عزل وتشخيص البكتريا الأكثر سيادة في مياه بحيرة ساوه و تحديد مدى قابليتها على تحمل عدة مستويات من ملح كلوريد الصوديوم

ميثم عباس مكي **تركي مفتن سعد**

كلية العلوم/ جامعة المثنى **كلية الزراعة / جامعة المثنى**

الخلاصة :

للأهمية الاقتصادية والسياحية التي تتمتع بها بحيرة ساوه كونها تعتبر مصدرا مائيا مهما من جهة ومعلماً سياحيا يرتاده الكثير من السياح لغرض العلاج من جهة اخرى, تم اجراء هذه الدراسة ابتداءً من شهر تموز 2012 وانتهاءً بشهر نيسان 2013 اي ان الدراسة كانت فصلية حيث تمت عملية عزل وتشخيص الانواع والاجناس البكتيرية من مياه البحيرة على اساس الفصول اي ابتداءً من صيف 2012 وانتهاءً بربيع 2013 . لقد تم تحديد الانواع والاجناس البكتيرية الاكثر تواجداً وسيادةً في مياه البحيرة , حيث كانت نسبة تواجد بكتريا *Vibrio alginolyticus* 100% في مياه البحيرة خلال فترة الدراسة الفصلية وفي كل المحطات والمواقع التي هي قيد الدراسة , في حين كانت نسبة تواجد بكتريا *Proteus mirabilis* 95.83% , بينما كانت نسبة تواجد كل من بكتريا *Staphyllococcus aureus* و *Escherichia coli* 91.67% . تم اجراء تجربة مختبرية خلال فترة الدراسة لمعرفة قابلية مدى تحمل البكتريا الاكثر سيادة وتواجدا في مياه البحيرة لملح كلوريد الصوديوم من خلال معاملتها بعدة تراكيز ملحية له (2.5% , 5% , 7.5% , 10%) واظهرت نتائج التحليل الاحصائي تباينا واضحا في مدى قابلية تحملها لتراكيز ملح كلوريد الصوديوم , كذلك اظهرت النتائج فروق معنوية بين اعداد البكتريا للأنواع التي تم اختبارها في التركيز الواحد وفروق معنوية واضحة في اعداد بكتريا النوع او الجنس الواحد للتراكيز المختلفة والمستخدمة في التجربة . ونظراً لأهمية بحيرة ساوه وشحة الدراسات المتعلقة بها ولغرض توفير المعلومات التي تخص النشاط الميكروبي فيها أُجريت هذه الدراسة بهدف التحري عن الانواع والاجناس البكتيرية الاكثر تواجدا في مياه البحيرة .

المقدمة :

من بين المسطحات المائية الراكدة في العراق هي بحيرة ساوه التي تقع في محافظة المثنى جنوب العراق تبعد عن مركز مدينة السماوة 32 كم وتقع في الجنوب الغربي ، التابعة اداريا الى ناحية الهلال وهي امتداد لصحراء البادية الجنوبية . يبلغ محيط البحيرة 11300 كم حسب حافات المياه للبحيرة . تشغل البحيرة مساحة مقدارها 5.5 كيلومتر مربع ، ارتفاع البحيرة عن مستوى

الأرض المجاورة لها يقدر بحوالي 5 أمتار مما يحول دون رؤيتها الا من مسافات قريبة جداً ويبلغ ارتفاعها 17 متر عن مستوى سطح البحر . طولها يقارب من 4.75 كم ، عرضها يتراوح بين 0.5-1.75 كم ، اما عمقها فهو ذو نطاقين الأول وهو المحاذي لجدارها الخارجي يتراوح ما بين 2.5- 4 متر والثاني يتراوح ما بين 5 -5.5 متر وهو يغطي أكثر من 70% من مساحة البحيرة ، هذه المواصفات جعلت من البحيرة حوض صغير الحجم وضحل الأعماق و شكلها يشبه الكمثرى (Mohammed ,2005) . تعد بحيرة ساوه من اهم المعالم المميزة في العراق وذلك لتكوينها الفريد والظواهر الطبيعية التي صاحبتها فهي تتميز عن البحيرات الأخرى بأمور عديدة منها عدم وجود مجرى مائي سطحي يغذيها حيث أن هنالك عدة آراء في مصادر مياهها فهنالك رأي قائل أنها تعتمد على ينابيع وعيون ذات دفق طبيعي وعلى أعماق مختلفة ، وما يتدفق من مياه من الشقوق في اسفلها أوانه يتم تغذية البحيرة عن طريق المياه الجوفية (Naqash,1977) . ونظراً لأهمية البحيرة وشحة الدراسات المتعلقة بها وتوفير المعلومات التي تخص النشاط الميكروبي فيها جاءت هذه الدراسة لتسلط الضوء على تحديد الاجناس او الانواع البكتيرية الأكثر تواجداً في مياه البحيرة وعزلها بصورة نقية واجراء تجربة مختبرية عليها لمعرفة مدى قابليتها على تحمل الملوحة من خلال معاملتها بعدة مستويات من ملح كلوريد الصوديوم .

المواد و طرائق العمل :

جمعت عينات المياه من ثلاث محطات و لموقعين (سطح و عمق المياه) والتي هي قيد الدراسة , حيث كانت المسافة بين موقع وآخر 2كم تقريبا وابتداءً من شهر تموز 2012 الى نهاية شهر نيسان 2013 , حيث استخدمت قناني زجاجية سعة 1 لتر محكمة الغلق ومعقمة بدرجة حرارة 140 مْ ولمدة ثلاث ساعات , تمسك القنينة من الأسفل بحيث تكون فوهتها عكس اتجاه التيار وتفتح تحت الماء لتملئ مع مراعاة بقاء حجم قليل من القنينة مع الأخذ بنظر الاعتبار كون العينة المسحوبة من المياه السطحية أو من اعماق محددة , ثم تغلق القنينة بإحكام (المصلح,1988) , ثم تحفظ العينات في صندوق فليني يحتوي على الثلج لحين ايصالها الى المختبر والمباشرة بالعمل بها , واذا لم يتم العمل مباشرة بها تحفظ العينات بدرجة حرارة تتراوح بين 4-10 مْ لمدة 24 ساعة مع مراعاة عدم تعرض العينات للضوء للحفاظ عليها من التغيرات التي تطرأ عليها (WHO,2011) . ومن الجدير بالذكر ان جمع العينات كان شهريا (عينة لكل شهر) لجميع المحطات قيد الدراسة وبمعدل ثلاث مكررات لكل عينة . تم اجراء الفحوصات البكتيريولوجية على عينات المياه متمثلة بما يلي :

❖ العزل البكتيري Bacterial samples isolation :-

لغرض التعرف على أنواع البكتريا الممكن تواجدها في مياه البحيرة في المواقع المحددة والتي هي قيد الدراسة , فقد تم زرع العينات المأخوذة من المياه على وسط مرق نقيع المخ والدماغ السائل (Brain heart infusion broth) وذلك لغرض تنشيط البكتريا وعزل اكثر عدد من لأنواع التي من المحتمل تواجدها في مياه وتربة البحيرة كون هذا الوسط يعتبر وسطاً إغنائياً (Enriched media) وحضنت لمدة 24 ساعة وبدرجة حرارة 37مْ . بعدها تمت زراعة العينات المنشطة على وسط مرق نقيع المخ والدماغ على الأوساط الأكار المغذي (Nutrient agar) وأكار الدم Blood base agar) وأكار الماكونكي (Macconkey agar) وبطريقة التخطيط Streaking وبعد الحضن لمدة 24 ساعة وبدرجة 37مْ أجري زرع ثانوي للمستعمرات النامية على اوساط زرعية انتخابية (Selective media) . اذ ان لكل مجموعة من البكتريا وسط زرعي انتخابي خاص بنموها , بحيث يظهرها بصفات مظهرية تميزها عن غيرها وفي بعض الأحيان تثبط نمو المجاميع الأخرى من البكتريا .

❖ تشخيص العينات البكتيرية Bacterial samples identification :-

شخصت العزلات اعتماداً على مصنف بركي Bergy's manual (Holt, *et al.* 1994) ووفق الطرق المستعملة من قبل (Collee, *et al.*1996) و(MacFaddin,2000).

أولا : الخصائص المظهرية Morphological properties :

شملت دراسة خصائص المستعمرات وصفاتها المظهرية بما فيها الشكل والحجم والارتفاع وحواف المستعمرات والتركيب السطحي واللون والعتمة والتحلل الدموي , كذلك ملاحظة بعض الظواهر التي تحدثها بعض انواع البكتريا والخضاب والرائحة .

ثانيا : الفحص المجهري Microscopic examination :

تضمنت دراسة شكل البكتريا , وتجمعات الخلايا البكتيرية كأنها مرتبة على شكل سلاسل او على شكل عناقيد العنب او على شكل عصيات , كذلك يمكن ملاحظة من خلال الفحص المجهري كون البكتريا مكونة للسبورات او غير مكونة للسبورات , فضلا عن استجابة البكتريا الى صبغة كرام حيث أخذت مسحة من مستعمرة نامية على الأوساط الزرعية الأكار المغذي (Nutrient agar) او أكار الدم (Blood base agar) , بوساطة عروة الناقل (Loop) ووضعت على شريحة زجاجية نظيفة (Slide) ، ثم فرشت الخلايا وثبتت بإمرارها على اللهب ثلاث مرات وصبغت بملون كرام (Gram stain) ، ولوحظ لون وشكل الخلايا عن طريق فحصها بالمجهر الضوئي وتفاعلها مع ملون كرام . حيث ظهرت بكتريا المكورات العنقودية الذهبية بأنها موجبة

لصبغة كرام (Gram positive) كروية الشكل يتراوح قطرها بين (1.5-0.5) مايكروميتر , غير متحركة (Non – motile) ، وغير مكونة للسبورات (Non spore forming) , تنقسم خلايا بكتريا المكورات العنقودية الذهبية في أكثر من مستوي لتكون مجاميع شبيهة بعناقيد العنب (Grape like cluster) (Harris *et al*.2002) . بينما ظهرت بكتريا *Escherichia coli* على شكل عصيات سالبة لصبغة كرام (Gram-ve) ، غير مكونة للسبورات ، متحركة , اما افراد النوع *P.mirabilis* ظهرت تحت المجهر بشكل عصيات مكورة قصيرة سالبة لصبغة كرام ، وقسم منها ظهر بشكل عصيات طويلة خيطية وخاصة عندما تكون المسحات مأخوذة من المزارع الحديثة , وامتازت بكتريا *Vibrio alginolyticus* بأنها عصيات قصيرة , منحنية اوبشكل حرف S او الضمة (Comma) , هوائية المعيشة وتوجد اما بشكل منفرد او على شكل تجمعات .

ثالثا : الصفات الزرعية Cultural characteristic :

استخدمت الكثير من الأوساط الزرعية منها أوساط تفريقية ومنها انتخابية ومنها تخصصية أي بتعبير آخر انها استخدمت لتشخيص نوع واحد من البكتريا او مجموعة من الأنواع أو الأجناس البكتيرية وذلك من خلال ملاحظة الصفات الاستنباتية للبكتريا المعزولة من عينات المياه من المواقع او المحطات المحددة والتي هي قيد الدراسة , ومن اهم الاوساط الزرعية التي تم استخدامها في عزل وتشخيص الانواع و الاجناس البكتيرية الاكثر تواجدا في مياه البحيرة خلال فترة الدراسة هي كالاتي :

❖ **وسط مرق نقيع الدماغ والقلب Brain heart infusion broth :**

استخدم هذا الوسط في العزل الأولي للمستعمرات البكتيرية كونه وسطا اغنائيا (Enriched media) لغرض تنشيط المستعمرات البكتيرية في عينات مياه البحيرة .

❖ **وسط الأكار المغذي Nutrient agar :**

استخدم هذا الوسط لتنمية المستعمرات البكتيرية وحفظ العزلات البكتيرية , كذلك من خلاله تم وصف اشكال المستعمرات البكتيرية , قطرها , لونها , حواف المستعمرات ، وبعض الصفات الاستنباتية الأخرى .

❖ **وسط أكار الدم Blood base agar :**

استخدم هذا الوسط لعزل وتنمية البكتريا وتحديد فعالية تحلل الدم من قبل المستعمرات البكتيرية المعزولة حيث لقح وسط اكار الدم بالبكتريا المعزولة بطريقة التخطيط (Streaking)

وحضن لمدة 24 ساعة وبدرجة حرارة 37 مْ فلوحظت مناطق شفافة حول نمو المستعمرات البكتيرية دلالة على تحلل كامل لخلايا كريات الدم الحمراء (Red blood cell) وهذا ما يسمى بتحلل الدم من النمط بيتا (β-haemolytic) وهذا ما اظهرته بكتريا *Proteus mirabilis* (كاظم , 2005) اما بكتريا *Staphyllococcus aureus* تعطي درجات مختلفة من التحلل ولكن على العموم هي تنتج تحلل من نمط بيتا (β-haemolytic) (Brooks *et al*.2007) . بينما لوحظت عزلات بكتيرية لم تحدث أي تحلل لكريات الدم الحمراء وهذا النمط من التحلل يسمى كاما (ɑ-haemolytic) وهذا ما اظهرته بكتريا *Escherichia coli* و *Vibrio alginolyticus* (Jawetz *et al*.2007) كذلك تميزت جرثومة *Proteus mirabilis* بظاهرة العج (Swarming phenomenon) حيث اظهرت نموا بشكل دوائر متحدة المركز مكونة حلقات وتموجات تشبه امواج البحر Sea wave like او النمو بشكل طبقة غشائية رقيقة تغطي سطح الوسط وعادة تظهر هذه الظاهرة على الاوساط غير المثبطة للعج مثل اكار الدم واكار الدم المسخن والاكار المغذي (Koneman *et.al*.1997 ; Holt *et.al*.1994) .

❖ **وسط اكار سكر المانيتول الملحي Mannitol salt agar :**

استخدم هذا الوسط للتحري والكشف عن قدرة بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphyllococcus aureus* على تخمير سكر المانيتول وانتاج الحامض الذي يعمل على تغيير لون الوسط من اللون الوردي الى اللون الأصفر بوجود الدليل أحمر الفينول , وبالتالي يتم تمييزها عن باقي انواع جنس Staphylococcus , تنمو بكتريا المكورات العنقودية الذهبية على وسط الـ (Mannitol salt agar) الذي يحتوي على الكاشف أحمر الفينول (Phenol red) وتنتج مستعمرات محاطة بهالة صفراء وذلك لقدرتها على تخمير سكر المانيتول (Baron *et. al*.1994) وهذا ما أكده (العلي,2007) , بالإضافة الى ذلك انها تمتاز بقدرتها على تحمل الملوحة العالية في هذا الوسط الذي يصل تركيز كلوريد الصوديوم فيه (7-10 %).

❖ **وسط أكار الماكونكي Macconkey agar :**

استخدم هذا الوسط لتنمية مستعمرات البكتريا السالبة لملون كرام على هذا الوسط اذ يعد هذا الوسط وسطا تفريقيا لذلك استخدم لدراسة الصفات المظهرية وللتفريق بين المستعمرات البكتيرية المخمرة لسكر اللاكتوز عن غير المخمرة لسكر اللاكتوز حيث ظهرت المستعمرات المخمرة بألوان وردية على سطح الوسط والغير المخمرة ظهرت مستعمراتها شاحبة على سطح الوسط , تستطيع بكتريا *Escherichia coli* النمو وبصورة جيدة على الأوساط الانتخابية وبدرجة

حرارة تتراوح ما بين 15م°- 45م°، الا انها تنمو على أكار الماكونكي (Macconkey agar) بشكل مستعمرات وردية كونها مخمرة لسكر اللاكتوز

❖ **وسط اكار الأيوسين المثيلين الأزرق (E.M.B.agar) Eosin Methylen Blue agar**

استخدم هذا الوسط لغرض العزل والتشخيص والتفريق بين البكتريا السالبة لملون كرام اعتمادا على تخمر سكر اللاكتوز , حيث ظهرت مستعمرات بكتريا الـ *E.coli* المخمرة لسكر اللاكتوز على هذا الوسط ذات لمعان معدني Metallic sheen أو سوداء مزرقة Blue-black. أما البكتريا غير المخمرة لسكر اللاكتوز ظهرت عديمة اللون Colorless أو شفافة Transparent .

❖ **: CHROMagar vibrio**

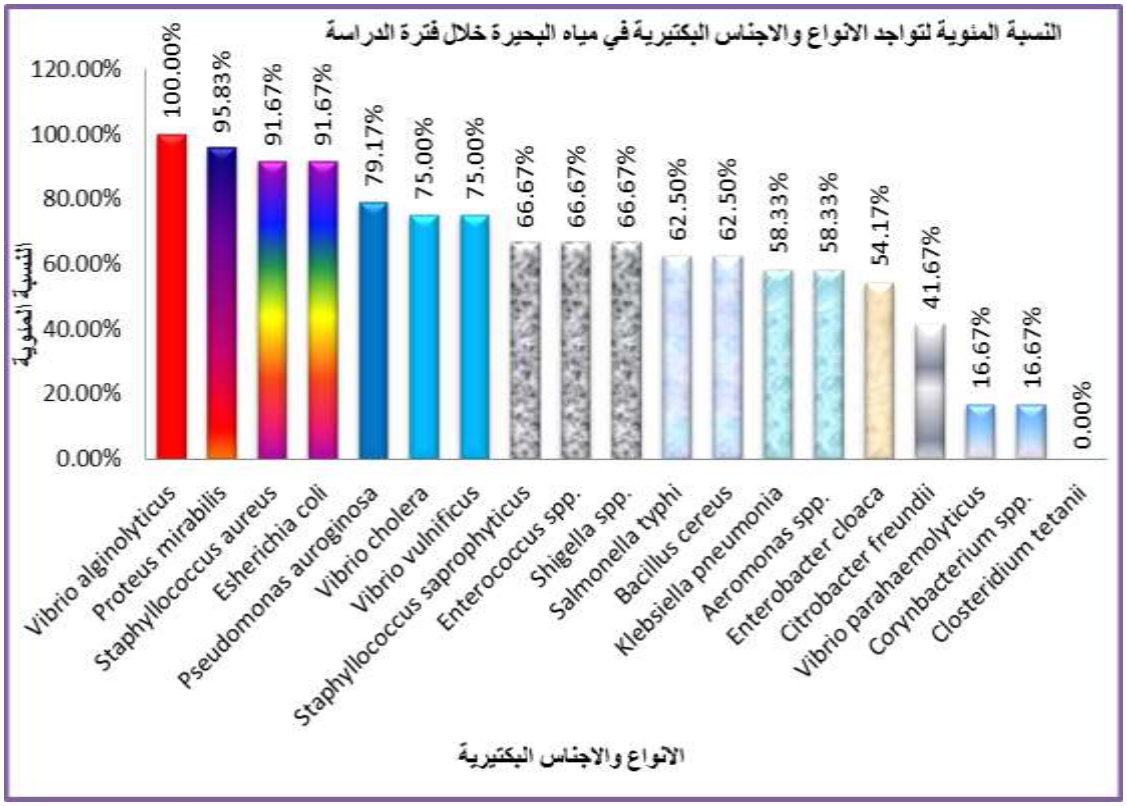
استخدم هذا الوسط لعزل وتشخيص بعض الأنواع التابعة الى جنس الـ Vibrio والتفريق فيما بينها من خلال ظهورها بألوان مختلفة كون هذا الوسط يعتبر وسطا خاصا لنموها . حيث ظهرت بكتريا الـ *Vibrio parahaemolyticus* بلون بنفسجي (Mauve) , اما بكتريا الـ *Vibrio vulnificus* تميزت بلون اخضر مزرق (Green- blue) , بينما ظهر نوع آخر بلون تريكوازي مزرق (Turquoise blue) والنوع هو *Vibrio cholerae* , اما النوع *Vibrio alginolyticus* كان عديم اللون (Colourless) على هذا الوسط .

رابعاً : الاختبارات الكيموحيوية Biochemical tests :

تم تشخيص العزلات البكتيرية بالفحوصات الكيموحيوية اعتمادا على (Atlas,2010 ; Collee,1996 ; Macfaddin,2000 ; Forbes,2002) وهي مبينة في جدول (3) .

النتائج و المناقشة :

لقد تبين من خلال نتائج المسح البكتريولوجي لمياه البحيرة خلال فترة الدراسة الفصلية وفي جميع المحطات والمواقع (سطح وعمق المياه) ان هنالك اربعة انواع واجناس بكتيرية ذات سيادة وتواجد كبير وبنسب متقاربة في مياه البحيرة , وهي ممثلة ببكتريا *Vibrio alginolyticus* والتي سجلت نسبة تواجد في مياه البحيرة 100% , في حين اظهرت بكتريا *Proteus mirabilis* نسبة تواجد مقدارها 95.83% , بينما سجلت كل من بكتريا *Staphyllococcus aureus* و *Escherichia coli* نسبة تواجد 91.67% وكما هي مبينة في شكل (1) .



شكل (1) يوضح النسبة المئوية لتواجد الانواع والاجناس البكتيرية في مياه البحيرة خلال فترة الدراسة .

تم معاملة هذه الانواع والاجناس البكتيرية بعدة تراكيز من ملح كلوريد الصوديوم (2.5% , 5% , 7.5% , 10%) ومن خلال ملاحظة نتائج الاختبار تبين ان هنالك تباينا واضحا في مدى تحمل الانواع والاجناس البكتيرية الاكثر تواجدا في مياه البحيرة للتراكيز الملحية المشار اليها انفا , حيث اظهرت *Staphyllococcus aureus* قدرة واضحة على تحمل ومقاومة كل التراكيز الملحية (2.5% , 5% , 7.5% , 10%) وبكثافة عددية عالية وكما هي مبينة في جدول (1) , اما بالنسبة لكل من بكتريا *Escherichia coli* و *Vibrio alginolyticus* اظهرتا تحملا ومقاومة للتركيزين 2.5% و 5% وبكثافة عددية مبينة في جدول (1) في حيت ابدت كل منهما حساسية للتركيزين الملحيين 7.5% و 10% من ملح كلوريد الصوديوم , بينما اظهرت بكتريا *Proteus mirabilis* مقاومة جلية الوضوح للتركيز الملحي 2.5% في حين ابدت حساسية واضحة للتراكيز الملحية (5% , 7.5 , 10%) , ومن خلال التحليل الاحصائي للنتائج تبين ان هنالك فروقا معنوية (L . S . D) عند مستوى الاحتمال $P \leq 0.05$ بين متوسط اعداد الانواع والاجناس البكتيرية المختلفة والمعاملة بكل تركيز على انفراد من التراكيز التي تم استخدامها في التجربة كذلك تبين من النتائج ان هنالك فروقا معنوية (L .S .D) عند مستوى الاحتمال $P \leq 0.05$ بين

متوسط اعداد المستعمرات البكتيرية للنوع او الجنس البكتيري الواحد عند معاملته بتراكيز ملحية مختلفة .

جدول (1) تأثير عدة مستويات من ملح كلوريد الصوديوم في اعداد الانواع والاجناس البكتيرية (مستعمرة مل$^{-1}$)

الانواع او الاجناس البكتيرية	تركيز ملح كلوريد الصوديوم				
	2.5%	5%	7.5%	10%	mean
Staphylococcus aureus	3833.33 (R)	3200 (R)	2780 (R)	2042 (R)	2963.92
Vibrio alginolyticus	2880(R)	2300(R)	(S)	(S)	1295
Escrichia coli	2980 (R)	2892 (R)	(S)	(S)	1468
Proteus mirabilis	2516 (R)	(S)	(S)	(S)	629
Mean	3052.33	2098	695	510.58	**1588.98**
L . S . D$_{(0.05)}$	B	Conc	B×Conc		
	146.738	**146.738**	**208.625**		

(R) : مقاومة البكتريا للتركيز الملحي المحدد .

(S) : حساسية البكتريا للتركيز الملحي المحدد .

(B) : البكتريا Bacteria .

(Conc) : التركيز الملحي Salt Concentration . (B×Conc) : التداخل بين البكتريا والتركيز الملحي .

ان سبب تواجد المجاميع البكتيرية التي تم تشخيصها في مياه البحيرة ربما يعود السبب في ذلك الى عدم الاهتمام بها وحمايتها من مسببات التلوث بفعل تأثير الانسان ونشاطاته المختلفة او بسبب تكيف او تأقلم هذه المجاميع البكتيرية للظروف البيئية التي تتميز بها مياه البحيرة , ووجود هذه المجاميع في المياه بصورة عامة يعد من الحالات غير الصحية لتلك المياه وعدم صلاحيتها للاستخدام البشري كونها تعتبر سببا للعديد من الأمراض والالتهابات , لذلك تتمكن العديد من البكتريا من العيش والنمو في بيئات تختلف فيما بينها فيزيائيا وكيمياويا وهذا يعني ان البكتريا تحتاج الى انواع مختلفة من الانزيمات لكي تستطيع التآلف والتأقلم مع تلك الظروف , بمعنى آخر ان البكتريا التي تنمو تحت ظرف معين لا تصنع او تنتج جميع الانزيمات التي تستطيع صنعها , ولكن عند تغير ذلك الظرف يتوجب على البكتريا نفسها ان تخلق انزيمات اخرى او اضافية , لاسيما ان حث تكوين الانزيمات يعد مثالا للتغيير في الخصائص الظاهرية ضمن الخصائص

الكيمياوية والحيوية , فمن خلال ملاحظة النتائج والمبينة في جدول (1) تبين ان بكتريا *Staphyllococcus aureus* ابدت مقاومة شديدة للتركيز الملحية (2.5% , 5% , 7.5% , 10%) من ملح كلوريد الصوديوم وذلك من خلال نموها وتكاثرها بنسبة عالية ويعزى السبب في ذلك الى عدة عوامل منها فسلجيه او عوامل وراثية بالإضافة الى ذلك ان تأثير ملح كلوريد الصوديوم ليس من خلال العملية الازموزية فقط بل ان نفس ايون الصوديوم ضروري لنمو غالبية المجاميع البكتيرية في المياه المالحة وكذلك ايون الكلور ضروري لبعضها وقد جاءت نتائج هذه الدراسة متوافقة مع النتائج التي توصل اليها (علي , 2001) حيث اشار الى ان سبب وجود هذه الدرجة العالية من المقاومة من قبل المكورات العنقودية الذهبية لمستويات مختلفة من ملح كلوريد الصوديوم الى عدة عوامل منها فسلجيه او عوامل وراثية كوجود مواقع بلازميدية لبناء انزيمات اضافية تجعل البكتريا اكثر مقاومة للظروف البيئية المحيطة بها , كما تتفق نتائج هذه الدراسة مع ما جاء به (المصلح , 1988) حيث اكد ان كلوريد الصوديوم له دور كبير في تنشيط عملية تكوين انزيم (Luciferase) في الخلايا البكتيرية مبينا ذلك من خلال ملاحظته انه عند تركيز 1% من ملح كلوريد الصوديوم تتكون كمية اقل مما في حالة 3% , كما ان هنالك عمليات فسلجيه تتأثر بتركيز الملح كالأكسدة وغيرها . كما ان مقاومة بكتريا المكورات العنقودية الذهبية لمستويات عالية من تركيز كلوريد الصوديوم يعزى الى التغيير الحاصل في تركيب جدار الخلية البكتيرية وهذا يتفق مع ما توصل اليه (Lioret *et al* .1995) حيث اشار الى زيادة قدرة بعض العزلات البكتيرية على مقاومة الملوحة العالية قد يكون لإنتاجها كمية اضافية من Extracellular poly saccharides او حدوث تغيير في تركيب Lipopoly saccharides في جدار الخلية البكتيرية او بناء المزيد من البروتينات الخلوية وزيادة كفاءة الغشاء الخلوي في نقل الكاتيونات اللاعضوية مما يساعدها على مقاومة الملوحة , وقد يكون تجمع مواد كاربوهيدراتية في سايتوبلازم الخلية له دور كبير في تحمل ظروف الملوحة في الوسط او البيئة التي تعيش فيها .

في حين لوحظ من خلال النتائج المبينة في جدول (1) ان بكتريا *Proteus mirabilis* اظهرت نموا واضحا في التركيز 2.5% لملح كلوريد الصوديوم ولكنها لم تسجل اي نمو يذكر في التركيز 5% وهذا دليل عل عدم قدرتها على تحمل التراكيز العالية من ملح كلوريد الصوديوم , ومن الجدير بالذكر وجد ان التركيز 2.5% لم يؤثر على نمو البكتريا ولا حتى على نشاطها وذلك من خلال ظهور ظاهرة العج المميزة لهذ النوع من البكتريا وهذه النتائج متوافقة مع ما جاء به (Atlas *et al* .1995) حيث اشار الى ان التراكيز الواطئة لملح كلوريد الصوديوم (0.1% , 0.5% , 1% , 2% , 2.5%) لا تؤثر على ظاهرة العج ولكن في التركيز 4% سجلت نموا واضحا دون وجود ظاهرة العج اما في التركيز 5% فلم يظهر اي نمو للبكتريا وهذا دليل واضح

على تأقلمها بيئيا وفسلجيا وتحملها لهذه التراكيز من الملوحة بالرغم من انها غير قادرة على تحملها وهذا يتفق مع ما توصل اليه (Lioret *et al* .1998) حيث اشار الى انه الحصول على عزلات بكتيرية تستطيع البقاء في التراكيز الملحية العالية وان كانت هذه البكتريا من الناحية التصنيفية لا تتبع البكتريا الاليفة للملوحة او المتحملة للملوحة يعد امرا مهما اذ ربما تكون هذه البكتريا قد تكيفت بيئيا و فسلجيا لوجود الملوحة في البيئة التي تعيش فيها واصبحت متحملة للملوحة.

اما بكتريا *Vibrio alginolyticus* لوحظ ومن خلال النتائج الموضحة في جدول (1) انها استطاعت النمو في التركيزين (2.5% , 5%) لملح كلوريد الصوديوم ولم تسطع النمو في التركيزين (7.5% , 10%) وهذه النتائج بدت متوافقة مع النتائج التي توصل اليها (العزاوي وآخرون , 2009) حيث اشاروا الى ان بكتريا *Vibrio alginolyticus* لها القدرة على النمو في التراكيز 3% و 5% من ملح كلوريد الصوديوم في الوسط الزرعي الا انها لا تستطيع النمو في التركيز 8% , كما يمكنها النمو في اوساط خالية من الملح , بالإضافة الى ذلك ان تواجد بكتريا *Vibrio alginolyticus* في كثير من البيئات وخاصة البيئة المائية الاستوائية والمعتدلة دليل على تأقلمها وتكيفها لها حيث ان هذه البكتريا لها القدرة على التأقلم والنمو في درجات الحرارة الواطئة وتحمل الملوحة العالية وهذا يتفق مع ما اشار اليه (Binsztein *et.al* .2004) مبينا ان هذه البكتريا تتعايش مع الفلورا المائية في حالة فسيولوجية قسرية وهذه البيئة تختلف عن امعاء الانسان التي تتوفر فيها المواد الغذائية والظروف البيئية المناسبة . ان بكتريا *Vibrio alginolyticus* ومن خلال تواجدها بنسبة عالية في مياه البحيرة في جميع المحطات والمواقع دليل على تحملها للظروف البيئية التي تتميز بها البحيرة والتي تعتبر قاسية نوعا ما على معظم الانواع البكتيرية وهذا يتفق مع ما جاء به (المصلح , 1988) موضحا ان جنس الضمات بصورة عامة يتجمع في المياه على هيئة تكتلات (Clumping) لتحمي نفسها من الظروف القاسية المحيطة بها اما تجمعها في مياه الاسالة لحماية نفسها من تأثير الكلور .

اما بالنسبة لبكتريا *Escherichia coli* لوحظ من خلال نتائج هذه الدراسة تقارب نسب تواجدها وظهورها في كل المحطات والمواقع في مياه البحيرة ومقاومتها للتراكيز الملحية (2.5% , 5%) والسبب في ذلك يعزى الى تكيف بكتريا *Escherichia coli* لمختلف البيئات كونها تمتلك ما تحتاج اليه من انزيمات ضرورية لمساعدتها على التكيف والتعايش في بيئتها وهذه النتائج تتفق ما توصل اليه (حتيت , 2009) من نتائج في دراسته حول تشخيص وتوزيع بكتريا القولون وبعض انواع البكتريا الممرضة مع مستوى تلوث المياه البرازي في نهري دجلة وديالى جنوب بغداد .

تبين من كل ما تقدم ان زيادة تركيز الصوديوم يؤدي الى تثبيط الفعالية التكاثرية للبكتريا حيث يؤثر على ايض الاحماض الامينية لذا يمكن تفسير هذه النتائج بأن كلوريد الصوديوم يؤثر مباشرة على المادة الاساس لتكاثر DNA النواة والانزيمات المسؤولة عن هذه العملية والعمليات التي تليها او تحوير هذه المواد مما يؤدي الى تأثر عملية تكاثر البكتريا , اما بالنسبة للمجاميع البكتيرية المتحملة لتراكيز الملوحة العالية قد يكون لاحتوائها نظام مقاومة الملوحة العالية وهذا يتفق مع ما جاء به (Zheng *et al* .2006) من نتائج حيث اشار الى قدرة بعض العزلات البكتيرية للنمو والتكاثر بتراكيز عالية من العناصر وذلك لامتلاكها انظمة ارتدادية تؤدي الى الاتزان داخل الخلية البكتيرية تحت الظروف المتطرفة .

جدول (2) يوضح النسبة المئوية للأنواع والاجناس البكتيرية الاكثر تواجدا في مياه البحيرة خلال فترة الدراسة

النوع او الجنس البكتيري	عدد العينات	عدد العزلات البكتيرية	النسبة المئوية %
Staphyllococcus aureus	24	22	91.67
Proteus mirabilis	24	23	95.83
Escherichia coli	24	22	91.67
Vibrio alginolyticus	24	24	100.00

جدول(3) يوضح الفحوصات الكيموحيوية للبكتريا السالبة لصبغة كرام .

الجنس او النوع البكتيري	الفحوصات الكيموحيوية													
	Indole	Methyl red	Vogas proskaur	Simmon citrate	Urease	Nitrate reduction	Catalase	Gelatinase	Oxidase	Motility	T.S.I			
											Slant	Button	H2S	Gas
Vibrio alginolyticus	+	+	–	–	–	+	\	+	+	+	A	A	–	–
Proteus mirabilis	–	+	–	+	+	+	+	+	–	+	K	A	+	+
Escherichia coli	+	+	–	–	–	+	+	–	–	+	A	A	–	+

(+) : تفاعل موجب للاختبار . (A) : البكتريا مخمرة للكلوكوز وانتجت حامض Acid.

(–) : تفاعل سالب للاختبار . (K) : البكتريا غير مخمرة لسكر اللاكتوز اي الفاعل قاعدي Alkaline

(\ ) : عدم اجراء الاختبار . (*) : تفاعل ضعيف للاختبار .

Isolation and Identification of bacterial genera and species that most sovereign in sawa lake water and determine their ability to withstand salinity in several levels of NaCl

Maitham. A. Makei
Al-Muhanna University
Agriculture college

Turki. M. Saad
Al-Muhanna University
Science college

Abstract

Considering the importance of Sawa lake and the scarcity of studies on it, and for purpose of providing information concerning the microbial activity. This study was conducted in order to investigate the bacterial genus and species which are likely presence in the water of the lake. We have been conducting this study from July 2012 to end of the month April 2013 i.e. , that the study was quarterly , where it was the process of isolation and identification of species and bacterial genera from water on the basis of seasons any from summer 2012 to the end of spring 2013 . the importance of economical and touris importance enjoyed by Sawa lake being considered an hydraulically important point and tourist landmark frequented by many tourists for the purpose of treatment the other hand so were selected species and bacterial genera most presence and sovereignty in water of the lake , where the percentage witnessed bacteria 100% ***Vibrio alginolyticus*** in water lake during the study period in each quarterly stations and sites that are under study , while the proportion of bacteria ***Proteus mirabilis*** 95.83 % , while the proportion of each from ***Staphyllococcus aureus*** bacteria and ***Escherichia coli*** 91.67 % .

المصادر :

1. **العزاوي, رغد حربي ; علي, احمد نافع ومحمد, احمد جاسم . (2009) .** عزل وتشخيص بكتريا ضمات الكوليرا من بعض مبازل الجزء الشمالي للمصب العام ومقاومتها لبعض المضادات الحياتية . مجلة جامعة النهرين , المجلد (12) , العدد (3) : 26-33.
2. **العلي, عمر موفق أنور . (2007) .** تأثير المستخلصات المائية والكحولية لثمرة التين وقشرة الرمان على بعض الأحياء المجهرية المعزولة من الجروح والحروق . رسالة ماجستير , كلية العلوم , الجامعة المستنصرية .
3. **المصلح ، رشيد محجوب . (1988) .** علم الأحياء المجهرية للمياه . دار الكتب للطباعة والنشر . جامعة بغداد . ص69,16 .
4. **حتيت , واثق عباس . (2009) .** تشخيص وتوزيع بكتريا القولون وبعض انواع البكتريا الممرضة مع مستوى تلوث المياه البرازي في نهري دجلة وديالى جنوب بغداد . مجلة جامعة النهرين , المجلد (12) , العدد (4) : 42-50 .
5. **علي , زهرة محسن . (2001).** تأثير مزيجات المضادات الحياتية على جراثيم الزوائف الزنجارية و المكورات العنقودية . رسالة ماجستير , كلية العلوم , جامعة الكوفة , العراق .
6. **كاظم , بشرى علي . (2005) .** عزل و دراسة مرضية لجرثومة *Proteus mirabilis* . رسالة ماجستير , كلية العلوم , جامعة الموصل .

7.Atlas, R.M. (2010). Handbook of Microbiological Media, (4th ed.) . CRC Press, Taylor & Francis group, Washington, D.C.

8.Baron, E.J.; Petersond, L.R. and Finegold, S.M.(1994). Baily and Scott's diagnostics microbiology . (9th ed.) Mosby company , USA,st. Louis Baltimore.: 429-430.

9.Binsztein , N .; Costagliola , U .; Ramirez , F . C .; Akselman , R .; Vacchino , M . and Huq , A . (2004) . *Vibrio spp* . 01 in the aquatic Environment of Argentina , Appl . Enviro . Microbiol . Vol . (70) , No. (12) : 7481-7486 .

10.Brooks, G.F. ; Butel, J.S. ; Carroll, K.C. ; and Mors, S.A.(2007) . Jawtes. Melnick and Adelberg's medical Microbiology . 24th ed . Lange medical books . Mc Graw – Hill companies U.S.A .

11.Collee, J.G. ; Fraser, A.G.; Marmion, B.P. and Simmons, A.(1996) . Mackie and McCartney practical medical microbiology . 14th ed . Chrchil. Livingston.USA.

12.Forbes, B.A.; Sahm, D. F.; and A.S.Weissfeld.(2002). Diagnostic Microbiology. 10th ed. Mosby. USA.

13.Holt, J.G.; Krieg,N.R.; Sneath, P.H.A.; Staley ,J.T. and Williams , S.T.(1994). .Bergy's Manual of Determinative Bacteriology. 9th ed. Williams. &Wilkins ,Baltimore,U.S.A.

14.Koneman, E. W. ; Allen , S. D. ; Janada , W. M. ; Schreckenberger , P. C. and Winn , W. C. (1997). Color atlas and text book of Diagnostic Microbiology . 5^{th} . ed ., Lippincott-Raben publishers , Philadelphia , U.S.A.

15. Lioret , J .; Bolanos , L .; Lucas , M .; Pear , J .; Brewin , I .; Bonilla , I . and Rivilla , R . (1995) . Ionic stress and osmotic pressure induced different alteration in the lipopolysaccharide of Rhizobium meliloti strain . Appl . . Enviro. Microbiol . (61) : 3701-3704 .

16.Lioret , J .; Wulff , B .; Rubio , B . H .; Down , J . A .; Bonilla , I . and Rivilla, R . (1998) . Exopolysaccharin : II . production is regulated by salt in the halotolrant strain *Rhizobium meliloti* . Appl . Enviro. Microbiol . (64) : 1024-1028 .

17.Macfaddin, J.F.(2000). Biochemical tests for Identification of Medical bacteria. Third edition. Williams and willkins company. U.S.A.

18.Naqash , A. B. ; Banat , K. and AL- Shami , F. (1977). Geological ,hydrochemical and sediment petrographical study of sawa lake. Bull. Coll. Sci. 18 (1) : 199- 220 .

19.WHO,(2011). Guidelines for drinking-water quality – 4th ed. WHO: Geneva, Switzerland, P: 327

20.Zheng , Z .; Fang , W .; Lee , H . Y . and Yang , Z . (2006) .Responses of *Azorhizobium cauliodans* to cadmium stress . FEMS Microbiology Ecology , Vol. (54), No. (3) : 455-461 .