

# عزل وتشخيص بكتريا الستربتومايسس من المناطق الملوثة بالمخلفات الهيدروكاربونية ودراسة قدرتها على تحليل هذه المخلفات

ثامر يوسف مطر ، هدى مصلح محمود

جامعة الانبار - كلية العلوم - قسم علوم الحياة

## الخلاصة

الهدف من البحث الحصول على بكتريا الستربتومايسس ذات الكفاءة العالية في تحليل المخلفات الهيدروكاربونية، إذ تم اخذ عينات من التربة من مناطق مختلفة عالية التلوث بالمخلفات الهيدروكاربونية شملت مستودع الرمادي ومصفى بيجي ومصفى الدورة وتم الحصول على ٩ عزلات من بكتريا الستربتومايسس وأظهرت العزلة Streptomyces M3 كفاءة عالية في تحليل المخلفات الهيدروكاربونية، ودرست الصفات المظهرية والفسلجية لهذه العزلة باستخدام بعض الاوساط الزرعية وبعض الاختبارات الكيموحيوية، إذ تم دراسة قدرة العزلة على تحليل المخلفات الهيدروكاربونية من خلال نموها في الاوساط الزرعية السائلة الحاوية على نسب مختلفه من المخلفات الهيدروكاربونية كمصدر كاربوني اذ وجد ان لها القدرة العالية على النمو في هذه الاوساط الاختباريه اذ تمكنت من النمو بصورة ممتازة في الوسط الاختباري ٤ الحاوي على ٦ مل من المخلفات الهيدروكاربونية و ١غم من النشأ كمصدر كاربوني ونمت بصورة جيدة جدا في الاوساط الاختباريه ٢ ، ٣ ، ٥ ، ٦ ، و٧ الحاويه على نسب مختلفه من المخلفات الهيدروكاربونية، وتمكنت من النمو في الوسط الاختباري ١٠ الحاوي على ١٥ مل من المخلفات فقط كمصدر كاربوني وخلوه من أي مصدر نمو اخر. نستنتج من هذه الدراره ان بالامكان استخدام هذه العزلة في معالجة التلوث البيئي الناتج عن المخلفات الهيدروكاربونية لقابليتها العاليه على استهلاك واستخدام المخلفات النفطية كمصدر كاربوني.

كلمات مفتاحية : بكتريا الستربتومايسس، الملوثات البيئية، تحليل المخلفات النفطية.

## المقدمة :

يعد النفط الخام أحد أهم المركبات العضوية المستخدمة في الصناعة في معظم بلدان العالم وخاصةً البلدان الصناعية المتقدمة ونتيجة لعمليات التصنيع فان كميات هائلة من النفط الخام ومشتقاته ومخلفات العمليات الصناعية تأخذ طريقها الى المحيط الحيوية من خلال

الحوادث العرضية أو المتعمدة مثل انفجار شبكات الانابيب النفطية وحوادث ناقلات النفط العملاقة والكميات المفقودة من الناقلات مع مياه الموازنة او انفجار الابار النفطية فضلاً عن عمليات الصرف غير المشروع لمخلفات المصافي والمصانع . وتبلغ كمية ما يصل من الملوثات النفطية الى البيئة حوالي ( ٨,٢ ) مليون طن سنوياً في مختلف انحاء العالم ( Farmes , 1997 ; UNEP , 1990 ) .

ومن جانب اخر ، فإن النفط الخام ومشتقاته فضلاً عن الهيدروكربونات المصنعة تعد من أهم الملوثات البيئية إذ تسبب مشاكل للبيئة التي تتواجد فيها كونها سامة لمعظم الكائنات الحية فضلاً عن إن بعضها مواد مسرطنة ( Carcinogenic ) ولها قابلية الانتقال في السلسلة الغذائية لذا تعد معالجة الهيدروكربونات الملوثة للبيئة أحد الاهداف المهمة لتجنيب المحيط الحيوي ضرر هذه المركبات الذي يطول معظم الكائنات الحية ومنها الانسان (Atlas and Cerniglia, 1995)

نتيجة للاستخدام الكبير للمشتقات النفطية في حياتنا اليومية اصبحت هذه المخلفات من اهم المصادر الملوثة للبيئة ومن اهم الطرق الفعالة في القضاء على هذه المخلفات هي استخدام الاحياء المجهرية اذ لها القدرة على تحليل المخلفات الهيدروكربونية وتحويلها الى مركبات ابسط واقل خطرا في البيئة (Collin, 2001) .

إن العديد من الاحياء المجهرية قادرة على استهلاك الهيدروكربونات النفطية كمصدر للكربون والطاقة وهي واسعة الانتشار في الطبيعة (Atlas and Cerniglia, 1995) ، وإن استهلاك الهيدروكربونات النفطية يعتمد بشكل كبير على الطبيعة الكيماوية للمركبات ضمن الخليط النفطي وعلى العوامل البيئية .تعتبر البكتيريا الخيطية من اهم انواع البكتريا التي لها القدرة على تفكيك المواد العضوية المعقدة، اذ لها الدور الكبير في الحفاظ على التوازن البيئي لامتلاكها العديد من الأنظمة الأنزيمية القادرة على تحليل المخلفات (Goodfellow and Williams, 1983) .

هناك العديد من البحوث التي اثبتت قدرة بكتريا الستربتومايسس على تحليل المخلفات الهيدروكربونية وتحويلها الى مركبات اقل تعقيدا وخطرا . (Radwan et al.,1998)، حيث وجد انها تعتبر من اكبر المجاميع تواجدا في البيئات

الحاوية على المخلفات النفطية وتمتاز بكفائتها العالية على تحليل هذه المخلفات ( Johnsen *et al.*, 2002 ) ، وتمكن ( Barabas *et al.*, 2001 ) من عزل ثلاث عزلات من بكتريا الستربتومايسس ذات الكفاءة العالية على تحليل المخلفات الهايروكاربونية من ترب ملوثة بالمخلفات في الكويت اذ تتمكن من استخدام n-hexadecane, n-octadecane and kerosene كمصدر كاربوني .

### المواد وطرائق العمل.

**جمع العينات :** جمعت عينات التربة من ثلاث مناطق مختلفة شملت مصفى البيجي، مستودع الرمادي ومصفى الدورة، وقد تم اخذ النماذج من عمق (10-15) سم من سطح التربة بادوات معقمة ثم نقلت الى المختبر باستخدام حاويات معقمة ، بعدها اخذ 1 غم من كل عينة تربة واضيفت الى 9 مليلتر ماء ثم عملت سلسلة من التخفيف العشرية لكل عينة تربة ولغاية التخفيف الخامس. زرعت التخفيف على اطباق من وسط كاوزا الصلب وبمكررين لكل تخفيف من اجل عزل بكتريا الستربتومايسس وحضنت بدرجة حرارة 28م لمدة 7-14 يوما بعدها اختيرت المستعمرات التي لها المواصفات العامة لبكتريا الستربتومايسس.

### **الصفات المظهرية والفسلجية لبكتريا الستربتومايسس.**

تم دراسة الصفات المظهرية والكيموحيوية لبكتريا الستربتومايسس بالاعتماد على:-

(Shirling & Gottlieb , 1966 ; Kutzner , 1981;Lechevalier & Lechevalier ,1981;Wiliams *et al.* , 1983;Locci , 1989;Holt *et al.*, 1994 )

**الصفات المظهرية :** استخدمت الاوساط ( وسط التايروسين، وسط الاملاح اللاعضوية -

النشأ الصلب، وسط مستخلص الخميرة ، وسط مستخلص الشعير، وسط كاوزا الصلب،

الوسط المغذي الصلب، وسط الكليسيبول-اسباراجين الصلب، وسط النشأ-كازائين

الصلب ووسط البيتون - النشأ )، حضر مكررين من كل وسط زرعى ولكل عزلة، ثم

زرعت هذه الاطباق بعمل اربعة اعمدة متساوية ومتوازية ثم عملت اربعة اعمدة اخرى

متوازية عموديا على الاولى باستخدام عروه معدنية معقمة مع ترك طبق غير ملقح لكل

وسط للمقارنة . حضنت جميع الاطباق بدرجة حرارة 28 م° لمدة ٧-١٤ يوم بعدها تم تحديد الصفات المظهرية في اليوم ٧ و ١٤ المتمثلة بشكل حوامل الابواغ ولون المايسيليا والصبغات الذائبة عدا الميلانين وعدد الابواغ في كل سلسلة، وحددت كثافة النمو كالاتي :-  
(++++) كثافة نمو ممتازة،(+++ ) جيدة جدا،(++) جيدة، (+) متوسطة، (+) ضعيفة، (-) عدم النمو.

### **الاختبارات الكيموحيوية والفسلجية : اجريت الاختبارات التالية:-**

تحليل النشا ، استهلاك السترات كمصدر وحيد للكربون ، الكشف عن انتاج H<sub>2</sub>S، الكشف عن انزيم الاوكسيديز ، -الكشف عن انزيم الكاتليز ، النمو بوجود الفينول،تحليل التايروسين،الكشف عن تحليل الجيلاتين، الكشف عن تحلل توين ٨٠ والكشف عن انزيم اليوريز.

### **تأثير درجة الحرارة في نمو العزلة Streptomyces spp M3.**

لقحت اوساط كاوزا الصلب بمزروع العزلة بطريقة التخطيط وحضنت الاطباق بدرجات حرارية مختلفة (20,28,35,40,45) لمدة ١٤ يوم وسجلت افضل درجة للنمو.

### **اختبار النمو بوجود تراكيز ملحية مختلفة.**

لقحت الاطباق الحاوية على وسط كاوزا الصلب ذات النسب الملحية المختلفة (1,2,4,6,8) بطريقة التخطيط وحضنت الاطباق بدرجة حرارة ٢٨م لمدة ١٤ يوم .

### **اختبار قدرة بكتريا الستريتومايسس على تحليل المخلفات الهيدروكاربونية.**

استخدمت طريقة الاوساط السائلة من اجل تحديد كفاءة العزلة Streptomyces spp M3 على تحليل المخلفات الهيدروكاربونية للوصول الى افضل نمو للعزلة باستخدام وسط بيتون- نشأ السائل حيث تم عمل سلسلة من الاوساط الزرعية الاختبارية باضافة المخلفات الهيدروكاربونية وكالاتي(2,4,6,8,10,12,13,14,15) مل/لتر من الوسط الزرع(اكمال الحجم) وكما مبين بالجدول ( ١ )

## جدول (١) سلسلة الاوساط الاختبارية الحاوية على نسب مختلفة من المخلفات

### الهيدروكاربونية

| ١٠    | ٩     | ٨     | ٧           | ٦         | ٥         | ٤       | ٣         | ٢         | ١       | سلسلة الاوساط<br>الاختبارية |
|-------|-------|-------|-------------|-----------|-----------|---------|-----------|-----------|---------|-----------------------------|
| ----  | ----  | ----- | ٠,٢<br>غرام | ٠,٥<br>غم | ٠,٨<br>غم | ١<br>غم | ١,٤<br>غم | ١,٨<br>غم | ٢<br>غم | نشأ                         |
| ----  | ١٠ غم | ١٠ غم | ١٠ غم       | ١٠ غم     | ١٠ غم     | ١٠ غم   | ١٠ غم     | ١٠ غم     | ١٠ غم   | بيتون                       |
| ١ غم  | ١ غم  | ١ غم  | ١ غم        | ١ غم      | ١ غم      | ١ غم    | ١ غم      | ١ غم      | ١ غم    | كلوريد الصوديوم             |
| ١٥ مل | ١٤ مل | ١٣ مل | ١٢ مل       | ١٠ مل     | ٨ مل      | ٦ مل    | ٤ مل      | ٢ مل      | ----    | المخلفات<br>الهيدروكاربونية |

### النتائج والمناقشة:

#### الصفات المظهرية والفسلجية:

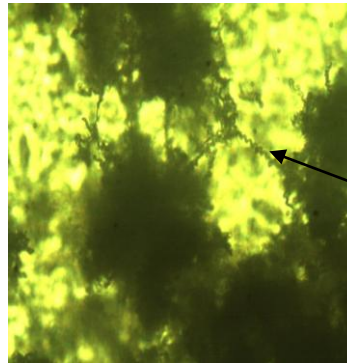
اظهرت النتائج وكما مبين في جدول ( ٢ ) تباين في ألوان المايسيليا الهوائية بين البني والابيض والرصاصي تبعا للوسط الزراعي وحسب مدة الحضان وتباينت ألوان المايسيليا الارضية بين البيجي والجوزي والكريمي والرمادي وهذا يعود لاختلاف مكونات الاوساط الزراعية المختلفة، وتتفق هذه النتائج مع ما أشار إليه الدليمي (2004) من تغير ألوان المايسيليا الأرضية والهوائية تبعا للوسط الزراعي النامية فيه. ان اختلاف ألوان المايسيليا الهوائية والارضية يعود الى اختلاف قدرة بكتريا الستربتومايس على استهلاك المصادر الكربونية والنايتروجينية والاملاح الموجودة في الاوساط الزراعية المختلفة ( Kutzner , Williams et al., 1989 ; 1981 ) .

وتمكنت عزلة الستربتومايس من انتاج الصبغات الذائبة على وسط التايروسين الصلب وسط النشأ الصلب وسط كاوزا الصلب ووسط البيتون النشأ الصلب كما مبين في جدول (٢). وتبين الصورة رقم (١) ان هذه العزلة تمتلك مايسيليا هوائية من النوع الحزوني.

جدول (٢) التوصيف المظهري للعدلة *Streptomyces spp M3* باستخدام اوساط زرعية مختلفة بدرجة حرارة ٢٨ م

| انتاج الصبغات الذاتية |        | الميسيليا الهوائية ولونها |                         | الميسيليا الارضية ولونها |             | فترة الحضانة<br>نوع الوسط    |
|-----------------------|--------|---------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------|------------------------------|
| ١٤ يوم                | ٧ ايام | ١٤ يوم                    | ٧ ايام                  | ١٤ يوم                   | ٧ ايام      |                              |
| ++                    | +      | رصاصي<br>+++              | رصاصي فاتح<br>++        | جوزي<br>+++              | جوزي<br>++  | وسط التايروسين الصلب         |
| +                     | +      | رصاصي<br>++++             | رصاصي<br>+++            | جوزي<br>غامق<br>+++      | جوزي<br>+++ | وسط النشأ-كازئين الصلب       |
| -                     | -      | رصاصي<br>++++             | بني الى<br>رصاصي<br>+++ | جوزي<br>++               | جوزي<br>++  | وسط كلبيسيول-اسباراجين الصلب |
| +                     | +      | رصاصي<br>++++             | رصاصي<br>+++            | بيجي غامق<br>+++         | بيجي<br>+++ | وسط مستخلص الخميرة الصلب     |
| -                     | -      | رصاصي<br>++++             | رصاصي<br>+++            | بيجي<br>++++             | بيجي<br>+++ | وسط مستخلص الشعير الصلب      |
| -                     | -      | ابيض                      | ابيض                    | كريمي                    | كريمي       | الوسط المغذي الصلب           |

|    |   |                       |                   |               |              |                                   |
|----|---|-----------------------|-------------------|---------------|--------------|-----------------------------------|
|    |   | ++                    | ++                | ++            | +            |                                   |
| -  | - | رصاصي<br>غامق<br>+++  | رصاصي<br>++       | رمادي<br>+++  | رمادي<br>++  | وسط الاملاح اللاعضوية-النشأ الصلب |
| ++ | + | رصاصي<br>غامق<br>++++ | رصاصي غامق<br>+++ | كريمي<br>++++ | كريمي<br>+++ | وسط كاوزا الصلب                   |
| ++ | + | رصاصي<br>غامق<br>++++ | رصاصي<br>+++      | رمادي<br>++++ | رمادي<br>+++ | وسط البيبتون-النشأ الصلب          |



### صورة ( ١ ) شكل المايسيليا الهوائية للعزلة Streptomyces spp M3

وصفت العزلة فسلجيا من خلال عدد من الاختبارات الكيموحيوية كما هو موضح في

جدول

(٣) اذ تمكنت العزلة من تحليل التايروسن والنشأ والجيلاتين وانتاج انزيم الكاتليز ونمت

بوجود الفينول وتحليل توين ٨٠ واستهلاك السترات كمصدر وحيد للكربون.

### جدول (٣) الاختبارات الكيموحيوية التشخيصية للعزلة Streptomyces spp M3

|                       |              |
|-----------------------|--------------|
| نتيجة الاختبار للعزلة | نوع الاختبار |
|-----------------------|--------------|

|   |                                 |
|---|---------------------------------|
| + | تحليل التايروسين                |
| + | تحليل النشا                     |
| + | تحليل الجيلاتين                 |
| + | انتاج انزيم الكاتاليز           |
| - | انتاج انزيم الاوكسيديز          |
| + | النمو بوجود الفينول             |
| - | الكشف عن انتاج H <sub>2</sub> S |
| + | الكشف عن تحلل توين ٨٠           |
| - | الكشف عن انزيم اليوريز          |
| + | الكشف عن استهلاك السترات        |

اختيار درجة الحرارة المثلى لنمو العزلة **Streptomyces spp M3** : تمكنت العزلة من النمو بدرجات حرارية تراوحت بين ٢٠-٤٥ م ووجد ان لهذه العزلة القدرة على تحمل درجات الحرارة العالية اذ تمكنت من النمو بدرجة حرارة ٤٥م وتباينت الوان المايسيليا الهوائية والارضية باختلاف درجة الحرارة جدول (٤) ، ان حدوث هذه التغيرات في الصفات المظهرية للعزلة قد يعزى الى تاثير درجة الحرارة على الفعاليات الفسلجية والانزيمية داخل الخلية وهذا ما اكده (Tsunakawa *et al.*, 1992) بان انحراف درجات الحرارة عن معدلها المثالي يصاحبه تغيرات مظهرية وفسلجية للخلية المايكروبية. وفقدت العزلة القدرة على انتاج الصبغات الذائبة بارتفاع درجة الحرارة وهذا ما اشار اليه (Kokare, 2007) على تاثير درجة الحرارة على عزلات بكتريا الستربتومايسس.

جدول (٤) التوصيف المظهري للعزلة **Streptomyces spp M3** باستخدام وسط كاوزا

الصلب بدرجات حرارية مختلفة لمدة ١٤ يوم



| ٤٥ م       | ٤٠ م        | ٣٥ م                  | ٢٨ م          | ٢٠ م               | ١٥ م | درجة الحرارة<br>الصفة      |
|------------|-------------|-----------------------|---------------|--------------------|------|----------------------------|
| بني<br>++  | بني<br>++   | كريمي<br>++++         | كريمي<br>++++ | كريمي<br>فاتح<br>+ | -    | المايسيليا الارضية ولونها  |
| رصاصي<br>+ | رصاصي<br>++ | رصاصي<br>غامق<br>++++ | رصاصي<br>++++ | ابيض<br>++         | -    | المايسيليا الهوائية ولونها |
| -          | +           | ++                    | ++            | -                  | -    | انتاج الصبغات              |

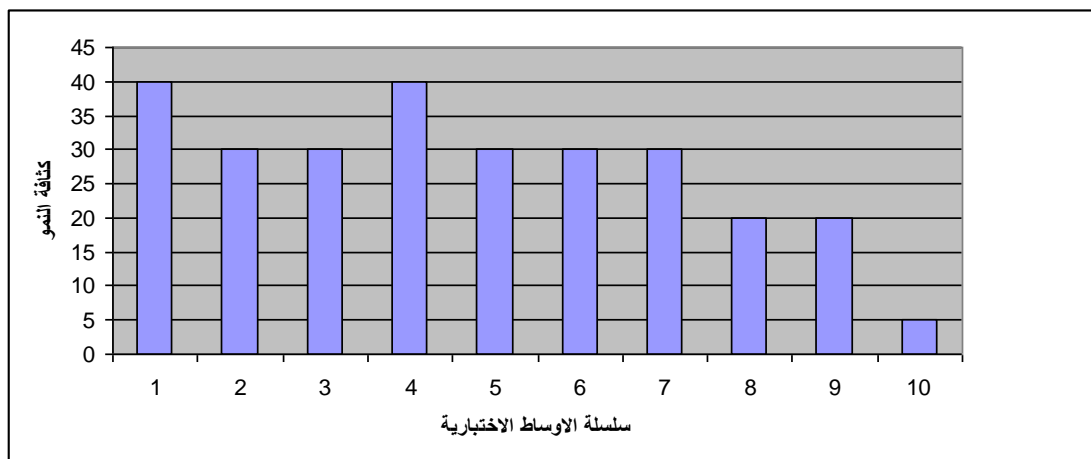
قدرة بكتريا **Streptomyces spp M3** على النمو بتراكيز ملحية مختلفة: تمكنت هذه العزلة من النمو بتراكيز ملحية مختلفة كما مبين في الجدول (٥) اذ تمكنت من النمو في وسط بتراكيز ملحي ٨% وهذا يشير الى انها متحملة للملوحة العالية، حيث تتراوح معظم انواع بكتريا الستربتومايسس من حساسة جدا الى عالية التحمل للتراكيز الملحية (Kutzner, 1981).

جدول (٥) نمو العزلة **Strept. M3** على وسط كاوزا الصلب في تراكيز ملحية مختلفة

| التركيز | ١%  | ٢% | ٤% | ٦% | ٨% |
|---------|-----|----|----|----|----|
| Str. M3 | +++ | ++ | +  | +  | ±  |

## قدرة العزلة Streptomyces spp M3 على استهلاك المخلفات الهيدروكاربونية كمصدر

كاربوني : اظهرت نتائج البحث كما مبين في الشكل (١) قدرة هذه العزلة على استخدام المخلفات النفطية كمصدر كاربوني اذ تمكنت من النمو بصورة جيدة جدا في الاوساط الاختبارية ٢ و٣ الحاوية على ٢ مل و ٤ مل على التوالي مقارنة بوسط السيطرة ١ الخالي من المخلفات الهيدروكاربونية صورة (٢) و(٣) ونمت بصورة ممتازة في الوسط الاختباري ٤ الحاوي على ٦ مل من المخلفات النفطية و ١ غم من النشأ صورة (٤) وتمكنت من النمو بصورة جيدة في وسطي الاختبار ٨ و ٩ الخالية تماما من المصدر الكاربوني النشأ والحوية على ١٣ مل و ١٤ مل على التوالي من المخلفات النفطية صورة (٥) وهذا دليل على قدرتها على استهلاك المخلفات النفطية كمصدر كاربوني وهذا يتفق مع ما اشار اليه (Baniasadi *et al.*, 2009) على قدرة بكتريا الستربتومايسس المعزولة من ترب ملوثة بالمخلفات النفطية من النمو في وسط حاوي على المخلفات كمصدر وحيد للكربون. وتمكنت العزلة من النمو بصورة ضعيفة في الوسط الاختباري ١٠ الحاوي على ١٥ مل من المخلفات النفطية والخالي تماما من مكونات الوسط الاخرى صورة (٦) وهذا دليل على قابلية هذه العزلة على مكافحة التلوث بالمخلفات النفطية لامتلاكها انظمه جينية مسؤولة عن عملية التحلل تمكنها من افراز مواد مستحلبة تسهل عملية استهلاكها للمخلفات وهذا ما اثبته الباحث (Saadoun *et al.*, 2008) اذ تمكن من عزل بكتريا الستربتومايسس من ترب ملوثة بالمخلفات النفطية وتنميتها على مركبات نفطية ودراسة النظام الجيني المسؤول عن عملية التحلل باستخدام تقنية PCR.



(+=5) نمو ضعيف،(+=10)متوسط،(+=20)جيد،(+=30)جيد  
جدا،(+=40)ممتاز

شكل (1) سلسلة الاوساط الاختبارية



صورة ( ٢ ) وسط السيطرة ١



### صورة 3 الوسط الاختباري ٣

### صورة ٤ الوسط الاختباري ٤

### صورة ٥ الوسط الاختباري ٨

### صورة ٦ الوسط الاختباري ١٠

واشار (Atlas and Cerniglia , 1995) إن العديد من الاحياء المجهرية قادرة على استهلاك الهيدروكربونات النفطية كمصدر للكربون والطاقة وهي واسعة الانتشار في الطبيعة ، وإن استهلاك الهيدروكربونات النفطية يعتمد بشكل كبير على النظام الجيني الذي تتخذه الاحياء المجهري وعلى الطبيعة الكيماوية للمركبات ضمن الخليط النفطي والعوامل البيئية . حيث تتمكن بكتريا الستربتومايسس من استهلاك n-alkanes الموجود في المخلفات الهيدروكربونية وتحوله بسلسلة من العمليات المعقدة الى احماض دهنية اقل تعقيدا مساهمة بذلك بتقليل الخطر الناتج عن التلوث بهذه المخلفات (Barabas *et al.*, 2002) معتمدة بذلك على انتاج العوامل المستحلبة Emulsifying agents من قبل بكتريا الستربتومايسس التي تساعد على استهلاك هذه المخلفات من خلال زيادة المساحة السطحية (Javed *et al.*, 2011) وهذه العوامل قد تكون ببنيديات أو أحماض شحمية ، وان هذه العوامل المستحلبة تحفز تكوين حالة الذوبانية الكاذبة ( Gutnick and Rasenburg , 1977 ) . وان الاستحلاب الذي يؤدي الى تكوين قطيرات نفطية مستحلبة صغيرة يساعد على تحلل المركبات الهيدروكربونية بسبب توفر المساحة السطحية اللازمة للتماس مع الاحياء المحللة للهيدروكربون ( Atlas and Cerniglia, 1995).

كما درس في هذا البحث تأثير درجة الحرارة والاس الهيدروجيني وتركيز الملوحة في الوسط على قابلية هذه العزلة على استهلاك المخلفات ولم تظهر نتائج ايجابية اذ كان

افضل نمو للعزلة لاستهلاك المخلفات الهيدروكارونية في الظروف المثلى لها وهذا قد يعود لعدم امتلاكها انزيمات تمكنها من التحليل في ظروف غير مثلى وقد اشار (Margesin and Schinner, 2001) الى تباين الاحياء المجهرية في استهلاكها للمخلفات بتباين الظروف البيئية.

## **References**

- Atlas, R.M. and Cerniglia, C.E. (1995). Bioremediation of petroleum pollutions: diversity and environmental aspects of hydrocarbon biodegradation. *Biological Science*, 45(5) :332-338.
- Baniasadi, F., Shahidi, G.H. and Karimi, A. (2009). In Vitro Petroleum decomposition by Actinomycetes isolated from petroleum contaminated soils. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science*,6:268-270.
- Barabas, G.Y.,Vargha, G., Szabo, I. M., Penyige, A., Damjanovich, S., Szollosi, J., Matk, J., Hirano, T., Matyus, A. and Szabo, I.(2001). N-Alkane uptake and utilization by *Streptomyces* strains. *Antonie van Leeuwenhoek*, 79:269-276.
- Barabas, G.Y.,Vargha, G., Szabo, I. M., Penyige, A., Szollosi, J., Matk, J., Damjanovich, S.and Hirano, T.(2002). Hydrocarbon utilization by *Streptomyces* soil bacteria. *Applied Microbiology*, 2:185-190.
- Collin, P.H.(2001). *Dictionary of Ecology and the Environment* 4th Edn., Peter Collin Publishing, London.
- Farmis A.M.(1997). *Manging Environmental pollution*. Washington.D.C.
- Goodfellow, M. and Williams,S. T.(1983). Ecology of actinomycetes. *Annual Review of Microbiology*, 37:189-216.

- Gutnick, D.L. and Rosenbery, E. (1977). Oil Tankers and Pollution: A Microbiological Approach. *Ann. Rev. Microbiology* 31:379-396.
- Holt, J. C.; Krieg, N. R.; Sneath, P.H.; Staley, J. T. and Williams, S. T. (1994). *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 9th ed. Williams and Wilkins Co., Baltimore.
- Javed, P.M., Dhawal, V.D., Smita, S.B. and Shilpa, S.M.(2011). Bioemulsifier Production by *Streptomyces* sp. S.22 isolated from garden soil. *Indian J. of Experimental biology*, 49:293-297.
- Johnson, A.R., Winding, A., Karlson, U. and Roslev, P.(2002). Linking of microorganisms to phenanthrene metabolism in soil by analysis of <sup>13</sup>C-labeled cell lipids. *Applied and Environmental Microbiology*, 68:6106-6113.
- Kokare, C.R., Mahadik, K.R., Kadam, S.S. and Chopade, B.A. (2007). Studies on bioemulsifier production from marine *Streptomyces* sp. S1, *Indian J. Biotechnology*, 6:78-89.
- Kutzner, H. J. (1981). The family Streptomycetaceae. In: (Starr, M. P.; Stolp, H.; Truper, H. G.; Balows, A. and Schlegel, H. G. eds.). pp. 2028-2089. *The Prokaryotes: A handbook on habitat, isolation and identification of bacteria*. Springer-Verlag, Berlin.
- Lechevalier, H. A. and Lechevalier, P. (1981). Introduction to the order Actinomycetales. In: (Starr, M. P.; Stolp, H.; Truper, H. G.; Balows, A. and Schlegel, H. G. eds.). pp. 1915-1922. *The Prokaryotes: A handbook on habitat, isolation and identification of bacteria*. Springer-Verlag, Berlin.
- Locci, R. (1989). Streptomycetes and related genera. In: (Williams, S. T.; Sharpe, M. E. and Holt, J. G. eds.). 4: 2451-2508. *Bergey's*

manual of systematic bacteriology. Williams and Wilkins Co., Baltimore.

- Margesin, R. and Schinner, F. (2001). Biodegradation and bioremediation of hydrocarbons in extreme environments. *Appl. Microbiology and Biotechnology*, 56:650-663.
- Radwan, S.S., Barabas, G.Y., Sorkhoh, S. D., Szabo, I., Szollosi, J., Matko, J., Penyige, A., Hirano, T. and Szabo, I. M.(1998). Hydrocarbone uptake by *Streptomyces*. *FEMS Microbiology Letters*, 169:87-94.
- Saadoun, I., Alawawdeh, M., Jaradat, Z. and Ababneh, Q. (2008). Growth of *Streptomyces* sp. From Hydrocarbon polluted soil on diesel and their analysis for the presence of Alkane hydroxylase gene (alk B) by PCR. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24:2191-2198.
- Shirling, E. B. and Gottlieb, D. (1966). Methods for characterization of *Streptomyces* ssp. *Int. J. Sys. Bacteriology*, 16: 313-340.
- Tsunakawa , M. ; Tenmyo , O. ; Tomita, k .; Naruse , N.; Kotake , C. and Oki , y. (1992) . Quartromicins , A complex of novel antiviral Antibiotics . *Journal of Antibiotic*, 45 : 180 – 188 .
- UNEP (United Nation Environment Programmer). (1990). The State of marine environment. Report and Studies No. 39.pp.111.
- Williams, S. T., Goodfellow, M., Wellington, E. M., Sneath, P. H. and Sackin, M. J. (1983). Numerical classification of *Streptomyces* and related genera. *Journal of Genetic Microbiology*,129: 1743-1813.
- Williams, S. T.; Goodfellow, M. and Alderson, G. (1989). Genus *Streptomyces*, Waksman and Henrici 1943. In: (Williams, S. T.;

Sharpe, M. E. and Holt, J. G. eds.). 4: 2452-2492. Bergey's manual of systematic bacteriology. Williams and Wilkins Co., Baltimore.

- الدليمي، ثامر يوسف.(٢٠٠٤). دراسة إنتاجية المواد ضد ميكروبية من عزلات محلية لبكتريا الستربتومايسيس باستغلال بدائل محلية للأوساط الغذائية.كلية العلوم،جامعة الانبار.رسالة ماجستير.



# **Isolation and Identification of bacteria Streptomyces from hydrocarbon contaminated soil and study their capacity to decomposition these residues**

*Thamer Yousif Mutter , Huda Musleh Mahmoud*

*Anbar University, College of Science, Biology department*

## **Abstract**

Objective of this research to obtain bacteria Streptomyces that have high-efficiency in the decomposition of hydrocarbon waste. Samples of soil were taken from different area with high pollution, like Ramadi, Baiji and Daura. We have obtained 9 isolates of bacteria Streptomyces the results showed that the isolate Streptomyces spp M3 have high-efficiency in the decomposition of hydrocarbons residues, so we have studied the morphological and physiological characters of this isolate by studying some Biochemical tests and its ability to decompose the hydrocarbon wastes through growth on liquid culture media containing hydrocarbon wastes as Carbon source , we were found that it has high capacity to have a high decomposition for hydrocarbons when grow in the test culture media 4 containing 6 ml of the hydrocarbon residue and 1 g of starch as a Carbone source, and were able to grow very well in the test media 2,3,5,6 and 7 that containing hydrocarbons residues as carbon source, also able to grow in the test media 10 that containing 15 ml of hydrocarbons only as a Carbone source. We conclude that this isolate can be use to decrease the pollution caused by hydrocarbons residues because it has high ability to utilized these residues as carbon source.