عزل وتشخيص فطر *Aspergillus niger* المتحمل للتراكيز العالية من العناصر المعدنية الثقيلة

د. الهام اسماعيل الشمري **احمد صباح محمد**

الملخص:

تم الحصول على80عزلة فطريه من الغربلة النوعية للعزلات المستحصل عليها ، اخضعت جميعها للغربلة الكمية للحصول على عزلة فطريه واحدة، تميزت بسرعة نموها على الوسط الغذائي Potato Dextrose Agar الحاوي على العناصر المعدنية Cu,Cr,Pb,Cd,Zn,Ni,Fe وبتركيز 400 ملغم/ لتر كلاً على انفراد ،و شخصت العزلة بالاعتماد على الخواص المزرعية والمورفولوجيه باستعمال المجهر الضوئي والمجهر الالكتروني الماسح Scanning Electron Microscope ،وثبت على انها عائدة للنوع *Aspergillus niger* ، وقد اظهرت العزلة قدرة عالية للنمو في درجات الحرارة العالية والتي شملت 50و55و60 م على التوالي ، كما وقد بلغ التركيز الاعلى المتحمل للعزلة A.niger 800، 600، 1000، 1200، 1400، 1600، 1800، 2000، 2200، 2400، 2600، 2800 3000 ملغم/ لتر للعناصر المعدنية Cu,Cr,Pb,Cd,Zn,Ni,Fe على التوالي .

المقدمة

ساهمت الثورة الصناعية التي اجتاحت العالم في الآونة الأخيرة في تخريب البيئة وتخريب معالمها بشكل كبير جدا ولاسيما في القرن الحادي والعشرون ،أذ اطلق على مشكلة التلوث البيئي بمصطلح (مشكلة العصر)، أذ يشكل التلوث بالمعادن الثقيلة من اكثر المشاكل جدية في موضوع التلوث التي من اهم سلبياتها عدم تحللها الى غاز ثنائي أوكسيد الكاربون وماء على العكس من الملوثات العضوية , والتي تتراكم بدورها بشكل كبير ومتسارع في الانهار والبحيرات والتربة والنبات والغذاء (Cvijovic *et al*., 2011; Cozma *etal*., 2010)، وتعد العناصر الثقيلة النزرة من أكثر الملوثات ضررا على البيئة المائية لتأثيرها المباشر على نمو وتواجد الأحياء المائية، أذ ان تلوث المياه بهذه العناصر يعد من المشاكل

الكبيرة في جميع أنحاء العالم(Larry,2006). تختلف العناصر النزرة في مستوى جاهزيتها الحيوية وسميتها (Tokalioglu,2000).والتي سيؤثر وجودها ولو بتراكيز منخفضه جداً على نمو الانسان والحيوان والنبات والاحياء المجهرية في البيئة (Gradinaru *et al.*,2011; Wuana and Okieimen, 2011).

اشار Yogendra *et al*,.(2013) الى تعدد مصادر التلوث البيئي اذ قد تكون الطبيعية والمتمثلة بالفيزيائية او الكيميائية اوالملوثات الاحيائية او قد يكون مصدر التلوث الملوثات التكنولوجية والصناعية الناتجة من استحداث التقنيات والاكتشافات والابتكارات واخيرا ملوثات الإنسان والحيوان والمتمثلة بما يطرحه الإنسان من فضلات نتيجة نشاطاته اليومية كالملوثات الناتجة عن المدن والمجمعات السكنية التي تشمل المياه الثقيلة بما تحويه من المواد العضوية بدرجة رئيسة وكذلك تشمل الفضلات الحيوانية ، والجدير بالذكر ان هذه الملوثات بطبيعتها تزداد بازدياد عدد السكان و بارتفاع مقدار ومعدل حاجاتهم المعيشية.

المواد وطرائق العمل

تقدير مستوى التلوث بالعناصر المعدنية الثقيلة في عينات العزل

جمعت مصادر عزل الفطر من اماكن مختلفة من مدينة بغداد في شهر كانون الاول 2015 ، من المياه الصناعية لمعمل البان ابو غريب(بغداد / ابوغريب) ، و معمل ألبان كلية الزراعة (بغداد / ابوغريب)، وتربة معمل بطاريات النور (بغداد / ابوغريب) ، وترية مصنع الاحبار (بغداد/ حي الخضراء) ، وتربة مصفى الدورة (بغداد / الدورة)، وتربة المحطة الحرارية لتوليد الطاقة الكهربائية (بغداد– الدورة) ،وتربة الحي الصناعي (بغداد/حي الوحدة) ، وقد تم مراعاة عدة عوامل مهمة عند أخذ العينات ، بالنسبة لعينات التربة فأخذت من مناطق ملوثه وبعمق 20–30 سم اما عينات المياه فأخذت بقناني معقة وداكنة ومحكمة الغلق ، وجمعت العينات في قناني زجاجية داكنة نظيفة ومعقمة ولا تحتوي على إي نوع من أنواع المواد الكيميائية وبواقع مكررين، وقدرت تراكيز العناصر المعدنية الثقيلة في العينات المعزولة باستعمال مطياف الامتصاص، الذري وكما في الطريقة المتبعة من قبل Shazia *et.al* (2013).

العزل

حددت مصادر العزل التي تم انتخابها اعتماداً على محتواها من العناصر المعدنية والتي شملت مياه معمل البان ابو غريب(بغداد / ابوغريب)، و مياه معمل البان كلية الزراعة (بغداد / ابوغريب) ،وتربة معمل بطاريات النور (بغداد / ابوغريب)، وتربة معمل الاحبار (بغداد/ حي الخضراء)، وتربة مصفى الدورة (بغداد / الدورة)، وتربة المحطة الحرارية لتوليد الطاقة الكهربائية (بغداد– الدورة) ،واجريت عملية العزل بأخذ 10 غم (من عينات التربة) ،أو 10 مل (من عينات الماء) للعينات التي سجلت أعلى تراكيز من المعادن الثقيلة بعد اجراء الفحص في مطياف الامتصاص الذري ووضعها في قناني التخفيف مع الرج ،واستمرت عملية التخفيف العشرية لحين الوصول الى تركيز 10^{-6} (Krishnappa ,2014). واجريت عملية الزرع بطريقة النشر spread method، اذ نقل 0.1 مل من كل تخفيف، وبواقع مكررين الى الاطباق الحاوية على وسط PDA المحضر سابقاً ، واجريت عملية النشر باستعمال L-Shape المعقم بالكحول والحرارة . وحضنت الاطباق بدرجة حرارة 30° م، لمدة 5 أيام(Thippeswamy,2014). أجريت عملية التنقية للعزلات المستحصل عليها بتكرار عملية الزرع على وسط PDA ، وحفظت العزلات النقية لإكمال الدراسات اللاحقة عليها .

الغربلة النوعية للعزلات

أضيفت املاح المعادن والتي شملت ،نترات الرصاص Lead Nitrate ،كلوريد النحاس Copper Chloride ،كلوريد الخارصينZinc Chloride ، كلوريد الكادميوم Cadmium Chloride، كلوريد الحديدIron(III) Nitrate ،كلوريد النيكل Nickel chloride، كلوريد الكروم Chromium(II) Chloride المعقمه بالطريقه البارده بأستعمال سرنجة تعقيم بالترشيحsyringe filter unit 0.45 µm الى وسط PDA المعقم بدرجة حراره 60 م تقريباً كلٍ على حدى بحيث اصبح التركيز النهائي للمعادن في الاوساط 400 ملغم /لتر (Aishah *et al*. 2013). وصبت الاوساط في اطباق بتري وتركت لحين تصلبها ، وزرعت بأستعمال الملقط المعقم من العزلات التي تم الحصول عليها ، وحضنت الاطباق بدرجة حراره 30 م لمدة 5 ايام،مع متابعة ظهور النمو وتسجيل النتائج للعزلات جميعها(Roye *et al*., 2014) .

الغربله الكمية للعزلات

اجريت الغربلة الكمية للعزلات المستحصل عليها من الغربلة النوعية بعد زرعها على وسط PDA وبأستعمال طريقة النشر، وذلك بإضافة 0.1 مل من العالق السبوري (المحضر حسب الطريقة المذكورة من قبل Krishnappa, (2014) على سطح الوسط الزرعي الصلب بحيث يحتوي 1 مل على 10^6 خليه، ونشر اللقاح باستعمال الناشر المعقم L-shape المعقم . حضنت الاطباق بدرجة حرارة 30م لمدة 5 أيام، أخذ قرص دائري بقطر 1 سم من النموات الفطرية وزرعت على وسط PDA الحاوي على تركيز 400ملغرام/لتر كلاً على انفراد، وحضنت على درجة حرارة 30م لمدة 5 أيام مع متابعة سرعة النمو للعزلات جميعاً وسجلت النتائج (Deepa ,2006).

التشخيص

شخصت العزلة الفطريه المتحمله للتراكيز العاليه من المعادن الثقيله قيد الدراسه أعتماداً على مفاتيح التصنيف المذكورة من قبل Raper and Fennel(1965), Domsch and gams, (1988) في تشخيص عزلات جنس *Aspergillus* وذلك بدراسة الخصائص الشكلية المورفولوجية والمجهرية من حيث شكل المستعمرة ولونها وقوامها ونوع الغزل الفطري والرؤوس الكونيدية وشكل ولون الكونيدات وأبعادها.

وقد أجري الفحص المجهري وفقاً للطريقة المذكورة من قبل Gerald *et al.*,(2011). لملاحظة أشكال الهايفات والتجمعات السبوريه ، اذ تم الفحص بأستعمال صبغة اللاتكتوفينول وفحصت بالمجهر بقوة تكبير x10و x40 ، كما اجري الفحص في المختبر الخدمي التابع لكلية التربيه أبن الهيثم –جامعه بغداد ، بإستعمال المجهر الالكتروني الماسح Scanning Electron Microscope (SEM) (AIS 2300 c) امريكي المنشأ وحضرت العينات بإتباع الخطوات المطلوبة والمتمثلة بالتثبيت الأولي للخلايا بمحلول كلوتار الديهايد بتركيز 2.5%, والغسل بالمحلول المنظم دارئ الفوسفات بتركيز 0.2 مولاري وبرقم هيدروجيني 7.2 ، والتثبيت الثانوي بمحلول رابع اوكسيد الاوزميوم, واعادة الغسل بالمحلول المنظم المذكور واجراء عملية نزع الماء Dehydration باستعمال الكحول والاسيتون النقي, ثم التجفيف الى النقطة الحرجة, وتحميل العينة على حوامل العينات وطلائها بمعدن ثقيل.

وفحصت العينات تحت فولتيه 2 كيلوفولت وبقوة تكبير 500 والتقطت صور الخلايا بكاميرة خاصة ملحقة بالجهاز.

تقدير التركيز الاعلى للتثبيط

حضرت تراكيزمختلفه من املاح المعادن الثقيله ابتداءاً من تركيز 400 الى 3200 ملغم/لتر وبواقع 7 معادن واضيفت للوسطPDA وكما حضر سابقاً ، وزرع قرص دائري بقطر 1 سم من مزارع الفطريات التي تم الحصول عليها من الغربله الكميه على وسط PDA الحاوي على تراكيز مختلفه من املاح المعادن الثقيله وحضنت الاطباق في درجة حرارة 30م لمدة 5 أيام تم فيها متابعة النمو للعزلات جميعاً (Ahmad ,2006).

النتائج والمناقشة

تقدير تركيز المعادن الثقيلة في مصادر العزل المختلفة باستعمال جهاز مطياف الامتصاص الذري

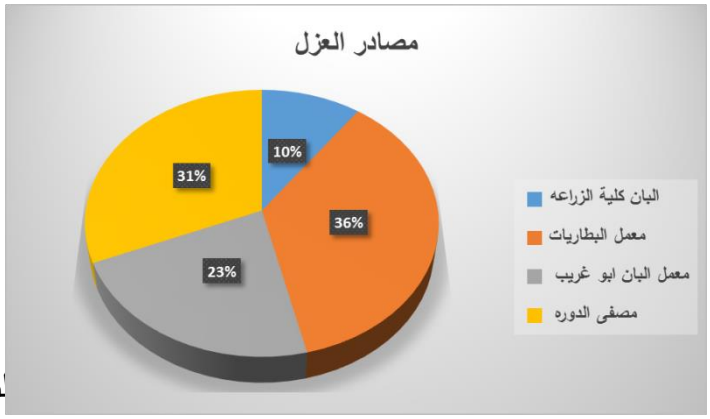
قدر تركيز المعادن الثقيلة باستعمال جهاز مطياف الامتصاص الذري في مصادر العزل المختلفة والتي شملت مياه الصرف لمعمل البان كلية الزراعة، وفضلة مياه معمل البان ابو غريب، بالإضافة الى تربة مصفى الدورة وتربة المحطة الحرارية لتوليد الطاقة الكهربائية في الدورة، وتربه مصنع الأحبار، و وتربه معمل بطاريات النور، وتربة الحي الصناعي ، وقد أوضحت النتائج المستحصل عليها تواجد العناصر قيد الدراسة والتي شملت الحديد ، النيكل، الخارصين ، الكادميوم ، الرصاص،الكروم والنحاس بتراكيز مرتفعة في نماذج معمل بطاريات النور ، مصفى الدوره ، مصنع الاحبار، معمل البان ابو غريب ، معمل البان كلية الزراعة وتربة الحي الصناعي ، وتربة المحطة الحرارية لتوليد الطاقة الكهربائية وكما موضحه في الجدول(1) بالمقارنة مع النماذج الاخرى وقد وقع الاختيار عليها للبدء بعملية العزل والتشخيص ، وقدا شار Ahmed *et al.* (2006) الى ان زيادة تركيز المعادن الثقيلة في التربة سيشكل ضغطاً على نوعية الاحياء المجهرية التي ممكن ان تتواجد في مثل هذا النوع من الترب .

جدول (1) تركيز المعادن الثقيلة قيد الدراسة في مصادر العزل المختلفة.

مصدر العزل	تركيز المعادن ملغم /لتر						
	Fe	Ni	Zn	Cd	Pb	Cr	Cu
تربة معمل البطاريات	19.6	6.3	17.1	4.3	56.2	7.5	4.8
تربة مصفى الدورة	20.6	1.9	1.8	1.1	12.5	16.7	7.2
تربة مصنع الاحبار	49.3	5.4	13.8	3.6	57.6	0.8	6.09
تربة الحي الصناعي	11.3	6.5	19.8	3.7	59.05	3.5	5.02
مياه صرف معمل البان كلية الزراعة	0.2	0.01	0.03	0.02	0.5	0.01	0.3
فضلة مياه معمل البان ابو غريب	1.978	0.48	0.22	0.288	0.734	0.55	0.622
تربة المحطة الحرارية لتوليد الطاقة	21.36	5.78	1.56	1.23	15.69	10.32	5.36

العزل

تجرى عملية العزل لاختيار العزلة الافضل والتي تمتلك خواصا معينه تخدم اهداف الدراسة (Deepa ,2006) ، ومن خلال اجراء عملية العزل للنماذج التي تم انتقائها اعتماداً على تراكيز المعادن فيها تم الحصول على 80 عزلة فطرية مختلفة من المصادر المختلفة ، 8 عزلات منها كان من معمل البان كلية الزراعة و 29 عزلة من معمل البطاريات و 18 عزلة من معمل البان ابو غريب و 25 عزلة من مصفى الدورة شكل (1) ، وقد اشار Ezzouhri *et al.*, (2009) الى اهمية اختيار مصدر العزل في تحديد قابلية العزلات المستحصل لها في تحمل التراكيز العالية من المعادن الثقيلة وان سمية هذه العناصر للأحياء المجهرية عادة ما تكون مختلفة وتعتمد على نوعية الكائن المجهري وعلى مكان الحصول على العزلة وتركيز المعدن فيه وأشار (kari *et al.*, 2003) الى ان قدرة الفطريات على افراز مدى واسع من الانزيمات الخارجية في وسط النمو أو البيئة الموجودة فيها يعطي تفسير لقدرتها على النمو في مدى واسع من مصادر الكاربون .



شكل لية العزل

الغربلة النوعية اللعزلات

تم الحصول على 80 عزله فطريه من مصادر العزل المختلفة بعد اجراء الغربلة النوعية، واعتمادا على قدرتها على النمو في وسط يحوي على تركيز 400 ملغم/لتر لكل معدن من المعادن كلاً على انفراد، وهذا يدل على ان جميع العزلات المستحصل عليها كانت تمتلك قدره على النمو بوجود المعادن الثقيلة رغم تباين هذه القدرة.

الغربله الكمية للعزلات

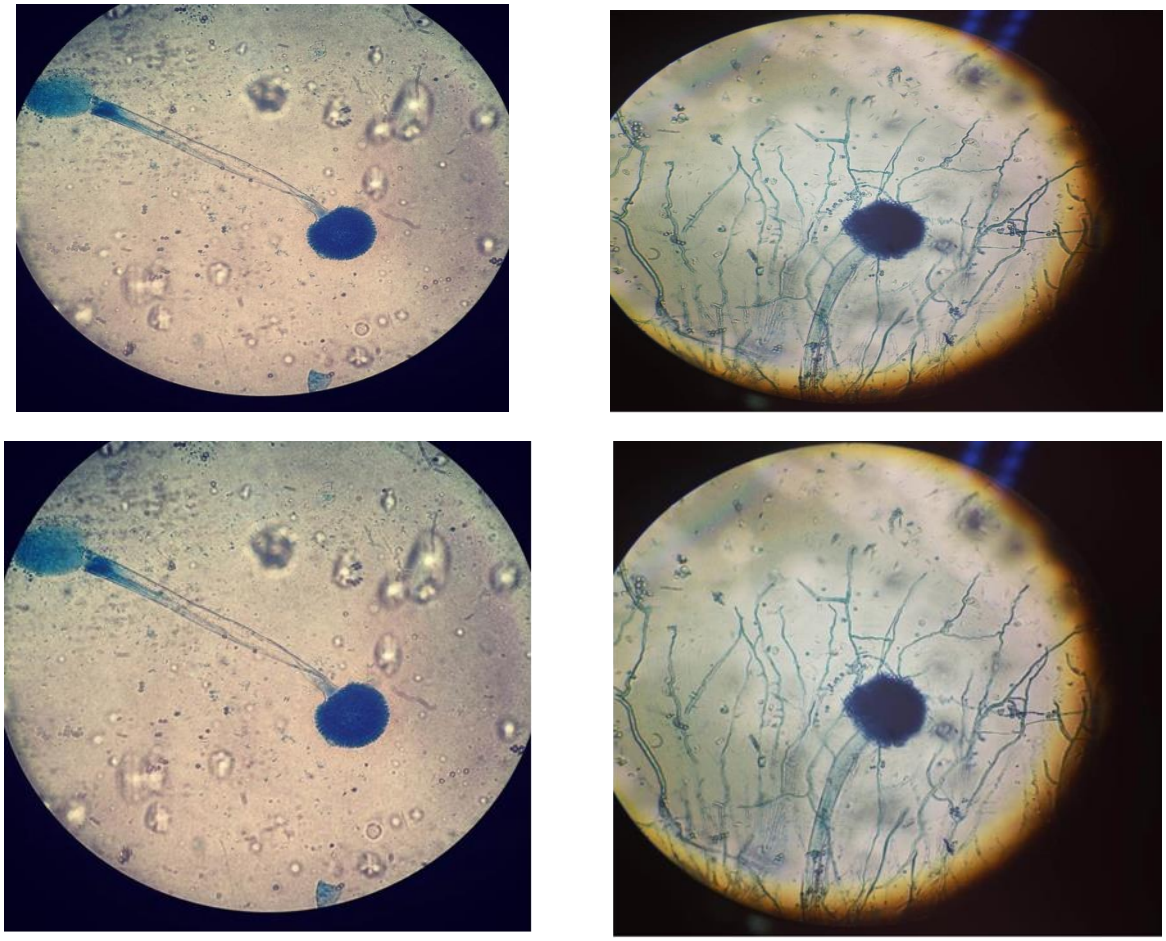
تعطي الغربلة الكميه تصور واقعياً على قدرة الكائن المجهري على العمل على المستوى الصناعي، وقد أجريت الغربلة الكمية للعزلات الفطرية التي تنتمي الى جنس *Aspergillus* اعتماداً على الفحص المجهري والتي شملت 15 عزلة. ويوضح الجدول (2) نتائج الغربلة الكميه لهذه العزلات والتي اعتمدت على متابعة سرعة النمو لها، بعد توحيد حجم اللقاح لجميع العزلات المنماة على وسط PDA، ويبين الجدول (2) تميز العزلة A2-1 والمعزولة من نموذج التربة لمعمل بطاريات النور على بقية العزلات بسرعة نموها على وسط PDA الحاوي على تركيز 400 ملغم/لتر لكل عنصر من العناصر كلاً على انفراد خلال 72 ساعه من الحضن مقارنة بألعزلات الاخرى التي استغرقت 5 ايام، لذا تم اختيارها وتشخصيها لاستعمالها في التجارب اللاحقة .

جدول (2) نتائج الغربله الكميه للعزلات الفطريه المستحصل علية من الغربله النوعيه .

التسلسل	العزله	Fe	Ni	Zn	Cd	Pb	Cr	Cu
1	بطاريات A2-1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
2	بطاريات A2-2	+++	++	++	++	+++	+++	+++
3	بطاريات A2-4	+++	+++	+++	+	+++	++	+
4	بطاريات A2-5	+++	+++	+++	++	+++	+++	++
5	بطاريات A2-20	+++	++	++	+	++	++	+
6	احبار A3-3	++	+	++	+	+++	+	+
7	احبار A3-4	+++	+	++	+	++	+	+
8	البان كلية الزراعه A5-14	+	-	-	-	+	-	+
9	البان كلية الزراعه A5-15	+	-	-	-	+	-	-
10	البان كلية الزراعه A5-20	-	-	-	-	+	-	+
11	البان ابو غريب A6-6	++	-	+	-	++	+	+
12	البان ابو غريب A6-16	++	-	+	-	++	+	-
13	مصفى الدوره A1-8	++	+	+	+	++	+	++
14	مصفى الدوره A1-16	+	+	+	+	+++	+	++
15	مصفى الدوره A1-20	+++	+	+	+	++	+	++

تشخيص العزلة الفطرية A2-1

أجري التشخيص للعزلة الفطرية A2-1 اعتماداً على المفاتيح التصنيفية الوارده في Raper and Fennel(1965) و Domsch and gams (1988) و Pitt and haocking (1997)والتي اعتمدت على الخصائص والصفات المظهرية والمزرعية. أذ اجريت عملية التشخيص بالاستعانة بأساتذة ذو اختصاص في مجال الفطريات في كلية الزراعه وكلية العلوم/جامعة بغداد ،إذ لوحظ أن العزلة تكّون مستعمرات ممتلئة بالرؤوس الكونيدية السوداء المائلة الى اللون البني والاسود الكاربوني ذات شكل كروي شعاعي التفرع او متفرع الى العديد من الصفوف المنتظمة وغير المنتظمة للسلاسل الكونيدية، ذات غزول فطريه بيضاء اللون تنمو بشكل سريع على وسط PDA و تبلغ كثافة النمو حافة الطبق خلال 5 أيام من الحضن على درجة الحرارة 25 م ،وإن سبوراتها تتميز بلونها الأسود الداكن و لون المستعمرة من اسفل الطبق يتراوح بين عديم اللون الى الاصفر الفاتح ، وعند فحصها تحت المجهر الضوئي المركب باستعمال صبغةLactophenol Blue تم التأكد أن حواملها الكونيدية قائمة غير متفرقة وغير مقسمة ولايتجاوز طولها 4 ملمتر شكل(2). وتنشأ هذه الحوامل من خلايا سميكة تنطبق عليها مواصفات الخلايا القدمية Foot cell وإن الحويصلة vesicle في نهاية هذه الحوامل، إما كروية أو اسطوانية الشكل. تتوزع على الحويصلة خلايا قارورية الشكل تمثل الذنيباتsterigmata تحمل كل منها سلسلة من الأبواغ الكونيدية تكون صغيرة الحجم عند بداية السلسلة، وكبيرة الحجم مع تقدمها بإتجاه نهاية السلسلة ويكون شكل الكونيديا كروية غير منتظمة خشنة مع نتوءات واضحة ويبلغ قطرها 4.5 ملم ، وبناءً على هذه الملاحظات شخصت العزلة على أنها تعود الى العفن *Aspergillus niger*.



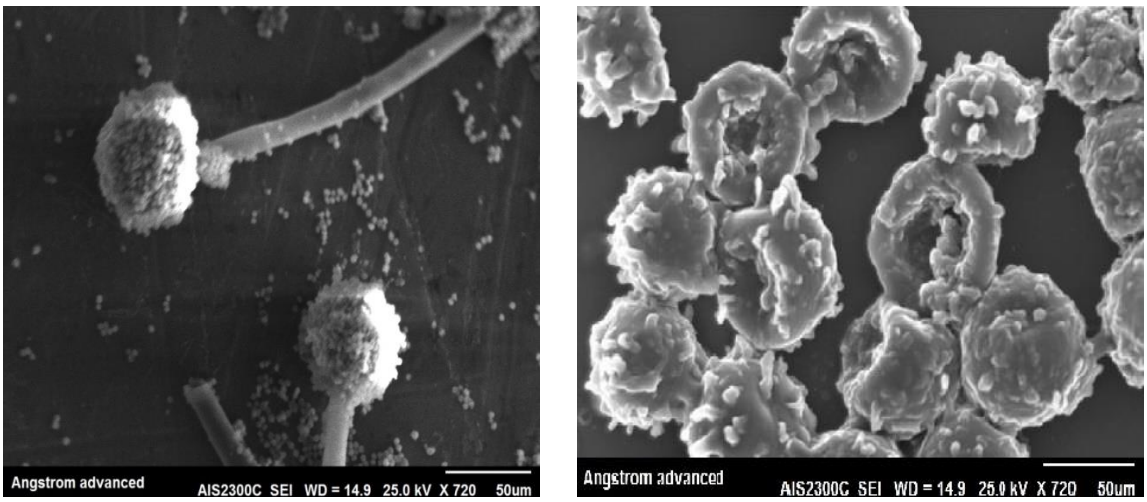
شكل (2) العزلة A2-1 بالمجهر الضوئي المركب على قوة تكبير 40x بأستعمال صبغة Lactophenol Blue.

تشخيص العزلة بأستعمال المجهر الماسح الالكتروني SEM

ان تشخيص الانواع التابعة للجنس *Aspergillus* باستعمال المجهر الماسح الالكتروني يعد من الامور المعقدة بسبب الفروقات بين الاجناس والانواع التي تتبعها . ويتم التصنيف وفقاً للمعايير التي تم ذكرها سابقاً .يرى بعض الباحثين ان تمييز النوع *A.niger* عن الانواع ذات الصلة القريبة منه يعد صعب نوعا ما بالاعتماد على الصفات المورفولوجية والمزرعية وحدها ، لذا يرى بعض الباحثين ضرورة اعتماد معايير اضافيه بهذا الصدد ، منها شكل الابواغ تحت المجهر الالكتروني (Maria *et al*., 2011).

وقد تم ملاحظة شكل الابواغ تحت المجهر الالكتروني فوجدت انها تكون بأشكال زهرية الشكل ومطابقة لما ذكرته البحوث . مما يعني ان العزله A2-1 قيد الدراسه تعود الى

A.niger كما وان قطر ابواغها 3 مايكرومتر تقريباً وهذا يشابه تماماً ما ذكرته (Maria *et al*., 2011) بان قطر ابواغ العفن *A.niger* يتراوح ما بين 3-5 مايكرومتر كما في الشكل (3) .



شكل (3) الابواغ الكونيديه التي يكونها الجنس *Aspergillus*

قابلية العزلة الفطرية *A.niger* على النمو في درجات الحرارة العاليه

أختبرت قدرة الفطر A.niger على النمو في درجات حرارية مرتفعة شملت 50و55و60 م ، وأكدت النتائج قابلية العزلة على تحمل هذه الدرجات الحرارية العالية وعدم تأثر نموها بالحرارة العالية ، مما يؤكد ان العزلة المستحصل عليها من النوع المتحمل لدرجات الحرارة العالية Thermophilic ، مما يعزز من مكانة العزلة في امكانية استعمالها في المعالجة الحيوية لمياه الصرف الصحي الصناعي وفضلة مياه معامل الاغذية والالبان في درجات الحرارة العالية التي يتميز بها العراق لفترات طويلة .

التركيز الاعلى للمعادن المتحمل Maximum Tolerance Concentration (MTC) من قبل العزله *A.niger*

يوضح الجدول (3) القدرة العالية التي تميزت بها عزله الفطر *A.niger* المستحصل عليها في هذه الدراسة والمعزولة من معمل بطاريات النور من تحملها لتراكيز عالية من جميع المعادن قيد الدراسه وصلت الى 3000ملغم/لتر مع ملاحظة الاختلاف في قابلية نمو العزله بأختلاف العناصر واكثر نمو تم الحصول عليه بأضافة الرصاص و الحديد ثم الخارصين ثم النحاس ثم الكروم ثم النيكل ثم الكادميوم الى وسط الاختبار مع ملاحظة تثبيط نمو العزلة بالتركيز 3200ملغم/لتر مما يشير الى تسمم العزلة وعدم نموها في هذا

التركيز ، مع ملاحظة حصول تغير واضح في شكل المايسيليم وتغير لون الخلية الفطرية من الاسود الى البني الداكن ،وهذا ما اشار له Lilly *et al.*,(1992)، اذ وضح تأثر شكل المايسيليوم بصورة واضحة بوجود المعادن الثقيلة وتصبح كثيرة التفرع وملتفة على نفسها فضلاً عن تغير لون الخيلة الفطرية من اللون الاسود الى البني او العكس، كما اشار الى تاثر النمو في الفطريات بوجود العناصر المعدنية الثقيله لاسيما الكادميوم والزئبق والنيكل ، كما اشار Krishnappa (2014) الى التأثير الواضح للمعادن الثقيله على الانظمة الانزيمية للخلية الفطرية ، اذ ترتبط المعادن بمجاميع السلفهايدريل في المواقع الفعالة للأنزيمات مسببة تثبيط غير عكسي في عمل الانزيم ، اما الانزيمات الخارجية فأنها ستواجه تراكيز عالية من المعادن الثقيله وبالنظر لكون هذه الانزيمات غير محمية بطبقة وقائية مما يقلل من فعاليتها .

الجدول (3) التركيز الاعلى المتحمل من قبل عزلة الفطر *A.niger* المحليه

المعدن	التركيز ملغم/لتر														
	400	600	800	1000	1200	1400	1600	1800	2000	2200	2400	2600	2800	3000	3200
Fe	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Ni	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Zn	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Pb	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Cd	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Cr	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Cu	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

المصادر :

1. **Cvijovic,** M.; Djurdjevic, P.; Cvetkovic, S. and Cretescu, I. (2010). A case study of industrial water polluted with chromium (VI) and its impact to river recipient in western Serbia, Environmental Engineering and Management Journal.9 (1): 45-49.
2. **Cozma**, D.; Tănase, C.; Tunsu, C.; Olariu, R.-I.; Ionaş, A. and Pui, A. (2010). Statistical study of heavy metal distribution in the specific mushrooms from the steril. Dumps Călimani area Environmental Engineering and Management Journal. 9 (5): 659-665.
3. **Tokalioglu**,S.; Kartal,S. and Elci,L.(2000). Speciation and determination of heavy metals in lake water by atomic absorption spectrometry aftor sorption on amber lite. Xad-16 Resin . Analytical Sciences , 16:1169-1174
4. **Wuana,**R.A. **and Okieimen**,F.E.(2011). Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. ISRN Ecology. doi:10.5402/2011/402647.
5. **Gradinaru**, A. ; Popescu, O. and Solcan, G. (2011). Variation Analysis of Heavy Metal Residues in Milk and their Incidence in Milk Products from Moldova, Romania

6. **Yogendra** ,S.; Ramteke, P.; Tripathy , A. and Pradeep K. (2013) . Isolation and Characterization of Bacillus resistant to multiple heavy metals, Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci 2(11): 525-530
7. **Shazia**, I; Ayesha,Z.; Zaiba, I.; Rabia Shabbir.(2013). Heavy Metal Tolerance of Fungus Isolated
8. **Krishnappa**,M.,Shivakumar,C.K.,Thippeswamy,B.(2014).Optimization of Heavy Metals Bioaccumulation in Aspergillus niger and Aspergillus flavus.
9. **Thippeswamy**,B.,Krishnappa,M.,Shivakumar,C.K.(2014).Optimization of Heavy Metals Bioaccumulation in Aspergillus niger and Aspergillus flavus
10. **Aishah**, N., Shafiquzzaman Siddiquee,Sujjat A. Azad, Saili N. Shafawati, Laila Naher.(2013).Tolerance and biosorption capacity of Zn2+, Pb2+, Ni3+ and Cu2+by filamentous fungi (Trichoderma harzianum, T. aureoviride and T. virens) . Biotechnology Research Institute, Universiti Malaysia Sabah, Jln UMS, Kota Kinabalu, Malaysia
11. **Roy**, P, Deesha Roy, , Anusree Martina Bor, Binayak Sarkar,Saidi Majid .(2010). Experimental studies on effect of Heavy Metals presence in Industrial Wastewater on Biological Treatment MS Student of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, University of Tehran .Research article ISSN 0976 – 4402.
12. **Atlas**, R.(1995). Principles of Microbiology.1st ed., Rebert J. Callanan ed., Chapter 4: 122.
13. **Deepa** ,K.K. a, M. Sathishkumar, , A.R. Binupriya, G.S. Murugesan, K. Swaminathan, S.E. Yun.(2006). Sorption of Cr(VI) from dilute solutions and wastewater by live and pretreated biomass of Aspergillus flavus.
14. **Raper**,K.B and Fennell,D.I.(1965). The genus Aspergillus .The Williams and wilkins Company.
15. **Domsch**,K.H. and Gams,W.(1988). Compendium of soil fungi Vol.1.
16. **Mercedes**m S. Foster, Gerald F. Bills.(2011). Biodiversity of Fungi: Inventory and Monitoring Methods.
17. **Ahmad** ,I. Ansari MI, Aqil F.(2006)Biosorption of Ni, Cr and Cd by metal tolerant Aspergillus niger and Penicillium sp. using single and multi-metal solution. . Indian J Exp Biol. 2006 Jan;44(1):73-6.
18. **Ezzouhri**, L.Lairini, K.;; Castro, E.; Moya, M. and Espinola, F.(2009).Heavy metal tolerance of filamentous fungi isolated from Polluted sites in Tangier, Morocco.African Journal of Microbilogy Research,3(2):35-48.
19. **Kari**, T. Steffen,Annele Hatakka, and Martin Hofrichter.(2003). Degradation of Benzo[a]pyrene by the Litter-Decomposing Basidiomycete Stropharia coronilla: Role of Manganese Peroxidase
20. **Maria**, H. P.,Silva, D. M.; Batista, L. R.; Rezende, E. F.; Fungaro, M. H. F.; Sartori, D. And Alves, E.(2011) Identification of fungi of the genus Aspergillus section nigri using polyphasic taxonomy. Braz. J. Microbial. 2 Apr./June(São Paulo vol.42)

ABSTRACT

Eighty Fungal isolates was obtained from the Qualitative screening from the obtained ones, all of which were undergone to fungal quantitative screening to get one isolate. The isolate which was taken from AL-Noor batteries plant (Abu Ghraib), characterized by fast growth on Potato Dextrose agar medium contained the minerals, Fe, Cu, Cd, Pb,Ni,Zn,Cr at concentration of 400 mg/individually.

The isolate was identified depending on morphological and cultural properties, also scanning electron microscope was done, it was identified to *Aspergillus niger*. The isolate showed high growing ability in high temperatures which includes 50 , 55 , 60 c. The maximum concentrations used for the *Aspergillus niger* isolate was600,800,1000,1200,1400,1600,1800,2000,2200,2400,2600,2800,

3000 for the minerals Fe,Ni,Zn,Cd,Pb,Cr,Cu consequently.