المعالجة الحيوية لبعض الملوثات الضارة في البيئات الأرضية والمائية

رساله مقدمة من :

منة الله جمال محمود على

بكالوريوس العلوم الزراعية (برنامج التكنولوجيا الحيوية)
جامعة الفيوم ٢٠١٨

للحصول على درجة الماجستير
في العلوم الزراعية
الميكروبيولوجيا الزراعيه
الى
قسم الميكروبيولوجيا الزراعية
كليه الزراعة, جامعة الفيوم

جامعة الفيوم

٢٠٢٥

الملخص العربي

تضمن هذا العمل نقاط بحثية يمكن تلخيصها على النحو التالي:

١. الجزء الأول

١.١. عزل وحصر الكائنات الحية الدقيقة المقاومة للمعادن الثقيلة والمحفزة لنمو النباتات.

من ثماني عينات جُمعت خلال سبتمبر ٢٠٢٠ من مياه عذبة ملوثة بالمعادن الثقيلة (مصرف البطس، طامية، الفيوم، مصر) وأراضي زراعية ملوثة بالمعادن الثقيلة والبترول (طامية، الفيوم، والداخله، الوادي الجديد، مصر)، عُزلت بكتيريا مقاومة للمعادن الثقيلة، مُحفزة لنمو النباتات، باستخدام بيئة الأجار المُغذي (NA) مُضاف إليها ١ مليمول من الكادميوم و١.٥ مليمول من الرصاص. وبلغ إجمالي عدد العزلات البكتيرية المقاومة للمعادن الثقيلة (الكادميوم والرصاص) ٥٤ عزلة من العينات الثمانية. تم اختبار جميع العزلات على قدرتها على إنتاج إندول حمض الخليك، وإذابة كلا من الفوسفات، والزنك، ونموها على البترول كمصدر وحيد للكربون. من بينهم كانت ٤٩ عزلة منتجة لإندول حمض الخليك بنسب إنتاج مختلفة، و١٧ عزلة مذيبة للزنك، و٨ عزلات مذيبة للفوسفات. كما أظهرت ٢٣ عزلة من جميع العزلات القدرة على النمو على بيئة أجار B.H المضاف إليه النفط الخام.

تم اختبار قدرة العزلات على إذابة الفوسفات غير القابل للذوبان (فوسفات ثلاثي الكالسيوم) والزنك غير القابل للذوبان (أكسيد الزنك) في وسط صلب. أظهرت العزلة EG2PS1 أعلى قدرة على إذابة الزنك والفوسفات، بقيمتي معامل إذابة ١٢.٥ و١٠.٥٢ على التوالي، تليها العزلة EGF14S2 بقيمتي ٦.٨ و٦.٠٧ على التوالي. لتحديد كيميائيا إندول حمض الخليك ، تمت تلقيح العزلات في بيئة مرق إنتاج إندول حمض الخليك المحتوي على ل- تريبتوفان (١ جرام/لتر)، يشير ظهور اللون الوردي إلى إنتاج IAA، تم عمل المنحنى القياسي لـ إندول حمض الخليك وقياسه عند ٥٣٠ نانومتر وتم حساب كمية الإندول حمض الخليك للعينات المختبرة مقارنة بالمنحنى القياسي. تم إنتاج أكبر كمية من الإندول حمض الخليك (محددة كيميائيا) بواسطة العزلة EGF17S2، تليها العزلة EGF16S3 بقيم ١٩٩.١٤ و ١٠٦.٨٤ ميكروجرام / مل، على التوالي.

وبناءً على المعايير المذكورة سابقًا، تم اختيار أفضل أربع عزلات واعدة تعمل على تعزيز نمو النبات ومقاومة للمعادن الثقيلة، وهي EG2PS1 وEGF14S2 وEGF16S3 وEGF17S2 لإجراء دراسات تصنيفية أكثر تفصيلاً.

لتأكيد نتائج الإندول، تم تقديره باستخدام كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء (HPLC) للعزلات الأربع الواعدة. وكانت نتائج قياس تركيز إندول حمض الخليك (IAA) باستخدام كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء للعزلات المختارة كما يلي: ٠.٠، ٥.٩٣، ٨٣.٧١، و١٤٧.٣٨ ميكروغرام/مل للعزلات EG2PS1، وEGF14S2، وEGF16S3، وEGF17S2، على التوالي. كشفت هذه النتيجة أن العزلة EGF17S2، وهي أعلى منتج لإندول حمض الخليك ،كما كانت نتائج قياس إندول حمض الخليك (IAA) المُحددة بطريقة قياس اللون غير دقيقة مقارنةً بـ HPLC.

١.٢. دراسات تصنيفية للسلالات المختارة

تم اختيار العزلات EG2PS1 وEGF14S2 وEGF16S3 وEGF17S2 باعتبارها أكثر العزلات الواعدة المدعمة لنمو النباتات والمقاومة للمعادن الثقيلة وتم وصفها مورفولوجيا وفسيولوجيًا وكيميائيًا (التوصيف المظهري)، بالإضافة إلى التوصيف الوراثى والمزيد من الدراسات.

١.٢.١. التوصيف المورفولوجي والفسيولوجي والكيميائي للسلالات المختارة

كانت خلايا جميع العزلات سالبه لجرام، وعصويات، ومتحركة باستثناء العزلة EGF16S3 التي كانت موجبة الجرام، وعصويات غير منتظمة، وغير متحركة. علاوة على ذلك، كانت جميع العزلات المختارة غير مكونة للجراثيم وإيجابية للكتاليز، في حين كانت العزلات EG2PS1 وEGF14S2 إيجابية للأوكسيديز، وكانت العزلات EGF16S3 وEGF17S2 سالبة للأوكسيديز، وكانت جميع العزلات سلبية للتحلل المائي للنشا والكازين والجيلاتين والدهون، باستثناء العزلة EG2PS1، التي كانت إيجابية، ولم تكن هذه العزلات قادرة على الاستفادة من مجموعة واسعة من المواد العضوية باستثناء العزلة EG2PS1 التي يمكنها الاستفادة من مجموعة واسعة من مصادر الكربون، وكان للعزلات المختارة EG2PS1 وEGF17S2 قدرة واسعة على تكوين الأحماض من مصادر الكربون المختلفة، مقارنة بالعزلتين EGF14S2 وEGF16S3، والتي لم يكن لديها هذه القدرة.

١.٢.٢. التوصيف الوراثى للسلالات المختارة

تم أيضًا تحليل تسلسل النيوكليوتيدات لجين ١٦S rRNA؛ وتم تضاعفة باستخدام زوج من البادئات العالمية: 'fD1 5' AGAGTTTGATCCTGGCTCAG 3 و 'rD1 5' CTTAAGGAGGTGATCCAGCC 3'، وبعد دراسة وتحليل جين ١٦S rDNA

للعزلات المختارة، تبين أن هذه العزلات تنتمي إلى ٣ أجناس رئيسية؛ *Pseudomonas* و *Leucobacter* و *Providencia*، والتي تنتمي إلى العائلات؛ Pseudomonadaceae و Microbacteriaceae و Morganellaceae على التوالي.

بلغت نسب تشابه السلالات المعزولة مع السلالة الأقرب صلةً بها في بنك الجينات (NCBI) 99.88%، و٩٩.٥٣%، و٩٩.٨٧%، و٩٩.٨٨% للسلالات EG2PS1، وEGF14S2، وEGF16S3، وEGF17S2، على التوالي. بناءً على الخصائص المظهرية والجينية، يمكن تصنيف السلالات EG2PS1، وEGF14S2، وEGF16S2، وEGF17S2 على أنها *Pseudomonas aeruginosa*، و*Pseudomonas putida*، و *Leucobacter komagatae*، و *Providencia rettgeri*، على التوالي.

١.٢.٣. الخواص التضادية والانحلالية للسلالات المختارة

لم يكشف تحليل التفاعلات بين البكتيريا عن أي دليل على نشاط تضادي بين السلالات المختبرة، وهو ما يتضح من خلال غياب مناطق التثبيط المحيطة بنمو البكتيريا على أطباق الأجار. وبالتالي، اعتُبرت جميع العزلات متوافقة، وبالتالي يمكن استخدامها لبناء تحالف بكتيري مُخصص للتحلل الحيوي للنفط الخام والمعالجة الحيوية للمعادن الثقيلة في التربة الملوثة.

أظهرت السلالتان EGF16S3 وEGF17S2 انحلال دم جاما، مما يشير إلى غياب انحلال كريات الدم الحمراء، بينما أظهرت السلالتان EG2PS1 وEGF14S2 انحلال دم ألفا، ويتجلى ذلك في تغير اللون الى المخضر أو البني النموذجي لانحلال كريات الدم الحمراء الجزئي. تجدر الإشارة إلى أن انحلال الدم بيتا - الذي يتميز بانحلال كامل لكريات الدم الحمراء ويرتبط عادةً بارتفاع معدل الضراوة - لم يُلاحظ في أيٍّ من العزلات، مما يشير إلى انخفاض قدرتها على التسبب في الأمراض.

١.٣. مقاومة السلالات المختارة للمعادن الثقيلة في بيئة النمو

تم تحديد مقاومة السلالات المختارة لأملاح المعادن الثقيلة بعد تحضين البكتيريا لمدة يومين في بيئة الـL.B السائلة مع إضافة $ZnSO_4.7H_2O$، $K_2Cr_2O_7$، $Cd(CH_3COO)_2.2H_2O$، $CuSO_4.5H_2O$، $Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$، و$NiCl_2.6H_2O$ (التركيزات النهائية ٠.٠؛ ٠.٥؛ ١.٠؛ ٢.٠؛ ٤ و ٦.٠ مليمول)، وتم تحديد قدرة الخلايا على النمو من خلال الكثافة الضوئية للثقافة (λ=540 نانومتر).

تتميز سلالة EG2PS1 بمقاومة عالية للكادميوم في بيئة النمو، مقارنةً بالسلالات المذكورة سابقًا، ثم انخفضت تدريجيًا حتى التركيز ٢.٥ مليمول. ووفقًا لمقاومة السلالات المدروسة للكادميوم، يُمكن ترتيبها تنازليًا على النحو التالي: EG2PS1، وEGF14S2، وEGF16S3، وEGF17S2، على التوالي. بالنسبة للكروم، أظهرت جميع السلالات المختبرة مقاومةً للكروم، ولكن بنسب متفاوتة، باستثناء السلالة EGF17S2 التي تأثرت بشدة بوجود الكروم في بيئة النمو. بناءً على مقاومة السلالات المدروسة للكروم، يُمكن ترتيبها تنازليًا على النحو التالي: EG2PS1، وEGF14S2، وEGF16S3، وEGF17S2، على التوالي. جميع السلالات مقاومة للنحاس، ولكن بنسب مختلفة. بناءً على مقاومة السلالات المدروسة للنحاس، يُمكن ترتيبها تنازليًا كما يلي: EG2PS1، وEGF14S2، وEGF16S3، وEGF17S2، على التوالي. أما بالنسبة للنيكل، تتمتع جميع السلالات بمقاومة للنيكل، ولكن بنسب مختلفة. يمكن ترتيب مقاومة السلالات المدروسة للنيكل تنازليًا على النحو التالي: EG2PS1، وEGF14S2، وEGF17S2، وEGF16S3، على التوالي. أظهرت السلالة EG2PS1 مقاومة عالية للرصاص في بيئة النمو مقارنةً بجميع السلالات المذكورة سابقًا. حيث انخفض نمو السلالة تدريجيًا من ٠.٥ إلى ٦.٠ مليمول من الرصاص. بناءً على مقاومة السلالات المدروسة للرصاص، يُمكن ترتيبها تنازليًا على النحو التالي: EG2PS1، وEGF14S2، وEGF16S3، وEGF17S2، على التوالي. تتميز السلالات المدروسة بمقاومة متفاوتة للزنك. وحسب مقاومتها للزنك، يمكن ترتيبها تنازليًا على النحو التالي: EG2PS1، وEGF14S2، وEGF16S3، وEGF17S2، على التوالي.

بناءً على تحمّل السلالات المختبرة للعناصر الثقيلة، لوحظ أن ترتيبها كان كالتالي: Cu > Ni > Pb > Zn > Cr > Cd، حيث أظهرت جميع السلالات مقاومةً للمعادن الثقيلة المختبرة بنسبٍ متفاوتة. كما تجدر الإشارة إلى أن السلالات السالبة لجرام أظهرت مقاومةً عاليةً للمعادن الثقيلة مقارنةً بالسلالة الموجبة لجرام.

١.٤. دراسة قدرة السلالات المختارة على تحلل البترول

دُرست فعالية هذه العزلات ضد الهيدروكربونات باستخدام أطباق بتري مع بيئة بوشنل-هاس الصلبة، وبيئة بوشنل-هاس السائلة مع إضافة ١% من البترول كمصدر وحيد للكربون. وللتجزئة، استُخدمت مذيبات مختلفة لاستخراج مكوناته المختلفة من البارافينات، والنفثينات، والهيدروكربونات العطرية أحادية وثنائية ومتعددة الحلقات، والقطران الكحولي والبنزين.

تمكنت جميع السلالات من النمو باستخدام البترول كمصدر وحيد للكربون، وأظهرت السلالات EG2PS1 وEGF16S3 قدرتها العالية على تحلل البترول وأظهرت نموًا قويًا تحت قطرة البترول، تليها السلالات EGF17S2 وEGF14S2. أظهر الفحص المكروسكوبى لجميع السلالات أن مركز القطرات كان مشغولاً بالكائنات الحية الدقيقة، كما وجد أن الخلايا الميكروبية في محيط قطرات الزيت كانت متحركة للغاية ولم تشكل أي تجمعات.

أظهرت دراسة النشاط التحللي لهذه الكائنات الدقيقة تجاه البترول (١%) أن سلالة EG2PS1 قادرة على تحلل ٤٩.٠% من البترول، كأكبر سلالة قادرة على تحلله، تليها سلالتى EGF16S3 وEGF17S2، اللتان كانتا قادرتين على تحلل ٣٢.٨% و٢٨.٣% من البترول على التوالي. أما سلالة EGF14S2، فقد سجلت أقل نسبة تحلل للبترول ، حيث بلغت ٢٥.٢%. أشار التحليل التجزيئى للزيت المتبقي إلى أن جميع المكونات الرئيسية لجميع السلالات تعرضت للتحلل الميكروبي: البارافينات، والنفثينات، والهيدروكربونات العطرية أحادية وثنائية ومتعددة الحلقات، بالإضافة إلى القطران الكحولي والبنزين.

ومن المعروف أن البارافينات (الألكانات) هي المكون الرئيسي في النفط الخام، ومحتواها في الزيت المستخدم حوالي ٧٠%، وكانت السلالة EG2PS1 أفضل في تحلل البارافينات، تليها السلالات EGF16S3، وEGF17S2، وEGF14S2 على التوالي. يُظهر تحليل GLC لاستخدام مكونات الألكانات من قِبل السلالات المختارة مقارنةً بعينة الضابطة أن جميع السلالات تُحلل البارافينات (C14-C28)، ولكن بنسب تحلل متفاوتة. تُظهر نتائج GLC لكسور البارافين أن سلالة EGF17S2 حلّلت الهيدروكربونات منخفضة الوزن الجزيئي (C14 إلى C22) بشكل أكثر كفاءة من الهيدروكربونات عالية الوزن الجزيئي (C23 إلى C28). وكان أعلى معدل تحلل للبكتيريا في نطاق الألكانات منخفضة ومتوسطة السلسلة (C9-C18).

بناء على ذلك ، يمكن القول ان جميع السلالات يمكنها استخدام البترول (كمصدر وحيد للكربون والطاقة) والتحلل البيولوجي (كما هو موضح من خلال تحليل GLC الكمي) لجميع مكونات البترول بنسب مختلفة.

٢. الجزء الثانى

٢.١. تأثير سلالات البكتيريا على حالة مياه النبات، كفاءة البناء الضوئي والتوصيل الثغري لنباتات الفاصوليا النامية في تربة ملوثة بالكادميوم

أدى إجهاد الكادميوم إلى انخفاض ملحوظ في محتوى الماء النسبي للنبات (RWC)، مؤشر ثبات غشاء الخلية (MSI)، المحتوى النسبى للكلوروفيل (SPAD)، كفاءة التمثيل الضوئى (F_v/F_m وF_v/F_0) ومؤشر أداء جهاز البناء الضوئي(PI) لنباتات الفاصوليا مقارنةً بالكنترول. سجلت التربة الملوثة بالكادميوم بتركيز ٥ و١٠ أجزاء في المليون انخفاض فى كلا من: محتوى الماء النسبي للنبات بنسبة ٣.٢٪ و ٧.٢٪، مؤشر ثبات غشاء الخلية بنسبة ١٨.٣٪ و٢٤.٦٪، المحتوى النسبى للكلوروفيل بنسبة ٩.٢٪ و٢١.٥٪ وF_v/F_m بنسبة ٢.٤٪ و٣.٧٪، ومؤشر أداء جهاز البناء الضوئي بنسبة ١٠.٤٪ و٢٠.٨٪ على الترتيب. أدى معاملة التربة الملوثة بالكادميوم بسلالات البكتيريا إلى زيادة معنوية في محتوى الماء النسبي للنبات ومؤشر ثبات غشاء الخلية والمحتوى النسبى للكلوروفيل و كفاءة التمثيل الضوئى (F_v/F_m وF_v/F_0) ومؤشر أداء جهاز البناء الضوئي قدرها ١٧.٥٪ و٥.١٪ و٣١.٤٪ و٣٥.٣٪ و٣٣.٣٪ و٩.٠٣٪ للسلالة ٣٣ وبنسبة ٢٠.٣٪ و٦.٤٪ و٣٤.٣٪ و٥٠.٠٪ و٥٠.٠٪ و٩.٨٪ للسلالة المختلطة على التوالي مقارنة بالتربة غير المعاملة بالبكتريا. سجلت التربة الملوثة بالكادميوم بتركيز ٥ أجزاء في المليون ومعاملة التربة بسلالات بكتيرية مختلطة زيادة بنسبة ٧.٥٪، ١٨.٨٪، ٢٢.٥٪، ٢.٥٪، ٣٨.٢٤٪، ٢٥.٠٪، و١.٣٪ و٣٣.٧٪ في قيم محتوى الماء النسبي للنبات ومؤشر ثبات غشاء الخلية والمحتوى النسبى للكلوروفيل و كفاءة التمثيل الضوئى (F_v/F_m وF_v/F_0) ومؤشر أداء جهاز البناء الضوئي على التوالي، مقارنةً بمعاملة (٥ أجزاء في المليون من الكادميوم والنباتات غير معاملة بسلالات البكتيريا). كما أدت التربة الملوثة بالكادميوم بتركيز١٠ أجزاء في المليون والمعاملة بسلالات بكتيرية مختلطة إلى زيادة إيجابية في قيم محتوى الماء النسبي للنبات ومؤشر ثبات غشاء الخلية والمحتوى النسبى للكلوروفيل وكفاءة التمثيل الضوئى (F_v/F_m وF_v/F_0) ومؤشر أداء جهاز البناء الضوئي بنسبة ١٥.٥٪، ١٢٤.٥٪، ٢٦.٢٪، ١٣.٩٪، ٥١.٦٪ و٥٠.٠٪ على التوالي مقارنةً بمعاملة (١٠ أجزاء في المليون من الكادميوم + بدون بكتيريا).

٢.٢. تأثير سلالات البكتيريا على خصائص نمو نباتات الفاصوليا النامية في تربة ملوثة بالكادميوم

أظهرت نباتات الفاصوليا المزروعة في تربة ملوثة بالكادميوم بتركيز ١٠ أجزاء في المليون انخفاضًا ملحوظًا في كلا من: ارتفاع النبات، قطر الساق، عدد الأوراق، وزن النبات الطازج، وزن النبات الجاف ومساحة الأوراق بنسبة ١٣.٥٪، ١٣.٤٪، ٢٧.٢٪، ٢٥.٠٪، ٢٥.٩٪ و٣٢.٧٪ على التوالي مقارنةً بنباتات الكنترول (صفر جزء في المليون من الكادميوم). في حين أن معاملة التربة بالسلالات البكترية مثل السلالة ٢، السلالة ٢٩، السلالة ٣١، السلالة ٣٣ وخليط من سلالات البكتيريا أدى إلى زيادة ملحوظة في ارتفاع النبات، قطر الساق، عدد الأوراق وزن النبات الطازج وزن النبات الجاف، مساحة الأوراق مقارنةً بنباتات الكنترول. تحت تربة ملوثة بالكادميوم (١٠ جزء في المليون). أدى معاملة التربة الملوثة بتركيز ١٠ جزء /مليون من الكادميوم بخليط من السلالات بكتيرية إلى زيادة في ارتفاع النبات بنسبة ٤٢.٧٪، قطر الساق بنسبة ٤٦.٥٪، عدد الأوراق بنسبة ٥٧.٤٪ والوزن الطازج للنبات بنسبة ٤١.٤٪، الوزن الجاف للنبات بنسبة ٢٧.٥٪، مساحة الأوراق بنسبة ٧٠.٨٪ مقارنة بالمعاملة (١٠ جزء في المليون من الكادميوم و بدون بكتيريا).

٢.٣. تأثير سلالات البكتيريا على إنتاجية نباتات الفاصوليا النامية في تربة ملوثة بالكادميوم

انخفضت أعداد القرون/النباتات النامية في تربة ملوثة بالكادميوم بتركيزات ٥ و١٠ جزء في المليون بنسبة ١٨.٤٪ و٣٥.١٪، كما انخفض محصول القرون/نبات بنسبة ٢٩.٤٪ و٤٥.٦٪ على التوالي مقارنةً بالكنترول (صفر جزء في المليون من الكادميوم). من ناحية أخرى أدى تلقيح التربة الملوثة بالكادميوم بسلالات بكتيرية إلى زيادة أعداد القرون/النبات ومحصول القرون/النبات بنسبة ١٨٪ و٧.٩٪ للسلالة ٢ وبنسبة ١٨.٩٪ و١٥.٩٪ للسلالة ٢٩ وبنسبة ٢٧.١٪ و٢١.٦٪ للسلالة ٣١وبنسبة ٢٤.٧٪ و٢٦.٥٪ للسلالة ٣٣ وبنسبة ٣٥.٧٪ و٣٤.١٪ للسلالات المختلطة على التوالي مقارنةً بالتربة غير الملقحة. أدت معاملة التربة الملوثة بتركيز ٥ جزء في المليون من الكادميوم بخليط من سلالات البكتيريا إلى زيادة في عدد القرون/نبات، ومحصول القرون/نبات بنسبة ٣١.٣٪ و٣٣.٧٪ على التوالي مقارنةً بالمعاملة (٥ جزء في المليون من الكادميوم و بدون بكتيريا). كذلك في التربة الملوثة بالكادميوم (بمعدل ١٠ جزء في المليون) أدت المعالجة بمزيج من سلالات البكتيريا إلى زيادة في عدد القرون/نبات ومحصول القرون/نبات بنسبة ٥٣٪ و٣٤٪ على التوالي مقارنةً بالمعاملة (١٠ جزء في المليون من الكادميوم وبدون بكتيريا).

٢.٤. تأثير سلالات البكتيريا على محتوى الاوراق والقرون من الكادميوم لتباتات الفاصوليا النامية في تربة ملوثة بالكادميوم

أشارت النتائج المتحصل عليها الى زيادة محتوى الكادميوم في النباتات المزروعة في تربة ملوثة بالكادميوم بتركيز ١٠ جزء في المليون بنسبة ٤٦.٩٪ و٥٢.٦٪ للأوراق والقرون على التوالي مقارنةً بالتربة التى تحتوى على تركيز ٥ جزء في المليون من الكادميوم. بينما أدى تلقيح التربة الملوثة بالكادميوم بسلالات بكتيرية إلى انخفاض ملحوظ في محتوى الكادميوم في الأوراق والقرون بنسبة ٣٤.٤٪ و٣٢.١٪ للسلالة ٢ وبنسبة ٤٢.٢٪ و٣٩.٣٪ للسلالة ٢٩ وبنسبة ٤٦.٩٪ و٤٦.٤٪ للسلالة ٣١ وبنسبة ٤٣.٨٪ و٣٩.٣٪ للسلالة ٣٣ وبنسبة ٤٨.٤٪ و٤٦.٤٪ للسلالات المختلطة على التوالي مقارنةً بالتربة غير الملقحة. أظهرت التربة الملوثة بالكادميوم بتركيز ٥ جزء في المليون والمعاملة بسلالات بكتيرية مختلطة انخفاضا في محتوى الكادميوم في الأوراق والقرون بنسبة ٥٠٪ و٥٠٪ على التوالي مقارنةً بالمعاملة (٥ جزء في المليون من الكادميوم وبدون بكتيريا). كما أظهرت التربة الملوثة بالكادميوم (بمعدل ١٠ جزء في المليون) والتربة الملقحة بسلالات بكتيرية مختلطة انخفاضا في محتوى الكادميوم في الأوراق والقرون بنسبة ٤٨.٢٪ و٤٧.٧٪ على التوالي، مقارنةً بالمعاملة (١٠ جزء في المليون من الكادميوم وبدون بكتيريا).

٢.٥. تأثير سلالات البكتيريا على تراكم الواقيات الاسموزية لتباتات الفاصوليا النامية في تربة ملوثة بالكادميوم

فى التربة الملوثة بالكادميوم بتركيز ٥ و١٠ جزء في المليون زاد تراكم السكريات الكلية الزائبة بشكل ملحوظ بنسبة ٤٤.٠٪ و٤٩.٨٪، والبرولين الحر بنسبة ٥٠.٥٪ و٥٩.٧٪ مقارنةً بتركيز صفر جزء في المليون من الكادميوم على التوالى. اظهرت النتائج ان تلقيح التربة الملوثة بالكاميوم بسلالات بكتيرية إلى اتخفاض ملحوظ في المواد السكريات الكلية الزائبة والبرولين الحر بنسبة ١٢.١٪ و٥.٤٪ للسلالة ٢ و١٥.٠٪ و١٠.٦٪ للسلالة ٢٩ و٢٣.١٪ و١١.١٪ للسلالة ٣١، ٢٧.٨٪ ١٧.١٪ للسلالة ٣٣ و٣٤.٦٪ و٢٠.٩٪ للسلالات البكتيريا المختلطة على التوالي مقارنةً بالتربة غير المعاملة. فى التربة الملوثة بالكادميوم بتركيز ٥ جزء في المليون والتربة الملقحة بسلالات بكتيرية مختلطة إلى إنخفاض ملحوظ في كل من السكريات الكلية الزائبة والبرولين الحر بنسبة ٢٧.٧٪ و١٧.١٪ على التوالي مقارنةً بمعاملة (٥ جزء في المليون من الكادميوم وبدون بكتيريا). في التربة الملوثة بالكادميوم (١٠ جزء في المليون) والمعاملة بسلالات بكتيرية مختلطة إلى إنخفاض ملحوظ في كل من المواد السكريات الكلية

الزائبة والبرولين الحر بنسبة ٣٧.٣٪ و٢٤.٥٪ مقارنةً بالمعاملة (١٠ جزء في المليون من الكادميوم وبدون بكتيريا).

٢.٦. تأثير سلالات البكتيريا على مضادات الاكسدة الانزيمية والغيرالانزيمية لتباتات الفاصوليا النامية في تربة ملوثة بالكادميوم

ارتفع محتوى الجلوتاثيون وحمض الأسكوربيك وانزيم الكاتاليز والسوبر أكسيد ديسميوتاز في أوراق نباتات الفاصوليا النامية في تربة ملوثة بالكادميوم بتركيز ٥ و١٠ أجزاء في المليون مقارنةً بالكنترول (صفر جزء في المليون)، بزيادة قدرها ٢٠.٨٪ و٢٣.١٪ في الجلوتاثيون و٨.٢٪ و١٠.٢٪ في حمض الأسكوربيك ، و٢.٣٪ و٥٥.٩٪ في انزيم الكاتاليز ، و٢٤.٥٪ و٢٥.٩٪ في انزيم السوبر أكسيد ديسميوتاز. أدى استخدام سلالات البكتيريا إلى خفض مستويات الجلوتاثيون وحمض الأسكوربيك وانزيم الكاتاليز والسوبر أكسيد ديسميوتاز بنسبة ١٦.٨٪ و١١.٦٪ و٦.٣٪ و٥٪ في السلالة ٢٩ وبنسبة ١٠.٦٪ و١١.١١٪ و١٣.٨٪ و٥.١٪ في سلالة البكتيريا المختلطة.

٢.٧. تأثير سلالات البكتيريا على محتوى الاوراق والقرون من العناصر الغذائية لتباتات الفاصوليا النامية في تربة ملوثة بالكادميوم

نتج عن التربة الملوثة بالكادميوم بتركيز ٥ أجزاء في المليون إلى انخفاض ملحوظ في تركيزات النيتروجين والفوسفور والبوتاسيوم في الأوراق بنسبة ٥.٨٪ و٢٦٪ و٨.٨٪، وفي القرون بنسبة ٣.١٪ و٢٠٪ و١٢.٨٪. كما نتج عن زراعه نباتات الفاصوليا فى التربة الملوثة بالكادميوم بتركيز ١٠ جزء في المليون إلى انخفاض ملحوظ في تركيزات النيتروجين والفوسفور والبوتاسيوم في الأوراق بنسبة ١٣.٨٪ و٣٧.٥٪ و١٣.٦٪، وفي القرون بنسبة ٨.٦٪ و٤٨.٨٪ و١٦٪. بينما أدى معاملة النباتات بالسلالات البكتيريا إلى تعزيزامتصاص الأوراق للنيتروجين والفوسفور والبوتاسيوم بشكل ملحوظ بنسبة ١٣.٤٪ و٣٢.٨٪ و١٣.٦٦٪ للسلالة ٢ وبنسبة ١٤.٣٪ و٢١.٩٪ و١٢.٤٪ للسلالة ٢٩ وبنسبة ١٤.٣٪ و٢٣.٤٪ و٢٣.٨٪ للسلالة ٣١ وبنسبة ١١.٣٪ و٣٤.٤٪ و١٥.٦٪ للسلالة ٣٣ وبنسبة ١٧.٣٪ و٥٣.١٪ و٢٥.٣٪ لسلالات البكتيريا المختلطة على التوالي مقارنة بالكنترول . وقد أدى معاملة التربة الملوثة بالكادميوم بسلالات البكتيريا إلى تعزيز امتصاص البذورللنيتروجين والفوسفوروالبوتاسيوم بنسبة ١.٧٪و٢٢.٨٢٪ و١٢.٣٪ للسلالة ٢، وبنسبة ٧.٩٪ و٤٤.٤٪ و١١.٥٪ للسلالة ٢٩ وبنسبة ٨.٥٪ و٥٣.٣٪ و١٦.٥٪ للسلالة ٣١ وبنسبة ١١.٦٣٪ و٤٦.٧٪ و١٦.٧٪ للسلالة ٣٣ وبنسبة

١٣.٧٪ و٥٤.٤٪ و٢٢.٤٪ لسلالات البكتيريا المختلطة على التوالي مقارنة بالنباتات الغير معاملة بالبكتيريا.

٢.٨. تأثير سلالات البكتيريا على التركيب التشريحى لاوراق تباتات الفاصوليا النامية في تربة ملوثة بالكادميوم

عند تركيز ٥ جزء في المليون من الكادميوم انخفضت قيم midvein height (MH)، midvein width (MW), midvein vascular bundle height (MVBH), midvein vascular bundle width (MVBW), leaf blade thickness (LBT), spongy tissue thickness (STT), and plastid thickness (PT) في نباتات الفاصوليا بنسبة ٦.٠٪، ١٠.٢٪، ١٠.٥٪، ٩.٢٪، ١٣.٠٪، ١٠.٤٪، و١١.١٪ على التوالي، مقارنةً بالكنترول (صفر جزء في المليون). عند تركيز ١٠ جزء في المليون من الكادميوم انخفضت قيم MH، MW، MVBH، MVBW، LBT، STT، وPT في نباتات الفاصوليا بنسبة ١٣.٥٪، ١٤.١٪، ١٤.٦٪، ١٦.١٪، ٢١.١٪، ١٧.٨٪ و٢٢.٤٪ على التوالي مقارنةً بالكنترول (صفر جزء في المليون). نتج عن معاملة نباتات الفاصوليا النامية في تربة ملوثة بالكادميوم بالسلالة ٣١ إلى زيادة بنسبة ١٧.٩٪ MH، ١١.٤٪ MW، ١٨.٣٪ MVBH، ٢٢.٢٪ MVBW، ٣١.٤٪ LBT، ٥٥.٦٪ STT و٤٤.٦٪ PT. في حين أن السلالة المختلطة ادت الى زيادة كلا من: MH،MW، MVBH، MVBW، LBT، STT، PT في نباتات الفاصوليا بنسبة ٢٧.٧٪، ١٢.٨٪، ٣٣.٨٪، ٢٥.٦٪، ٤٧.٩٪، ٧٨.٣٪ و٥٨.٢٪ على التوالي مقارنةً بالكنترول. وفي النهاية تخلص الدراسة إلى أن معاملة التربة الملوثة بالكادميوم بالسلالات البكتيرية يمكن أن يكون حلاً مستدامًا وقابلًا للتطبيق وتخفيف الآثار السلبية الناتجة عن للتلوث بالكادميوم وبالتالي تعزيز إنتاجية محصول الفاصوليا في المناطق الزراعية الملوثة بالكادميوم مثل بعض المناطق في محافظة الفيوم بجمهورية مصرالعربية.

٣. الجزء الثالث

٣.١. تأثيرالتلقيح البكتيريا على سلامة الأوراق وكفاءة التمثيل الضوئي لنباتات الفول النامية في تربة ملوثة بالبترول

مقارنة بالكنترول (بدون بكتريا وبدون بترول) أظهرت التربة الملوثة بالبترول انخفاض فى قيم كلا من: محتوى الماء النسبي للنبات (RWC) بنسبة ٥.٥٪ و١١.٢٪ و١٤.٤٪، مؤشر ثبات غشاء الخلية (MSI) بنسبة ١.٢٪ و١٣.٦٪ و٢٠.٧٪، المحتوى النسبى للكلوروفيل

(SPAD) بنسبة ١٦.٣٪ و٢٢.٣٪ و٢٩.٥٪، كفاءة التمثيل الضوئى (F_v/F_m) بنسبة ٣.٧٪ و٤.٩٪ و٩.٨٪، وF_v/F_0 بنسبة ١٥.٨٪ و٢٥.٠٪ و٣٩.٦٪، ومؤشر أداء جهاز البناء الضوئي بنسبة ٥١.٤٪ و٦٠.١٪ و٧٢.٣٪ عند تركيزات ١٪ و٢٪ و٣٪ بترول على التوالي. من ناحية أخرى فقد ارتفعت قيم كلا من: محتوى الماء النسبي للنبات، مؤشر ثبات غشاء الخلية ، المحتوى النسبى للكلوروفيل، كفاءة التمثيل الضوئى ومؤشر أداء جهاز البناء الضوئي بنسبة ٤.٠٪ و١٤.٩٪ و١١.٨٪ و٢.٤٪ و٤١.٢٪ و٢١.٧٪ مقارنةً بالكنترول (بدون بكتريا وبدون بترول) على التوالي. أما النباتات النامية في تربة ملوثة بالبترول بنسبة ٣٪ بترول ومعاملة بالبكتيريا فقد سجلت زيادة بنسبة ٨.٧٪ في محتوى الماء النسبي للنبات و١٢.٦٪ فى مؤشرثبات غشاء الخلية و١٣.٢٪ فى المحتوى النسبى للكلوروفيل و٨.١٪ لـ F_v/F_m و٦.١٪ لـ F_v/F_0 و١٠٥.٧٪ فى مؤشر أداء جهاز البناء الضوئي على التوالي.

٣.٢. تأثيرالتلقيح البكتيريا على الواقيات الاسموزية، النشاط الأنزيمي وغير الأنزيمي لنباتات الفول البلدي النامية في تربة ملوثة بالبترول

تحت تأثير إجهاد التلوث بالبترول بتركيز١٪ كانت مستويات السكريات الكلية الذائبة الكلية والبرولين الحر وانزيم الكاتاليز انزيم السوبر أكسيد ديسميوتاز وحمض الأسكوربيك والجلوتاثيون في نباتات الفول البلدي 11.93 (ملليجرام/ جرام وزن طازج) و٢١.٧٦ (ملليجرام/ جرام وزن طازج) و٠.١٤٥ (وحدة ملليجرام بروتين) و٠.١٢٧ (وحدة ملليجرام بروتين) و٠.١٤٤ (ميكرومول/جم وزن طازج) و٠.٢٠٣ (ميكرومول/جم وزن طازج) على التوالي. مقارنة بالكنترول اوضحت النتائج المتحصل عليها ان التربة الملوثة بالبترول بتركيز٢٪ زيادةً في محتوى السكريات الذائبة الكلية و٣٠.٨٪ في البرولين الحر و٢٢.٢٪ في وانزيم الكاتاليز ، ٣.٨٪ في انزيم السوبرأكسيد ديسميوتاز، ٣١.٣٪ في حمض الأسكوربيك و٣١.٣٪ في الجلوتاثيون. بينما سجلت التربة الملوثة بالبترول بتركيز٣٪ زيادةً في محتوى السكريات الذائبة الكلية، و٣٣٩.٧٪ في البرولين الحر، ٣٤.١٪ في انزيم الكاتاليز و٤٦.٤٪ في انزيم السوبرأكسيد ديسميوتاز و٣٦.٨٪ في حمض الأسكوربيك و٤٣.٦٪ في الجلوتاثيون على التوالي مقارنةً بالكنترول. وقد أدت معالجة التربة الملوثة بالبترول بالبكتيريا إلى زيادة في محتوى السكريات الذائبة الكلية، البرولين الحر وانزيم الكاتاليز وانزيم السوبر أكسيد ديسميوتاز، حمض الأسكوربيك والجلوتاثيون بنسبة ٢٠.٢٪، ٩.٥٪، ٣٣.٥٪، ٢٦.٦٪، ٩.٠٪ و١٩.٨٪ مقارنةً بالكنترول. علاوة على ذلك سجلت النباتات النامية فى تربة ملوثة بالبترول بتركيز ٣٪ والمعاملة بالبكتريا زيادة كبيرة محتوى السكريات الذائبة الكلية، البرولين الحروانزيم الكاتاليز وانزيم

السوبر أكسيد ديسميوتاز، حمض الأسكوربيك والجلوتاثيون بنسبة ٢٦.٧٪، ١٨.١٪، ١٥.٥٪، ٢٢.٣٪، ٩.٢٪ و٣٣.٦٪ على التوالي مقارنة بمعاملة (٣٪ بترول).

٣.٣. تأثير التلقيح البكتيريا على التشريح الثغرى لنباتات الفول البلدي النامية في تربة ملوثة بالبترول

مقارنةً بمعاملة الكنترول (بدون بكتريا وبدون بترول) انخفضت كثافة الثغور في التربة الملوثة بالبترول بنسبة ٤.٧٪ و٩.٦٪ و١١.٧٪ ومساحة فتحات الثغور بنسبة ٣٩.٢٪ و٤٩.٨٪ و٦١.٩٪ عند تركيزات ١٪ و٢٪ و٣٪ بترول على التوالي. من ناحية أخرى زادت كثافة الثغور ومساحة فتحات الثغور في نباتات الفول البلدي المعالجة بالبكتيريا بنسبة ٧.٦٪ و١٠.٢٪ مقارنةً بالكنترول (بدون بكتريا وبدون بترول) على التوالي. في حين أن النباتات المعاملة بالبكتريا والنامية فى تربة ملوثة بالبترول بنسبة ٣٪ قد سجلت زيادة في كثافة الثغور بنسبة ٦.٢٪ ومساحة فتحة الثغور بنسبة ٤٢.٩٪ مقارنة بالمعاملة ٣٪ بترول وبدون بكتريا.

٣.٤. تأثير التلقيح بالبكتيريا على الصفات النمو لنباتات الفول البلدي النامية في تربة ملوثة بالبترول

سجلت النباتات النامية قى تربة ملوثة بالبترول بتركيز ٢٪ و٣٪ انخفاض في ارتفاع النبات بنسبة ١٢.١٪ و١٧.٧٪ وعدد الأوراق بنسبة ٣٢.٢٪ و٤٥.٩٪ وقطر الساق بنسبة ١٤.٤٪ و٢٣.٦٪، والمادة الجافة للنبات بنسبة ٢٩.٣٪ و٤٧.٩٪ على التوالي مقارنةً بالكنترول (بدون بكتريا وبدون بترول) . أما المعاملة (٣٪ بترول+ المعاملة بالبكتريا) فقد حسنت من صفات النمو ممثلة فى: ارتفاع النبات وعدد الأوراق وقطر الساق والمادة الجافة للنبات بنسبة ٤.٩١٪ و١١.١٪ و٢٣.٩٪ و٥٥.٨٪ مقارنةً بـالمعاملة (٣٪ بترول فقط) على التوالي.

٣.٥. تأثيرالتلقيح البكتيريا على امتصاص العناصرالغذائية لنباتات الفول البلدي النامية في تربة ملوثة بالبترول

مقارنةً بالكنترول (بدون بكتريا وبدون بترول) انخفضت نسبة النيتروجين الممتص فى نباتات الفول النامية في تربة ملوثة بالبترول بنسبة ١١.٨٪ و٢٨.٦٪ و٣٤.٨٪ والفوسفور بنسبة ٣٣.٣٪ و٤١.١٪ و٥٤.٧٪ والبوتاسيوم بنسبة ١١.١٣٪ و٢١.٠٪ و٢٨.٨٪ عند تركيزات ١٪ و٢٪ و٣٪ بترول على التوالي. أدى تلقيح التربة بالبكتيريا إلى زيادة ملحوظة في محتوى الأوراق من النيتروجين والفوسفور والبوتاسيوم بنسبة ١٩.٧٪ و١٩.٤٪ و١٤.٧٪ مقارنةً بالمعاملة بالكنترول (بدون بكتريا وبدون بترول).

وفي النهاية تخلص الدراسة إلى أن تلقيح التربة الملوثة بالبترول بالبكتريا يمكن أن يكون حلاً مستدامًا وقابلًا للتطبيق فى تخفيف الآثارالسلبية الناتجة عن التلوث بالبترول عن طريق تحسين صفات النمو وكفاءة التمثيل الضوئى وامتصاص العناصر الغذائية ونشاط الانزيمات لنباتات افول البلدى في الاراضى الزراعية الملوثة بالبترول مثل بعض المناطق بجمهورية مصرالعربية.

٣.٦. النفط الخام المتبقي في التربة بعد الحصاد

تشير النتائج إلى أن استخدام إتحاد البكتيريا قد حسّن بشكل ملحوظ من تحلل النفط الخام في التربة مقارنةً بالعينات غير المُعالجة. واستنادًا إلى محتوى النفط الخام المتبقي في التربة بعد حصاد نباتات الفول، بلغت نسب التحلل ٨٩.٢٪، و٨٤.٩٥٪، و٧٢.٥٦٪ للمعاملات Pet1%+Bac، وPet2%+Bac، وPet3%+Bac، على التوالي. وتشير هذه النتائج إلى أن زيادة تركيز النفط في التربة أدّت إلى انخفاض مُقابل في كفاءة التحلل الحيوي. في المقابل، كانت نسب الانخفاض في محتوى النفط الخام للمعاملات غير المُعالجة Pet1%، وPet2%، وPet3% أقل بكثير، حيث بلغت ١٥.٩٪، و٩.٩٪، و٨.٣٪، على التوالي. وبناء على النتائج، يمكن الاستنتاج أن تعزيز التربة بمجموعة بكتيرية قادرة على التحلل البيولوجي للنفط الخام والتعايش المستقر داخل بيئة التربة أمر مهم.

أهداف هذه الدراسة:

١. عزل وفحص البكتيريا المُحللة للنفط الخام، المقاومة للمعادن الثقيلة، والمحفزة لنمو النباتات، من عينات التربة والمياه المتأثرة بالمعادن الثقيلة والنفط الخام.

٢. تحديد وتصنيف أفضل عزلات البكتيريا المُحللة للنفط الخام، المقاومة للمعادن الثقيلة، والمحفزة لنمو النباتات.

٣. تحديد قدرة السلالات المختارة على النمو في تراكيز مختلفة من المعادن الثقيلة، وتحليل النفط الخام، وتجزئة النفط الخام المتبقي والبارافينات المتبقية.

٤. قياس قدرة السلالات المختارة على تخفيف تأثير تركيزات الكادميوم (المعدن الثقيل) المختلفة كإجهاد لاحيوي على نبات الفاصولياء (*Phasolus vulgaris*).

٥. قياس قدرة إتحاد السلالات المختارة على تخفيف الإجهاد اللاحيوي المتمثل في تركيزات مختلفة من النفط الخام على نبات الفول (*Vicia faba*).

الخلاصة

تم عزل ٥٤ عزلة بكتيرية مقاومة للمعادن الثقيلة (الكادميوم والرصاص) من ثماني عينات جُمعت من المياه العذبة الملوثة بالمعادن الثقيلة (مصرف البطس، طامية، الفيوم، مصر) والأراضي الزراعية الملوثة بالمعادن الثقيلة والنفط الخام (الواقعة في طامية، الفيوم، والداخلة، الوادي الجديد، مصر). من بين هذه العزلات، كانت ٤٩ عزلة منتجة لإندول حمض الخليك بنسب إنتاج مختلفة، و١٧ عزلة مذيبة للزنك، و٨ عزلات مذيبة للفوسفات. كان لدى ٢٣ عزلة من جميع العزلات القدرة على النمو على وسط أجار B.H المضاف إليه النفط الخام. بناءً على ذوبان الفوسفات والزنك، وإنتاج الإندول، والنمو على النفط الخام كمصدر وحيد للكربون، تم اختيار العزلات EG2PS1، وEGF14S2، وEGF16S3، وEGF17S2 كأكثر العزلات الواعدة المقاومة للمعادن الثقيلة والمحفزة لنمو النباتات. بناءً على التوصيف المظهري والجينومي (جين ١٦S rRNA)، تم تحديد العزلات المختارة EG2PS1، وEGF14S2، وEGF16S3، وEGF17S2 على أنها *Pseudomonas aeruginosa*، و *Pseudomonas putida*، و*Leucobacter komagatae* ، و*Providencia rettgeri* ، على التوالي. ووفقًا لتحمل السلالات المختبرة للمعادن الثقيلة، أظهرت جميع السلالات، باستثناء السلالة EGF17S2، مقاومة متعددة لثلاث معادن ثقيلة فأكثر. أظهر النشاط التحللي لهذه الكائنات الحية الدقيقة تجاه النفط (١٪) أن سلالة EG2PS1 يمكن أن تحلل ٤٩.٠٪ من النفط الخام كأكبر سلالة قادرة على تحلل النفط الخام، تليها السلالات EGF16S3 وEGF17S2، والتي كانت قادرة على تحلل ٣٢.٨ و ٢٨.٣٪ من النفط الخام، على التوالي. تم تسجيل أقل نسبة تحلل للنفط الخام بواسطة سلالة EGF14S2، والتي بلغت ٢٥.٢٪. البارافينات (الألكانات) هي المكون الرئيسي في النفط الخام، ومحتواها في الزيت الذي استخدمناه حوالي ٧٠٪، حيث كانت سلالة EG2PS1

أفضل في تحلل البارافينات، تليها سلالات EGF16S3 وEGF17S2 وEGF14S2، على التوالي. في تجربة الكادميوم تم تلوث التربة صناعيًا بثلاثة تركيزات كبريتات الكادميوم (٠، ٥، و١٠ جزء في المليون)، واستُخدمت ست معاملات من سلالات البكتيريا وهي: الكنترول (بدون)، والسلالة EG2PS1 ، والسلالة EGF14S2، والسلالة EGF16S3، والسلالة EGF17S2، وإتحاد السلالات. وكان عدد المعاملات ١٨ معاملة، تحتوي كل منها على ٥ أصص. أظهرت النتائج أن سلالات البكتيريا حسّنت صفات النمو، والاستجابات الفسيولوجية، والتركيب التشريحى للنبات، الحالة الغذائية، بينما انخفض امتصاص الكادميوم في أوراق وبذور نباتات الفاصوليا النامية فى تربة بها تركيزات مرتفعه من الكادميوم. في تجربة التلوث بالترول، تعرضت التربة لثلاثة تركيزات من التلوث الصناعى بالبترول [١، ٢، و٣% بالاضافة الى الكنترول (بدون تلوث بالبترول)] واستُخدمت معاملتان بالبكتيريا، إحداهما بدون بكتيريا والأخرى باستخدام البكتيريا. تكونت هذه التجربة من ٨ معاملات، احتوت كل منها على ٥ أصص بإجمالي ٤٠ أصيصا. أظهرت النتائج أن تلقيح التربة الملوثة بالبكتيريا قد حسّن من صفات نمو نبات الفول، وأداء الثغور، وسلامة الأوراق، وكفاءة التمثيل الضوئي، وامتصاص العناصر الغذائية. كما عزز استخدام البكتيريا المُركّبة تحلل النفط الخام في التربة بشكل ملحوظ مقارنةً بالكنترول. أدى استخدام إتحاد السلالات البكتيرية إلى تعزيز تحلل النفط الخام في التربة بشكل ملحوظ مقارنةً بمعاملات الضبط غير المُعاملة. واستنادًا إلى محتوى النفط الخام المتبقي في التربة، بلغت نسب التحلل ٨٩.٢% و٨٤.٩٥% و٧٢.٥٦% للمعاملات Pet1%+Bac وPet2%+Bac وPet3%+Bac على التوالي. وتشير هذه النتائج إلى أن زيادة تركيز النفط في التربة أدى إلى انخفاض مُقابل في كفاءة التحلل الحيوي.