمستخلص من وسط الأملاح المعدنية والمحضن لمدة ٢٨ يوما بدرجة حرارة ٣٠ م اذ تمثل الحروف : A : عينة المقارنة Control ، B : بفعل البكتريا *Pseudomonas aeruginosa* ، C : بفعل البكتريا *Bacillus subtilis* ، D : بفعل البكتريا *Actinomyces spp* ، E : بفعل التآزر البكتيري.

وسط الأملاح المعدنية وعدم حدوث تغيير في عينة المقارنة، لاحظ الصورة (1A) وهذا ما أكدته دراسات عديدة [٢٦، ٣٠-٣٣]. إن تكتل النفط الخام بهيئة كتلة هلامية يطلق عليها ظاهرة الموسية Mousse أو الذوبانية الكاذبة pseudosolubilization ويعتقد أن حدوث هذه الظاهرة في البيئة يرتبط بظروف بيئية محددة تعرضها للتجوية weathering وكذلك بسبب نشاط الاحياء المجهرية وفعاليتها المحللة للهيدروكربونات أو ربما يعود إلى تراكم عوامل الاستحلاب emulsifying agents التي تحفز تكوين هذه الحالة [٢٨] إذ لوحظ أن عملية تحلل الهيدروكربونات بواسطة البكتريا غالباً ما تكون مصحوبة بإفراز مواد مستحلبة الى البيئة او الوسط الغذائي ذات نشاط على مستوى الشد السطحي biosurfactant وتتميز هذه العوامل بالسمية الواطئة وقابلية التحلل والتراكم والسيطرة على النفط المتدفق وهي تقوم بتقليل الشد السطحي وتزيد اختراق الماء والانتشار لتعزيز النمو الميكروبي وحجز المعادن وفصلها [١٤].

إذ لوحظ عدم وجود تغيير واضح في مواقع الامتصاص للاواصر لكن تبين وجود اختلاف في شدة الحزم وعدم وجود تغيير رئيس في الشكل العام للاطياف المشار إليها في الاشكال (3E ، 3D ، 3C ، 3B) بالمقارنة مع (٣A) .
إذ أن ميل المادة العضوية للامتزاج بالماء يتناسب عكسياً مع وزنها الجزيئي [٢٩] .

ثالثاً:- التغيرات الفيزيائية في طبقة النفط الخام :-

توضح الصورة (١) ان هناك تغيرات مظهرية في طبقة نطف خام القيارة الثقيل بفعل نمو العزلات البكتيرية المستخدمة في هذه الدراسة ، وهذا يؤكد قدرة البكتريا على تحليل النفط الخام واستحلابه بمدة قصيرة فضلاً عن ان العزلات أدت إلى امتزاج نطف خام القيارة الثقيل فتحول إلى كتلة هلامية فاقدة لقوامها ، لاحظ الصورة (1E ، 1D ، 1C ، 1B) وهذا ما يؤكد قيام هذه العزلات باستحلاب النفط نتيجة المستحلبات الحياتية المنتجة bioemulsifiers بفعل البكتريا المحللة للنفط الخام النامية في



الصورة ١. التغيرات الفيزيائية المظهرية المختلفة لطبقة النفط الطافي (بفعل البكتريا النامية في A.B.C.D.E) على نطف خام القيارة الثقيل المحضن بدرجة حرارة ٣٠ م لمدة ٢٨ يوما على وسط الاملاح المعدنية اذ تمثل الحروف:-
A : عينة المقارنة Control ، B : بفعل البكتريا *Pseudomonas aeruginosa* ، C : بفعل البكتريا *Bacillus subtilis* ،
D : بفعل البكتريا *Actinomyces spp* ، E : بفعل التآزر البكتيري .

١. مصطفى العلواني، التلوث جريمة الجشعين قطر الخير، مجلة شهرية تصدرها جمعية قطر الخير، ٢٥ (١٩٩٩) ص ١-٢.
٢. عدنان، ياسين الربيعي، التلوث البيئي لطلبة المرحلة الثالثة لأقسام علوم الحياة، كليات التربية. الفصل الأول، التلوث البيئي، المصادر الأساسية للتلوث. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، الدار الجامعية للطباعة والنشر والترجمة، ص ٤٠-٤١ (٢٠٠٢).
٣. عبد علي وخضير الخفاف وكاظم ثعبان. الطاقة وتلوث البيئة. الفصل الثاني، تلوث البيئة. دار المسيرة للنشر والتوزيع والطباعة، الطبعة الأولى / عمان - الأردن (٢٠٠٠) ٦١.
4. P.D. Marins, F.D.D.D. Carvalho and S.A.J.G. Lippel. Bioremediation of clay soils impacted by petroleum. Technology feature, (2002) 29-32.
5. R. Marchal, S. Penet, F. Solano-Serena and J.P. Vandecasteele. Oil and Gas Science and Technology. 58 (2003) 4, 441-448.
6. D.B. Vance. 2 The 4 Technology solutions on-site above ground bioremediation of excavated oil and grease contaminated soils. Environmental Technology. (2002) 1-6.
7. Y. Xu. M.Sc. Biodegradation of high concentrations of crude oil in microcosms. A thesis of Ms.C Department of civil and environmental engineering. College of engineering. Thesis, Department of civil and environmental engineering. College of engineering. University of Cincinnati. China. (2001) 1-207.
8. AMSA, Astralian Maritime Safety Authority. Management and disposal of oil spill debris. Land farming of oil and oily Debris. Marine environmental protection. AMSAs Role in maritime environmental issues. (2004) 1-24.
9. A. Okoh, S. Ajisebutu, G. Babalola and M.R.T. Hernandez. Int. Microbiol, 4 (2001) 83-87.
10. U.A. Philips and R.W. Traxler. Apple. Microbiol. 11 (1963) 235-238.
11. M. Teschner and H. Wehner. Chromatographic investigation as on biodegraded crude oils. Chromatographia. 20 (1985) 407-416.
12. J.F. Rontani, P. Bonin and J.K. Volkman. American society for microbiology. Applied and Environmental microbiology. 65 (1999) 1, 221-230.
13. J.A. Dahlin, J. Michel and C. Henry. Recovery of mangrove habitats at the vesta bella spill site (one year post-spill observations). Institute of environmental studies. Louisiana state university Hazmat report. (1994) 1-30.
14. N. Kosaric. Biosurfactants and their application for soil Bioremediation. Food Technol. Biotechnol. 39 (2001) 4, 259-304.
15. A.I. Okoh. Biodegradation of bonny light crude oil in soil microcosm by some bacterial strains isolated from crude oil flow stations saver pits in Nigeria. African. Journal of Biotechnology. 2 (2003) 5, 104-108.
١٦. عباس، علاء شريف والخزعلي، ايمان هندي وعلي، ناهية عبدالحسين ورشيد، هادي رحمن (2000). تشخيص عزلات محلية للبيكتريا pseudomonas مفككة للهيدروكربونات ومنتجة للمستحلبات الحياتية. المؤتمر القطري العلمي الأول في تلوث البيئة وأساليب حمايتها بغداد 5-6 تشرين الأول، الصفحات (1-9).
١٧. الراوي، أميرة محمود والعكدي، محسن أيوب (1999). التحلل الحيوي لأنواع من النفط الخام بفعل البكتريا Bacillus Subtilis. مجلة التربية والعلم، العدد (37).
18. Dharmstithi, S. (1999). Biodegradability on petroleum crude oil by Pseudomonas auroginosa Lp 602. Institute of science and technology for research and development. 11th annual meeting of the society for biotechnology. PP: 1 - 2.
19. Okoh, A. I. (2003). Biodegradation of bonny light crude oil in soil microcosm by some bacterial strains isolated from crude oil flow stations saver pits in Nigeria. African. Journal of Biotechnology. Vol. 2(5), PP: 104 - 108.
20. G. Pineda-Flores and A.M. Petroleum asphaltene: generated problematic and possible biodegradation mechanisms. Mesta-Howard. Microbiologia. Review Article. 43 (2001) 3, 143-150.
21. T.C. Hazen, A.J. Tien, A. Worsztynowicz, D.J. Altman, K. Ulfig and T. Manko. Biopiles for remediation of petroleum-contaminated soils : Apolish case study. Lawrence Berkeley national laboratory Institute for ecology of Industrial Areas. (2003) 1-15. Poland
22. F. Gilbert, G. Stora, G. Desrosiers, B. Deflandre, J.C. Bertrand, J.C. Poggiale and J.P. Gange. Alternation and release of aiphatic compounds by the polychaete Nereis virens (sars) experimentally fed with hydrocarbons. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 256 (2001) 199-213.
23. R. Kanaly, R. Bartha, S. Fogel and M. Biodegradation of [14C] Benzo [a] pyrene added in crude to uncontaminated soil. American society for microbiology. Findlay. Applied and Environmental Microbiology. 36 (1997) 11, 4511-4515.
24. M.P. Diaz K.G. Boyd S.J.W. Grigson and J.G. Burgess. Biodegradation of crude oil across a wide range of salinities by an extremely halotolerant bacterial consortium MPD. M-immobilized onto polypropylene fibers. Biotechnology and Bioengineering. 79 (2002) 2, 145- 153.
٢٥. مهند جواد الاسدي. تحضير المواد الكاسرة للاستحلاب الجديدة وتقييمها لغرض استخدامها في حقول شركة نفط الجنوب رسالة ماجستير، قسم الكيمياء، كلية العلوم-جامعة البصرة/ البصرة - العراق (2000).
٢٦. محمود خلف الجبوري. دور بعض أجناس السيانوبكتريا في التحلل الحيوي لبعض المركبات النفطية رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة تكريت/صالح الدين - العراق (٢٠٠٤).
٢٧. ياسين حسين الجبوري. التحلل الحيوي لأنواع من النفط الخام بفعل الجراثيم المعزولة من تربة مصافي العراق الشمالية. اطروحة دكتوراه. كلية التربية، جامعة تكريت، تكريت-العراق (٢٠٠٥).

31. M. Vaneechoutte, I. Tjenberg, F. Baldi, M. Pepi, R. Fani, E.R. Sullivan, J.V.D Toorn and L. Dijkshoorn. Res. Microbiol. 150 (1999) 69-73. Paris.
32. ايمان هندي الخزعلي. دراسة كفاءة بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* في تفكيك المخلفات الهيدروكربونية وإنتاج المستحلبات الحياتية. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة بغداد/بغداد-العراق (2000).
33. رائد بحر نصر. دراسة بكتريولوجية وراثية لبكتريا *pseudomonas spp* المستهلكة للمركبات الهيدروكربونية. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة بغداد/بغداد-العراق (2000).
28. اياد محمد العبيدي. دراسة الترددي الحيوي وطيف الأشعة تحت الحمراء لنماذج من نפט كركوك الخام المعامل بالسيانوبكتريا المثبتة للنتروجين. مجلة تكريت للعلوم الصرفة، 9 (2003) 1، ص 52-66.
29. امير طويبا عتو وعبدالجبار عبدالقادر مخلص وخالد عبدالقادر الفخري. التشخيص العضوي والطيفي. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، كلية التربية الثانية (أبن الهيثم). دار الكتب والطباعة والنشر-بغداد (1989).
30. F. Baldi, M. Pepi, A. Capone, C.M. Giovampaola, C. Milanese, R. Fani and R. Focarelli. Research in Microbiology. 154 (2003) 417-424.

The Effects of Some Single Bacterial Isolates and Combination on Biodegradation of 1. Al-Qayarah Crude Oil

Yaseen Hussain O'waied.

Dept of Biology, college of Education for women, Univ. of Tikrit, Tikrit, IRAQ.

Abstract

This study was conducted to show the ability of some isolates of bacteria, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Actinomyces spp*. At single and combination between the three isolates in biodegrade of Al-Qayarah crude oil. The results showed that the combination isolates of bacterial activity in biodegradation crude oil was a higher from the single isolates, which reached more than %77. Where as the sigle isolates of *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Actinomyces spp* were Biodegradation the crude oil in more than 68% , 45%, and 67% respectively. The results also showed that the **viable count** was increased with weekly time incubation. The biodegradation of above isolates were confirm by using the **Gas-Chromatography** and **Infra-Red Spectrum** analysis by compare the compounds of crude oil before and after the action of bacterial isolates.