الأكتينوميستات المقاومه للمعادن الثقيلة المعزولة من تربة وجدران كهوف منطقة الصمان، المملكة العربية السعودية

إعداد

نورة سعيد أحمد الزهراني

إشراف

أ.د ماجدة محمد علي

د. رضا حسن عماشة

مستخلص

تلوث التربة بالمعادن الثقيلة أصبحت مشكلة خطيرة وتسبب الكثير من الامراض للبشر مثل فقر الدم، والسرطان، والفشل الكلوي، ومرض الزهايمر. استخدام الكائنات الدقيقة لإزله تلوث البيئة هو عملية فعالة. الهدف من هذه الدراسة هو عزل الأكتينوميسيتات التي تمتلك القدرة على إزالة المعادن الثقيلة الضارة. لقد تم جمع عينات مختلفة من كهف الطحالب، كهف الفندق، كهف رضا التي تقع ٢٠٠ كم تقريباً من منطقة الرياض. ولقد استخدمت تلك العينات لعزل الأكتينوميسيتات على بيئة نترات النشا الصلبة. وتم اختبار مقاومة جميع السلالات للمعادن الثقيلة بإضافة تراكيز مختلفة من كبريتات النحاس (١٠-٩٠ ملجرام لكل لتر) وكلوريد النيكل (١٠- ٢٠٠ ملجرام لكل لتر) إلى البيئة بشكل منفصل لتحديد التركيز المثبط لنموها (MIC). ولقد تم تحديد الدرجة المثبطة لنمو السلالات المختارة(MICs) لخليط من النحاس والنيكل. ولقد كانت السلالات NM5، NM16، NM20 هي السلالات الأكثر مقاومة لمعدني النحاس والنيكل. عرفت السلالات السابقة عن طريق الاختبارات المورفولوجية والفسيولوجية وتقنية 16S rRNA. ولقد ظهر أن السلالات NM5 ، NM16، NM20 هي *Amycolatopsis* sp. CA11، *Streptomyces* sp. YIM75782 ، *Amycolatopsis orientalis* على التوالي. تمت دراسة تأثير تركيزات مختلفة من النحاس والنيكل على نمو السلالات السابقة وذلك بتقدير الوزن الجاف والذي تناقص بزيادة تركيز المعادن الثقيلة المختبرة. وأيضا تمت دراسة العوامل التي تؤثر على عملية الإزالة مثل درجة الحرارة، تركيز أيون الهيدروجين، اضافه مستخلص الخميرة و فترات التحضين المستخدمة، وحسبت نسبة الإزالة للنحاس والنيكل بعد قياس التركيز المتبقي باستخدام جهاز بلازما الحث المزدوج (ICPE-9000). ولقد وجد ان بعد ٥ أيام، كانت اعلى إزالة للنحاس ٩٥% بواسطة*Streptomyces* sp. YIM75782 بينما اعلى إزالة للنيكل كانت ٩٧% بواسطة *Amycolatopsis* sp. CA11، *Streptomyces* sp. YIM75782. في الختام، البكتيريا المعزولة من الكهوف كانت مقاومة لمعدني النحاس والنيكل ويمكن استخدامها لعملية الإزالة.

Heavy Metal-tolerant actinomycetes occurring in cave soils and walls,

Al- saman region, Saudi Arabia

by

Nourah Saeed Ahmad Alzahrani

Supervised by

Prof. Dr. Magda Mohamed Aly

Dr. Reda Hassan Amasha

Abstract

Soil contamination with heavy metals become severe problems and cause several disorders in humans like anaemia, cancer, kidney failure, and Alzheimer's. Using microorganisms to eliminate contamination of the environment is an efficient process. The aim of this study was to isolate actinomycetes with abilities to remove the harmful heavy metals. Different samples were collected from Mossy, Hotel and Reda caves which were located approximately 200 km of Riyadh region for actinomycetes isolation on starch nitrate agar medium. All isolates were screened for heavy metal resistance by adding different concentrations of copper (II) sulfate (10-90 mg/l) and nickel (II) chloride (10- 200 mg/l) to the medium separately to determine the minimum inhibitory concentration (MIC). MICs of a mixture of copper and nickel were determined for each strain. The most resistant actinomycetes were isolates NM5, NM16 and NM20 which were morphologically and physiologically characterized. Phylogenetic analysis by sequencing the 16S rRNA genes for the selected strains was performed. The isolates NM5, NM16 and NM20 were identified as *Amycolatopsis* sp. CA11, *Streptomyces* sp. YIM75782 and *Amycolatopsis orientalis*, respectively. The effect of copper and nickel concentration on growth of the isolates NM5, NM16, NM20 were determined by the dry weights which were reduced by increasing the tested metal concentration. The factors affecting heavy metal removal process such as temperature, pH, addition of yeast extract and incubation time were studied and removal percentage of copper and nickel was calculated after measuring the remaining concentration using Inductively couple plasma (ICPE-9000). It was found that after 5 days, the most removal activity for copper was 95% by *Streptomyces* sp. YIM75782 while it was 97% for nickel by the isolates *Amycolatopsis* sp. CA11 and *Streptomyces* sp. YIM75782. In conclusion; bacterial isolates from caves were resistant to some heavy metals, copper and nickel and can be used for removal activities.