المعالجة الحيوية للملوثات النفطية من قبل أنماط وراثية مختلفة لبكتريا

Pseudomonas aeruginosa

بحث مقدم الى قسم البيئة-كلية العلوم-جامعة القادسية كجزء من متطلبات نيل درجة البكالوريوس في علو البيئة

من قبل

علي كريم جاسم

عبير علي نعمة

مقدم ألى رئاسة قسم البيئة /كلية العلوم / جامعة القادسية

كجزء للحصول على شهادة البكالوريوس في علوم البيئة

بأشراف

أ.م.د: حازم عبد والي

بسم الله الرحمن الرحيم

﴿ وَفَوْقَ كُلِّ ذِي عِلْمٍ عَلِيمٌ ﴾

صدق الله العلي العظيم

سورة يوسف الآية 76

أ

الإهداء

إلهي لا يطيب الليل إلا بشكرك ولا يطيب النهار إلى بطاعتك . . ولا تطيب

اللحظات إلا بذكرك . . ولا تطيب الآخرة إلا بعفوك . .

إلى من بلغ الرسالة وأدى الأمانة . . ونصح الأمة . . إلى نبي الرحمة ونور العالمين

"سيدنا محمد صل الله عليه واله وسلم"

إلى من كلله الله بالهيبة والوقار . . إلى من علمني العطاء بدون انتظار . . إلى

من أحمل أسمه بكل افتخار . . أرجو من الله أن يمد في عمرك لترى ثماراً قد حان

قطافها بعد طول انتظار وستبقى كلما تك نجوم أهتدي بها اليوم وفي الغد وإلى الأبد . . والدي العزيز

إلى ملاكي في الحياة . . إلى معنى الحب وإلى معنى الحنان والتفاني . . إلى

بسمة الحياة وسر الوجود

إلى من كان دعائها سر نجاحي وحنانها بلسم جراحي إلى أغلى الحبايب . . . . .أمي الحبيبة

و اهدي هذا البحث الى كل من علمني حرفاً والى اخوتي واخواتي والى تدريسيي العلوم كافة والى

قسم البيئة خاصة

والى جميع اصدقائي والى من ساعدني في اكمال هذا البحث . . ولكل شباب هذه الأمة وعمادها

وركيزتها إلى . . .الإبطال من شباب هذه الأمة من الحشد الشعبي

فعليهم تعقد الآمال وبهم تتحقق الأهداف . . .وشكرا جزيلا لكم جميعا

شكر و تقدير

الحمد لله رب العالمين والصلاة والسلام على سيد المرسلين محمد واله الطيبين

الطاهرين

وبعد لمن دواعي سروري بعد الانتهاء من انجاز البحث بحول الله تعالى وقوته .

ان اتقدم بجزيل الشكر والامتنان الى استاذي الفاضل المشرف

الدكتور: حازم عبد والي

لما قدم من اراء وافكار قيمة وتوجيهات سديدة وبنائه .

فضلاً عن تواصله الدائم في اثناء مسيرة الكتابة مما اضفى عليه اسس الرصانة

العلمية السليمة متمنين له دوام الصحة والعافية والتوفيق

بسم الله الرحمن الرحيم

جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية / كلية العلوم

المعالجة الحيوية للملوثات النفطية من قبل أنماط وراثية مختلفة لبكتريا *Pseudomonas aeruginosa*

بحث قام به

علي كريم جاسم

عبير علي نعمة

مقدم ألى رئاسة قسم البيئة

كلية العلوم / جامعة القادسية

كجزء للحصول على شهادة البكالوريوس في

علوم البيئة

بأشراف

أ.م.د: حازم عبد والي

رجب / 1438 هـ   ابريل / 2017 م

د

الخلاصة :- Abstract

تم تشخيص العزلات البكتيرية التي أظهرت قدرة عالية في النمو في وسط الهيدروكاربونات باستخدام الاختبارات باستخدام جهاز VITEK 2 COMPACT بينت النتائج كفاءة العزلتين في استهلاك وسط النفط الخام الثقيل حيث سجلت البكتريا *Pseudomonas aeruginosa* فعالية استحلاب بلغت 80% بينما سجلت 60% لبكتريا *pseudomonas putida* أظهرت النتائج إن المستحلبات المنتجة من قبل العزلتين خفضت قيمة الشد السطحي للوسط إلى < 45 % ملي نيوتن / متر < لبكتريا *p. aeruginosa* و < 40 % ملي نيوتن / متر < لبكتريا *p .putida* أكدت النتائج إن الظروف المثلى لنمو العزلات البكتيرية وسط الهيدروكاربونات كانت عند درجة حرارة مثلى 28 م والرقم الهيدروجيني 7 ولفترة حضن 28 يوم إذا بلغت نسبة تفكك النفط الخام إلى بكتريا *p . aeruginosa* حوالي 80 % و75 % إلى بكتريا *P. putida* كما أكدت النتائج بوجود فارق بسيط في نسبة استهلاك

و

النفط الخام الثقيل عند التركيزين 1000 و 2000 ملغم / لتر بالنسبة لبكتريا *P. aeruginosa* حيث بلغت 76% و 69% على التتالي بينما سجلت بكتريا *P. putida* نسبة استهلاك اقل بلغت 74%و 71% على التوالي تم اختيار كفاءة العزلات البكتيرية على تفكيك الهيدروكاربونات باستخدام جهاز Spectrophotomete لتقييم كفاءة النوعين من البكتريا في تفكيك المركبات الهيدروكاربونية ومتابعة التغيرات الحاصلة في تلك الأطياف منذ بدأ التجربة وحتى نهايتها وكذلك بمراقبتها مع نموذج السيطرة أثبتت من خلال التجارب إن لهذين النوعين كفاءة جيدة على تفكيك المركبات الهيدروكاربونية حيث بينت نتائج طيف الأشعة تحت الحمراء ظهور حزم امتصاص جديدة بعد مرور 7 و 14 يوم من الحضن ضمن الطول ألموجي <2340-1370 $سم^{-1}$ > وهي تمثل مجموعة C-O والذي يصاحب إطلاق غاز ثاني وكسيد كاربون من أكسدة الهيدروكاربونات خلال عملية التفكك الحيوي كذلك تغيرات في حزم امتصاص ضمن الطول ألموجي < 1460-1370 $سم^{-1}$ > والذي يمثل مجاميع C-Hو C=C و C=O الاروماتية نتيجة تكوين الأحماض الدهنية إضافة إلى انخفاض واضح في مساحة المنحني ضمن الطول ألموجي < 2960-2850 $سم^{-1}$ > والذي يمثل مجموعة الهيدروكاربونات الاليفاتية مع ظهور حزم امتصاص جديدة ضمن الطول ألموجي < 3726-3590 $سم^{-1}$ > تمثل مجموعة OH وآصرة هيدروجينية إن مجمل التغيرات الحاصلة بالحزم في حالة ظهورها أو اختفائها يعطي دلالة واضحة على حصول التفكك الحيوي

الفهرس

الموضوع	رقم الصفحة
الإهداء	أ
شكر وتقدير	ب
خلاصة البحث	ج
الفهرس	د-هـ
الفصل الأول	1 – 8
المقدمة	2-3
أهداف البحث	4
المخاطر الناجمة عن التلوث بالنفط الخام و مشتقاته	4

طرق التحلل الحيوي	5
العوامل المحددة للتحلل الحيوي للنفط الخام 1- عوامل متعلقة بالظروف البيئية 2- عوامل متعلقة بالأحياء المجهرية	5
أهم الطرق المستخدمة للتحري عن التحلل الحيوي للمركبات الهيدروك 1-الطرق الكيميائية غير المتخصصة 2- الطرق الكيميائية المتخصصة	6
مشكلة الدراسة	7
مصادر تلوث بالنفط الخام	8
طرق المعالجة 1- تنشيط الحيوي 2- إكثار الحيوي	9
الأوساط الزرعية التي تنمو عليها الزائفة الزنجارية	10

الفصل الثاني	**11 -18**
طرق العمل:- 1-عزل البكتريا من عينة تربة ملوثة بالنفط الشكل البياني لفصل المركبات الهيدروكاربونية	12-13-14-15
2- طريقة عزل البكتريا من المياه الملوثة المستخدمة	16 - 17
المواد المستخدمة في العمل	18
الفصل الثالث	**19 – 58**
النتائج	20 - 21

مناقشة	22 - 23
الخاتمة	24
يجب إجراء بعض الاختبارات قبل استخدام كائن دقيق لمعالجة	24
التوصيات	25 - 26
Abstract	27 - 28
المصادر العلمية	29 - 58
المصادر العربية والكتب العربية والمواقع الالكترونية	29 - 30
المصادر والكتب الانكليزية	30 - 58

الفصل الأول :-

المقدمةIntroduction

تعد البيئة ملائمة لنمو وتكاثر أنواع كثيرة من الكائنات الحية والتي تشمل5 مجاميع رئيسية هي البكتيريا (bacteria) والفطريات (Fungi)والفيروسات (Virues) والطحالب (Algae) والابتدائيات (Protozoa) ولكل منها إستراتيجية خاصة للعيش في هذه البيئة وتتواجد اغلب الأجناس البكتيرية على السطح الخارجي للتربة لوفرة الأوكسجين والمغذيات وان كل غرام من التربة الجافة يحوي على عدد من الخلايا البكتيرية والتي تقر
10^{8}-10^{9} خلية بكتيرية.

وتلعب البكتيريا دورا في تحليل المركبات الكيميائية وفي دورات العناصر في الطبيعةوإعادتهاإلى التربة مثل دورات الكاربون والنتروجين والفسفور والكبريتوتتأثر هذه البكتيريا بعوامل عدة منها درجات الحرارة والرطوبة ووفرة المغذياتوالأس الهيدروجيني للتربة وان درجة التهوية تحدد الإحياء المجهرية فيها.

وقسم من هذه الأجناس البكتيرية عزلت من المناطق الملوثة بالنفط الخام ومشتقاته وتم دراسة قابليتها على تحليل المركبات الهيدروكاربونية وهذه الأجناس تعد من أنواع البكتيريا الصديقة للبيئة حيث تعمل على تخليص البيئة من هذه الملوثات سواء على سطح وان اكتشاف النفط وعمليات تكريره وزيادة شبكة الأنابيب الناقلة والحوادث التي تتعرض لها أدىإلى زيادة تلوث البيئةالماء أو التربة.

ولهذا استخدمت التقنياتالبيولوجية التي يطلق عليها عملية التحلل الحيوي Bioremediation في إزالة هذه الملوثاتومن الجدير بالذكر إنالإحياء المجهرية المحللة للمركبات الهيدروكاربونية تشكل اقل من 1%من المجتمع الميكروبي للتربة وتزداد هذه الإعداد عند التلوث لتصل

إلى10%من المجموع الكلي وان البكتيريا المحللة قد تنتج بعض المواد المؤثرة في الشد السطحي والتي تعمل على تفكيك وتحليل البقع النفطيةيمثلالنفطأساسالحياةالحديثة ,

الفصل الأول

وقدكانلودوراكبيرافيمسيرةالحياةالبشريةفيجميعمجالاتها الحيويةفيالمجتمعاتالبشرية وذلكمنذاكتشافه وحتىهذه اللحظة ,

وقدكانلودورمباشرفيكلالمجالاتالتيارتبطتبالاكتشافاتوبالجوانبالعلميةالتي عملتعلىتوظيفه باتجاه الخدمةالبشريةحتىاحتلالمرتبة الأولىمنحيثالأهميةالاقتصاديةفيالجانبالمتعلق بمصادرالطاقة والقوىالمحركة ,حيثأصبحت تمثل أهمية كبرى لديمومة الحياةالبشريةفيزمنيصعبالاستغناءعنها .

وعلىالرغممنأهمية

النفطإلاأنهذهالثروةواجهتبعضالمشكلاتالتيأدتإلىأنتكونضارةفيبعضالأحيانويعتبرعاملمكوننللضررفيمختل ف الجوانبالبيئيةبحيثأدىإلىتلوثالتربة والهواءوالبيئةالبحرية أدىذلكإلىانتشار الكثير منالأمراض وموتالكائناتالحيةالبحريةنتيجةتسربالنفطمنناقلاتالنفطالعملاقة

{المصدر}: عباوي،سعادعبدوحسن،محمدسلمان (1990) .الهندسةالعمليةللبيئةفحوصاتالماء .وزارةالتعليمالعاليوالبحثالعلميجامعةالموصل .

الفصل الأول

أهداف البحث :

1. التعرف على عملية التحلل الحيوي والعواملالمؤثرة فيها .

2. أهم الأجناس البكتيرية المحللة للمصادر الهيدروكاربونيةالتابعة إلى جنس *pseudomonas*

3. أهم الطرق المتبعة في التحري عن هذه البكتيرياتلعب معظم الأحياء في التربة دورا رئيسيا في ديمومة الحياة فيها لما تقوم به هذه الأحياء خاصة البكتريا بتحليل المركبات العضوية المعقدة والفضلات الحيوانية والنباتية وبذلك تعمل على إعادة العناصر إلى الطبيعة

وان التنوع الفسلجي لهذه البكتريا يشجعها للنمو والتكاثر في مختلف أنواع الترب إذ أن قسما منها تكيفت للعيش في البيئات المتطرفة ذات الحامضية أو القاعدية العالية وعند درجات الحرارة المرتفعة والمنخفضة

المخاطر الناجمة عن التلوث بالنفط الخام ومشتقاته :-

إن مشاكل التلوث البيئي بدأت بالظهور منذ اكتشاف واستهلاك النفط الخام وأصبحت تشكل خطرا يهدد الحياة البشرية ,ويعد التلوث بالنفط من اخطر أنواع التلوث بسبب كميات النفط ومشتقاته وما تحويه من مواد سامة لها أثار سلبية كبيرة على البشر والحيوانات ازدياد عمليات إنتاج واستهلاك النفط زاد من مخاطر التلوث البيئي الذي وصل إلى السطوح المائية والتربوتعتمد سمية النفط الخام على الخواص الكيميائية والفيزيائية له وعلى كميته وفصول السنة وعوامل بيئية أخرى إذ يحتوي النفط الخام على العديد من المركبات السامة كالبنزين الذي يعد من المشتقات المسرطنة,كما إن الايثر والكازولين تعد مركبات سامة عند تواجدها بتراكيز عالية ويعد الفينول ومشتقاته من المركبات المسببة للحساسية عند استنشاقها.

{المصدر}:العبيدي،أملعلي (2005),العواملالمؤثرةفيالتحللالحيويلمياهمخلفاتوحدةالمعالجةفيمصفىالدورة– بغداد , رسالة ماجستير , كليةالعلوم , جامعة بغداد .

الفصل الأول

طريقة التحلل الحيويWay biodegradation:

تعد هذه الطريقة من الطرق البديلة والناجحة على نطاق واسع وأضرارها قليلة على البيئة

وتحدث عملية التحلل الحيويبثلاث خطوات أساسية تشمل :

1. حدوث تغير صغير وبسيط في هذه المركبات العضوية.

2. تجزئة السلاسل الهيدروكاربونية إلى أجزاء مع الاحتفاظ بالتركيب الكيميائي للمركب الأساسي قبل التجزئة .

3. معدنة الأجزاء العضوية وتغير تركيبها من جزيئات عضوية إلى جزيئات لاعضوية

العوامل المحددة للتحلل الحيوي للنفط الخام ومشتقاته:-

1.العوامل المتعلقة بالتربة والظروف البيئية :

هناك عوامل بيئية تلعب دورا مهما في عملية التحلل الحيوي لهذه الملوثات منها وفرة الأوكسجين و الأس الهيدروجيني ودرجات الحرارة وتركيز وتركيب المواد الهيدروكاربونية الملوثة والرطوبة النسبية والأملاح المعدنية من العوامل المؤثرة في التحلل الحيوي

2.العوامل المتعلقة بالأحياء المجهرية:

تعتمد آلية التحلل الحيوي على وجود البكتريا ذات القابلية للنمو والتكاثر في المناطق الملوثة واعتمادا على وفرة المغذيات اللازمة لنموها وعلى قابلية البكتريا لتحليل الهيدروكاربونات الملوثة للتربة بالإضافة إلى العوامل البيئة في إلمنطقة

والعامل الآخر المؤثر هو احتواء البكتريا على البلازميدات التي تحمل الجيناتالمسئولة عن عملية التحلل إلحيوي إذ تزداد قابلية البكتريا لتحليلها بازدياد أعداد البلازميدات.

--------{المصدر}: الياس،نهـهرمز (1989), فاعلية البكتريا المكسرة للنفط الخام في خور الزبير, رسالة ماجستير,مركز علوم البحار , جامعةالبصرة .

الفصل الأول

أهم الطرق المستخدمة للتحري عن التحلل الحيوي للمركبات الهيدروكاربونية

هناك طرق يمكن استخدامها لمعرفة مدى التحلل الحوي

1-الطرق الكيميائية غير المتخصصةRoads chemical is specialized:

ويتم فيها حساب النقصان الحاصل في وزن المركبات الهيدروكاربونية كالنفط الخام ومشتقاته وكذلك قياس تكّون غاز ثنائي اوكسيد الكاربون نتيجة التحلل الحيوي في الظروف الهوائية بفعل الأحياء المجهرية

2.الطرق الكيميائية المتخصصةspecialized chemical methods :

والتي يستدل من خلالها على نوع المركب المتحلل ومنها تقنيات الكروماتوغرافيا وتقنية GLCوالقياس باستخدام طيف الأشعة تحت الحمراء.

{المصدر}:رسالة ماجستير ,أكرم رشيد ياسين , التفكك الحيوي للنفط الخام , جامعة بغداد , كلية العلوم (2013) .

مشكلةالدراسة :

مشكلةالتلوثالنفطيمشكلةعالمية وتعانيمنهاالدولالناتجة للنفطبشكلكبيرفيجميعمجالاتها الحيوية, وكذلكالاقتصاديةويعتبرتصديرالنفطمنالآثارالمباشرة المؤديةلحالاتالتلوثالنفطي ,بسببعدمالتزامالشركاتالناقلاتالنفطيةبمنظومةقواعدالقانونالوطني والإقليميوالدولي ومنناحيةأخربغالبيةسكانالعالميعيشونعلىامتدادالمناطق الساحليةوالبحريةوهمبذلكيعتمدونعلىمياهالبحرفيحياتهماليوميةكمصدرللغذاءوكسبالرزقوبالتاليهمأ كثرالمتضررينبالتلوثالنفطي .

نسعىمنخلالهذه الدراسةإلىمعرفةالطرق الآمنة للتخلص أو تقليل من هذا التلوث واستخدام احدث وأسرعالأساليب الحيوية للتفكك النفط الخام من خلال معرفة الأنواعالأكثر قدرة على النمو وقابليتها على تفكيك النفط

في جميع الأماكن سواء كانت على التربة أو في المياه وبذلك يتم تنشيطها والإكثار منها وزيادة القابلية على تفكك هذه الملوثات لاستخدامها في مواقع أخرى ملوثة بالنفط وتعتبر هذه الطرق أكثرأمان من الطرق الأخرى وناجحة في تخليص التربة والمياه من أخطار هذه الملوثات المعقدة

الفصل الأول

مصادر النفط التي تسهم في تلوث البيئة البحرية

(وذلك حسب أهميتها وتكرار حدوثها) فيما يلي :

1- حوادث انفجار وغرق ناقلات النفط حوادث .

2- انفجار الآبار النفطية البحرية .

3- حوادث الخلل في عمليتي الشحن والتفريغ.

4- مخلفات سفن الشحن والناقلات ومنصّات النفط .

5- عمليات التنقيب عن البترول في البحار.

6- مصانع البتر وكيماويات الموجودة على شواطئ البحار .

7- التسرب الطبيعي للنفط من قيعان البحار والمحيطات .

8- البترولات المتسربة من معامل تكرار الموجودة على السواحل البحرية .

9- الهجوم على المنشآت النفطية وناقلات النفط أثناء العمليات الحربية .

10- السقوط الجوي للهيدروكربونات البترولية الموجودة في الهواء .

11- المياه المنسابة من الأنهار أو مياه المجاري التي تصب في البحار .

12- النفايات الصناعية ونفايات المدن .

13- الإنتاج البحري للزيت .

14- مياه الموازنة .

{المصدر}:مجلة العلوم العربية - info@sciarab.org 2017

وهناكطريقتانللمعالجةالحيويةللنفطهما:

التنشيطالحيوي : Bioactivation

فيهذهالطريقةيتمإضافةموادمغذيةمثلالفسفورأوالنتروجينإلىالبيئةالملوثة , منأجلتحفيزنموالكائناتالحيةالمجهريةالتيتقومبعمليةتحطيمالنفط , حيثتتحكمكميةالموادالمغذيةالمضافةبنموالكائناتالحيةعندإضافتهابكمياتمعينةفيزدادعددالكائناتالمجهريةبسرعةوبالتاليتزدادسرعةالانحلالالحيويللنفط .

الإكثارالحيوى : Bio-breeding

هوإضافةالكائناتالحيةالمجهريةإلىالأحياءالمجهريةالموجودةأصلاًفيالماءوفيبعضالأحيانتضافأنواعغير موجودةفعلاًإنالغرضمنذلكهوزيادةأعدادوأنواعالبكتريااالتيتقومبعمليةتفكيكالنفط المعالجةمنخلالالحرقفيالموضع.

{المصدر}:. Abbas, O.; Rebufa, C.; Dupuy, N.; Permanyer, A. and Kister, J. (2008). Assessing petroleum oils biodegradation by chemometric analysis of spectroscopic data. Talanta-Oxford then Amsterdam, 75, 4; pp 857-871.

الأوساط الزرعية التي تنمو عليها الزائفة الزنجارية:-

على الأكار المغذي: تنمو هذه الجراثيم بسهولة (وتبدو المستعمرات رمادية، ذات حواف غير منتظمة "مشرشرة"، مخاطية) فتفرز العصيات الزرقاء في هذا الوسط ومعظم الأوساط الزرعية نوعين من الصبغة (صبغتين) في الأوساطهما:

1-البيوسيانين: وهي صبغة زرقاء.

2- الفلوروسيئين: وهي عبارة عن ومضات (خضراء – صفراء) لذلك تتصف مستعمراتها بلمعة معدنية مميزة.

وتنطلق من المزروع رائحة تشبه (رائحة زهر الشمس) أو اللوز المر.

في المرق العادي: تنمو بسرعة وبكثرة مع تلون الوسط باللون الأخضر المزرق.

على وسط سيمون سترات: تنمو بسرعة وتلون الوسط باللون الأزرق.

في وسط الجيلاتين: تميع الجيلاتين بسرعة مع تلوين الوسط باللون الأزرق.في الحليب: تخثر الحليب.

وسط كليغر الحديدي: لا تخمر الكلوكوز واللاكتوز = بقاء لون الوسط أحمر لا تطلق غاز H_2S= (عدم ظهور لون أسود).لا تطلق غاز (Co_2).

اختبار الأندول : سلبية الاندول.يجبأنتحققعدةشروطرئيسيةوهي:

1- معالجةالمشكلةالبيئيةبشكلكامل.

2- إعتمادالحلولالصديقةللبيئةالتيلاتتركأيأثارجانبيةضارةبالبيئةوبكافةأشكالالحياة

-3

عدمالإسرافوهدرالوقتفيمعالجةالمشكلةالبيئية.‘‘لأنفيذلكضرركبيرعلىالبيئةوفيالعديدمنالحالاتتدخلالمشكلةفيحالةتأزمأوتحولمعالجةأسبابالتلوثوإيقافهاو أعادةتأهل التربة والمياه الملوثة

{المصدر}:. Rezende, R. P.; Maciel B. M.; Dias, J. T. and Souza, F. O. (2012).

Microbial Outlook for the Bioremediation of Crude Oil Contaminated Environments, Introduction to Enhanced Oil Recovery (EOR) Processes and Bioremediation of Oil-Contaminated Sites, Dr. Laura Romero-Zerón (Ed.), InTech, PP 245-260.

الفصل الثاني

الفصل الثاني :-

طريقة العمل :- The method of work

1 - عزل البكتريا من عينة تربة ملوثة بالنفط

وتعتبر هذه البكتيريا أساسا كبكتيريا أصليه ، وهي موجودة في النفط الخام و هناك أنواع عديدة من هذه البكتيريا

يمكنك تسمية بعض هذه البكتيريا تختلف بشكل كبير من حيث قدرتها على تحلل النفط الخام

في هذا الجزء سنبين كيفية عزل البكتيريا من عينات التربة الملوثة بالنفط في داخل المختبر..

وسوف نقوم في المختبر بإجراء الخطوات التالية:

1 – نأخذ حوالي 10جم من التربة الملوثة بالنفط الخام، سنخلط معها 100مل من سائل خاص في قارورة

بحجم 500مل.

2 – نضع الخليط في الحاضنة على درجة 28 مئوية لمدة 3-5 أيام.

3 - نقوم بنقل عينات بحجم 0.1 مل من السائل في القارورة إلى أطباق بتري المحتوية على الغذاء الخاص بالبكتيريا (غنية بالماد اللازمة لنمو البكتيريا).

4- ثم نضع هذه ألإطباق في الحاضنة على درجة 30 مئوية لمدة 24-48 ساعة .

5 - بإمكانكم الآن رؤية الأطباق التي وقد نمت عليها البكتيريا والتي كان مصدرها عينة التربة الملوثة.

6 - هذه البكتيريا المعزولة من التربة الملوثة بالنفط قادرة على أن تحلل النفط.

7 - سنقوم الآن نقل هذه الكائنات الدقيقة من أطباق المغذيات العادية إلى أطباق تحتوي على النفط الخام فقط كمصدر وحيد للكربون.

8 - سنضع هذه ألأطباق الجديدة في الحاضنة على درجة 28 مئوية لمدة 5- 10 أيام.

9 -والآن يتضح لدينا نمو البكتيريا على الأطباق التي تحتوي على النفط الخام فقط كمصدر وحيد للكربون .

"كم تحتاج من البكتيريا لتكون قادرة على تنظيف بقعة متلوثة بالنفط من مقياس نموذجي

سيكوننموالبكتيريافيبيئةالنموالخاصةبهاوالتيستكوننتستنفذالموادالضروريةلهاوعادةماتنقسمالخليةالبك تيريةإلىخليتين،والخليتينإلىأربعوالأربعإلىثمانيةوهكذاوفيغضونساعاتقليلةيصبحعددالبكتيرياكبيرجداقدي صلإلىمئاتالملايين) وهذاعددكبيرمنالبكتيرياوسوفيكونكافيالتنظيفبقعةالنفطمنالحجمالكبير.

ويعتمدانقسامالبكتيرياونموهاعلىأساستوفرالغذاء (النفطالخامعلىسبيلالمثال)

ومنالمعروفأنإضافةبعضالموادالغذائيةمثلمصادرالكربونالإضافيةوفيهذهالحالةهو

(السكرعلىسبيلالمثال)،فضلاعنالنيتروجينوالفسفوريؤديإلىزيادةقدرةالبكتيرياعلىتحللالنفطالخام

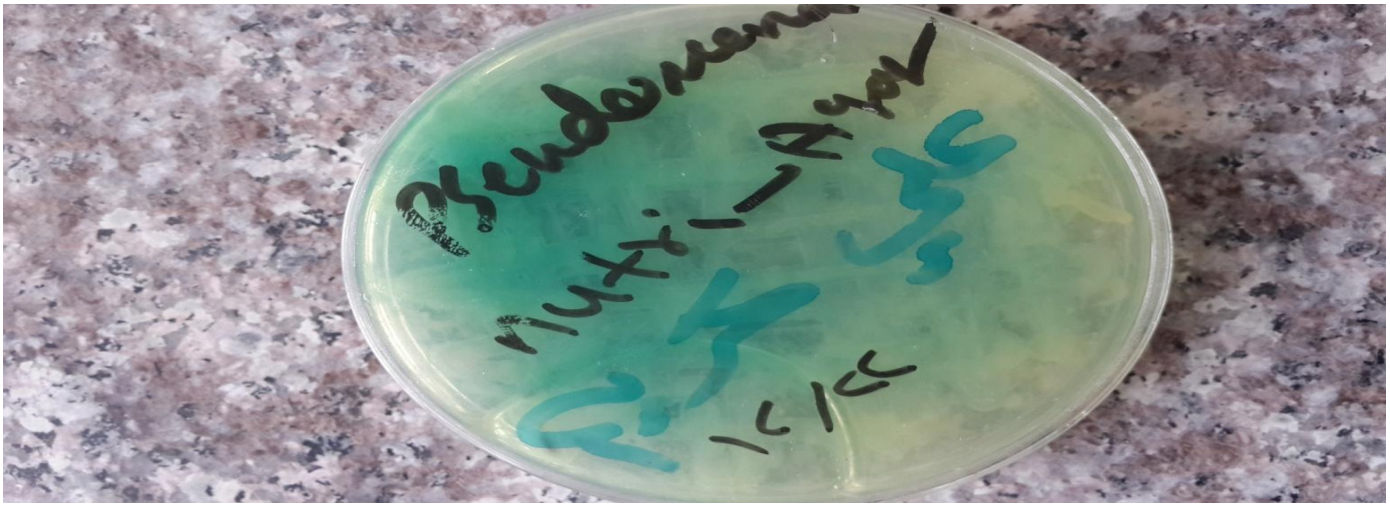
منالمهمجدامراقبةهذهالعمليةونريكيفيمكنلهذهالموادالإضافيةتعزيزعمليةالتحللالحيوي

{المصدر}:د.جرعتليمجد ., تأثيرالتلوثالنفطيعلىالبيئةوالكائناتالحيةالبحرية, سنة 2011

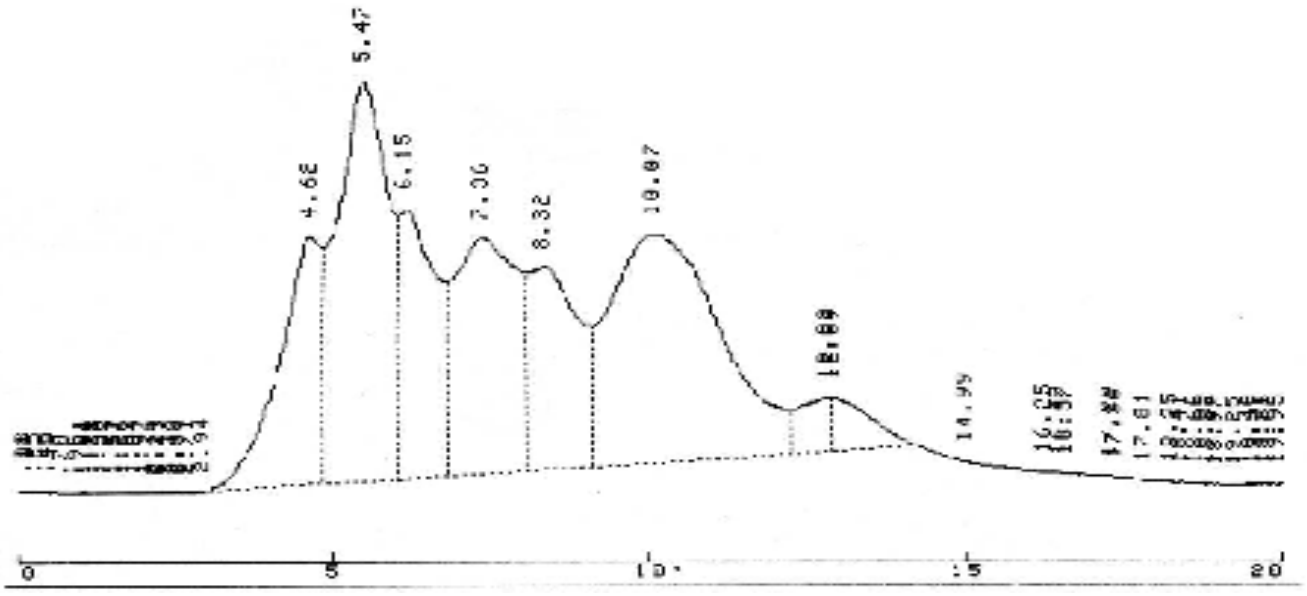
الفصل الثاني

الصورة1}{ بعد أسبوع من الحضن , الصورة{2} بعد 14 يوم من الحضن

حيث نلاحظ الفرق بالنمو بين الفترتين وزيادة النمو للبكتريا



ت



شكل 2}{يوضح الرسم البياني لفصل المركبات الهيدروكاربونية في المزارع البكتيرية بواسطة جهاز HPLC يوضح خلوه من إي نوع من المركبات الهيدروكاربونية متعددة الحلقات .

الفصل الثاني

ث

2- طريقة عمل عزل البكتريا من المياه الملوثة بالنفط :

1-نعملتخفيفاتللمياه الملوثةوذلكباستخدامخمسةأنابيبمعقمةومحتويةعلى9

ملمنالماءالمقطرالمعقمنضع 1جم منالمياه الملوثة

فيالأنبوبالأوللعملتخفيفللتربةويكونالتخفيفهنا1/10

-

2نأخذباستخداماماصةمعقمة1ملمنالأنبوبالأولونضيفهإلىالأنبوبالثانيفيصبحبه10ملويكونتركيزه

1/100

3- نكررالعمليةمعالأنبوبالثالثفيصبحتركيزه 1/1000 .

4- نكررالعمليةمعالأنبوبالرابعفيصبحتركيزه1/10000 .

5- نكررالعمليةمعالأنبوبالخامسفيصبحتركيزه1/100000.

6- نأخذمنالأنابيبالثلاثةالأخيرة0.1ملمنكلأنبوبونضعهافيثلاثةأطباق (

استخدامالتراكيزالثلاثةالأخيرة)

ونقومبفردهاعلىسطحالبيئةباستخداممرودقطنيطبيمعقمأوساقزجاجيةمعقوفةأونكررمافعلناهفيالطريق

ة

7-حضنالأطباقكماسبقثملاحظالنموعلىالأطباق

8 - سنقوم الآن نقل هذه الكائنات الدقيقة من أطباق المغذيات العادية إلى أطباق تحتوي على

النفط الخام فقط كمصدر وحيد للكربون.

9 - سنضع هذه الأطباق الجديدة في الحاضنة على درجة 28 مئوية لمدة 5- 10 أيام.

10-والآن يتضح لدينا نمو البكتيريا على الأطباق التي تحتوي على النفط الخام فقط كمصدر

وحيد للكربون .

خ

قياسالنمو:-

opticalتمقياسالزيادةفيالكتلةالحيةلجميعأنواعالمزارعالمحضرةبدلالةالكثافةالبصريةوعلىالطولألموجي540نانوميتر. Spectrophotometerباستخدامجهازdensity

ملاحظة :

يجبالتأكدمنكتابةالمعلوماتعلىالأطباقباستخدامقلمخطاطلكيلاتختلطالأطباقببعضها .

ويلاحظالنومنخلالعددالمستعمراتفيكلتخفيفثمضربعددالمستعمراتالناتجةمنكلطبقفيمقلوبالتخفيفلكلطب قفيعطيذلكعددالخلاياالموجودةفي1ملمنالتربة .

{المصدر}: الخفاجي , زهرة محمود (2008) , التقنية الحيوية الميكروبية (توجيهات جزيئية) معهد الهندسة الوراثية والتقنية الحيوية . جامعة بغداد .

المواد المستخدمة في المختبر :- The materials used in the laboratory

1-الحاضنة Incubator

2-أنابيب اختبار Test tube

3-إطباق بتري بلاستيكية Disposable petri dishes

4-جهازالتعقيمتحتضغطالبخار(الأوتوكلاف) Autoclave

5- مطياف الأشعة فوق البنفسجية UV-Spectrophotometer

6- ماصات بإحجام مختلفة Micropepitte

7- الحاضنة الدوارة Centrifuge

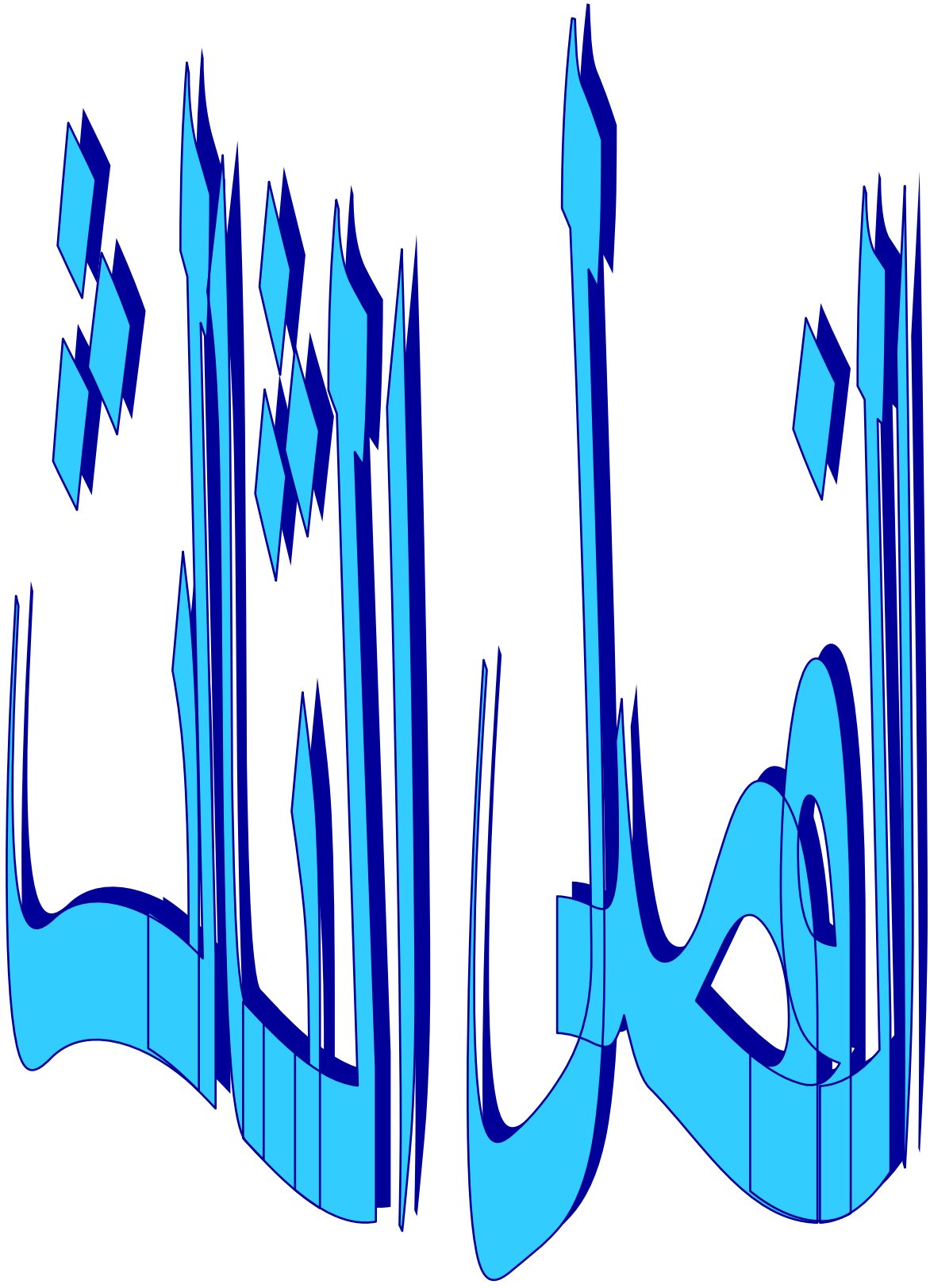
8-وسط الاكار Agar

9-وسط API

10- جهاز HPLC

11- مصباح بنزن Bunsen burner

12-مجهر الكتروني Microscope



الفصل الثالث :-

النتائج :-Results

تم تشخيص العزلات البكتيرية التي أظهرت قدرة عالية في النمو في وسط الهيدروكاربونات باستخدام الاختبارات باستخدام جهاز VITEK 2 COMPACTبينت النتائج كفاءة العزلتين في استهلاك وسط النفط الخام الثقيل حيث سجلت البكتريا *Pseudomonasaeruginosa* فعالية استحلاب بلغت 80% بينما سجلت 60% لبكتريا *pseudomonas putida*أظهرت النتائج إن المستحلبات المنتجة من قبل العزلتين خفضت قيمة الشد السطحي للوسطإلى< 45 % ملي نيوتن / متر > لبكتريا *p. aeruginosa*و < 40 %ملي نيوتن / متر > لبكتريا *p .putida*أكدت النتائج إن الظروف المثلى لنمو العزلات البكتيرية وسط الهيدروكاربونات كانت عند درجة حرارة مثلى 28 م والرقم الهيدروجيني 7 ولفترة حضن 28 يوم إذا بلغت نسبة تفكك النفط الخام إلى بكتريا *p . aeruginosa*حوالي 80%و 75%إلى بكتريا *P. putida*كما أكدت النتائج بوجود فارق بسيط في نسبة استهلاك النفط الخام الثقيل عند التركيزين 1000 و 2000 ملغم / لتر بالنسبة لبكتريا *P. aeruginosa* حيث بلغت 76% و 69% على التتالي بينما سجلت بكتريا P. putida نسبة استهلاك اقل بلغت 74% و 71% على التوالي

تم اختيار كفاءة العزلات البكتيرية على تفكيك الهيدروكاربونات باستخدام جهاز Spectrophotometer لتقييم كفاءة النوعين من البكتريا في تفكيك المركبات الهيدروكاربونية ومتابعة التغيرات الحاصلة في تلك الأطياف منذ بدأ التجربة وحتى نهايتها وكذلك بمراقبتها مع نموذج السيطرة أثبتت من خلال التجارب إن لهذين النوعين كفاءة جيدة على تفكيك المركبات الهيدروكاربونية حيث بينت نتائج طيف الأشعة تحت الحمراء ظهور حزم امتصاص جديدة بعد مرور 7 و 14يوم من الحضن ضمن الطول ألموجي <$2340\text{-}1370\ cm^{-1}$> وهي تمثل مجموعة C-O والذي يصاحب إطلاق غاز ثاني اوكسيد كاربون من أكسدة الهيدروكاربونات خلال عملية التفكك الحيوي

كذلك تغيرات في حزم امتصاص ضمن الطول ألموجي<$^{-1}$ 1370-1460سم> والذي يمثل مجاميع C-Hو C=C و C=O الاروماتية نتيجة تكوين الأحماض الدهنية إضافةإلى انخفاض واضح في مساحة المنحني ضمن الطول ألموجي<$^{-1}$ 2850-2960سم> والذي يمثل مجموعة الهيدروكاربونات الاليفاتية مع ضهور حزم امتصاص جديدة ضمن الطول ألموجي<$^{-1}$3590-3726سم> تمثل مجموعة OHوآصرة هيدروجينية إن مجمل التغيرات الحاصلة بالحزم في حالة ظهورها أو اختفائها يعطي دلالة واضحة على حصول التفكك الحيوي

الفصل الثالث:-

المناقشة :-discussion

تبين ان المزرعة البكتيرية المختبرية من خلال متابعة النمو للعزلتين

aeruginosaPseudomonas , pseudomonas putida لمدة ثلاثة ايام واكثر قد اعطيت اعلى نمو بدلالة الكثافة البصرية وهذا يدل على ان البكتريا هي الأفضل من الأبتدائيات في استهلاكها للهيدروكاربونات النفطية عند درجة حرارة 28-35 مئوية, ويمكن ان تعزى الزيادة في عدد الخلايا البكتيرية خلال الأيام الأولى الى استهلاك البكتريا للمركبات الهيدروكاربونية اذ تستهلك البكتريا المركبات البسيطة مثل الالكانات اولاً ثم الاصعب تركيبأ مثل المركبات الهيدروكاربونية متعددة الحلقات PAHs ويتم ذلك بفعل الانزيمات التي تمتلكها البكتريا اذ ان هذا النوع من البكتريا المستخدمة في هذة الدراسة من النوع السالب لصبغة كرام والتي يتميز غلافها بأحتوائها على الدهون التي تمكنها من الحصول على اكبر كمية من المركبات الهيدروكاربونية من البيئة ثم اكسدتها واستغلالها مصدرأ للكاربون

1-ماذاتفعلالجراثيمبالنفط؟

حينتأكلالجراثيمالنفطفإنهاتحولهاإلىثانيأكسيدالكربونوتوقفعمليةالأكسدةخيرمثالعلىذلكهوأنناعندماتتناول طعامالفطورأوالغداءونقومبهضمالغذاءفإننانحولالجلوكوزإلىثانيأكسيدالكربونعبرإيقافتأكسده والجلوكوزهونوعمنالسكرينتجعنعمليةالتمثيلالضوئيفيالنباتاتالأخضرهكذاتحصلالجراثيمعلىالطاقةأماثانيأ كسيدالكربونفيخرجمنهاعلىشكلزفيرلكنجزءامنالجلوكوزيتأكسدويُحوَّلإلىبناءالخلايا

2-هلهذهالجراثيمموجودةفيكلمكانأمفقطحيثيوجدالنفطالذيتتغذىعليه؟

حتىقبلعشرسنواتساداعتقادبأنهذهالبكتيرياتوجدفقطفيالمناطقالتييوجدالنفطفيهاأوالمناطقالتييحدثفيهاتس ربنفطيكماهوالحالفيخليجالمكسيكلكننيلاأعتقدذلكلأنالهيدروكربوناتموجودةفيكلمكانوفيخليجالمكسيكيو جدأكثرمنموقعيتسربالنفطمنهويتجمعفيقاعالبحرعلىشكلأسفلتوإذاأخرجناطبقةطينيةمنقاعخليجكاليفورن يامثلاسنجدأنرائحةالنفطتنبعثمنها،وطبعاسنجدبكتيرياكثيرةالتعايشعلىهذهالهيدروكربونات.

3-هليعنيهذاأنالجراثيمتأكلأوتفترسالنفطفيقاعالبحارأيضاوليسعلىاليابسةفقط؟

ب ب

نعم،وهذهالمعلوماتلمنكننعرفهاقبلعشرةأو15 عاما،فقبلذلكظنعلماءالكيمياءالحيويةأننقصالأكسجينالجزيئيفيأعماقالبحاريجعلذلكمستحيلالكنوفيمطلعالتسعينات اجريت عدة تجارب قمنابإجراءتجاربشملتتكثيرالجراثيمووضعهامعهيدروكربوناتمعزولةتماماعنالهواءوقدنجحتتجاربناوتسنىلنافهمضرورةهذهالعملية.

4-ماهيكميةالنفطالتيتأكلهاجرثومةوبأيةسرعةتتمهذهالعملية؟

العمليةتتمبشكلبطئجداجداًفمثلا،إذاأخذنابكتيريا " كولي " coliوهيبكتيريامعويةوأكثربكتيرياجربدراستهافيالعالم،نجدأنماتنجزههذهالبكتيرياالمعويةخلالنصفيوم،تحتاجالجراثيمالأخربالعدةأياملإنجازه،وأحياناتحتاجالىأسابيعأوشهورلإنجازهوهذايعنيأنوتيرةنموهذهالجراثيمووتيرةافتراسهاللهيدروكربوناتهيعمليةبطيئةجداجداً

5-لكنألايمكنتسريعهذهالعملية؟

لا،ويعودالسببفيبطئعمليةالنموفيالطبيعةإلىالنقصفيالنيتروجينوالفوسفات،وهيمكوناتالأسمدةوقدأثبتتالتجاربعدحادثةناقلةالنفطإكسونفالديزفيألاسكاأنتزويدالشواطئالملوثةبالنفطبالأسمدةقدساعدعلىتكاثرهذهالجراثيم.

هلالنيتروجينوالأسمدةهيالحلإذن؟

نعمولكنحجمتخفيضكميةالنفطيبقىعلىحالهتقريباونحنهنالانتحدثعنأيامأوأسابيعوإنماعنسنواتوعنعشراتالسنينستنجحالطبيعةذاتيومفيالتخلصمنالنفطالمتسربلكنهذهالعمليةستستغرقوقتاطويلا،طويلاجدا.

....

{المصدر}العبيدي،أملعلي (2005

),العواملالمؤثرةفيالتحللالحيويلمياهمخلفاتوحدةالمعالجةفيمصفىالدورة– بغداد , رسالة ماجستير , كليةالعلوم , جامعة بغداد .

الفصل الثالث :-

الخاتمة :- Conclusion

وفي الخاتمة تم التعرف على

دورالكائناتالحيةالدقيقةفيتحليلالموادالسامةوالملوثةللبيئةمثلالموادالبتروليةوالتعرفعلىآليةعملهذها

لكائناتوترسيخمفهومودورالأنزيمات (الموجودةفيداخلالبكتيريا)

للقيامبذلكالدوروهذاالنشاطيؤكدكيفأنالكائناتالحيةالدقيقةتلعبدوراهاماجدافيتنظيفالبيئةمنالموادالهيدروكربونيةالمعقدةفيالنفطالخاموقبلأنأختمأودأنأؤكدهناعلىالتفكيربطرقطبيعيةأخرىلتنظيفالبيئةمثلحركةالأمواج،وضوءالشمس،والمياهالطبيعيةالتيتسهمفيتحللالنفطالمتسربإلىالمحيطبالإضافةإلىكلماذكرسابقا

عليناأنندركأنالبيئةهيمسؤوليتناوعليناأننعملبجدفيالحفاظعليهانظيفةوحمايتهامنأيموادخطرةوهذايؤكدأنإجراءالبحوثفيمجالالتكنولوجياالحيويةمهمجدالاكتشافطرقجديدةلتنظيفالبيئة.

يجب إجراءبعض الاختبارات قبل استخدام كائن دقيقلمعالجةالتربةمنها:

1- التعرفعلىنوعالملوثوطريقةوجوده
2- الكشفعندرجةسميةهذاالملوث.
3- تحديدمقدرةمقاومةالكائنالدقيقللملوث.
4- دراسة النواتجالمتوقعةلعمليةالمعالجة.
5- تحديدتكلفةالمعالجة.
6- تحديدزمنالمعالجة
7- تحديدطريقةالتخلصمنالميكروباتالمستخدمةفيهذاالغرض.
8- تحديدالأسالهيدروجيني للوسط.
9- تحديددرجةالحرارة والرطوبةللوسط.
10 - اختيارالكائنالدقيقالمناسب.
11 – دراسة تأثيرنواتجالمعالجةعلىالكائنالمستخدم
12 – دراسة الجدوىالاقتصاديةلعمليةالمعالجة

الفصل الثالث :-

توصيات :-Recommendations

أدوات التكنولوجيا الحيوية الحديثة والتي تعزز قدرة البكتيريا على التحلل الحيوي من هذه الأدوات أو الآليات الحديثة هو استخدام الهندسة الوراثية (التكنولوجيا الحيوية) وهي واحدة من الطرق والأدوات التي من خلالها يمكن تعزيز قدرة التحلل الحيوي للبكتيريوتسريع العمليات الحيوية التي تقوم بها هذه الأنواع من الإحياء المجهرية والتعرف على الإنزيمات دد

التي تقوم بهذه العملية ومدى قدرتها على تنضيف البيئة من الملوثات النفطية ومدى استخدام الطرق الهندسية الوراثية الحديثة في تنضيف البيئة من المخلفات النفطية من خلال تحميلها على أنواع أخرى من البكتريا لها القابلية العالية في النمو في مثل هذه الضروف البيئية والتي تتم من خلالها التخلص من المواد الهيدروكاربونية الضارة على البيئة وبصورة أمنة وخالية من النواتج الغير مرغوب بها

في نهاية المطاف يمكن استخلاص عدة توصيات من خلال البحث المقدم ، لعل فيها الفائدة لمن أراد معالجة مثل هذه الموضوعات من شتى جوانبها ، وهي كما يلي:

1-حث جميع الدول على المشاركة والانضمام في أي تجمع يهدف إلى حمايةالبيئة وعدم التواني في ذلك ، والتصديق على الاتفاقيات الدولية والإقليمية التي تصب في مصلحة البيئة. بما في ذلك البيئة البحرية.

2-مناشدة الدول بسن القوانين والتشريعات الداخلية المتسمة بالصرامة في ملاحقة ملوثي البيئة وعدم التراخي في توقيع العقوبات عليهم ، وملء الفراغ التشريعي في بعض البلدان النامية.

3-ضرورة الحصول على تصاريح خاصة لإلقاء النفايات النفطية مع وجوب إعلام برنامج الأمم المتحدة للبيئة بكافة هذه الأذونات , وقد أدى التطور التكنولوجي الذي واكب صناعة النفط إلى بروز طرق حديثة لمعالجة مخلفات الحفر البري وخاصة الوحل , وذلك بجمع المخلفات ومزجها بمواد تعمل على تثبيتها كيميائياً وفيزيائياً مما يقلل من آثارها.

4-التشدد في مراقبة السفن التي تزور الموانئ كما اقترحت المفوضية الأوربية , والتعامل بقسوة مع السفن التي لا تستوفي مقاييس السلامة , وتعتزم المفوضية منع السفن التي يزيد

الفصل الثالث :-

عمرها عن15 سنة من دخول موانئ بلدان الاتحاد الأوربي إذا احتجزت أكثر من مرتين في سنتين متتاليتين , كما وتخطط المفوضية لنشر لائحة سوداء بهذه السفن كل ستة أشهر , واستنكرت الاستعمال الواسع للأعلام الأجنبية على ناقلات النفط التي تستأجرها شركات أوربية لأسباب ضريبية .

5-العمل الجاد والفوري على تطبيق كافة الاتفاقيات الدولية المتعلقة بتلوثالبيئة البحرية , بما في ذلك بروتوكول مكافحة التلوث بالنفط.

6-توجيه الإعلام ووسائله الفعالة إلى نشر الوعي البيئي ، وتكثيف برامجه الداعية للمحافظة عليها ، وإطلاع الأفراد على مخاطر التلوث النفطي ، وكذلك زيادة النشرات و والبحوث والدوريات المتخصصة في هذا المجال , والتي تحمل طابع التوجيه والإرشاد للتعامل مع البيئة البحرية ، لإخراج جيل مشبع بالتربية البيئية وداعياً لها.

7-ضرورة إتباع آلية أفضل لتبادل المعلومات بين الدول والمنظمات الدولية الحكومية منها وغير الحكومية بشأن المشاكل البيئية , تتصف بالسرعة والدقة وبعيدة عن الجوانب الإجرائية والشكلية ، وذلك للانتفاع بها واستخدامها في مواجهة أي خطر يهدد البيئة بشكل عام والبيئة البحرية بشكل خاص.

8-لابد أن يتدخل القانون ويفعّل بالتطبيق على المتسببين في أخطر ما يلوث البيئة البحرية من كوارث نتيجة الحروب والنزاعات المسلحة ، أو حتى المناورات والتدريبات العسكرية التي تستغل الطبيعة أسوأ استغلال وعدم التساهل في ملاحقة من يهدد بيئة الإنسان الآمن.

9-وأخيراً يجب أن يتغير اعتقادنا بأن مياه البحار والمحيطات هي سلة المهملات الطبيعية التي يمكن أن نلقي فيها بكل أنواع المخلفات خصوصاً بزيت النفط الذي يحوي الكثير من المركبات العضوية , والتي يختلف أثرها من حالة إلى أخرى وتتجمع هذه المواد و الهيدروكربونات في بعض الأنسجة الحية مثل الأنسجة الدهنية وأنسجة الكبد والبنكرياس وبعض أنسجة الأعصاب . فالمسؤولية خاصة وعامة فعلى كل فرد أن يعي دوره وعلى الحكومات أن تعي مسؤولياتها.

الفصل الثالث :-

Abstract

Diagnosis of bacterial isolates which showed a high growth in the middle of hydrocarbon using tests using yourVITEK 2 COMPACT

Results showed the retirements in efficient consumption amid heavy crude oil with bacteria.*Pseudomonas aeruginosa*The effectiveness of emulsification reached 80%,while 60%of the bacterium *pseudomonas putida* The results showed that emulsions produced by the retirements slashed the value of surface tension to the middle to<45 %Milli Newton/meter > for bacteria

p. aeruginosa*and <40% Milli Newton/meter > for e coli *p .putida

The results confirmed that the optimal conditions for the growth of bacterial isolates amid gay temperature were hydrocarbon28m, Ph 7and for a lap of the 28day if crude oil accounted for dissolution bacterium *p aeruginosa*.approximately 80%

75%to the bacterium *P. putida* The results also confirmed the existence of nuance in heavy crude oil consumption when the stresses1000and 2000mg/lFor bacteria*P. aeruginosa*with76% and 69%, respectivelyWhile bacteria*P. putida*less consumption amounted to74% and 71%respectivelyBacterial isolates performs selected to dismantle the hydrocarbon using aSpectrophotometerTo evaluate efficient types of bacteria in the dismantling of hydrocarbon compounds and to follow the changes in these Spectra since he began the experiment to end and also monitored with a form control proved by experience that for two types of good efficient to dismantle the hydrocarbon compounds where infrared spectrum results showed the appearance of a new `azqXS absorption packs

after7and 14 day of Cuddles in the wavelength<2340-1370^{-1}cm > representing the Group C-Owhich accompanies the launch of carbon dioxideof hydrocarbon oxidation during dynamic disintegration process As well as changes in absorption packages within < waveforms1460-1370^{-1}cm> which represents totals C-H and C = Cand C = Omechanistic aspects IMM fatty acids plus a cleardecline in the curved space within wavelengt <2960-2850^{-1}cm> aliphatic hydrocarbon group which represented with new absorption packages when within < waveforms3726-3590^{-1}cm> represents a group OHand hydrogen Brom overall changes to packages in case thei rappearance or disappearance gives a clear indication that the dynamic disintegration

الفصل الثالث :-

Scientific sources-: المصادر العلمية

1-عباوي،سعادعبدوحسن،محمدسلمان (1990)
الهندسةالعمليةللبيئةفحوصاتالماء,وزارةالتعليمالعاليوالبحثالعلميجامعةالموصل .
2-الخفاجي , زهرة محمود (2008) , التقنية الحيوية الميكروبية (توجيهات جزيئية) معهد الهندسة الوراثية والتقنية الحيوية . جامعة بغداد .

3-العبيدي،أملعلي (2005
),العواملالمؤثرةفيالتحللالحيويلمياهمخلفاتوحدةالمعالجةفيمصفىالدورة– بغداد , رسالة ماجستير
, كليةالعلوم , جامعة بغداد .
4 - الياس،نـهـهرمز (1989
),فاعليةالبكترياالمكسرةللنفطالخامفيخورالزبير,رسالةماجستير,مركزعلومالبحار,جامعةالبصرة.
5 -منظمةالصحةالعالمية,2001,وسائلتنقيةمياهالشرب, المكتبالاقليميللشرقالوسط,
المكتبالاقليميلأنشطةصحة البيئة, عمانالأردن.
6 -منظمةالصحةالعالمية,2004,دليلتطهيرمياهالشربفيحالاتالطوارئ,
المكتبالإقليميللشرقالمتوسط, المكتب الإقليميلأنشطةصحةالبيئة, عمانالأردن.
7 - كتاب - شحاتة ,حسنأحمد : التلوثالبيئي فيروس العصر , القاهرة , 1999 , ط1 ,
ص247-258
8 -كتاب - سمعانهشام , أساسياتالطاقة-دمشق : منشوراتوزارةالثقافة , 1994 , ص62-65
9 -رسالة ماجستير ,أكرم رشيد ياسين , التفكك الحيوي للنفط الخام , جامعة بغداد , كلية العلوم
(2013)
10-رسالة ماجستير, الزبيدي, مهند إسماعيل خليل , التفكك الحيوي للنفط الخام ,جامعة بغداد,
كلية العلوم (2016)
11- كتاب - برسشبوة / تقريرعلمي : التلوثبالمشتقاتالنفطيةالمازوت .
12-د.جرعتليمجد ,. تأثيرالتلوثالنفطيعلىالبيئةوالكائناتالحيةالبحرية, سنة 2011
-13http://green-studies.com
14-مجلة العلوم العربية- info@sciarab.org2017
15- كتب الكترونية – المجلة العلمية العربية http://www.sci-magazine.com

16- Boulton, C.A. and Ratledge, C. (1984). The physiology of hydrocarbon-utilizing Microorganisms . In "Topics in enzyme and fermentation biotechnology. (Ed. A. Wiseman) John Wiley and Sons. New York, p: 11-77.

طط

17- Zobell, C.E. (1969). Microbial modification of crude oil in the sea. In Proceeding ofJoint Conference on Prevention and Control of Oil Spills. American PetroleumInstitute Pub. No.4040,PP: 317 – 326.
18- Atlas, R. M. (1981). Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. Microbial. Rev. 45: 180-209.
19- Williams, R.P. and Qadri, S.M.H. (1980). The pigment of *Serratia .* In: The Genus *Serratia .* (eds. A. Graeventz & S.J. Rubin).p31-75, CRC Press, Florida.
20- Herman, D.C; Leonhard, R.J. and Miller, R.M. (1997). Formation and removalHydrocarbon residual in porous media effect of attached bacteria andbiosurfactants. Environ. Sci. Technol. 31: 1290 – 1294.
21- Smith, J.E. (1996). Biotechnology (3rd) ed. Cambridge University Press.
22. Bertrand JC; Bianchi M; Mallah MA; Acquaviva M and Mille G. (1993). Hydrocarbon biodegradation and hydrocarbon oclastic bacterial communitiescomposition grown in sea water as a function of sodium chloride concentration. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 168 : 125 – 138.
23- Okerentugba, P.O. and Ezeronye, O.U. (2003). Petroleum degrading potentials of single and mixed microbial cultures isolated from rivers and refinery effluent in nigeria . African j.biotechnology.2{9}:288-292
24- Shuttleworth, K.L. and Cerriglia C.E. (1997). Practical methods for the isolation ofPAH- degrading microorganisms and the determination of PAH mineralization and biodegradation intermediates. In: Manual of Environmental microbiology. (ed. J.H.Christon), p: 766 – 775, ASM Press, Washington.
soil microbial activity. Agronomy Journal. 63: 573-578.

25-Philips,U.A. and Traxler R.W..(1963) . Microbial degradation of asphalt. Appl. Microbiol. 11: 235-238.
26- Annual Book of ASTM Standards (1980). Acidity measuring. In: STM standards of water. Part 31: 1360 - 1361. American Soc. for testing materials, New York.

ي ي

27- American Public Health Association (APHA), (1998). Standard Methods for Water and Waste Water analyses, 28th .ed., Washington D.C.
28- Wise, S.A. (1983). Handbook of polynuclear aromatic hydrocarbons. Dekker,NewYork. P:183.
29- Gunkel,W. and Dahlman,G. (1986). Bacterial degradation of heavy fuel oil in sea water. In: Baltic Sea Environment Proceeding. 22, PP : 68 – 80 .Norrkoping, Sweden
30- Fathy, A. 1999. Interactive effects of marine algal powder and chromium ongrowth, pigments content and the pattern of some metabolic components ofLemna minor L. Bioremediation of Environmental Pollutants. Faculty ofScience, Zagazig University, Egypt. 2nd December.
31- Gersberg, R. M.; Elkins, B. V.; Lyon, S. R. & Goldman, C. R. 1986. Role of aquatic plants in wastewater treatment by artificial wetlands. Water Research. 20: 263-368.
32-Hegazy, A. K. 1997. Plant succession and its optimization on tar-polluted coasts in the Arabian Gulf Region.
Environmental Conservation. 24(2): 149-158
33-Herbes, S. R. & Schwall, L. R. 1978. Appl. Environ. Microbio. 35: 306-316.
34- Huntzinger, O. & Veerkamp, W. 1981. In: Microbial Degradation of Xenobiotics and Recalcitrant Compounds. P. 3-45. FEMS Symposium No.12 Academic Press London.
35- John, C. K. 1984. Use of water hyacinth in the treatment of effluents from G. ed " .Water Hyacinth". Proceedings‹rubber industry. (in: Thyagarajan of the International conference of water hyacinth). United Nations Environment Programme, Nairobi. P. 699.

36- Johnson, D. R. & Frederick, L. R. 1971. Effect of injections of propane into.
37- Kantrud, H. A. 1990. Sago pond weed (Potamogeton pectinatus L.): A literature review. United States Dept. of the Interior Fish and Wildlife

Service, Washington, pp. 90.

38- Mohd, A. B. ; Seng, O. K. & Ghin, Y. B. 1984. Advanced treatment of palm oil mill effluent using water hyacinth. (in: Thyagarajan, G. ed. " Water Hyacinth". Proceedings of the International conference of water hyacinth). United Nations Environment Programme, Nairobi. P. 673-698.

39- Paullin, D. G. 1973. The ecology of submerged aquatic macrophytes of RedRock Lackes National Wildlife. Refuge Montana. M. Sc. Thesis. Univ. ofMontana, Missourla. pp.171 .

40- Quercia, F. 1999. Risk Asssessment of contaminated sites in Europe. Lecture in Workshop " :Remediation Technologies: Applicability and Economic Viability in northern Africa and Middle East, Cairo University. Egypt. 24-28 October.

41- Serag, M. 1996. Ecology and biomass of Phragmites australis (Cav.) Trin. Ex. Steud. In the northeastern region of the Nile Delta, Egypt. Ecoscience. 3(4): 473-482.

42- Terytze, K. 1999. Harmonization of soil investigation methods for assessingsoil contaminants. Lecture in Workshop " : Remediation Technologies:Applicability and Economic Viability in northern Africa and Middle East,Cairo University. Egypt. 24-28 October.

43- removal of pathogenic microorganisms during sewage treatment in gravelbed hydroponic constructed wetlands. P. 200-209. (in: Proceeding of aconference on wetland systems for water pollution control, IAWQ,

Gunagzhou.Pallen , M.J ., Lam , A.C ., Antonio , A., and Dunbar ,K.(2001).Tenvs,Microbial.9:97 – 101 .

44. Jawitz , Melnick , J. L. and. Adelberg. E.A.(2004).Medical Microbiology. 23ed Lang–Medical . Publications . California .

لل

45. Jawitz , E. Melnick , J, L. and Adelberg,E.A.(2001).Medical Microbiology. 22ed. Appleton , and Lange. Mc Graw – Hill .

46. Murray , P,R , Baron , E ., Jorgensen , J.H . Reuller , M.A . Yoken R.H . (2003). Manual of clinical Microbiology 8th ed. ASM, press, Washington , USA .

47. Poseg , J.E., Cherardini , F.C.(2000). Lack of role for iron in lyme disease. Pathogens Science 288: 1651 – 1653 .

48. Loper, J.E.(1988).Role of fluorescent sideropher production in biological control of *Pythium Ultimum* by *Apseudomonas fluorecens* strain. Phytopathology. 78 , 166 – 172 .

49. Bauer , A.W. Kirby , W.M . M. Sheriis, J.C. and Turek, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by astandardized single disk method. J.Clin. Path. 44:439–496

50. NCCLS, National Committee for clinical Laboratory standards (2002).Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. document M.100–510. National Committee for Clinica. Laboratory Standards.Wayne.Pa .

51. Schwyn, B. and Neilands , J.B. (1987) . Universal chemical assay for the determination of siderophores Anal . Biochem . 160 : 47 – 56 .

52. SeaMan, J.C.Alexander, D.B. Loeppert R.H and Zuberer, D.A.(1992), The alailability of iron from various sollid–phase iron sources to asiderophore producing pseudomonas strain. J. of Plant Nutrition 15 (10) 2221 – 2233 .

53. Styriak , I , Laukova , A . Fallgren , C . Wadsstrom T. Lyiungh and antibiotic sensitivity of entero cocci from wild herbivoresed. Microbial Rev .

54. Topley W , G ,. Balows , A . Sussman , M, (1998). Microbiology and Microbial infections, 9th ed.Vol. 2, p . 587 – 617 .

55. Poole , K. (1994).Bacterial multidrug resistance emphasis on efflux

mechanisms and Pseudomonas aeruginosa. (Review). J. Antimicrobial Chemotherapy,34

56 - Alexander. 2002. *Groundwater Contamination in ventory*. A methodological guide IHPVI, Series on Groundwater No.2 UNTSCO.

57. Mench M., Didier V. L., Gomez A. and Masson P. 1994. A mimicked in situ remediation study of metal contaminated soils with emphasis on cadmium and lead. *J. Environ.* Qual. 23: 58-63.

58. A.P.H.A. (American Public Health Association). 2005. *Standard Methods for the Examination of Water and Wast Water*, Twentieth First Edition.

59. Australian Standards. 1995. *Thermo Tolerant Coliform and E. coli estimation of Most Probable Number (MPN).* Australian Standards Association of Australian. Sydney. NSW.

60. Hawkey,P.M., and Lewis,D.A.1989. *Medical Bacteriology:* A practical Approach. IRL Press. Oxford.

61. Lennet, E. H., Balows, A., Hausler, W. J., and Shadomy, H.J.1985. *Manual of Clinical Microbiology.* Am.Soc. of Microbiology Washington. D.C.

62. Richard, L.A.(ed.). 1954. *Diagnosis and improvement of Saline and alkali soils.* U.S.Dept.Agrc.HB No.60.

63. Page AL., Miller RH. and Keeney D.R. (ed.). 1982. *Methods of soil analysis, Part2. Chemical and Microbiological properties*, Am.Sco. of Agro. Madison, Wisconsin.

64. Entry.J.A.and Farmer.N.2000. Influnce of aquifers on monement and survival of coliform bacteria round water*. Aqri. Res*.2(8):1140-1145

65. Borelia, P.Montagna, M.T.,Romano-spica, V.,Stampi, S.T.,Fantuzz, G. Tato, D.Napoli. 2004. Legionella infection risk from domestic hot water*. Emerg. Infect. Dis*.10 (3):454-464.

66. WHO. 2000. *World Health Organization*, Water Supply Sanitation and Hygiene Links to Health. Geneva.

67. Holt, J.G., Kreig, M.R.,Sneath, D.H., Staley, J.T. and Williams, S.T. 1994. *Bergeys Manual of Determinative Bacteriology*. Ninth Edition. Williams and Wilkins, U.S.A.,P: 93, 94, 151.

68. Jawetz, E.,Melnick, J.L.,and Adelberg, E.A.2007. *Medical Microbiology*. Twentieth Fourth Edition. M.,C. Graw-Hill Companies. 818 pptx.

69. Morais, P.V., Mesquita, J., Costa, M. 1997. Investigation of Pecsistent colonization by P.aeruginosa lik strains in aspring water Bottling plant. *Appl. And Environ. Micro*. 63(3): 851-856.

70. Stover, C., K.,X.O., Erwin, AL., Mizoguchi, S.D., Warrenner P. 2000. *Complete genome sequence of Pseudomonas aeruginosa.* PAOI. an opportunistic pathogen. Nature Gente, 31, 947-960.

71. Abbas, A. S.; Al-khazaly, E. H.; Ali, N. A. and Rasheed, H. R., (2000). Identification of local isolates of *Pseuodomonas* sp. hydrocarbon degrading and biosurfactants producing bacteria. The first national scientific conference, the environmental pollution and protection methods, pp 1-9. May 5-6. Baghdad. Iraq.(in Arabic).

72. Abbas, O.; Rebufa, C.; Dupuy, N.; Permanyer, A. and Kister, J. (2008). Assessing petroleum oils biodegradation by chemometric analysis of spectroscopic data. Talanta-Oxford then Amsterdam, 75, 4; pp 857-871.

73. Abdullahi, M. (2010). Incidence and antimicrobial susceptibility pattern of *salmonella* sp. in children attending some hospitals in kano metropolis, kano state –Nigeria. Bayero Journal of Pure and Applied Sciences, 3(1), pp:202 – 206.

74. Adria, B. A.; Kevin, P. D. and Raina, M. M. (2003). Distribution of biosurfactant-producing bacteria in undisturbed and contaminated arid southwestern soils. J. Appl. Env. Microbiol. 69(6), pp:3280-3287.

75. Al-Azawi, S. S. (1982). The Effect of Microorganism on Asphaltic Concrete. MSc. Thesis. College of Science. University of Baghdad. (In Arabic).

76. Ali, H. R. ; El-Gendy, Nour. Sh.; Moustafa, Y. M.; Roushdy, M. I. and Hashem, A. I. (2012). Degradation of Asphaltenic Fraction by Locally Isolated Halotolerant Bacterial Strains. International Scholarly Research Network (ISRN). Soil Science Volume 2012.

77. Al–Khazaly, E. H. (2000). A study on *Pseudomonas aeruginosa* Capability to Degrade Hydrocarbons and Productions of Bioemulsifiers. MSc. thesis, University of Baghdad.

78. Allen, A. and D. Dale. (1996). Computerized Mission Planners: Useful tools for the planning and implementation of oil spill response operations. Proceedings, "Prevention is the Key: A Symposium on Oil Spill Prevention and Readiness," Valdez, AK, 24 pp.

79. Al-Mayaly, I. K. (2006). Use of Some Algal and Bacterial Species in treatment of Some Water Pollutants. Ph.D., thesis. College of science for woman. University of Baghdad. P-165. (In Arabic).

80. Alvarez, P. F.; Vila, J.; Fernandez J.M.; Grifoll, M. and Lema, J. M. (2006). Trials of bioremediation on a beach affected by the heavy oil spill of the Prestige. Journal of Hazardous Materials B137, pp:1523–1531.

81. American Petroleum Institute (API), National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA), U.S. Coast Guard (USCG), and U.S. Environmental Protection Agency (EPA). (2001). Characteristics of Response Strategies:A Guide for Spill Response Planning in Marine Environments. Seattle, Washington, USA.

82. Anderson, W. C. (Eds.), (1998). Innovative Site Remediation Technology Design and Application; Vol. 1 - Bioremediation, American Academy of Environmental Engineers, WASTECH.

83. Antonious, G. F. (2012). On-farm bioremediation of dimethazone and trifluralin residues in runoff water from an agricultural field, Journal of Environmental Science and Health, Part B, 47 (7) : pp 608-621

84. Atlas, R. (1981). Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an

environmental perspective. Microbiol. Rev., 45, p.180–209.

85. Atlas, R. M. and Bartha, R. (1973). Stimulated biodegradation of oil slicks using oleophic fertilizers. Environ. Sci. and Technol. , 7 : 538 -541 .
86. Atlas, R. M. and Bartha, R. (1972). Degradation and mineralization of petroleum by two bacteria isolated from coastal waters. Biotechnol. Bioeng. 14, p. 297- 308.
87. Atlas, R. M. and Bartha, R. (1992). Hydrocarbon biodegradation and oil spill bioremediation. In Marshall K. C. (Eds.), Advances in Microbial Ecology, Vol. 12, Plenum Press, NY, pp:287-338.
88. Atlas, R. M.; Parks, L. C. and Brown, A. E. (1995). Laboratory Manual of Experimental Microbiology, Mosby. USA.
azine of Environmental Assessment &Remediation.
89. Ball, H. A. and Reinhard, M. (1996). Monoaromatic hydrocarbon transformation under anaerobic conditions at Seal Beach, California: Laboratory studies. Environmental Toxicology and Chemistry, 15(2), pp: 114-122.
90. Batista, S. B.; Mounteer, A. H.; Amorim, F. R. and Totola, M. R. (2006). Isolation and characterization of biosurfactant/bioemulsifierproducing bacteria from petroleum contaminated sites. Bioresour. Technol., 97, pp: 868-875.
91. Becker, J. G. and Seagren, E. A. (2010). Bioremediation of Hazardous Organics. In Mitchell, R. and Gu, J. Environmental microbiology,2nd ed. Wiley-Blackwell, John wiley & sons, inc. USA.
92. Benson, H. J. (1998). Microbiology application. Laboratory Manual in Genaral microbiology. The McCraw Hill companies, inc. p. 126.
93. Bhat, M. M.; Shankar S.; Shikha, M. Yunus and Shukla, R. N. (2011). Remediation of Hydrocarbon Contaminated Soil through Microbial Degradation-FTIR based prediction. Advances in Applied Science Res.,

2(2), pp: 321-326.

94. Bodour, A. A.; Gerrero-Barajas, C. and Maier, M. (2004). Structure and characterization of Flavolipids, a novel class of Biosurfactants produced by *Flavolipid* sp. Strain MTN11.App and Env Microbiol, 10(6), pp:1114-1120.

95. Boopathy, R. (2000). Factors limiting bioremediation technologies. Bioresource Technology, 74, 63-67. Thibodaux, LA 70310, USA.

96. Bossert, I. and Bartha, R. (1984). The Fate of Petroleum in Soil Ecosystems. In Petroleum Microbiology, Atlas, R. M. (ed.), Macmillan, New York, pp:453-473.

97. Boufadel, M. C.; Reeser, P.; Suidan, M. T.; Wrenn, B. A.; Cheng, J.; Du, X. and Venosa, A. D. (1999). Optimal nitrate concentration for the biodegradation of n-heptadecane in a variably-saturated sand column. Environ. Technol. 20,pp:191–199.

98. Brown L. M. (2010). Community dynamics and phylogenetics of bacteria fouling Jet A and JP-8 aviation fuel. Int. Biodeterior. Biodeg. 64, pp:253–261.

99. Cameotra, S. S. and Makkar, R. S. (2010). Biosurfactant-enhanced bioremediation of hydrophobic pollutants, Pure Appl. Chem., 82, No. 1, pp. 97–116, USA.

100. Canevari, G.P. and Fiocco, R.J. (1997). Crude Oil Vanadium and Nickel Content can Predict Emulsification Tendency. International Oil Spill Conference Proceedings: Vol. 1997, No. 1, pp. 309-314.

101. Cao, B.; Nagarajan, K. and Loh, K-C. (2009). Biodegradation of aromatic compounds: current status and opportunities for biomolecular approaches. Applied Microbiology and Biotechnology 85(2), pp: 207-228

102. Cerniglia, C. E. (1992). Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. Biodegradation, 3, 351-368.

103. Chaillan, F.; Fleche, A. L.; Bury, E.; Phantavong, Y.; Grimont, P.;

Saliot, A. and Oudot, J. (2004). Identification and biodegradation potential of tropical aerobic hydrocarbon-degrading microorganisms. Research in Microbiology 155: 587-595.

104. Chen, H.; Zhang, W.; Cai, Y. and Li, W. (2008). Desulfurization of various organic sulfur compounds and the mixture of DBT and 4,6-DMDBT by Mycobacterium sp. ZD-19, Bioresource Technology, vol. 99, no. 9, pp: 3630–3634.

105. Cholakov, G. S. and Shopov, G. K. (2009). Chapter "Control of Pollution from Power generation", In: E-book "Pollution Control Technologies", v. 3, pp. 40 – 62, Eds. G. St. Cholakov, B. Nath, from Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS), Developed under the Auspices of the UNESCO, Eolss Publishers, Oxford ,UK.

106. Chu, P. C.; Williams, C. L.; Haege, S. D. R. and Ward, M. (2008). Environmental impact on chemical spill in the northern Persian Gulf. Seventh International Symposium on Environmental Problems in Coastal Regions, 149-159. USA.

107. Cirelli, A. F.; Ojeda, C.; Castro, M. J. L. and Salgot, M. (2008). Surfactants in sludge-amended agricultural soils: A review. Environ. Chem. Lett., 6: 135-148.

108. Costa, C. C.; Vaz, M. R. F.; Da Costa, J. G.; Santos, E. S. and Macedo, G. R. (2011). Selection, isolation and growth kinetic study of a bacterial consortium obtained from Potengi Mangrove in the presence of crude oil.Brazilian Journal of Petroleum and Gas, v. 5 n. 4, p. 217-225, ISSN 1982-0593.

109. Coulon, F.; McKew, B. A.; Osborn, A. M.; McGenity, T. J. and Timmis, K. N. (2006). Effects of Temperature and Biostimulation on Oil-Degrading Microbial Communities in Temperate Estuarine Waters; *Environmental Microbiology*, 9 (1), PP:177-186.

110. Crawford, R. L. and Crawford, D. L. (1996). Bioremediation: Principles and Applications, Cambridge Unverversity Press, New York.

111. Dahl, W.; Lessard, R.; Cardello, E. A.; Fritz D. E.; Norman, F. S.; Twyman, J. D.; Clayton, E. W.; Knight, B. L.; Crane, R. D.; Johnson, S. J.; and Martin, B. R. (1996). Solidifiers for Oil Spill Response, in Proceedings of the Society of Petroleum Engineers Conference on Health Safety and Environment, SPE paper No. 35860, pp:803-810.

112. Dave, D. and Ghaly, A. E. (2011). Remediation Technologies for Marine Oil. Spills: A Critical Review and Comparative Analysis. American Journal of Environmental Sciences 7 (5),pp:423-440. Science Publications. Canada.

113. Desai, J. D. and Banat, I. M. (1997). Microbial production of surfactants and their commercial potential. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 61, 47– 64.

114. De-Souza, T. J.; Marjan, D.; Pieter, D.; Teris, A. V. and Jos M. R. (2003). Biochemical, genetic, and zoosporicidal properties of cyclic lipopeptide surfactants produced by *Pseudomonas fluorescens*. Appl.Env. Microbiol., 69(12), pp:7161-7172.

115. Dorobantu, L. S.; Yeung, A. K. C.; Foght, J. M. and Gray, M. R. (2004). Stabilization of Oil-Water Emulsions by Hydrophobic Bacteria. Appl Environ Microbiol 70, pp:6333-6336.

116. Edwards, E. A.; Wills, L. E.; Reinhard, M.; and Grbic-Galic, D. (1992). Anaerobic degradation of toluene and xylene by aquifer microorganisms under sulfate-reducing conditions. Applied and Environmental Microbiology, 58(3), pp:794-800.

117. Engelkirk, P. G. and Duben-Engelkirk, J. (2008). Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Essentials of Diagnostic Microbiology. Lippincot Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business. P.759.

118. Englert, C. J.; Kenzie, E. J. and Dragun, J. (1993). Bioremediation Of

Petroleum Products in Soil. In Principles and Practices For Petroleum References88 Contaminated Soils. Calabrese, E. J. and Kostechi, P. T. (Ed). Lewis Publishers, Chelsea, MI. PP.112-115,121.

119. Facundo, J. M.; Vanessa, H. and Teresa, M. L. (2001). Biodegradation of diesel oil in soil by a microbial consortium . Water , Air and Soil Pollution 128 : 313 - 320 .

120. Farid, W. A. (2012). Bioremediation of Oil Contaminated Soil by Axenic and Mixed Cultures of Bacteria and Fungi. AL-Taqani, Vol. 25, No. 2. IRAQ.

121. Fay, J. A. (1969). The spread of oil slicks on a calm sea. Fluid Mechanics Laboratory, Dept. of Mech. Eng. , MIT: Cambridge, MA, USA.

122. Feitkenhauer, H. and Mark, H. (2003). "Biodegradation of Aliphatic and Aromatic Hydrocarbons at High Temperature," Water Science and Technology, Vol. 47, No. 10, , pp. 123- 130.

123. Ferraro, D. J.; Gakhar, L. and Ramaswamy, S. (2005). Rieske business: structure-function of Rieske non-heme oxygenases. Biochem Biophys Res Commun 338: 175–190.

124. Fritsche, W. and Hofrichter, M. (2008). Aerobic Degradation by Microorganisms. In: Rehm, H. J. and Reed, G., editors. Biotechnology Set, Second Edition. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH.

125. Ghazali, F. M. (2004). Biodegradation of Petroleum Hydrocarbons by Microbial Consortia. Ph.D. Thesis, univ. College. Purta.

126. Gibson, D. T. and Parales, R. E. (2000). Aromatic hydrocarbon dioxygenases in environmental biotechnology. Curr Opin Biotechnol 11: 236–243.

127. Gibson, D. T. and Sayler, G. S. (1992). Scientific Foundations of Bioremediation: Current Status and Future Needs. American Academy of Microbiology, Washington, D.C., USA References

128. Guilhaumou, N. and Dumas, P. (2005). "Synchrotron FTIR

hydrocarbon fluid inclusions microanalysis applied to diagenetic history and fluid flow reconstruction in reservoir appraisal." OGST, "Synchrotron and Neutron solutions to industry problem", Vol. 60, No 5, pp. 763-779.

129. Hadibarata, T. and Tachibana, S. (2009). Microbial Degradation of Crude Oil by Fungi Pre-Grown on Wood Meal. Interdisciplinary Studies on Environmental Chemistry, Environmental Research in Asia.
130. Hallbeck, L. (2010). Principal organic materials in a repository for spentnuclear fuel. TR-10-19,Swedish Nuclear Fuel Waste ManagementCompany (SKB), Stockholm, Sweden.
131. Hanson, K. G.; Nigam, A.; Kapadia, M. and Desai, A. J. (1997). Bioremediation of crude oil contaminated with *Acinetobacter sp*. A3. Curr. Microbiol. 35, 191-193.
132. Harley, J. P. (2005). Laboratory Exercises in Microbiology. Sixth Edition. McGraw Hill, New York, USA.
133. Harley, J. P. and Prescott, L. M. (1996). Laboratory exercises in microbiology 3rd ed. WCB/ Mc Graw-Hill company Boston. pp. 484.
134. Harrigan, W. F. (1998). Laboratory methods in food microbiology. Third Edition. Academic Press. San Diego. USA.
135. Hartel, P. (1998). The soil habitat. In Sylvia, D., Fuhrmann, J., Hartel, P., and Zuberer, D. (eds.), Principles and Applications: Soil Microbiology. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ. USA.
136. Hasanuzzaman, M.; Ueno, A.; Ito, H.; Ito, Y.; Yamamoto, Y., Yumoto, I. and Okuyama, H. (2007). Degradation of Long-Chain n-Alkanes (C36 and C40) by *Pseudomonas aeruginosa* Strain WatG, Int. Biodeter. Biodegr. 59, 40 – 43.
137. Hazen, T. C. ; Dubinsky, E. A. ; DeSantis, T. Z. and Andersen, G. L. (2010). Deep-Sea Oil Plume Enriches Indigenous Oil-Degrading Bacteria. Science express .; 330(6001):204-208. USA.

تت

138. Head, I. M.; Jones, D. M. and Roling, W. F. M. (2006). Marine microorganisms make a meal of oil. Nature Reviews Microbiology 4: 173-182.

139. Herman, D. C.; Lenhard, R. J. and Miller, R. M. (1997). Formation and removal of hydrocarbon residual in porous media :effect of attached bacteria and biosurfactant. Environ. Sci. Technol. 31: 1290-1294.

140. Hermansson, M. (1999). The DLVO theory in microbial adhesion. Colloids Surf B Biointerfaces. 14:105–119.

141. Holt, J. G.; Krieg N. R.; Sneath, P. H. A.; Staley, J. T. and Williams, S. T. editors. (1994). Bergey's manual of determinative bacteriology. 9th ed. Baltimore, Md: The Williams & Wilkins Co.;. Group 17. Grampositive cocci; pp. 527–533.

142. Horowitz, A. ; Gutnick, D. and Rosenberg, E. (1975) . Sequential growth of bacteria on crude oil . Appl. Microbiol. 30(1): 10 - 19 . http://dx.doi.org/10.1080

143. Husein, H. A.; AL-Jumaily, E. F. and AL-Dulaimy, A. K. (2012). Biological Treatment of Hydrocarbon Compounds in Oil Refinery Wastewater. Iraqi J. Biotech.11 (1):77-89. IRAQ.

144. Ijah, U. J. J. and Abioye, O. P. (2003). Assessment of Physiochemical and Microbiological Properties of Soil, 30 months after kerosene spill. J. Res. Sci. Manage., 1(1): 24-30.

145. Isambert, H and Stein, R. R. (2009). One the need for widespread horizontal gene transfers under genome size constraint. Biol Direct, 4:28.

146. Isenberg, H. D. (2004). Clinical microbiology procedures handbook, 2nd ed., sections 7.1, 7.2, 7.3, 7.4, 7.6. ASM Press, Washington, DC.

147. Isenberg, H. D. and Sundheim, L. H. (1958). Indole reactions in bacteria. J. Bacteriol. 75, pp:682–690.

148. ITOPF-The International Tanker Owners Pollution Federation. (2011).

Fate Of Marin Oil Spills, 2.p1-12.

149. Jacobucci, D. F. C.; Vasconcelos, C. K. ; Matsuura, A. B. ; Falconi, F. A. and Durrant, L. R. (2001). Degradation Of Diesel Oil by Biosurfactant -Producing Bacterial Strains. *Contaminated Soil Sediment and Water*, 8 (1), 31-34.

150. Jyothi, K., Surendra Babu, K., Nancy Clara, K. and Kashyap, A. (2012). Identification and Isolation of Hydrocarbon Degrading Bacteria by Molecular Characterization. Helix. 2: 105-111.

151. Kaczorek, E.; Moszyńska, S. and Olszanowski, A. (2011). "Modification of cell surface properties of *Pseudomonas alcaligenes* S22 during hydrocarbon biodegradation", Biodegradation, vol. 22, pp.359-366.

152. Kiyohara, H.; Nagao, K. and Yana, K. (1982). Rapid screen for bacteria degrading water-insoluble, solid hydrocarbons on agar plates. Appl. Environ. Microbiol. 43, pp: 454-457.

153. Krewski, D.; Snyder, R.; Beatty, P.; Granville, G.; Meek, B.; and Sonawane, B. (2000). Assessing the health risk of benzene: A report on the benzene state of the science workshops. Journal of Toxicology and Environmental Health,61,307-338.

154. Kumar, P. and Baul, G. (2010). Recombinant DNA Technology for Bioremediation of Pollutants. Fulekar M. H. (ed.), Bioremediation Technology: Recent Advances, ch 8, pp:245-265. Capital publishing company.

155. Lan W. U.; Gang G. E.; and Jinbao W. A. N. (2009). Biodegradation of oil wastewater by free and immobilized *Yarrowia lipolytica* W29, Journal of Environmental Sciences, vol. 21, pp. 237–242.

156. Leahy, J. G. and Colwell, R. R. (1990). Microbial Degradation of hydrocarbons in the environment. Microbial Reviews, 53(3), pp : 305-315.

157. Lee, K. and Levy, E. M. (1987). Enhanced biodegradation of a light crude oil in sandy beaches. Proceedings of 1987 Oil Spill Conference.

American Petroleum Institute, Washington, DC, pp:411-416.
158. Lee, K. and Levy, E. M. (1989). Enhancement of the natural biodegradation of condensate and crude oil on beaches of Atlantic Canada. Proceedings of 1989 Oil Spill Conference. American Petroleum Institute, Washington, DC, pp 479-486.
159. Lehr, W. (2001). Review of the modeling procedures for oil spill weathering behavior, in Oil Spill Modelling and Processes. Brebbia, C. A. (ed), WIT, Press. Boston, Massachusetts, pp:51-90.
160. Leung, M. (2004). Bioremediation: Techniques for Deaning up Emess. J. Bioteach., 2: 18- 22.
161. Lewis, A. and Aurand, D. (1997). Putting dispersants to work: overcoming obstacles. International Oil Spill Conference Issue Paper. Technical Report No. IOSC-004.23. Am. Petroleum Inst. Washington, DC.
162. Litchfield, C. (1991). Practices, potential, and pitfalls in the application of biotechnology to environmental problems. Sayler, G.; Fox, R.; and Blackburn, J. Eds. In "Environmental Biotechnology for waste treatment". Vol. 41, pp. 147-157. Plenum, New York.
163. Lu, S. J.; Wang, H. Q. and Yao, Z. H. (2006). “Isolation and characterization of gasoline-degrading bacteria from gas station leaking-contaminated soils,” Journal of Environmental Sciences, vol. 18, no. 5, pp. 969–972,
164. Lu, X. X. ; Zhang, X.; Li, G. H. and Zhang. W. H. J. (2003). Environ. Sci. Health, Part A: Tox. Hazard. Subst. Environ. Eng. 38, 483.
165. Lunel, T. (1996). Dispersion Measurements at the Sea Empress Oil Spill. Proceedings, 19th AMOP Technical Seminar. Environment Canada, Ottawa, pp:100-110.
166. MacFaddin, J. F. (2000). Biochemical tests for identification of medical bacteria, 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, USA.
167. Margel, S., Vogel, E. A., Firment, L., Watt, T., Haynie, S. and Sogah,

D. Y. (1993). Peptide, protein and cellular interactions with selfassembled monolayer model surfaces. J Biomed Mater Res 27, 1463-1476
168. Margesin, R. and Schinner, F. (2001). "Biodegradation and bioremediation of hydrocarbon in extreme environments." Applied microbiology and Biotechnology" 56(5-6): 650-663.

169. Marino, F. (1998). Bioremediation of paraffin wax. M.Sc. Thesis, McGill University, Montréal. Canada.
170. Menezes, F.; deOliveira-Camargo, F. A.; Okeke, B. C. and Frankenberger, W. T. (2005). Diversity of biosurfactant producing microorganisms isolated from soils contaminated with diesel oil. Microbiol. Res., 160, 249- 255.
171. Michel, J.; P. Keane and Benggio, B. (2008). Pre-authorization for the Use of Solidifiers-Results and Lessons Learned. In Proceedings of the 2008 International Oil Spill Conference, American Petroleum Institute, Washington, D.C., pp. 345-348.
172. Minai, T.; Herfatmanesh, D.; Azari – Dehkordi, A. and minnoi, S. (2006). Effect of salininty on biodegradation of Aliphatic fractions of crude oil in soil . Biological sciences. 9 (8) :1531 – 1535.
173. Miyoshi, M. (1895). Die Durchbohrung von Membranen durch Pilzfaden. Jahrb.wiss. Botan., 28, 269-289. Cited by ZoBell, C.E. 1946. Action of microorganisms on hydrocarbons. Bacteriol. Rev. 10:1-49.
174. Morris, J. R. (2009). Adsorption and Decomposition of CWA Simulants on Single Crystal and Nanostructured Metal Oxides. P 15. Final Report.
175. Mosayebi, A. and Abedini, R. (2013). Using Demulsifies for Phase Breaking of Water/Oil Emulsion. Petroleum & Coal 55 (1), pp:26-30.
176. Myers, R. H. and Montrogomery, D. C. (2002). Response Surface Methodology: Process and Product Optimization Using Designed Experiments. 2nd Edition. Canada: .John Wiley & Sons.
177. Nadhem, H. Hayder. (2012). Inhibitory activity of Rhamnolipid

produced by *Pseudomonas aeruginosa* NH22 against *Rhizoctonia solani*. Journal of Biotechnology Research Center. Vol 6 (1), pp 32-44.
178. National Academy of Sciences (NAS). (2013). TRB Special Report 311: Effects of Diluted Bitumen on Crude Oil Transmission Pipelines. ISBN 978-0-309-28675-6, Washington, D.C. p112.

179. National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA) and American Petroleum Institute (API). (2001). Environmental considerations for marine oil spill response. American Petroleum Institute Publication No. 4706. Seattle and Washington, D.C.: NOAA and API.
180. National Research Council (NRC). (2003). Oil in the Sea III: Inputs, Fates, and Effects. National Academies Press, Washington, D.C.
181. Nazina, T. N.; Sokolova D.; Grigor'ian A. A.; Xue Y. F.; Beliaev S. S. and Ivanov M. V. (2003). Production of Oil-Releasing Compounds by Microorganisms from the Daqing Oil Field, China. Microbiology. Volume 72, 206, pp 173-178.
182. Nedwell, D. B. (1999) Effect of Low Temperature on Microbial Growth: Lowered Affinity for Substrates Limits Growth at Low Temperature. FEMS. 30, 101-111.
183. Nielsen, J. W., J. Murawski, and N. Kliem (2008): Oil drift and fate modelling off NE and NW Greenland. Technical Report 08-12, Danish Meteorological Institute, Copenhagen, Denmark.
184. Nitschke, M. and Pastore, G. M. (2002). Biosurfactants: Properties and applicationss. Química Nova, Vol. 25, No. 5, (September / October 2002), pp. 772-776.
185. Noonan, L. and Holcombe, E. (1975). Procedures for chemical analyses
of plant and soil samples Oregon State University. Seattle: University of

Washington; Coniferous For. Biome Internal Rep. 160. 17 p.
186. Oliveira, F.J.S. et al., "Biosurfactants production by Pseudomonas aeruginosa FR using palm oil", Appl. Biochemistry and Biotechnology, vol. 131, 2006, p.727-737.
187. Oliveira, R., Azeredo, J., Teixeira, P. and Fonseca, A. P. (2001). The role of hydrophobicity in bacterial adhesion, in "Biofilm Community Interactions: Chances or Necessity", pp. 11–22. BioLine Cardiff.

188. Padmapriya, M. and Williams, B. C. (2012). Purification and characterization of neutral protease enzyme from *Bacillus subtilis*. J. Microbiol. Biotech. Res., 2; (4):612-1081 618.
189. Palmer, C. D.; Fish, W. and Keely, J. F. (1988). Inorganic contaminants: recognizing the problem, Ground Water Monitoring, and Geophysical Methods. Las Vegas N.V. pp:555-579.
190. Papadimitrakis, J.; Psaltaki, M.; Christolis, M. and Markatos, N. C. (2006). Simulating the fate of an oil spill near coastal zones: The case of a spill (from a power plant) at the Greek island of Lesvos, Environmental Modelling & Software, 21, pp:170-177.
191. Parr, J. F., Sikoew, L. J., and Burge, W. D. (1983). Factors affecting the degradation and inactivation of waste constituents in soils. In Land Treatment of Hazardous Wastes, by Parr, J. F., Marsh, P. B., and Kla, J. M. 50-76.
192. Pelletier, E. and Siron, R. (1999). Silicone-based Polymers as Oil Spill Treatment Agents. Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 18, pp. 813-818.
193. Perilla, M. J. (2003). Manual for the laboratory identification and antimicrobial testing of bacterial pathogens of public health importance in the developing world. World health organization. Atlanta Georges U.S.A, pp. 133 – 284.
194. Perni, S.; Andrew, P. W. and Shama, G. (2005). Estimating the

maximum growth rate from microbial growth curves: definition is everything. Food Microbiology 22, pp:491-495.
195. Perry, J. J. (1979). Microbial cooxidations involving hydrocarbons. Microbiol. Rev. 43, pp:59 - 72 .
196. Phillips, U. A. and Traxler R. W. (1963). Microbial Degradation of Asphalt, Applied Microbiology, 11, pp:235-238.

197. Plaza, G. A.; Lukasik, K.; Wypych, J.; Nat cz-Jawecki, G.; Berry, C. and Brigmon, R. L. (2008). Biodegradation of Crude Oil and Distillation Products by Biosurfactant-Producing Bacteria. Polish J. of Environ. Stud., 17(1): 87-94.
198. Puro, L.; Kallioinen, M.; Manttari, M. and Nyström, M. (2011). Evaluation of behavior and fouling potential of wood extractives in ultrafiltration of pulp and paper mill process water. Journal of Membrane Science, 368(1-2): pp 150-158.
199. Rahman, K. S. M.; Rahman T.; Lakshmanaperumalsamy, P. and Banat, I. M. (2002). Occurrence of crude oil degrading bacteria in gasoline and diesel station soils. J. Basic. Microbiol., 42: 284-291.
200. Ramachandran, S. D.; Hodson, P. V.; Khan, C. W. and Lee, K. (2004). Oil dispersant inceases PAH uptake by fish exposed to crude oil. Ecotoxicology and Environmental Safety, 300-308.
201. Ramseur, J. L. (2010). Deepwater Horizon Oil Spill: The Fate of the Oil. Congressional Research Service, pp24.
202. Reddy, P. G.; Singh, H. D.; Roy, P. K. and Baruah, J. N. (1982). Predominant role of hydrocarbon solubilization in microbial uptake of hydrocarbons .Biotechnology and Bioengineering. 24: 1241-1269 .
203. Reed, M.; Johansen, I.; Brandvik, P. J.; Daling, P.; Lewisà, L; Fioccoà, R.; Mackay, D. and Prentki, R. (1999). Oil spill modeling towards the

close of the 20th century: overview of the state of the art. Spill Science and Technology Bulletin, 5, pp:3-16.
204. Reinhard, M.; Shang, S., Kitanidis, P. K.; Orwin, E.; Hopkins, G. D.; and Lebron, C. A. (1997). In situ BTEX biotransformation under enhanced nitrate- and sulfate-reducing conditions. Environmental Science & Technology, 31(1): 28-36.

205. Rezende, R. P.; Maciel B. M.; Dias, J. T. and Souza, F. O. (2012). Microbial Outlook for the Bioremediation of Crude Oil Contaminated Environments, Introduction to Enhanced Oil Recovery (EOR) Processes and Bioremediation of Oil-Contaminated Sites, Dr. Laura Romero-Zerón (Ed.), InTech, PP 245-260.
206. Rojo, F. K. and Timmis, N. (2010). Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology, DOI 10.1007/978-3-540-77587-4_59, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
207. Rosenberg, E. and Ron, E. Z. (1996). Bioremediation of petroleum contamination. Ronald, L. Crawford. & Don, L. Crawford.. bioremediation principles and applications, pp 100-124. Cambridge university press, New York.
208. Rosenberg, E.; Lagmann, R.; Kushmaro, A.; Taube.; Adler, R. and Ron, E. Z. (1992). Petroleum bioremediation a multiphase problem. Biodegradation, 3, 337-350.
209. Salleh, A. B.; Ghazali, F. M; Zaliha, R. N.; Rahman, A. and Basri, M. (2003). Bioremediation of Petroleum Hydrocarbon Pollution. IJB., 2, 411-425.
210. Salmon, C.; Crabos, J. L.; Sambuco, J. P.; Bessiere, J. M.; Basseres, A.;Caumette, P. and Baccou, J. C.; (1998). Artificial wetland performancesin the purification efficiency of hydrocarbon wastewater. Water Air SoilPollut. 104, 313-329.

211. Saltzman, B. E. (1954). Colorimetric microdetermination of nitrogen dioxide in the atmosphere. Anal Chem 26:1949–1955.
212. Sathishkumar, M.; Binupriya, A.; Baik, S. and Yun, S. (2008). Biodegradation of Crude Oil by Individual Bacterial Strains and a Mixed Bacterial Consortium Isolated from Hydrocarbon Contaminated Areas., Appl. Microbiol. Biotechnol. 36: 92 96.

213. Saxena, R.; Gothawal, R. and Khan, M. N. (2013). Prospective in-Silco Approach in Bioremediation of Petroleum Hydrocarbon: Success so Far. Oct. Jour. Env. Res. Vol. 1(2), pp:137-149.
214. Shamshoom, S. M. ; Ziara, T. S. ; Abdul Ritha, A. N. and Yacoub, A. E. (1989) . Distribution of oil-degrading bacteria in the North-West Arabian Gulf . Mar. Pollut. Bull. (20) .
215. Shin, W. S.; Tate, P. T.; Jackson, W. A. and Pardue, J. H. (1999). Bioremediation of an experimental oil spill in a salt marsh. In Means and Hinchee (Eds): Wetlands and Remediation: An international Conference. Battelle Press, Columbus, OH, pp:33-40.
216. Simbert, R. M. and Krieg, N. R. (1981). General characterization in : Manual methods for bacteriology. Gwnardt, P.; Marry, R. G. F.; Costilow, R. N.; Nester, E. W.; Wood, W. A.; Krieg, N. R. and Philips, G. B. (eds). American Soc. Ety. P. Microbiology , Washington .
217. Simecek-Beatty D. and Lehr W. J. (2007). Trajectory modeling of marine oil spills. Wang, Z. and Stout, S. Oil Spill Environmental Forensics: Fingerprinting and Source Identification. Elsevier Inc, USA.
218. Simon, M.; Autenrieth, R. L.; McDonald, T. J. and Bonner, J. S. (1999). Evaluation of bioaugmentation for remediation of petroleum in a wetland. Proceedings of 1999 International Oil Spill Conference. American Petroleum Institute, Washington DC.

219. Singer, M. E. and Finnerty, W. R. (1984). Microbial metabolism of straight-chain and branched alkane«. In Petroleum Microbiology, ed. R. M. Atlas, pp. 1-60. New York:Macmillan.
220. Singh, A. (2011). How specific microbial communities benefit the oil industry. Biorefining and Bioprocessing for upgrading petroleum oil. Whitby, C.; Skovhus, T. L. (eds.). Applied microbiology and molecular biology in oil field system. Springer science and Business media B.V. pp 171-178

221. Sorkhoh, N. A.; Ghannoum, M. A.; Ibrahim, A. S.; Stretton, R. J. and Radwan, S. S. (1990). Crude oil and hydrocarbon-degrading strains of *Rhodococcus rhodochrous* isolated from soil and marine environments in Kuwait. Environ. Pollut. 65: 1-17.
222. Stolp, H. and Gadkari, D. (1981). Nonpathogenic members of the genus Pseudomonas. In The Prokaryotes, vol. 1, pp. 719–741. Edited by Starr, M. P.; Stolp, H.; Trüper H. G.; Balows, A. and Schlegel, H. G. Berlin: Springer.
223. Störmer, K. (1908). Ueber die Wirkung des Schwefelkohlenstoffs und ähnlicher Stoffe auf den Boden. Zentr. Bakt. Parasitenk.Infekt., II, 20, 282-286. Cited by Zobel, C. E. (1946). Action of microorganisms on hydrocarbons. Bacteriol. Rev. 10:1-49.
224. Tagger, S.; Bianchi, A.; Julliard, M.; Le Petit, J. and Roux, B. (1983). Effect of microbial seeding of crude oil in seawater. Marine Biology, 78(1), pp:13-21.
225. Tatem, H. E.; Cox, B. A. and Anderson J. W. (1978). The toxicity of oils and petroleum hydrocarbons to estuarine crustaceans, Estuarine, Coastal and Shelf Science, vol. 6, pp. 365–373.
226. Tavassoli T.; Mousavi, S. M.; Shojaosadati, S. A. and Salehizadeh H. (2012). Asphaltene biodegradation using microorganisms isolated from

oil samples," Fuel, vol. 93, pp. 142–148.
227. Taylor, G. T.; Zheng, D.; Lee, M.; Troy, P. J.; Gyananaht, G. and Sharma, S. K. (1997). Influence of surface properties on accumulation of conditioning films and marine bacteria on substrata exposed to oligotrophic waters. Biofouling 11, 31-57.
228. TD-500D, handheld Oil in water meter. User's Manual PART-I Version: 1.1. (2013). Available at:
229. Thenmozhi, R.; Nagasathya, A. and Thajuddin, N. (2011). Studies on biodegradation of used engine oil by consortium cultures. Advances in Environmental Biology. 5(6), pp:1051–1057.

230. Tortora, G. J.; Funke, B. R and Case, C. L. (1995). Microbiology. An Introduction. Fifth Edition. The Benjamin/Cummings Publishing, Co., Inc., Redwood City, CA, pp:70-90.
231. U. S. Environmental Protection Agency (EPA). Office Of Emergency and Remedial response (1999a). Understanding Oil Spills and Oil Spill Response.
232. U.S. Environmental Protection Agency (EPA). (1988). Clean-up of Releases from Petroleum USTs: Selected Technologies. Report-530-UST-88–001. Washington, DC.
233. U.S. Environmental Protection Agency (EPA). (1989). Bioremediation of Hazardous Waste Sites Workshop. Washington, DC: CERI-89–11.
234. U.S. Environmental Protection Agency (EPA). (1991). Site Characterisation for subsurface remediation. Seminar publication. EPA/25/4 – 91/026. Standard Guide for Ecological consideration for the use of Bioremediation in oil spill Response. Sand and Gravel Beaches. Fixed Designation: F 1481 and Standard Guide for Ecological consideration for the use of Bioremediation in oil spill Response. Land fixed designation: F 1693. Office of Research and Development, Washington D.C

235. U.S. Environmental Protection Agency (EPA). (1995). How to Evaluate Alternative Cleanup for Underground Storage Tank Sites. A Guide for Corrective Action Plan Reviewers. Solid waste and emergency response 5403W. Washington, USA.

236. U.S. Environmental Protection Agency (EPA). (1999b). Method 1664, Revision A: N-Hexane Extractable Material (HEM; Oil and Grease) and Silica Get Treated N_Hexane Extractable Material (SGT-HEM; Nonpolar Material) by Extraction and Gravimetry Office of Water, Engineering and Analysis Division (4303).

237. Van Hamme, J. D.; Singh, A. and Ward, O. P. (2003). Recent advances in petroleum microbiology. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 67, 503–549.

238. Van Veen, J. A; Van Overbeek, L. S. and Van Elsas, J. D. (1997). Fate and activity of Microorganisms introduced into soil. Microbial. Mol. Biol. Rev. 61: 121-135.

239. Venosa, A. D. and Zhu, X. (2003). Biodegradation of crude oil contaminating marine shoreline and freshwater wetlands. Spill science and technology bulletin, vol. 8, no. 2, pp. 163-178.

240. Venosa, A. D.; Lee, K.; Suidan, M. T.; Garcia-Blanco, S.; Cobanli, S.; Moteleb, M.; Haines, J.R.; Tremblay, G. and Hazelwood, M. (2002). Bioremediation and biorestoration of a crude oil contaminated freshwater wetland on the St. Lawrence River. Bioremediation Journal, 6 (3).

241. Venosa, A. D.; Suidan, M. T.; Wrenn, B. A.; Strohmeier, K. L.; Haines, J. R.; Eberhart, B. L.; King, D.W. and Holder, E. (1996). Bioremediation of experimental oil spill on the shoreline of Delaware Bay. Environmental Science and Technology, 30, 1764-1775.

242. Vidali, M. (2001). Bioremediation An overview, Pure Appl. Chem., Vol. 73, No.7, pp 1163–1172.243. Wagner, R. (1914). Über Benzol-Bakterien. Z. Gärungsphysiol. 4, 289-319. Cited by ZoBell, C. E. (1946). Action of microorganisms onhydrocarbons. Bacteriol. Rev. 10:1-49,.

244. Wake, H. (2005). Oil refineries: A review of their ecological impact on the aquatic environment, Estuarine, Costal and Shelf Science, vol. 62, pp.131-140.
245. Warne-Zoueki, C.; GHoshal, S. and Tufenkii, N. (2010). Bacterial adhesion to hydrocarbons: role of asphaltenes and resins. Department of Chemical Engineering, McGill University, Montreal, Quebec H3A 2B2, Canada.
246. Watkinson, R. J. and Morgan, P. (1990). Physiology of aliphatic hydrocarbon degrading microorganisms. Biodegradation, 1, pp. 79-92.

247. Westlake, D. W. S. (1982). Microorganisms and the degradation of oil under northern marine conditions. In: Oils and dispersants in Canadian seas – research appraisal and recommendations. Publication EPS-3-EC-82-2. Environmental Protection Service Canada, Sprague JB, Vandermeulen JH, Wells PG (editors), Ottawa, Canada, pp:47-50.
248. Whitman, W. B.; Coleman, D. C. and Wiebe, W. J. (1998). Prokaryotes: the unseen majority. Proceedings of the National Academy of Sciences, 95: pp. 6578-6583.
249. Wiencek, K. M. and Fletcher, M. (1997). Effects of substratum wettability and molecular topography on initial adhesion of bacteria to chemically defined substrata. Biofouling 11, 293-311.
250. Wrenn, B. A., Haines, J. R., Venosa, A. D., Kadkhodayan, M., and Suidan, M. T. (1994). "Effects of nitrogen source on crude oil biodegradation." J. Ind. Microbiol., 13_5, pp 279–286.
251. Yang, M. (2011). Measurement of Oil in Produced Water; K, Lee and Jerry M. Neff. Produced Water: Environmental Risks and Advances in Mitigation Technologies. (57-88). Springer Science+Business Media,

LLC.USA.
252. Young, L. Y. and Cerniglia, C. E. (eds.) (1995). Microbial Transformation and Degradation of Toxic Organic Chemicals. Wiley-Liss Inc., New York, NY.
253. Zhang, Y. and Miller, R. M. (1994). Effect of a *Pseudomonas* rhamnolipid (biosurfactant) on cell hydrophobicity & biodegradation of octadecane . Appl. Environ. Microbiol. 60 : 2101 - 2106.
254. Zhong, Z. and You, F. (2011). Oil Spill Response Planning with Consideration of Physicochemical Evolution of the Oil Slick: A Multiobjective Optimization Approach. Computers & Chemical Engineering, In press. doi: 10.1016/j.compchemeng.2011.01.009
255. Zhu, X.; Venosa, A. D. and Suidan, M. T. (2004a). Literature review on the use of commercial bioremediation agents for cleanup of oilcontaminated
estuarine environments. U.S. Environmental Protection Agency Cincinnati, OH 45268.
256. Zhu, X.; Venosa, A. D.; Suidan, M. T. and Lee, K. (2001). Guidelines for the Bioremediation of Marine Shorelines and Freshwater Wetlands, Report under a contract with Office of Research and Development, U.S. Environmental Protection Agency.
257. Zhu, X.; Venose, A. D.; Suidan, M. T. and Lee, K. (2004b). Guidelines for the Bioremediation of Oil-Contaminated Salt Marshes. US Environmental Protection Agency, National Risk Management Research Lab, Cincinnati, Ohio. EPA/600/R-04/074.
258. Zobell, C. E. (1946). Action of Microorganisms on Hydrocarbons, Bacteriol. Rev. 10: 1-49.
259. Zobell, C. E. (1973). Microbial degradation of oil: Present statue, problems, and perspectives. In Ahearn and Meyers (Eds.). The Microbial Degradation of Oil Pollutants, Publication No. LSUSG-73-01, Louisiana State University, Baton Rouge, LA, pp 3-16.

لابد لنا ونحن نخطو خطواتنا الأخيرة في الحياة الجامعية من وقفة نعود إلى أعوام

قضيناها في رحاب الجامعة مع أساتذتنا الكرام الذين قدموا لنا الكثير باذلين بذلك

جهودا كبيرة في بناء جيل الغد لتبعث الأمة من جديد...

وقبل أن نمضي نقدم أسمى آيات الشكر والامتنان والتقدير والمحبة إلى الذين حملوا

أقدس رسالة في الحياة...

ططط

إلى الذين مهدوا لنا طريق العلم والمعرفة...

إلى جميع أساتذتنا الأفاضل.....

والسلام عليكم ورحمة الله وبركاته .