

دراسات فسيولوجية و كيموحيوية على الأكتينوميستات المقاومة للمعادن الثقيلة والمعزولة من المدينة الصناعية الثانية بالرياض في المملكة العربية السعودية

سهام عبدالمحسن القضيب و ندى إبراهيم الصقيران

قسم الأحياء، كلية العلوم، جامعة الأميرة نوره بنت عبدالرحمن
الرياض، المملكة العربية السعودية

الملخص:

أثبتت نتائج البحث أن أكثر الأكتينوميستات المعزولة من تربة المدينة الصناعية الثانية بالرياض في المملكة العربية السعودية قادرة على تحمل معادن الرصاص والنحاس و الزئبق عند تركيز (1 مليمول/25 مل بيئة) هما *Streptomyces pactum* و (8) *S. griseoflavus*، يليهما *S. albus* و (9) *S. griseoflavus*. كما بينت النتائج أن وجود كل من معدني الرصاص و الزئبق في بيئة نمو تلك الأكتينوميستات تسبب في تثبيط نموها، بينما كان لمعدن النحاس تأثير محفز لنموها عند هذا التركيز. كما أظهرت النتائج أن وجود المعادن الثقيلة في بيئة مزرعة *S. griseoflavus* و *S. pactum* أدى إلى نقص في قطر المستعمرات، كذلك تأثر الوزن الجاف ل *S. griseoflavus* عند إضافة المعادن الثقيلة للبيئة، حيث كان لمعدن الرصاص تأثير مثبط و زاد التأثير المثبط بزيادة التركيز، بينما كان لمعدن الزئبق تأثير محفز في التركيزات المنخفضة وقل ذلك التأثير عند زيادة تركيز معدن الزئبق المضاف للبيئة عن 3 مليمول/100 مل بيئة، أما بالنسبة لمعدن النحاس فله تأثير محفز عند التركيزات المنخفضة. بينما يحدث تثبيط للوزن الجاف ل *S. pactum* عند إضافة المعادن الثقيلة للبيئة، وقل التأثير بزيادة تركيز المعادن الثقيلة في البيئة. أظهر *S. griseoflavus* نقص في معدل تكوين الكربوهيدرات عند إضافة كل من معدني الرصاص والنحاس للبيئة، ولكن عند إضافة الزئبق للبيئة لم يكن له تأثير ملموس على معدل تكوين الكربوهيدرات. بينما تأثر معدل تكوين كل من البروتينات والدهون عند إضافة أي معدن من المعادن السابقة. أما فيما يخص *S. pactum* فقد لوحظ نقص في معدل تكوين الكربوهيدرات في وجود معدن الرصاص، بينما يعمل كل من معدني الزئبق والنحاس على زيادة نسبة تكوين

الكربوهيدرات. كما ازداد معدل تكوين الدهون في وجود المعادن الثقيلة. أيضاً ازداد معدل تكوين البروتينات في وجود معدن الرصاص، ولكن قل في وجود معدني الزئبق والنحاس.

الكلمات المفتاحية: معادن ثقيلة، الأكتينوميستات، دراسات فسيولوجية و كيموحيوية.

المقدمة:

المعادن الثقيلة Heavy Metal هي المعادن التي تفوق كثافتها 5 جم / سم³ (Silver, 1991). وبالرغم من أن المعادن الثقيلة في العادة سامة، إلا أن العديد منها ليست سامة عند مستويات منخفضة. وحقيقة تُعتبر العديد منها هامة للحياة، لكن عندما تتجاوز المستوى المحدد يمكن أن تظهر تأثيراتها السامة. هذه التأثيرات نتيجة لأن العديد من المعادن تتفاعل أو تتدخل بعمليات أيضية متعددة. و تميل هذه المعادن إلى التراكم في بعض الأنسجة، حيث إن التعرض البشري لها يسبب مشاكل صحية كبيرة. كأمراض القلب وتضرر الكبد والسرطان، ومشكلات عصبية أخرى كتلف في الجهاز العصبي المركزي. أما في النباتات فتسبب تقصيراً لجذورها وضعفاً لأوراقها ونقصاً غذائياً وضعفاً متزايداً لهجمات الحشرات (Roane *et al.*, 1994).

وهناك تأثيرات على البشر والبيئة مرتبطة في الغالب ببعض المعادن الثقيلة كالرصاص Pb و الزئبق Hg والنحاس Cu و الكاديوم Cd والكروم Cr، وأن هذه المعادن ليس لها أي وظيفة مفيدة معروفة في المخلوقات الحية. كما أُعتبرت كل من معادن الرصاص والنحاس والزئبق من المعادن الثقيلة الملوثة للمناطق الموجودة بها. حيث يرجع تراكم الرصاص في التربة إلى ذوبانه المنخفض ولعدم مقدرة المخلوقات الحية الدقيقة على هضمه. مما يؤدي إلى تراكمه مستقبلاً في السلسلة الغذائية (Alloway, 1990)، وتؤدي إضافة النحاس للتربة إلى نقص كمية الكتلة الحيوية بدرجة ملموسة وكذلك كان لها تأثير سلبي على حجم الكتلة الحيوية مقارنة بالمعادن الأخرى. مثل الرصاص والزرنيخ Ar (Aoyama and Nagume, 1997).

وقد تم إجراء العديد من الأبحاث لدراسة أثر المعادن الثقيلة على نمو الكائنات

الدقيقة ومن بين تلك الأبحاث ما قام به كل من:

Hashem 1994; Hashem, 1995; Abd - El Naby,1997; Hashem, 1997; Pratima *et al.*, 2001; Ibrahim *et al.*, 2001; Jae, 2001; Mejare & Bulow, 2001 Visoottiviseth & Panviroy, 2001; Fomina & Gadd, 2002; Tsekova &Todorova, 2002; Fathi & Zaki, 2003; Sani *et al.*, 2003; Yilmaz, 2003 and Anand *et al.*, 2006.

كما درست قشقري والسميري (2006) التأثير الضار والسام للتركيزات المختلفة

(5 و 10 و 15 و 20 و 25 ملليمول/لتر) من الكادميوم والرصاص على دالة النمو والأيض

(الوزن الجاف وامتصاص الجلوكوز والببتيدات والأحماض الأمينية والبروتين) في 4

أنواع من الفطريات المعزولة من هواء مدينة جدة بالمملكة العربية السعودية وهي:

Aspergillus ustus, *Trichoderma harzianum*, *Ulocladium utrum* and *Penicillium duchuxii*. وقد أظهرت الدراسة تناقص الوزن الجاف وامتصاص

الجلوكوز وإفراز الببتيدات والأحماض الأمينية، ولكن لوحظ زيادة البروتين الكلي

للفطريات المختبرة عند زيادة تركيز الكادميوم أو الرصاص من

(5 - 25 ملليمول / لتر) إلى البيئة الغذائية للفطريات المختبرة. وكان أعلى معدل تثبيط

عند (25 ملليمول / لتر) حيث انخفض النمو إلى (2.10 و 4.21٪) في فطر *P. ducahuxii*

عند إضافة الكادميوم والرصاص على التوالي يليه بقية الفطريات المختبرة، كما

أظهرت النتائج أن فطر *T. harzianum* أقل حساسية عن غيره من الفطريات المختبرة،

وقد استطاعت في التركيزات المنخفضة من الكادميوم والرصاص مقاومة الأثر السام

لهما.

حدد Richards *et al.* (2002) حساسية 12 سلالة من *Frankia sp.* للمعادن الثقيلة

عن طريق تثبيط النمو. كما حدد تأثير أيونات معدني الرصاص Pb^{2+} والنحاس Cu^{2+}

على نمو السلالات، حيث سجل أن معظم السلالات ضعيفة الحساسية لأيونات

الرصاص عندما يكون التركيز (6- 8 مليمولار)، بينما سجل البعض الآخر من

السلالات حساسية لتركيز (0.1 مليمولار) من أيونات النحاس، كما سجل مقاومة 4

سلالات للتركيز العالي من أيونات النحاس يساوي 2- 5 مليمولار، وكذلك التركيز الأعلى منه مثل 20 مليمولار.

قام (Albarracin *et al.* (2005) بعزل 50 عزلة من الأكتينوميستات من المناطق الملوثة وغير الملوثة. وأظهرت التقديرات الأولية لنتائج التحاليل أن 100٪ من العزلات المأخوذة من المناطق الملوثة تقاوم 80 ملجم/لتر من كبريتات النحاس $CuSO_4$. بينما 100٪ من العزلات المأخوذة من المناطق غير الملوثة تقاوم 16 ملجم/لتر و 87.4٪ تقاوم التركيز 40 ملجم/لتر و فقط 19.4٪ يمكنها النمو عند تركيز 80 ملجم/لتر من كبريتات النحاس. كما أظهرت التقديرات الكمية المشابهة بأن العزلات المأخوذة من رواسب المواقع الملوثة تقاوم تركيز يفوق 1000 ملجم/لتر ما عدا سلالة AB_2C . من ناحية أخرى كانت العزلات المأخوذة من مناطق غير ملوثة حساسة لتركيز أيونات النحاس 200 و 400 ملجم/لتر، على التوالي. وحدث تثبيط للنمو الميكروبي للسلالة ABO في وجود 39 ملجم/لتر من أيونات النحاس بمقدار 32٪ بعد مرور 6 أيام من التحضين، وذلك عند مقارنته بالضابط. نقص تركيز أيونات النحاس في الراشح المتبقي بمقدار 71.2٪ بعد 7 أيام من التحضين، كما أظهر الهضم بواسطة الحمض تراكم للنحاس بواسطة الخلايا.

وضَّح (Schmidt *et al.* (2008) مقاومة 7 سلالات من الأكتينوميستات لمعدن النيكل Ni واستطاعت سلالتين من *Streptomyces mirabilis* النمو في تركيزات عالية من النيكل تفوق 100 مليمول / لتر من معدن الزنك Zn.

ومما سبق يتضح أن الدراسات الفسيولوجية والكيموحيوية على الأكتينوميستات المقاومة للمعادن الثقيلة على مستوى العالم قليلة جداً. أما على مستوى المملكة العربية السعودية فتعتبر هذه من أول الدراسات الفسيولوجية والكيموحيوية على الأكتينوميستات المقاومة لتلك المعادن. لذا يهدف هذا البحث إلى إجراء مثل هذه الدراسات وذلك لتقديم إضافة ولو بسيطة في هذا المجال.

المواد والطرق:

الكائنات:

أجريت الدراسة على كل من *Streptomyces pactum* *S. albus*, *S. omiyaensis*, *S. cellulosa*, *S. lydicus* (4 & 5) *S. sulphureus*, *S. griseoviridis* and *S. griseoflavus* (8 & 9), وهي عبارة عن عزلات محلية سبق عزلهم من تربة تم جمعها من المدينة الصناعية بالرياض في المملكة العربية السعودية (Alkadeeb et al., 2009).

الوسط الغذائي:

تم استخدام بيئة الألبيومين (Shirling and Gottlieb, 1966) Albumin medium في إجراء الدراسة وتتركب من: 0,25 جم من البومين البيض، 1 جم من الجلوكوز، 0,5 جم فوسفات البوتاسيوم الهيدروجنية و 0,2 جم كبريتات المغنسيوم المائية، و 1 جم كبريتات الحديدك، و 18 جم آجار، 1000 مل ماء مقطر، و يتم إضافة 18 جم آجار عند تحضير البيئات الصلبة.

ضبط الرقم الهيدروجيني عند 6,8 - 7 و تم التحضين عند درجات حرارة و 28م لمدة 7 أيام.

حفظ مزارع الأكتينوميستات:

حُفظت مزارع الأكتينوميستات النقية على بيئة الألبيومين الصلبة، عند درجة حرارة 6 م. حيث لُفحت أنابيب تحتوي على 10 مل من البيئة الصلبة المائلة بالعزلات النقية وحُضنت عند درجة حرارة 28م لمدة 7 أيام، تحددت بعد نموها كل 3 أشهر.

تحضير المحاليل المعدنية:

حُضرت محاليل نترات الرصاص $Pb(NO_3)_2$ ومحاليل كلوريد الزئبق $HgCl_2$ ومحاليل كبريتات النحاس المائية $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ بتركيز (1 مليمول/25 مل بيئة) وذلك باستخدام ماء مقطر منزوع الأيونات. قُرب تركيز أيون الهيدروجين إلى الرقم 7، يُستخدم تخفيف جديد عند إجراء كل دراسة من الدراسات.

تقدير معادن الرصاص والزنك والنحاس:

قُدرت أيونات معادن الرصاص Pb^{2+} و الزنك Hg^{2+} والنحاس Cu^{2+} الموجودة في الأوساط السائلة و في الكائنات بعد عملية الإزالة وكذلك المعادن المضافة للأوساط الغذائية، بواسطة جهاز طيف الانبعاث الذريّ - بلازما مزدوجة الحث Inductively Coupled Plasma - Atomic Emission Spectrometer (ICP- AES).

البحث عن أكثر الأكتينوميستات قدرة على تحمل التركيزات العالية من المعادن الثقيلة الرصاص و الزنك والنحاس.

أُجريت هذه التجربة لقياس مقدرة الأكتينوميستات على تحمل التركيزات العالية من المعادن الثقيلة. أُضيف لقاح عبارة عن أقراص قطرها 8 مل قُطعت بواسطة ثاقب فليبي معقم من جميع مزارع الأكتينوميستات المنماة على بيئة الألبيومين الصلبة إلى أطباق بتري تحتوي على بيئة الألبيومين الصلبة والمضاف لها إحدى أيونات المعادن بتركيز (1 مليمول/25 مل بيئة)، تمّ عمل 3 مكررات لكل نوع أكتينوميستس ولكل معدن. أما ضابط هذه التجربة فهو عبارة عن لقاح مضاف للبيئة بدون إضافة أيونات المعادن. حُضنت الأطباق لمدة 7 أيام عند 28°م (Visoottviseth and Panviroy, 2001).

تأثير المعادن الثقيلة على الوزن الجاف:

لتقدير تأثير المعادن الثقيلة على الوزن الجاف للكائنات، أُضيف لقاح عبارة عن أقراص قطرها 8 مل قُطعت بواسطة ثاقب فليبي معقم من مزارع الأكتينوميستات المنماة على بيئة الألبيومين الصلبة إلى دوارق مخروطية سعتها 250 مل تحتوي على 25 مل من بيئة الألبيومين السائلة والمضاف لها إحدى أيونات معادن الرصاص Pb^{2+} أو الزنك Hg^{2+} أو النحاس Cu^{2+} بتركيز (1 و 3 و 5 و 7 و 9 مليمول/100 مل بيئة). عمّل 3 مكررات لكل معالجة، أما ضابط هذه التجربة فهو عبارة عن لقاح مضاف للبيئة بدون إضافة أيونات المعادن، حُضنت الدوارق عند درجة حرارة 28°م لمدة 7 أيام. رُشح النمو ثمّ غُسل بالماء المقطر وجُفف بالضغط عليه بين أوراق ترشيح، ثمّ وضع على ورقة

ترشيح معلومة الوزن وجُفّف في الفرن عند درجة حرارة 80 م° لمدة 24 ساعة، ووزن النمو بدقة.

تقدير الكربوهيدرات والدهون والبروتينات في مستخلص الخلايا:

1. إعداد مستخلص الخلايا:

رُشح النمو المأخوذ من مزرعة الألبومين السائلة المضاف لها إحدى أيونات معادن الرصاص Pb^{2+} أو الزئبق Hg^{2+} أو النحاس Cu^{2+} بتركيز (1 مليمول / 25 مل بيئة)، مع مراعاة وجود مجموعة للمقارنة خالية من أيونات المعادن. غُسل النمو بالماء المقطر، وجُفّف بالضغط عليه بين أوراق الترشيح، ثمّ وضع في هاون بارد مع مثل وزنه من الرمل الخشن البارد (سبق غسله بحامض الهيدروكلوريك 6 عياري ومعادلته بالماء المقطر وتجفيفه) وطُحن مع كمية مناسبة من الكحول الإيثيلي 70٪ حتى يتجانس تماماً. وضع الخليط المتجانس في جهاز الطرد المركزي بمعدل (5000 دورة/دقيقة) لمدة 10 دقائق، فصل الراشح وأُستخدم في التحاليل الكيموحيوية.

2. تقدير الكربوهيدرات:

قُدّر المحتوى الخلوي من الكربوهيدرات باستخدام طريقة الأنثرون (Umbriet et al., 1959) حيث وضع 2 مل من مستخلص الخلايا المخفف في أنبوبة اختبار نظيفة وجافة، ثمّ أُضيف إليها 4 مل من محلول الأنثرون المحضر حديثاً (حُضر بإذابة 2 جرام أنثرون في 1000 مل من حمض الكبريتيك المركز النقي). وضعت الأنابيب في حمام مائي عند درجة الغليان لمدة 3 دقائق، ثمّ تُركت لتبرد، بعد ذلك قُدّرت شدة امتصاص الضوء باستخدام جهاز قياس شدة الألوان (Coloring colorimeter 252) عند 620 نانوميتر. أُستخدم السكروز (محلول السكروز عبارة عن 0.01 جم سكروز مضاف إلى 100 مل ماء مقطر) لعمل المنحنى القياسي عند نفس الظروف، كما تمّ عمل مجموعة للمقارنة أُستبدل فيها المستخلص الخلوي و السكروز بالماء المقطر.

3. تقدير الدهون:

قُدِّرَ المحتوى الخلوي الكلي من الدهون في العينات باستخدام الكواشف الجاهزة من إنتاج شركة Teco diagnostics الأمريكية (Knight *et al.*, 1972). حيث وضع 0.01 مل من مستخلص الخلايا المخفف في أنبوبة اختبار نظيفة وجافة، أُضيف إليها بعد ذلك 1 مل من حمض الكبريتيك المركز. رُجَّت الأنايب جيداً، ثمَّ وضعت في حمام مائي عند درجة الغليان لمدة 20 دقيقة، ثمَّ تُرِكَت لتبرد في حمام مائي بارد من 3- 5 دقائق، بعد ذلك أُضيف لها 2 مل من الكاشف اللوني، وضع الخليط المتجانس في جهاز الطرد المركزي بمعدل 5000 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق، ثمَّ تُرِكَت لتبرد في حمام مائي بارد لمدة 15 دقيقة. قُدِّرَت شدة امتصاص الضوء باستخدام جهاز قياس شدة الألوان عند 530 نانوميتر، كما تمَّ عمل مجموعة للمقارنة أُستبدل فيها المستخلص الخلوي بالماء المقطر. ثمَّ قُدِّرَ المحتوى الكلي للدهون، حيث يساوي: الكثافة الضوئية للعينه/الكثافة الضوئية للقياسي × تركيز المحلول القياسي.

تقدير البروتينات:

قُدِّرَ المحتوى الخلوي من البروتين باستخدام ألبومين البقر بطريقة لوري (Lowry *et al.*, 1951).

التحليل الإحصائي:

بعد الانتهاء من جمع البيانات تمَّ تعريفها في جداول خاصة تمهيداً لإعدادها للتحليل الإحصائي. وحُلَّت النتائج إحصائياً باستخدام برنامج (SPSS) بواسطة الحاسب الآلي، وذلك بتطبيق تحليل التباين في اتجاه واحد (One- Way ANOVA) وفي اتجاهين (Two- Way ANOVA)، وأُختير لإظهار الفروق المعنوية مستوى الخطأ المعنوي عند $(\alpha = 0.05)$.

النتائج:

تقييم أكثر الأكتينوميستات قدرة على تحمل التركيزات العالية من المعادن الثقيلة الرصاص والزنك والنحاس: (أثر المعادن على قطر المستعمرة).

كما يتضح من النتائج في (الجدول 1) أن جميع العزلات التالية *S. albus*, *S. omiyaensis*, *S. cellulosa*, *S. pactum*, *S. lydicus* (4 &5), *S. sulphureus*, *S. griseoviridis* and *S. griseoflavus* (8 &9) ليست لديها المقدرة على تحمل التركيزات العالية من أيونات معدن الزئبق Hg^{2+} ، وذلك من خلال مقارنة متوسط قطر المستعمرة النامية على بيئة الألبيومين الصلبة الخالية من أيونات المعدن والتي سبق تلقيحها بقرص قطره 8 مل من الأكتينوميستات السابقة حيث بلغ (2.75 و 1.30 و 1.50 و 1.35 و 2.52 و 1.13 و 2.10 و 1.40 و 1.30 سم) للأكتينوميستات، على التوالي. ومتوسط قطر المستعمرة النامية على نفس البيئة المضاف لها (1 مليمول/25 مل بيئة) والتي سبق تلقيحها بقرص قطره 8 مل من الأكتينوميستات السابقة حيث بلغ (1.75 و 0.80 و 0.95 و 1.30 و 1.15 و 0.70 و 1.10 و 1.20 و 0.80 سم)، على التوالي. وعلى العكس من ذلك بالنسبة لـ *S. pactum* حيث بلغ متوسط قطر المستعمرة النامية في البيئة الخالية من أيونات المعدن 1.93 سم، بينما بلغ متوسط قطر المستعمرة النامية على نفس البيئة المضاف لها أيونات معدن الزئبق 2.10 سم.

كما توضح النتائج في (الجدول 1) أن *S. griseoviridis* ليس لديه المقدرة على تحمل التركيزات العالية من أيونات معدن النحاس Cu^{2+} ، ويتضح ذلك من خلال مقارنة متوسط قطر المستعمرة النامية على بيئة الألبيومين الصلبة الخالية من أيونات المعدن والتي سبق تلقيحها بقرص قطره 8 مل من الأكتينوميستات حيث بلغ 2.10 سم، ومتوسط قطر المستعمرة النامية على نفس البيئة المضاف لها أيونات المعدن بتركيز (1 مليمول /25 مل بيئة) والتي سبق تلقيحها بقرص قطره 8 مل من الأكتينوميستات حيث بلغ 1 سم. بينما يتضح من النتائج أن جميع الأكتينوميستات *S. albus*, *S. omiyaensis*, *S. cellulosa*, *S. lydicus* (4 &5), *S. sulphureus*, *S. griseoflavus* and *S. pactum* (8 &9) لديها المقدرة على تحمل التركيزات العالية من أيونات المعدن، حيث بلغ متوسط قطر المستعمرة النامية في البيئة الخالية من أيونات المعدن (2.75 و 1.30 و 1.50 و 1.35 و 2.52 و 1.13 و 1.40 و 1.30 و 1.93 سم) للأكتينوميستات، على التوالي. بينما بلغ متوسط قطر المستعمرات النامية على نفس البيئة المضاف لها

أيونات معدن النحاس (2.90 و 1.40 و 1.60 و 1.37 و 2.70 و 1.40 و 2 و 1.60 و 2.43 سم) للأكتينوميستات، على التوالي.

وبينت النتائج في (الجدول 1) أنَّ جميع الكائنات *S. albus*, *S. omiyaensis*, *S. cellulosa*, *S. lydicus* (4 & 5), *S. sulphureus*, *S. griseoviridis* and *S. griseoflavus* (9) ، ليست لديها المقدرة على تحمل التركيزات العالية من أيونات معدن الرصاص Pb^{2+} ، ويتضح ذلك من خلال مقارنة متوسط قطر المستعمرة النامية على بيئة الألبومين الصلبة الخالية من أيونات المعدن والتي سبق تلقيحها بقرص قطره 8 مل من الكائنات السابقة حيث بلغ (2.75 و 1.30 و 1.50 و 1.35 و 2.52 و 1.13 و 2.10 و 1.30 سم) للكائنات، على التوالي. ومتوسط قطر المستعمرة النامية على نفس البيئة المضاف لها أيونات المعدن بتركيز (1 مليمول / 25 مل بيئة) والتي سبق تلقيحها بقرص قطره 8 مل من الكائنات السابقة حيث بلغ (1 و 1.03 و 1.15 و 1.13 و 1.38 و 1.10 و 1.35 و 0.98 سم) للأكتينوميستات، على التوالي. بينما اتضح من النتائج أنَّ *S. griseoflavus* (8) and *S. pactum* يعتبران مقاومان للتركيزات العالية من أيونات المعدن نفسه، حيث زاد قطر المستعمرتين عند تنمية الأكتينوميستات على بيئة الألبومين الصلبة المضاف لها أيونات المعدن حيث بلغ قطر المستعمرتين (1.40 و 1.93 سم)، على التوالي في البيئة الخالية من أيونات المعدن، بينما بلغ قطر نفس المستعمرتين 1.50 و 2.10 سم، على التوالي وذلك عند تنميتها على البيئة المضاف لها أيونات المعدن. مما سبق يتضح أنَّ أكثر الأكتينوميستات مقدرة على تحمل التركيزات العالية من أيونات معادن الرصاص Pb^{2+} والزنك Hg^{2+} والنحاس Cu^{2+} هما *S. griseoflavus* (8) and *S. pactum*، يليهما *S. albus* and *S. griseoflavus*. كما نستنتج مما سبق أنَّ معدن الزنك يعتبر مثبط لنمو معظم الأكتينوميستات، يليه معدن الرصاص، أما بالنسبة لمعدن النحاس فكان محفز لنمو معظم الأكتينوميستات عند التركيز (1 مليمول / 25 مل بيئة).

تأثير المعادن الثقيلة الرصاص والزنك والنحاس على الوزن الجاف للأكتينوميستات:

يوضح (الشكل 1) تأثير التركيزات المختلفة من أيونات المعادن الثقيلة الرصاص والزنك والنحاس على الوزن الجاف لـ *S. griseoflavus*. حيث اتضح أنه في حالة عدم إضافة أيونات المعادن السابقة لبيئة الألبومين السائلة المنمى فيها الأكتينوميستيس نفسه يكون الوزن الجاف له 260 ملجم/100 مليلتر. و أنه عند إضافة تركيزات مختلفة من أيونات معدن الرصاص (1 و 3 و 5 و 7 و 9 مليمول/100 مل بيئة) لنفس البيئة المنمى فيها الأكتينوميستيس، أصبح الوزن الجاف له (180 و 160 و 120 و 100 و 100 ملجم/100 مليلتر)، على التوالي. كما اتضح أنه عند إضافة نفس التركيزات المختلفة من أيونات معدن الزنك للبيئة المنمى فيها نفس الأكتينوميستيس أصبح الوزن الجاف له (300 و 280 و 240 و 220 و 200 جرام/100 مليلتر)، على التوالي. واتضح أيضاً أنه عند إضافة نفس التركيزات المختلفة من أيونات معدن النحاس لنفس البيئة المنمى فيها نفس الأكتينوميستيس أصبح الوزن الجاف له (460 و 360 و 340 و 280 و 260 ملجم/100 مليلتر)، على التوالي.

ومما سبق نستنتج أن معدن الرصاص له تأثير مثبط بالنسبة لنمو *S. griseoflavus* عند إضافته إلى بيئة نموه، وإن هذا التأثير يزداد بزيادة التركيز حيث أنه كلما زاد تركيز المعدن قلّ الوزن الجاف للأكتينوميستيس (علاقة عكسية)، أما بالنسبة لمعدن الزنك فله تأثير محفز عند التركيزات المنخفضة ويقل هذا التأثير المحفز بزيادة التركيز حيث قلّ الوزن الجاف للأكتينوميستيس عند زيادة تركيز معدن الزنك المضاف للبيئة عن 3 مليمول/100 مل بيئة، وبالنسبة لمعدن النحاس فله تأثير محفز عند التركيزات المنخفضة ويقل هذا التأثير المحفز بزيادة تركيز المعدن المضاف للبيئة.

كما يوضح (الشكل 2) تأثير التركيزات المختلفة من أيونات المعادن الثقيلة الرصاص والزنك والنحاس على الوزن الجاف لـ *S. pactum* حيث اتضح أنه في حالة عدم إضافة أيونات المعادن السابقة لأكتينوميستيس نفسه المنمى في بيئة الألبومين

السائلة أصبح الوزن الجاف له (300 ملجم/100 مليلتر). واتضح أنه عند إضافة تركيزات مختلفة من أيونات معدن الرصاص (1 و 3 و 5 و 7 و 9 ملليمول/100 مل بيئة) للبيئة المنمى فيها نفس الأكتينوميستات أصبح الوزن الجاف له (180 و 220 و 240 و 280 ملجم/100 مليلتر)، على التوالي. كما اتضح أنه عند إضافة نفس التركيزات المختلفة من أيونات معدن الزئبق للبيئة المنمى فيها نفس الأكتينوميستات أصبح الوزن الجاف له (140 و 240 و 280 و 300 و 320 ملجم/100 مليلتر)، على التوالي. أيضاً اتضح أنه عند إضافة نفس التركيزات المختلفة من أيونات معدن النحاس للبيئة المنمى فيها نفس الأكتينوميستات أصبح الوزن الجاف له (40 و 180 و 200 و 200 و 220 ملجم/100 مليلتر)، على التوالي.

ومما سبق نستنتج أن المعادن الثقيلة الرصاص و الزئبق والنحاس لها تأثير مثبط بالنسبة لنمو *S. pactum* عند إضافتها إلى بيئة نموه، وإن هذا التأثير يقل بزيادة التركيز حيث أنه كلما زاد تركيز المعدن قل التأثير المثبط على الوزن الجاف للأكتينوميستات.

أُجريت للنتائج عملية تحليل إحصائي بواسطة تحليل التباين في اتجاهين، واتضح أن العلاقة بين تركيز هذه المعادن المضافة إلى البيئة المنمى بها *S. griseoflavus* و *S. pactum* والوزن الجاف علاقة معنوية عند مستوى دلالة (0.003).

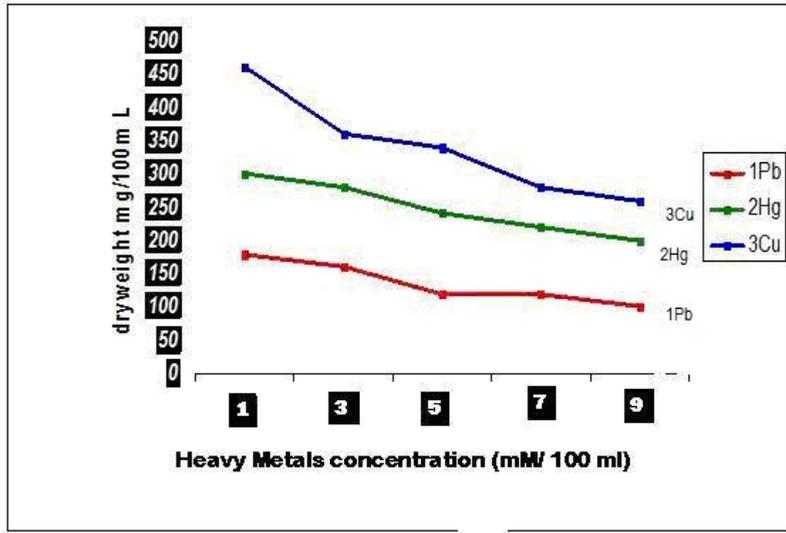
جدول (1)

تأثير المعادن الثقيلة على قطر مستعمرة الأكتينوميستات المنماة على بيئة الألبومين الصلبة والمضاف لها إحدى أيونات معادن الرصاص Pb^{2+} أو الزئبق Hg^{2+} أو النحاس Cu^{2+} بتركيز 1 ملليمول / 25 مل بيئة، والتي تمّ تحضينها عند 28 م° لمدة 7 أيام

متوسط قطر مستعمرة العزلات (سم) (\pm الانحراف المعياري)				الكائن
الضابط	النحاس	الزئبق	الرصاص	
0.30 ± 2.75	0.66 ± 2.90	0.10 ± 1.75	0.30 ± 1	<i>S. albus</i>
0.14 ± 1.30	0.15 ± 1.40	0.00 ± 0.80	0.01 ± 1.03	<i>S. omiyaensis</i>

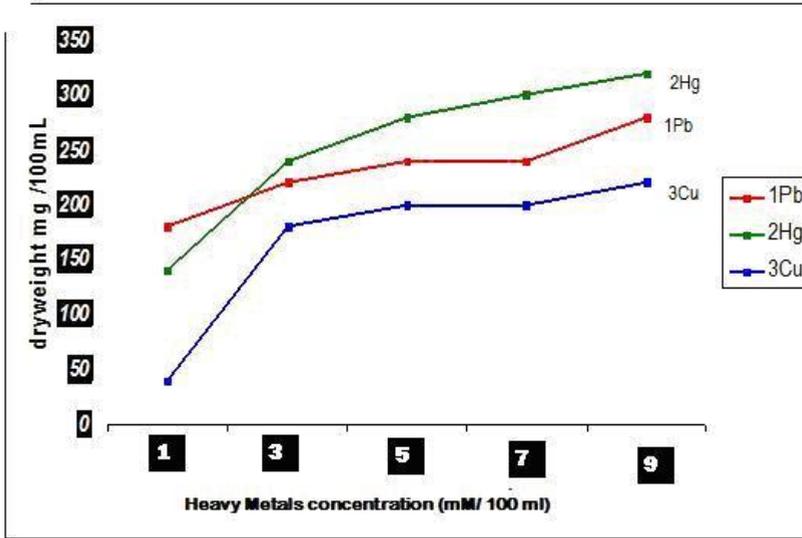
تابع جدول (1)

0.71 ± 1.50	0.34 ± 1.60	0.02 ± 0.95	0.10 ± 1.15	<i>S. cellulosa</i>
0.24 ± 1.35	0.11 ± 1.37	0.10 ± 1.30	0.10 ± 1.13	<i>S. lydicus</i> (4)
0.24 ± 2.52	0.44 ± 2.70	0.10 ± 1.15	0.20 ± 1.38	<i>S. lydicus</i> (5)
0.50 ± 1.13	0.24 ± 1.40	0.30 ± 0.70	0.10 ± 1.10	<i>S. sulphureus</i>
0.10 ± 2.10	0.71 ± 1	0.10 ± 1.10	0.21 ± 1.35	<i>S. griseoviridis</i>
0.30 ± 1.40	0.31 ± 2	0.10 ± 1.20	0.21 ± 1.50	<i>S. griseoflavus</i> (8)
0.24 ± 1.30	0.40 ± 1.60	0.00 ± 0.80	0.10 ± 0.98	<i>S. griseoflavus</i> (9)
0.15 ± 1.93	0.33 ± 2.43	0.10 ± 2.10	0.22 ± 2.10	<i>S. pactum</i>
Sig=<0.05= 0.000				



شكل (1)

المنحنى القياسي لتقدير الوزن الجاف ل *S. griseoflavus* في وجود التركيزات المختلفة من أيونات معادن الرصاص والزنك والنحاس.



شكل (2)

المنحنى القياسي لتقدير الوزن الجاف ل *S. pactum* في وجود التركيزات المختلفة من أيونات معادن الرصاص والزنك والنحاس

تأثير المعادن الثقيلة الرصاص و الزنك والنحاس على نسبة كل من الكربوهيدرات والدهون والبروتينات في مستخلص الخلايا:

يوضح (الجدول 2) نتائج المقارنة بين تأثير أيونات المعادن الثقيلة الرصاص والزنك والنحاس على نسبة كل من الكربوهيدرات والدهون والبروتينات في مستخلص الخلايا ل *S. pactum* و *S. griseoflavus* المنميان في بيئة الألبومين السائلة والمضاف لها إحدى أيونات هذه المعادن وكذلك المنماة في نفس البيئة ولكن خالية من هذه الأيونات والتي أستخدمت كمجموعة ضابطة.

اتضح أن متوسط نسبة المحتوى الكلي للكربوهيدرات ل *S. griseoflavus* في المجموعة الضابطة بلغ 0.586 ميكروجرام/100 مل، بينما انخفض متوسط نسبة الكربوهيدرات في وجود أيونات معدني الرصاص والنحاس إلى 0.445 و 0.495 ميكروجرام/100 مل، على التوالي. لكن لم يتأثر متوسط نسبة الكربوهيدرات في

وجود أيونات معدن الزئبق حيث بلغ 0.586 ميكروجرام/100 مل. أما بالنسبة لمتوسط المحتوى الكلي للدهون للأكتينوميستيس نفسه فقد بلغ في المجموعة الضابطة 0.046 ميكروجرام/100 مل، بينما زاد متوسط المحتوى الكلي للدهون في وجود أيونات المعادن السابقة إلى 0.051، 0.052 و 0.061 ميكروجرام/100 مل، على التوالي. في حين بلغ متوسط المحتوى الكلي للبروتينات للأكتينوميستيس نفسه في المجموعة الضابطة 0.258 ميكروجرام/100 مل، بينما زاد متوسط المحتوى الكلي للبروتينات في وجود أيونات المعادن السابقة إلى (0.397 و 0.296 و 0.311 ميكروجرام/100 مل)، على التوالي.

كما اتضح أن متوسط نسبة المحتوى الكلي للكربوهيدرات ل *S. pactum* في المجموعة الضابطة بلغ 0.410 ميكروجرام/100 مل، بينما انخفض متوسط المحتوى الكلي للكربوهيدرات في وجود أيونات معدن الرصاص إلى 0.290 ميكروجرام/100 مل، وزاد متوسط المحتوى الكلي للكربوهيدرات في وجود أيونات معدني الزئبق والنحاس إلى 0.459 و 0.526 ميكروجرام/100 مل، على التوالي. واتضح أن متوسط المحتوى الكلي للدهون للأكتينوميستيس نفسه في المجموعة الضابطة بلغ 0.052 ميكروجرام/100 مل، بينما زاد متوسط المحتوى الكلي للدهون في وجود أيونات المعادن السابقة إلى (0.059 و 0.063 و 0.062 ميكروجرام/100 مل)، على التوالي. كما اتضح أن متوسط المحتوى الكلي للبروتينات للأكتينوميستيس نفسه بلغ 0.393 ميكروجرام/100 مل، بينما زاد متوسط المحتوى الكلي للبروتينات في وجود أيونات معدن الرصاص إلى 0.448 ميكروجرام/100 مل، ولكنه انخفض في وجود أيونات معدني الزئبق والنحاس إلى (0.211 و 0.213 ميكروجرام/100 مل)، على التوالي.

جدول (2)

تأثير أيونات معادن الرصاص Pb^{2+} والزنك Hg^{2+} والنحاس Cu^{2+} على تركيز الكربوهيدرات والدهون والبروتينات في مستخلص الخلايا ل *S. griseoflavus* and *S. pactum* المنميين في بيئة الألبومين السائلة، والتي تمّ تحضينها عند 28م لمدة 7 أيام.

متوسط المحتوى الكلي للبروتينات				متوسط المحتوى الكلي للدهون				متوسط المحتوى الكلي للكربوهيدرات				الكائن
ميكروجرام/ 100 مل بيئة (± الانحراف المعياري)												
الضابط	النحاس	الزنك	الرصاص	الضابط	النحاس	الزنك	الرصاص	الضابط	النحاس	الزنك	الرصاص	
0.258 ± 0.006	0.311 ± 0.000	0.296 ± 0.006	0.397 ± 0.006	0.046 ± 0.002	0.061 ± 0.002	0.052 ± 0.003	0.051 ± 0.004	0.586 ± 0.02	0.445 ± 0.04	0.586 ± 0.02	0.495 ± 0.03	<i>S. griseoflavus</i>
0.393 ± 0.006	0.213 ± 0.006	0.211 ± 0.000	0.448 ± 0.01	0.052 ± 0.003	0.062 ± 0.007	0.063 ± 0.005	0.059 ± 0.002	0.410 ± 0.01	0.526 ± 0.01	0.459 ± 0.01	0.290 ± 0.01	<i>S. pactum</i>
Sig=<0.05=0.056				Sig=<0.05=0.069				Sig=<0.05=0.297				Sig

المناقشة:

هدف البحث الحالي إلى إجراء بعض الدراسات الفسيولوجية والكيموحيوية للتعرف على أثر كل من معادن الرصاص و الزنك والنحاس على الأكتينوميستات المقاومة لتلك المعادن والتي سبق عزلهم من تربة تم جمعها من المدينة الصناعية الثانية بمنطقة الرياض في المملكة العربية السعودية.

تم التوصل إلى أنّ أكثر الأكتينوميستات قدرة على تحمل التركيزات العالية من معادن الرصاص والزنك والنحاس هما (8) *S. griseoflavus* و *S. pactum* يليهما *S. albus* و (9) *S. griseoflavus* وأنّ لكل من أيونات معدني الرصاص والزنك تأثير مثبط لنمو معظم الأكتينوميستات، أما بالنسبة لأيونات معدن النحاس فكان لها تأثير

محفز للنمو عند التركيز (1 مليمول/25 مل بيئة) واتفق ذلك مع ما توصل له كل من Hashem (1995); Hashem (1997); Fathi & Zaki (2003) and Al- Kadeeb (2007) من أن التركيز المنخفض من أيونات الرصاص لا تؤثر على نمو الفطريات بينما التركيز العالي منها فهو يشبط النمو، وكذلك من أن التركيز المنخفض لأيونات النحاس يحفز النمو تقريباً بينما التركيز العالي يؤثر على النمو. وأيضاً اتفق ذلك مع ما توصل له Abd- El Naby (1997) من أن التركيز العالي من النحاس أدى إلى اختزال نمو فطر *Aspergillus niger* ، واختلف ذلك مع ما توصل له Hashem (1997) من أن التركيز العالي من النحاس يحفز النمو، كما أشار Albarracin et al. (2005) إلى أنه حدث تثبيط للنمو الميكروبي للسلسلة ABO في وجود (39 ملجرام/ لتر) من أيونات النحاس بمقدار (32%) بعد مرور 6 أيام من التحضين وذلك عند مقارنته بالضابط.

أما من ناحية تأثير أيونات معادن الرصاص والزنك والنحاس على الوزن الجاف للأكتينوميستات، وجد أن معدن الرصاص له تأثير مثبط بالنسبة لنمو *S. griseoflavus* عند إضافته إلى بيئة نموه، وإن هذا التأثير يزداد بزيادة التركيز حيث أنه كلما زاد تركيز المعدن قلَّ الوزن الجاف للأكتينوميستيس (علاقة عكسية)، أما بالنسبة لمعدن الزنك فله تأثير محفز عند التركيزات المنخفضة ويقل هذا التأثير المحفز بزيادة التركيز حيث قلَّ الوزن الجاف للأكتينوميستيس عند زيادة تركيز معدن الزنك المضاف للبيئة عن 3 مليمول/100 مل بيئة، وبالنسبة لمعدن النحاس فله تأثير محفز عند التركيزات المنخفضة ويقل هذا التأثير المحفز بزيادة تركيز المعدن المضاف للبيئة. بينما اتضح أن لأيونات هذه المعادن تأثير مثبط بالنسبة لنمو الأكتينوميستات *S. pactum* عند إضافتها إلى بيئة نموه، وإن هذا التأثير يقل بزيادة التركيز حيث أنه كلما زاد تركيز المعدن قلَّ التأثير المثبط على الوزن الجاف للأكتينوميستيس، بينما توصل Hashem (1989) إلى أن التركيز المنخفض من معدن النحاس يحفز نمو بعض الفطريات بينما التركيز المرتفع منه يؤدي إلى تناقص الوزن

الجاف للبعض الآخر من الفطريات، وحدد (2002) Richards *et al.* حساسية 12 سلالة من *Frankia sp.* ، للمعادن.

الثقيلة عن طريق التأثير على النمو وأظهرت السلالات حساسية ضعيفة لأيونات الرصاص بتركيز (6- 8 مليمولار) و 4 مقاومة للتركيزات العالية من أيونات النحاس، بينما بينت كلٌ من قشقري والسميري (2006) التأثير الضار والسام للتركيزات المختلفة (5 و 10 و 15 و 20 و 25 مليمولار / لتر) لمعدني الكاديوم والرصاص على الوزن الجاف لـ 4 أنواع من الفطريات وقد أظهرت الدراسة تناقص الوزن الجاف، كما بينت (2007) Al- Kadeeb أن التركيزات المختلفة من المعادن الثقيلة لها تأثير على نمو بعض الفطريات المختبرة إما بالتحفيز أو بالتثبيط.

أثر وجود المعادن الثقيلة على نسبة كلٌ من الكربوهيدرات والدهون والبروتينات في مستخلص الخلايا، بالنسبة للـ *S. griseoflavus* انخفض متوسط نسبة الكربوهيدرات في وجود أيونات معدني الرصاص والنحاس لكن لم يتأثر في وجود أيونات معدن الزئبق، أما بالنسبة للـ *S. pactum* فقد انخفض متوسط المحتوى الكلي للكربوهيدرات في وجود أيونات معدن الرصاص بينما زاد في وجود أيونات معدني الزئبق والنحاس. بينما زاد متوسط المحتوى الكلي للدهون في وجود أيونات المعادن السابقة لكلا الأكتينوميستين. وزاد متوسط المحتوى الكلي للبروتينات للكائن الأول في وجود أيونات نفس المعادن، بينما زاد متوسط المحتوى الكلي للبروتينات في الكائن الثاني في وجود أيونات معدن الرصاص، ولكنه انخفض في وجود أيونات معدني الزئبق والنحاس وذلك ما توصلت له قشقري والسميري (2006) عند دراسة التأثير الضار والسام للتركيزات المختلفة من الكاديوم والرصاص على 4 أنواع من الفطريات إلى زيادة البروتين الكلي للفطريات المختبرة وذلك مطابق لما حدث في الكائن *S. griseoflavus* في وجود أيونات جميع المعادن والكائن *S. pactum* في وجود أيونات معدن الرصاص فقط.

المراجع:

1. قشقرى، رقية محمد والسميري، حصة (2006): تأثير امتصاص المعادن الثقيلة (الكاديوم والرصاص) على بعض الفطريات المعزولة من هواء مدينة جدة بالمملكة العربية السعودية. مجلة جامعة طيبة للعلوم، العدد الأول (تحت الطباعة).
2. Abd - El Naby, M. S. (1997): Adaptation of *Aspergillus niger* NRR1 595 to tolerate some heavy metal ions: high citric production.
3. Egypt. J. Microbial., 32 (4): 493- 504.
4. Albarracin, V. H.; Amoroso, M. J. and Abate, C. M. (2005): Isolation and characterization of indigenous copper - resistant actinomycete.
5. strains. Chem. der Erde- Geochem., 65 (1): 145- 156.
6. Al-Kadeeb, Siham, A. (2007). Effect of lead and copper on the growth of heavy metal resistance fungi isolated from Second Industrial City in Riyadh, Saudi Arabia. Journal of Applied Science, 7 (7): 1019-1024.
7. Alloway, B. J. (1990): Heavy metals in soils. Blackie, Glasgow., 153-173.
8. Anand, P.; Isar, J.; Saran, S. and Saxena, R. K. (2006): Bioaccumulation of copper by *Trichoderma viride*. Bioresource Techno., 97 (8): 1018- 1025.
9. Aoyama, M. and Nagume, T. (1997): Comparison of the effect of Cu, Pb and As on plant residue decomposition, microbial biomass and soil respiration.
10. Soil Sci. plant Nutr., 43: 613- 622.
11. Fathi, A. and Zaki, F. (2003): Role of praline in amelioration heavy metals toxicity in *Scenedesmus bijuga*. El- Mimnia Sci. Bull., 14 (2): 155- 167.
12. Fomina, M. and Gadd, G. M. (2002): Influence of clay minerals on the morphology of fungal pellets. The British Myco. Soc. Myco. Res., 106: 107- 117.
13. Hashem, A. R. (1989): Effect of copper on the growth of *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum* and *Rhizopus stolonifera*. Trans. Myco. Sec. Japan., 30: 111- 119.
14. Hashem, A. R. (1994): Influence of arsenic on the growth of *Aspergillus clavatus* and *Emericella nidulans* isolated from Saudi Arabian soil. The African J. of Mycol. and Biotech., (1): 91- 97.
15. Hashem, A. R. (1995): Effect of heavy metal toxicity on mycelial growth of some fungi isolated from the industrial Yanbu City, Saudi Arabia. African J. Myco. and Biotech., 3 (2): 109- 113.
16. Hashem, A. R. (1997): Effect of heavy metals ions on the mycelial growth of some fungi isolated from the soil of Al- Jubail industrial City, Saudi Arabia. J. King Saud Univ., 9 (2): 119- 124.
17. Ibrahim, Z.; Ahmad, W. A. and Baba, B. (2001): Bioaccumulation of silver and the isolation of metal- binding protein from *P. diminuta*. Brazil. Arch. of. Biol. and Techno., 44 (3): 223- 225.

18. Jae, H. K. (2001): A lead- absorbing protein with superoxide dismutase activity from *Streptomyces subbrutilus*. FEMS Microbial Let., 194 (1): 93- 98.
19. Knight, J.; Anderson, S. and Rawle, J. (1972): Chemical basis of the sulfo- phospho- vanillin reaction for estimating total serum lipids. Clin Chem., 18 (3): 199- 202.
21. Lowry, O. H.; Rosebrough, N. J.; Furr, A. L. and Randell, R. J. (1951): Protein measurement with folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193: 265- 275.
22. Mejare, M. and Bulow, L. (2001): Metal -binding proteins and peptides in bioremediation and phytoremediation of heavy metals. Tre. in Biotech., 19 (2): 67- 73.
23. Pratima.; Angadi, S. B and Matahad, R. D. (2001): Growth responses of microalgae to multiple metal ions stress Inter. J. of Ecol. and Environ. Sic., 27: 97- 103.
24. Richards, J. W.; Krumholz, G. D.; Chval, M. S. and Tisa, L. S. (2002): Heavy metal resistance patterns of Frankia straina. App. Environ. Microbial. 68 (2): 923- 927.
25. Roane.; Perpper, T. M. and Miller. (1994): Microbial remediation of metals. In Craford, L. Ronolad & Cawfors, L. Dan. (Ed). Bioremediation Principles and Applications 1960. Great Britain Cambridge Univ. Press., pp., 312- 340.
26. Sani, K.; Peyton, M. and Jandhyala, M. (2003): Toxicity of lead in aqueous medium to *Desulfovibrio desulfuricans* G 20. J. Environ. Toxico. and Chem., 22 (2): 252- 260.
27. Schmidt, A.; Haferburg, G.; Sineriz, M.; Merten, D.; Buchel, G. and Kothe, E. (2008): Heavy metal resistance to the extern *Streptomyces* strain from a former uranium mining area. Chem der Erde- Geochem. In press.
28. Silver, S. (1991): Bacterial heavy metals resistance systems possibility of bioremediation. In: Biotechnology Bridging Res. and Appl., 265- 287. Kluwer, Academic Publishers, London.
29. Shirling, E. B. and Gottlieb, D. (1966): Methods for characterization of Streptomyces species. Inter. J. Syst. Bacteriol., 16., pp., 313.
30. Tsekova, K. and Todorova, D. (2002): Copper (II) accumulation and superoxide dismutase activity during growth of *Aspergillus niger* B- 77. Z. Nature., 57 (3- 4): 319- 322.
31. Umbriet, W. W.; Burris, R. H.; Stauffer, J. F.; Cohen, P. P.; Johnse, W. J.; Leepxgi, G. A.; Patter, V. R. and Schneider, W. C. I. (1959): Monometric techniques, a manual describing methods applicable to the study of tissue metabolism. pp., 239. Burgess Publishing company.
32. Visoottiveth, P. and Panviroy, N. (2001): Selection of Fungi Capable of Removing Toxic Arsenic Compounds from liquid Medium. Sci. Asia., 27: 83- 92.
33. Yilmaz, E. I. (2003): Metal tolerance and biosorption capacity of *Bacillus circulans* strain EB1. Res. in Microbial., 154 (6): 409- 415.

Physiological and Biochemical Studied on Lead, Copper and Mercury Resistance Actinomycetes

Al-Kadeeb, Siham, A . and Al-Sugiran, Nada, I.

Botany Department, Science College, Princes Nora Bint Abdul Rahman University, Riyadh, Saudi Arabia

Abstract:

It was observed that the highest heavy metals tolerance actinomycetes which isolated from soil samples collected from Second Industrial City, Riyadh Saudi Arabia, tolerate lead, mercury and copper at (1 mM/25 ml) were *S. griseoflavus* and *S. pactum* followed by *S. albus* and *S. griseoflavus*. Each of mercury and lead caused inhibition of the growth of the most isolates, while copper was a catalyst at that concentration. Results indicated that the presence of heavy metals in the culture media of *S. griseoflavus* and *S. pactum* decreased diameter of microbial colonies. The dry weight of *S. griseoflavus* was markedly affected by heavy metals containing media, where it was to lead inhibited the growth by increasing its concentrations in culture media, while mercury stimulate growth at low concentrations and the stimulation effect decreased when increasing concentration of mercury metal added to the media than 3 mmol/100 ml. For copper, it catalyst *S. griseoflavus* dry weight at low concentrations. While *S. pactum* dry weight inhibited by heavy metals containing media, and the effect of inhibition decrease with increasing heavy metals in the media.

Studying the effect of heavy metals on the rates of carbohydrates, lipids and proteins in the cell extract of *S. griseoflavus* showed decrease in the rate of carbohydrate, when lead or copper presence in the media, but mercury has not been affected carbohydrate rates when its presence in the media, while the rates of protein and lipids were affected by all studied metals. As for *S. pactum* the rates of total carbohydrate in cell extract decreased in the presence of lead in the media, while copper and mercury presence increased it. Also the rates of total lipids increased in the presence of heavy metals. While the rates of total proteins increased in the presence of lead, but it decrease in the presence of copper and mercury in the media.