مجلة تكريت للعلوم الصرفة، 22 (1) 2017
ISSN: 1813 – 1662 (Print)
E-ISSN: 2415 – 1726 (On Line)

دراسة استهلاك هيدروكاربونات بعض انواع النفط الخام بالفعل الانفرادي والتآزري للفطرين *Aspergillus flavus* و *Fusarium moniliforme*

ياسين حسين عويد وسمي الجبوري
قسم علوم الحياة ، كلية التربية للبنات ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق
yassien.dr57@yahoo.com

الملخص

بينت النتائج ان للفطرين المستخدمين في هذه الدراسة دور ايجابي وفاعل في تكسير واستهلاك وتحلل هيدوركاربونات كل من نفط خام كركوك المتوسط ونفط خام القيارة الثقيل، اذ استطاع التآزر Synergism بين الفطرين*Aspergillus flavus* و *Fusarium moniliforme* من تكسير وتحليل هيدوركاربونات نفط خام كركوك المتوسط وبنسبة قدرها 86.6%، بينما أظهر الفطر *A.flavus* قابلية في تحليل نفط خام كركوك المتوسط بنسبة قدرها 85.3% في حين حل الفطر *F.moniliforme* بالمرتبة الثالثة بنسبة قدرها 68.6%.

اما فيما يتعلق بالتحلل الحيوي لنفط خام القيارة الثقيل، فقد انخفضت قدرة التآزر بين الفطرين في تكسير نفط خام القيارة الثقيل الى 81.05%, وبنسبة بلغت 78.9% بفعل الفطر *A.flavus* بينما انخفضت النسبة الى 65.4% بفعل الفطر *F.moniliforme*.

وتبين من نتائج الاعداد الحية viable count للفطرين الناميين على كل من نوعي النفط الخام انهما يتكيفان للبيئة الجديدة بتدرج تصاعدي في الاسبوع الاول والثاني من النمو ثم تنخفض الاعداد الحية لكلاهما في الاسبوعين الثالث والرابع، وأضافت نتائج التحليل باستخدام الـ-Gas (GLC) Liquid-Chromatography دليل إضافي اثبتت فيه تحلل هيدروكاربونات كل من نوعي النفط الخام بفعل الفطرين المستخدمين في هذه الدراسة، إذ قدمت هذه التقنية نمط لقياس طبيعة توزيع الهيدروكاربونات ضمن مركبات النفط الخام وترتيب الهيدروكاربونات النفطية وأظهرت اختفاء عدد من القمم peaks ضمن مركبات النفط الخام وهذا واضح من خلال ترتيب الهيدروكاربونات النفطية قبل وبعد استخدام الفطرين كعوامل تحلل حيوية لتعزز نتائج التحلل المبين وزنياً(كنسب مئوية) في هذه الدراسة.

المقدمة

يشكل التلوث النفطي تهديد على نطاق عالمي للبيئة وللترب الملوثة به وللترسبات وللمياه فانه يشكل تحدي كبير ورئيسي للتطور البيئي [1] ولهذا أصبح التلوث بالنفط الخام مشكلة عالمية في الدول الصناعية والنامية على حد سواء [2] . فقد تلوثت المناطق الشرقية من السعودية والمحاذية لحدود الكويت والبحرين وقطر بالنفط الخام خلال حرب الخليج عام 1991 كنتيجة لتدفق كميات كبيرة من النفط تسربت لمسافة تقدر بـ 400 كم [3].

إن عملية التحلل الحيوي للملوثات تهدف الى الازالة الناجحة للملوثات النفطية كلياً والتي تتضمن إزالة آمنة وسريعة لهذه الملوثات من الترب وإن النجاح النهائي لعملية التحلل الحيوي يعتمد على طبيعة الاحياء المجهرية التي تكون في حالة تماس فيزيائي مباشر مع المادة الخاضعة للتحلل [4].

ولهذا أصبحت المعالجة الحيوية باستخدام الأحياء المجهرية تهدف الى تخليص الترب من مخاطر التلوث بالنفط الخام ومن الاهتمامات ذات الأولوية في البحث العلمي[5].

أن للمعالجة الحيوية للترب الملوثة بهيدروكاربونات النفط الخام والمعادن الثقيلة ارتباط وثيق بقدرة الأحياء المجهرية في استهلاك الهيدروكاربونات والمعادن الثقيلة المقاومة للتحلل الحيوي وهي بدورها تعزز التحلل الحيوي للهيدروكاربونات في التربة [6] واستخدمت الكثير من الأحياء المجهرية ومنها البكتريا والفطريات في مزارع مفردة ومختلطة لمعالجة وإعادة تأهيل الترب الملوثة بالنفط الخام [7].

تعد البكتريا والفطريات من العوامل الرائدة في التحلل الحيوي لهيدروكاربونات النفط الخام وتعتمد درجة التحلل على طبيعة وكمية النفط أو الهيدروكاربونات المتدفقة والظروف البيئية الفصلية وعلى طبيعة تركيب المجتمع الميكروبي (المحلي)السائد واستجابته للتكيف ambient في الأنظمة البيئية التي تعرضت للتلوث النفطي[8]. تؤدي الفطريات أدوار مهمة وفاعلة في التحولات البايوجيوكيميائية في تحلل واستهلاك وتحولات المادة الخاضعة العضوية وغير العضوية [9].

وقد تبين أن الفطر *Aspergillus ochraceus* قد تمكن من تحليل وتكسير الكيروسين عند نموه لمدة 96 ساعة في وسط المرق broth الحاوي على الكيروسين[10], كما لاحظ [11] ان فطريات White rot fungus *polyporus*sp. S133 والمعزولة من تربة ملوثة بالنفط الخام قد استهلكت النفط الخام بنسبة 93% عند نموها في وسط نشارة الخشب الحاوي على نفط خام بتركيز 1000 ppm عند التحضين لمدة 60 يوماً في حين انخفضت قدرة نفس الفطريات الى 19% على نفس الوسط الحاوي على نفط خام بتركيز 1500 ppm وهذه النتائج توضح ان للفطريات قدرات لتحليل النفط الخام ترتبط ارتباطاً وثيقاً بتركيزه المضاف الى الوسط الزرعي النامية عليه, اذ تنخفض امكانياتها لتحليل النفط الخام كلما ازداد تركيز النفط الخام في الوسط الذي تنمو عليه.

ولهذا تعد المعالجة الحيوية طريقة مفيدة لإدخال تحسينات على الترب الملوثة بالنفط الخام اذ تستخدم الأحياء المجهرية هذه المواد

الهيدروكاربونية كغذاء ومصدر للطاقة وعندئذٍ تحولها بسهولة الى مواد غير سامة كالماء وثنائي أوكسيد الكربون [12]. لذا جاءت هذه الدراسة في سياق الاهتمام ذاته للتعرف على مدى قدرة الفطرين *A.flavus* و *F.moniliforme* انفرادياً وتآزرياً في تحلل النفط الخام.

المواد وطرائق العمل

العينات: عينات النفط الخام:

تم الحصول على عينات نفط خام كركوك المتوسط من محطات استلام النفط الخام في مصفى بيجي في شهر تشرين الاول عام 2012, أما عينات نفط خام القيارة الثقيل فقد تم الحصول عليها من حقول نفط القيارة المنتجة للنفط الخام في مصفى القيارة في شهر تشرين الثاني من العام نفسه، واستخدمت لجلب العينات قناني زجاجية معقمة ومعلمة ومظلمة ومحكمة الغلق ذات حجم 100 ml.

وتم تعقيم عينات نوعي النفط الخام بطريقة الترشيح Filtration باستخدام ورق ترشيح ذات ثقوب 0.45 مايكروميتر. وقد تم حفظ العينات في مكان بارد لحين الاستخدام.

عينات الفطريات المستخدمة في هذه الدراسة:-

تم الحصول على العزلتين المشخصتين للفطرين *A.flavus* و *F.moniliforme* من قسم علوم الأغذية والتقانات الأحيائية كلية الزراعة/جامعة تكريت، وتم إعادة زرع كل من الفطرين على وسط Malt Extract Agar (MEA) بالتحضين بدرجة حرارة 28م^{o} لمدة 5 أيام بعدها تم نقلهما على موائل Slants من الوسط نفسه وتم حفظ الفطرين المنشطين المستخدمين للدراسة بدرجة حرارة الثلاجة لحين الاستخدام.

تنمية الفطريات المستخدمة للدراسة:-

استخدم وسط الأملاح المعدنية المحضر وفق [13] لتنمية الفطريات المحللة للنفط الخام اذ تم توزيع 50 ml من الوسط نفسه في دوارق مخروطية سعة 250 ml وبعد تعقيم الوسط وتبريده وضبط الاس الهيدروجيني على 5.5 أضيف النفط الخام بنسبة 2% وتم إضافة 2 ml من معلق الفطرين المحضرين الى المحلول الفسلجي الذي يحتوي كل ملليلتر منها على 1×10^{-6} Colony forming unit (cfu/ml) بعدها حضنت الدوارق بدرجة حرارة 28م^{o} لمدة 28 يوماً.

حساب الأعداد الحية Viable count لعزلتي الفطرين المستخدمين والتآزر بينهما:-

تم حساب الأعداد الحية الكلية للفطرين المستخدمين في الدراسة الناميين على وسط(MEA) Malt Extract Agar وذلك بنشر 0.1ml من محلول التخفيف 10^{-6}على أطباق من الوسط الزرعي والتحضين بدرجة حرارة 28م^{o} لمدة 3-5 أيام وتم حساب الأعداد الحية النامية أسبوعياً وبالأوقات, الزمن الابتدائي وبعد 1، 2، 3، 4، أسبوع من بدء التجربة بواسطة جهاز عداد الخلايا نوع pbi إيطالي المنشأ.

قياس نسبة الفقدان الكمي لنوعي النفط الخام: استخدام الطريقة الوزنية:

تم قياس معدل تحلل نوعي النفط الخام باستخدام الطريقة الوزنية وذلك بقياس الفرق في وزن كمية نوعي النفط الخام المضافة الى الوسط الزرعي المستخدم قبل وبعد تنمية كل من الفطرين *A.flavus, F.moniliforme*. [14, 15]

استخدام الطرق الكيميائية المتخصصة: جهاز كروماتوكرافيا الغاز Gas Liquid Chromatography:-

تم التأكد من تحلل مركبات النفط الخام المضاف الى الوسط الزرعي بفعل الفطرين *A.flavus, F.moniliforme* وذلك بالتحليل باستخدام جهاز كروماتوكرافيا الغاز Gas Liquid Chromatography المجهز من شركة Varian الأمريكية وباستخدام عمود الفصل الكروماتوكرافي نوع 5% Chromosorb W packed column OV-17 البالغ طوله 9 قدم وقطره 1/4 وتم حقن 0.1 um من كل نموذج من النماذج علماً انه تم إجراء التحليل في مختبرات الشركة العربية لكيمياويات المنظفات وكانت ظروف تشغيل الجهاز المستخدم للتحليل كالآتي:

Column OV-17 chromosorb W
Length: 9 Foot Detector Fid 2ml
Det. Temp 275;
Carrier Gas: N_2
Flow Rate: 45 ml/Min
Oven Program Temperature:
Primary Initial Temp. 100 °C
Initial time 4 min
Ratio /c/ min: 10 °C/min
Final column $temp_1$ 200 °C
Final column $temp_2$ 250 °C
Final time 1 and 2, 10 mint.[16]

التحليل الإحصائي:

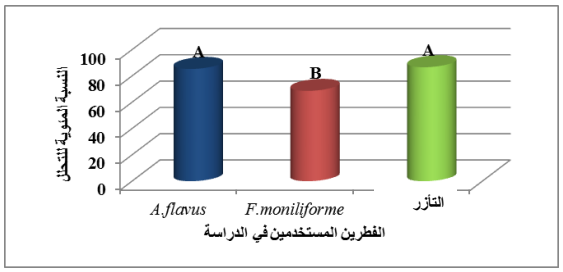
حللت النتائج إحصائياً باستخدام تحليل التباين ANOVA وقورنت الاختلافات المعنوية بوساطة اختبار دانكن متعدد الحدود Duncun's Multiple Range وبمستوى معنوية $P\leq0.05$ باستخدام البرنامج الإحصائي Minitab [17].

النتائج والمناقشة

نتائج تحلل نفط خام كركوك المتوسط :-

أظهرت نتائج هذه الدراسة ان الفطر *F.moniliforme* كان ترتيبه الاخير في قدرته لتحليل نفط خام كركوك المتوسط إذ بلغت قدرته 68.6% فيما ارتفعت قدرة الفطر *A.flavus* لتحليل نفس النفط الخام بنسبة بلغت 85.3% وجاءت قدرة التآزر بين الفطرين بالمرتبة الاولى لتبلغ 86.6%.

من المعلوم ان التحلل الحيوي هي عملية ميكانيكية رئيسية لإزالة الملوثات النفطية من الاماكن البيئية المعرضة لهذه الملوثات وتلعب كل من البكتريا والفطريات إلى حد بعيد الدور المهم في هذه العملية [18].



الشكل (1) النسبة المئوية لتحلل نفط خام كركوك المتوسط بفعل الفطرين المستخدمين في الدراسة والتآزر بينهما

تقاربت نتائج البحث الحالي مع نتائج [19] الذي ذكر ان نسبة فقدان الهيدروكاربونات النفطية قد وصل الى 95% بعد فترة تحضين بلغت 28 يوماً بفعل مزارع نقية من الفطر *A.niger* .

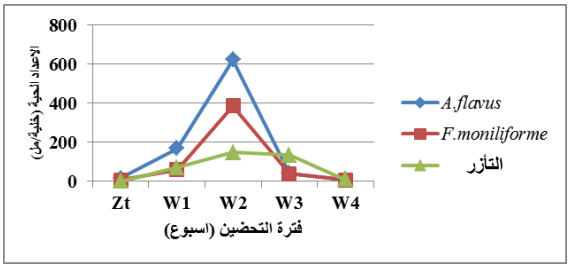
في حين تمكن [3] من عزل أنواع فطرية قادرة على استهلاك النفط واستخدامه كمصدر للكربون والطاقة في المنطقة الشرقية من السعودية وتحديداً المنطقة الساحلية إبان حرب الخليج 1991 ومن هذه الانواع *A. thomi, A.flavus , A.niger, A. zonatus*.

فيما اختلفت النتائج مع ما لاحظه [15] الذي بين ان خميرة *Saccharomyces cerevisiae* قد تمكنت من تحليل النفط الخام بنسبة بلغت 49.29% عند التحضين لفترة 28 يوما بظروف هوائية. وبالمقارنة مع دراسة سابقة للباحثان [20] وجدا ان قدرة الفطر *A.versicobr* كانت 22.93% لتحليل نفط خام كركوك المتوسط.

وكل هذه النتائج تدل على ان التحلل الحيوي يعتمد على نوع الكائن المجهري وظروف التحضين ونوع النفط الخام, فلو قارنا نتائجنا مع نتائج [21] الذي استخدم ست مزارع فطرية من انواع *A.spp* لتحليل النفط الخام اذ استطاعت هذه المزارع من ازالة النفط الخام بنسبة تراوحت بين (83.40 – 87.78)%.

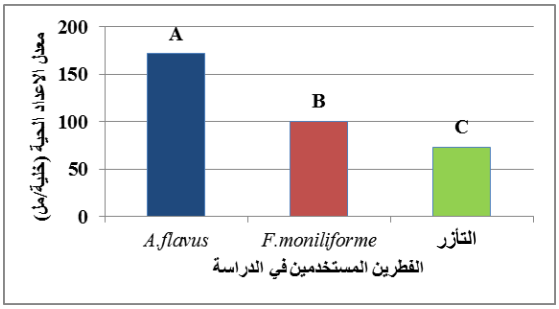
اظهرت نتائج دراستنا الحالية اختلافاً معنوياًبين الفطر *A.flavus* والتآزر بينهما من جهة وبين *F.moniliforme* من جهة اخرى عند مستوى احتمالية P≤0.05.

إذ اختلفت النتائج احصائياً فيما يتعلق بالنسب المئوية للتحلل لكل من الفعل الانفرادي للفطر *A.flavus* والتآزر بين الفطرين المستخدمين في هذه الدراسة وبين الفطر *F.moniliforme* بمستوى احتمالية P≤0.05 لاحظ الشكل (1).



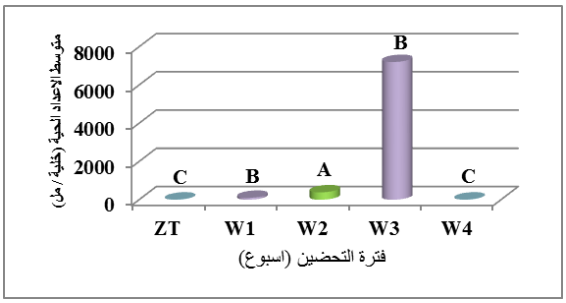
الشكل (2): الاعداد الحية للفطرين المستخدمين والتآزر بينهما النامين على نفط خام كركوك المتوسط بالتحضين بدرجة 30 °C لمدة اربعة اسابيع

يلاحظ من خلال الشكلين (3,2) الذي يعبر عن الاعداد الحية viable count للفطرين الناميين على الوسط الحاوي على نفط خام كركوك المتوسط لوحظ ان النمو الفطري يبدأ ضعيفاً في الزمن الابتدائي Zero time بسبب عدم تكيف الفطرين المستخدمين في هذه الدراسة للبيئة الملوثة بنفط خام كركوك المتوسط ثم بدأ النمو بالتزايد في الاسبوع الاول وكان هذا التزايد مضطرداً حتى الاسبوع الثاني وبلغ ذروته في هذا الاسبوع لكن اعدادهما بدأت بالانخفاض في الاسبوعين الاخيرين وهذا يعكس قدرة الفطرين الناميين على التكيف المتدرج والبدء بتكسير هيدروكاربونات النفط الخام تباعاً. ويظهر الشكل (3) اختلافاً معنويا في النمو (A,B,C) بين الفطر *A.flavus* والفطر *F.moniliforme* والتآزر بينهما بمستوى إحتماليه P≤0.05.



الشكل (3) معدل الاعداد الحية (cell/ml) للفطرين الناميين على نفط خام كركوك المتوسط تبعاً لنوع الفطر المستخدم

فيما يظهر الشكل (4) ان نتائج التحليل الاحصائي لمعدل الاعداد الحية (خلية/مل) فروقاً معنوية بين قدرة الفطرين الناميين على نفط خام كركوك المتوسط وكذلك التآزر بينهما عند مستوى احتمالية $P \leq 0.05$ فضلاً عن الاختلاف المعنوي خلال فترة التحضين والبالغة اربعة اسابيع ما عدا الزمن الابتدائي والاسبوع الرابع من جهة والاسبوع الاول والثالث من جهة أخرى واظهر الاسبوع الثاني اختلافاً معنويا عن كل الاسابيع الاخرى, لاحظ الشكل (4).



الشكل (4) متوسط الاعداد الحية (cell/ml) للفطرين الناميين على نفط خام كركوك المتوسط تبعاًلفترة التحضين (4 اسابيع)

وتؤكد البحوث قدرة الفطريات على تكسير وتحليل الهيدروكاربونات وتضاعف اعدادها وتكوين مستعمرات فطرية. اذ تشيرالدراسات ان الفطريات تنجز عملا كبيرا خصوصاً في البيئة الملوثة وتعد كمقدمة لوجود الهيدروكاربونات في تلك البيئة وتعلب دورا كبيرا في التكسير

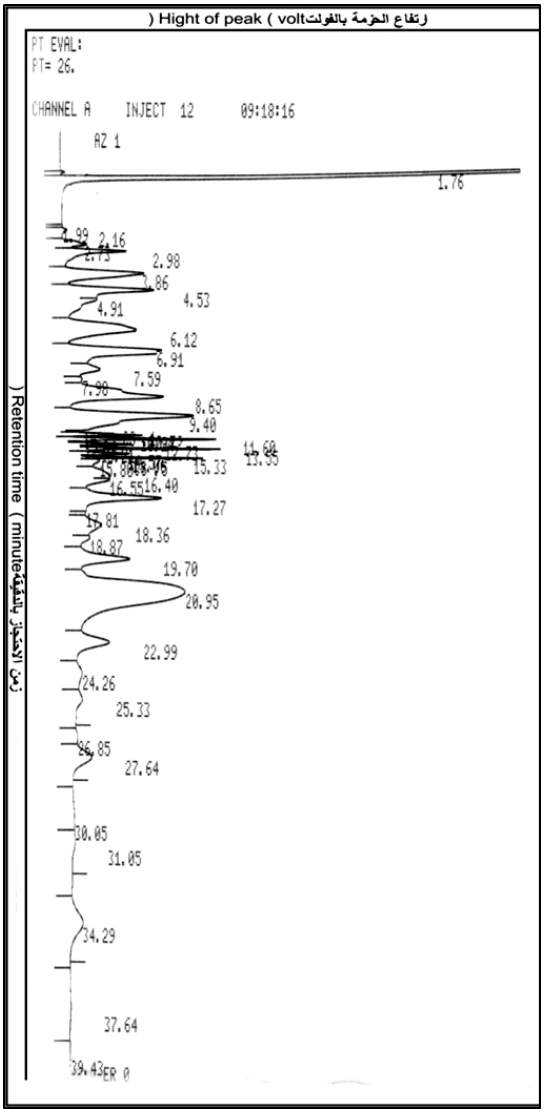
الحيوي للهيدروكاربونات النفطية في متبقيات اماكن حفر الآبار النفطية القديمة [22].

وأكد [23] ان العدد الحقيقي للفطريات المستهلكة للهيدروكاربونات يظهر اختلافاً واضحاً بين الانواع ويعتمد على اختلاف منهجية Methodological تعداد الفطريات المستخدمة لتحليل النفط الخام.

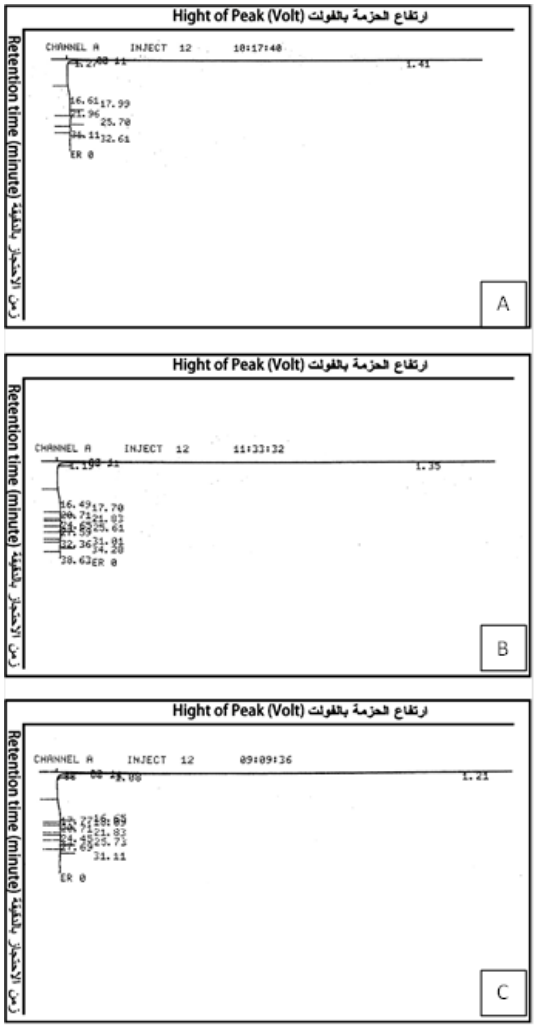
يلاحظ من الأشكال المتعلقة بمدى حدوث التحلل الحيوي باستخدام جهاز كروماتوكرافيا الغاز لنفط خام كركوك المتوسط اختفاء عدد من الحزم مما يؤكد فعالية استهلاك الهيدروكاربونات النفطية بفعل الفطرين المستخدمين في هذه الدراسة، فلو قارنا تحلل عينة نفط خام كركوك المتوسط باستخدام تقنية جهاز كروماتوكرافيا الغاز، قارن عينة السيطرة , الشكل (5) بالمعاملات (A,B,C) ، الشكل(6) على التوالي نلاحظ اختفاء عدد من الحزم بفعل التآزر بين الفطرين اذ ان الاختفاء كان عاليا وهذا يعزز الدلائل الوزنية اذ كان التحلل الوزني 86.6% بفعل التآزر الفطري لتحليل نفط خام كركوك المتوسط الاشكال (6A,1) وكذلك الاشكال الخاصة بالأعداد الحية التي تعكس وتعزز هذا التحلل وهذا يؤكد قدرة الفطريات العالية في التحلل واستخدمت كثير من الدراسات تقنية كروماتوكرافيا الغاز والدلائل الوزنية والاعداد الحية لإثبات حدوث التحلل الحيوي للهيدروكاربونات النفطية. [24].

اما فعل كل من الفطرين *A. Flavus* و *F. Moniliforme* انفرادياً لحدوث التحلل الحيوي فكانت فعالة ايضاً ولكنها أقل وهذا واضح من خلال الاشكال (6. B, C) والخاصة بكروماتوكرافيا الغاز ويلاحظ من خلال نتائج كل من تقنية كروماتوكرافيا الغاز والطريقة الوزنية والاعداد الحية ان كل هذه الطرق المتخصصة وغير المتخصصة اثبتت قدرة كل من الفطر *A. Flavus* و *F. Moniliforme* لتحليل النفط الخام المتوسط، لاحظ الأشكال(1-6).

اذ يعد وجود المايكروبات من العوامل المهمة جداً لحدوث التحليل الحيوي إذ أشار [25] ان تقنية كروماتوكرافيا الغاز اثبتت ان وجود الميكروبات يعد ضرورياً لتحليل النفط مختبرياً.



الشكل (5): تحليل كروماتوكرافيا الغاز لنفط خام كركوك المتوسط (عينة المقارنة) المحضن بدرجة 28 م° لمدة 28 يوما



الشكل (6): تحليل كروماتوكرافيا الغاز لنفط خام كركوك المتوسط بتركيز 2% المحضن بدرجة حرارة 28 م° لمدة 28 يوم بفعل :-

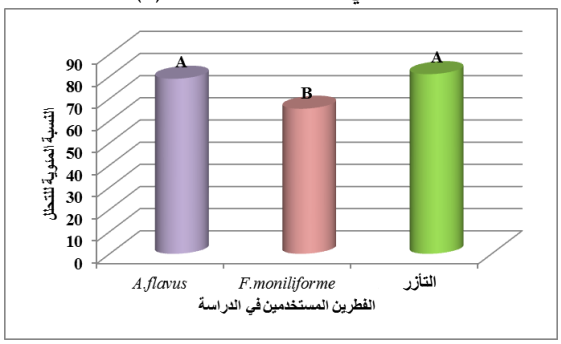
A. التآزر بين الفطرين Synergism

B. بفعل الفطر *A.flavus*

C. بفعل الفطر *F.moniliforme*

نتائج تحلل نفط خام قيارة الثقيل:-

يبين الشكل (7) ان التآزر بين الفطرين المستخدمين في الدراسة كان الاقدر في تحليل نفط خام قيارة الثقيل إذ كانت نسبة التحليل 81.05% فيما أظهر الفطر *A.flavus* قدرة أكبر على التحليل من الفطر *F.moniliforme* إذ كانت قدرتهما 78.9% و 65.4% على التوالي. وهذه القدرات كانت اقل من قدرة نفس الفطرين على النفط الخام المتوسط، فمن المعلوم ان نفط خام القيارة الثقيل يحتوي على نسبة عالية من الاسفلت في تركيبه. لاحظ الشكل (7).



الشكل (7) النسبة المئوية لتحلل نفط خام قيارة الثقيل بفعل الفطرين المستخدمين في الدراسة والتآزر بينهما

وتعد فترة التحضين ذات تأثير ايجابي على نسبة تحلل النفط الخام فقد ذكر [19] ان نسبة التحلل قد ازدادت طردياً بمقدار (55 , 60 , 60 , 90)% عند التحضين لفترات (7 , 14 , 21 , 28) يوماً على التوالي بفعل الفطر *A.niger* واستخدمت الطريقة الوزنية لتحديد النسب المئوية للتحلل.

وتبين ان الفطر *Lentinus subnudus* هو السائد في الترب الملوثة بالنفط الخام في نيجيريا, وهناك عوامل لها دور في تحديد النسب المئوية للتحلل الحيوي للنفط الخام ومنها فترة التحضين، اذ اظهر هذا الفطر قدرة بلغت 20% في تحليل النفط الخام بعد فترة تحضين بلغت 3 أشهر فيما ارتفعت هذه القدرة الى 40% بعد ستة أشهر بفعل الفطر نفسه الذي ينتمي الى الفطريات الخيطية البيضاء [26].

واختلفت نتائج البحث الحالي مع نتائج [27] اذ ذكر ان فطر *A.niger* كان الاقدر من بين مجموعة من الفطريات المستخدمة في التجربة على ازالة هيدروكاربونات النفط الخام واستخدامها للطاقة والكاربون بنسبة بلغت 94% بعد سبعة ايام من التحضين.

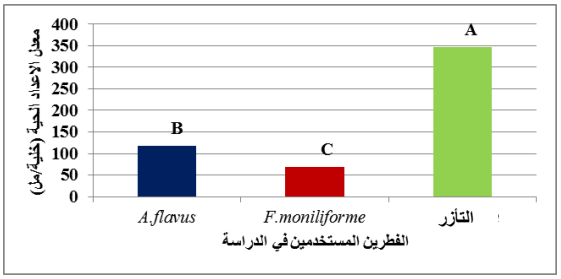
وتدل البحوث ان زيادة تراكيز النفط الخام تؤثر على الكميات المتحللة منه اذ تتناسب قدرة الفطريات White rot fungi عكسيا مع تراكيز النفط الخام [11].

في حين انخفضت امكانية الفطر *A.niger* لتحليل النفط الخام اذ اوضح [28] ان الفطر له القدرة الكافية لاختزال النفط المتسرب الى التربة بنسبة قدرها 9.8% . واظهر التحليل الاحصائي اختلافاً معنوياً بين الفطر *A.flavus* والتآزر من جهة والفطر *F.moniliforme* من جهة اخرى عند مستوى احتمالية 0.05 ≥ P, لاحظ الشكل (7). تقاربت النتائج مع نتائج الباحثان [29] اذ استطاع فطر *A.niger* من تحليل نسبة من النفط الخام بلغت 86.94% واضاف الباحثان ان الفطر المذكور اظهر القدرة لتحطيم واستهلاك الهيدروكاربونات واستخدامها كمصدر لنموه وبذلك يعد كعامل حيوي لتخليص وتنظيف المواقع الملوثة في البيئة من النفط الخام.

ولم تتفق نتائج بحثنا مع ما اشار اليه [20] ان التحلل الحيوي لنفط خام القيارة الثقيل بلغ 64.82% بفعل الفطر *A.versicolor* وهذا يدل على ان فطر *A.flavus* المستخدم في بحثنا لتحليل نفس النفط الخام كان اكفأ من قدرة *A.versicolor* في التحلل الحيوي.

الشكل (8): الاعداد الحية للفطرين المستخدمين والتآزر بينهما الناميان على نفط خام القيارة الثقيل بالتحضين بدرجة 30 ^{o}C لمدة اربعة اسابيع

وبالرجوع الى الشكل (8) الذي يمثل اعداد الفطريات الحية المحللة للنفط الخام اذ ان الفطريات تبدأ بالظهور في الزمن الابتدائي وبشكل منخفض وتبدأ اعدادها بالارتفاع تدريجياً في الاسبوعين الاول والثاني من التحضين اذ تبدأ بالانخفاض في الاسبوعين الثالث والرابع وتتقارب هذه النتائج مع ما ذكره [30]. اذ اوضح ان اعداد الفطريات المحللة للنفط الخام تزداد اعدادها خلال الاسبوع الاول من التحضين ثم تعاود الانخفاض التدريجي خلال الاسابيع الاربعة المتبقية من الدراسة. وتؤكد البحوث العلمية ان الفطريات تمتلك امكانيات مدهشة لتنظيف البيئات الملوثة وتصبح المواقع الملوثة كحاضنات للأنواع القليلة من الفطريات المستهلكة للملوثات [31].

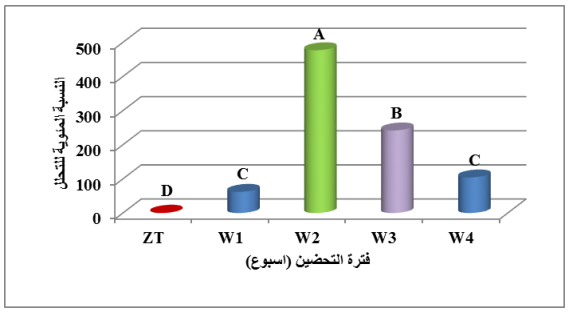


الشكل (9) معدل الاعداد الحية (cell/ml) للفطرين الناميين على نفط خام القيارة الثقيل تبعاً لنوع الفطر المستخدم

يظهر الشكلان (9) و (10) ان معدل الاعداد الحية (خلية / مل) تعكس فروقاً معنوية عند مستوى احتمالية p≤0.05 وكما هو واضح من الحروف A,B,C في الشكل (9).

ويتضح من نتائج التحليل الاحصائي المؤشر في الشكل (10) ان هناك فروق معنوية واضحة في معدل الاعداد الحية للفطرين *A. Flavus* و *F. Moniliforme* الناميين على نفط خام القيارة الثقيل خلال فترات التحضين اذ يختلف الاسبوعين الاول والرابع معنوياً عن

كل الاسابيع الاخرى, اذ يظهر النمو اختلافاً معنويا عند مستوى $p\leq0.05$, الحروف (D, C, A, B, C) على التوالي لاسابيع النمو المؤشرة على الشكل.

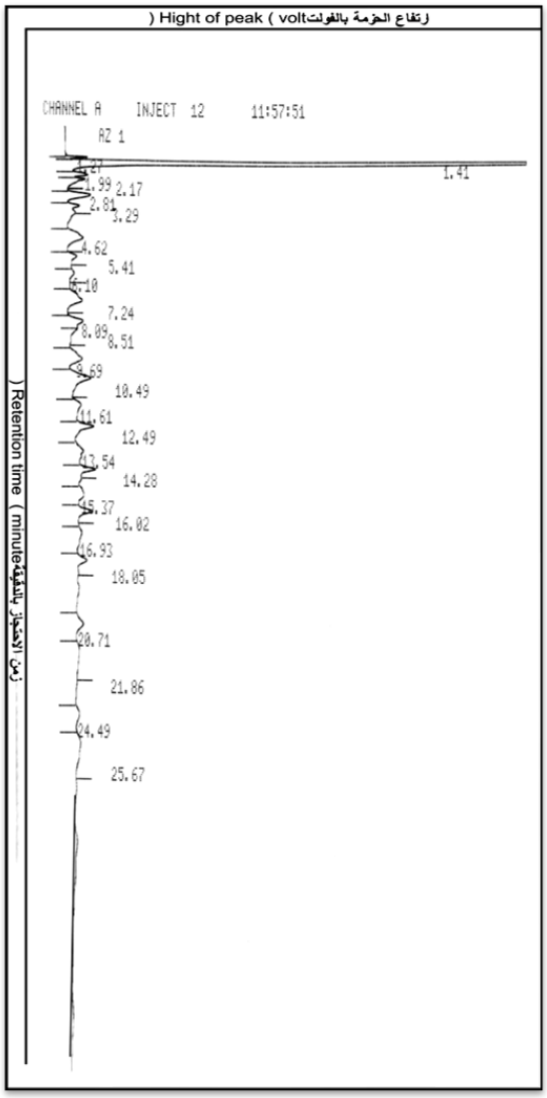


الشكل (10): متوسط الاعداد الحية (cell/ml) للفطرين الناميين على نفط خام القيارة الثقيل تبعاً لفترة التحضين المستخدمة (4 اسابيع)

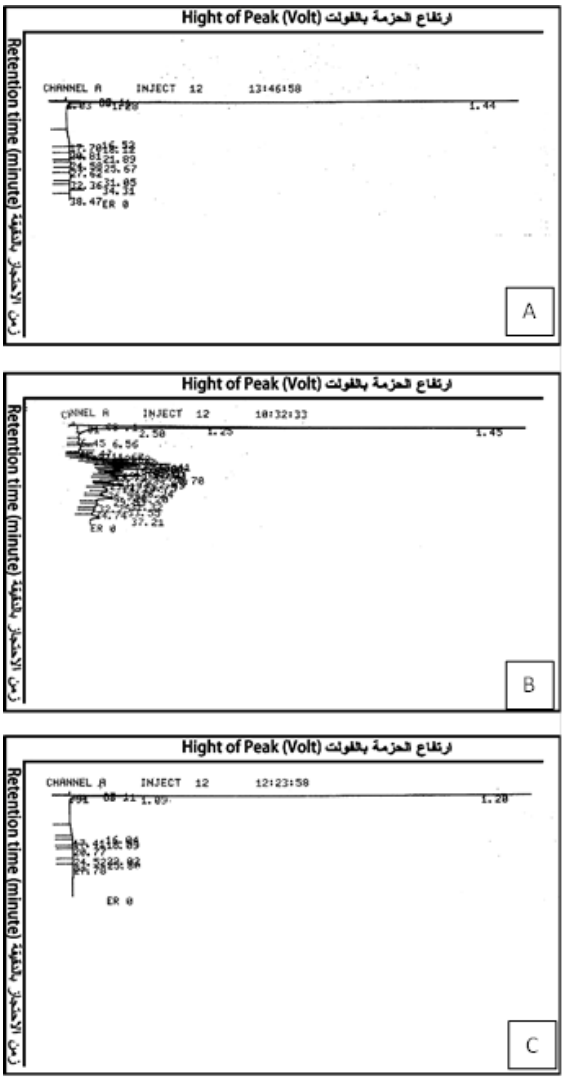
بالرجوع للأشكال المتعلقة بحدوث التحلل الحيوي باستخدام جهاز كروماتوكرافيا الغاز لنفط خام القيارة الثقيل تبين تلاشي عدد من الحزم مما يدل على فعالية استهلاك هيدروكاربونات النفط الخام بفعل الفطرين المستخدمين في هذه الدراسة، وبمقارنة تحلل عينة السيطرة باستخدام تقنية جهاز كروماتوكرافيا الغاز مع المعاملات، لاحظ الشكلين (11, 12) نجد اختفاء عدد من الحزم بفعل التآزر بين الفطرين ، اذ ان الاختفاء كان عاليا وهذا يثبت صحة الدلائل الوزنية اذ كان التحلل الوزني 81.05% بفعل التآزر الفطري لتحليل نفط خام القيارة الثقيل الاشكال (12A,7) ومن ملاحظة الاشكال الخاصة بالأعداد الحية فإنها تعكس هذا التحلل, لاحظ الاشكال (8–10) وهذا يؤكد قدرة الفطريات العالية في التحلل واستخدمت كثير من الدراسات تقنية كروماتوكرافيا الغاز والدلائل الوزنية والاعداد الحية لاظهار حدوث التحلل الحيوي للهيدروكاربونات النفطية [32].

ان استخدام كروماتوكرافيا الغاز أظهر بوضوح اختفاء عدد من الحزم فضلاً عن قلة مساحة هذه الحزم بالمقارنة مع عينة السيطرة [33]. وقد تبين من خلال قدرات كل من الفطرين أن التحلل الحيوي كان واضحاً، أنظر الاشكال (12. B, C) . وعند ملاحظة كل من نتائج تقنية كروماتوكرافيا الغاز والطريقة الوزنية والاعداد الحية أثبتت الطرق المتخصصة وغير المتخصصة امكانية الفطرين لتحليل النفط الخام الثقيل.

اذ أثبتت نتائج تحلل النفط الخام باستخدام تقنية كروماتوكرافيا الغاز مدى التحلل الحيوي للعينات بالمقارنة مع عينة السيطرة [34].



الشكل (11): تحليل كروماتوكرافيا الغاز لنفط خام القيارة الثقيل (عينة المقارنة) المحضن بدرجة 28م° لمدة 28 يوما



الشكل (12): تحليل كروماتوكرافيا الغاز لنفط خام القيارة الثقيل بتركيز 2% المحضن بدرجة حرارة 28م° لمدة 28 يوم بفعل :-

A: التآزر بين الفطرين Synergism

B: بفعل الفطر *A.flavus*

C: بفعل الفطر *F.moniliforme*

المصادر

1. **Chorom, M.; Sharifi, H. S.; and Motamedi, H. (2010 b)**. Bioremediation of a crude oil- polluted Soil by application of fertilizers. Iran. J. Environ. Health, Sci. Eng. Vol. 7, No. 4. 319-326.

2. **Mittal, A. and Singh, P. (2009).** Isolation of hydrocarbon degrading bacteria from Soils contaminated with crude oil spills. Indian J. of experimental biology. Vol. 47, P. 760-765.

3. **Binsadinq, A.R.H. (2015)** Fungal Biotreatment of Petroleum Contamination. G_J. of Environmental Science and Technology 2(4) P. 56-59.

4. **AL- Ghamdi, A. Y. (2011).** Investigation the ability of five fungal species to utilize Gasoline as sole carbon source. Egypt. Acad. J. biology. Sci., 3 (1): 7-12.

5. **Leyval, C.; Joner, E. J.; del Val, C.; and Haselwandter, K. (2002).** Potential of Arbuscularmycorrhizal Fungi for bioremediation. My corrhizal Technology in Agriculture. Birkhauservertag. 175-186.

6. **Ali, N.; Dashti, N.; AL- Mailem, D.; Eliyas, M.; and Radwan, S.; (2011).** Indigenous soil bacteria with the combined potential for hydrocarbon consumption and heavy metal resistance. Environ Sci. pollut. Res. Springer, 1-9.

7. **Farid, W. A (2012).** Bioremediation of oil contaminated soil by Axenic and mixed cultures of bacteria and fungi. AL- Taqani, Vol. 25, No. 2, 1-16.

8. **Leahy, J. G. and CoLwell, R. R. (1990).** Microbial Degradation of Hydrocarbon in the

environment. American Society for microbiology. Microbiological review. Vol. 54, No.3, p. 305-315.
9. **Gadd, G. M. (2004).** Mycotransformation of organic and inorganic substrates. Division of environmental and applied biology. Biological Sciences institute, school of life Sciences. University of Dundee. Scotland. UK. Mycologist, Vol. 18, Part. 2, P. 59-70.
10. **Saratale, G.; Kalme, S.; Bhosale, S. and Govindwar, S. (2007).** Biodegradation of kerosene by Aspergillusochraceus. J. Basic microbiology, 47., 400-405.
11. **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. 317-322.
12. **Chorom, M.; Hosseini, S. S. and Motamedi H. (2010 a).** Bioremediation of crude oil polluted soil as affected by sewage- sludge. 19th World Congress of Soil Science, Soil Solutions for Changing World. 4-7.
13. **Zajic, E. and Supplisson, B. (1972).** Emulsification and degradation of Bunker "fuel oil by microorganisms. Biotechnol, Bioeng. 14:31-43.
14. **AL- Nasrawi, H. (2012).** Biodegradation of crude Oil by fungi Isolated from Gulf of Mexico. Journal Bioremed Biodegrade. 3:4,Vol. 3, Issue 4 P. 1-6.
15. **Obioye O.P.; Akinsola R.O.; Arinsiola S.A.; Damisa, D.; and Auta,.S.H. (2013).** Biodegradation of crude oil by *sacchromyces cerevisia* isolated from fermented Zobo (Locally fermented Beveage in Nigeria). Pakistan J. of Biological sciences. P (1-4).
16. **Shara, S. I. and Moustafa, Y. M. (2009).** Pollution Assessment of soil Environment. Egyptian petroleum research Institute, J. App. Sci. Res. 5 (12): 2406-2411.
17. **الراوي، خاشع محمود وخلف، عبد العزيز محمد (2000).** تصميم وتحليل التجارب الزراعية، كلية الزراعة والغابات، جامعة الموصل- العراق، دار الكتب للطباعة والنشر.
18. **Obayori, O. S.; Salam, L. B.; and Omotoyo, I. M. (2012).** Degradation of weathered crude oil (Escravos Light) by bacterial strains from hydrocarbons - polluted site. African J. of microbiology research Vol. 6 (26). 5426-5432.
19. **Al.Jawhari I.F.H. (2014).** Ability of some soil fungi in biodegradation of petroleum hydrocarbon. J. of applied and environmental microbiology 2.2 :46-52.
20. **ثلج، كركز محمد وعويد، ياسين حسين (2008).** التأثير الانفرادي والمشترك لبعض الاحياء المجهرية في التحلل الحيوي للنفط الخام، مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية، المجلد (8)، العدد (1)، 2008، ص1-11.
21. **Zhang, H.H.; Xue. Q.H.; Gao, H.; Ma, X. and wang.P (2016).** Degradation of crnde oil by fungul enzyme preparations from *Aspergillus. Spp* from potential use in inhanced oil recovery. J. of chemical and technology and biotechnology. Vol, 91. P 865-875.
22. **Steliga, T. (2012).** Role of fungi in biodegradation of petroleum hydrocarbons in Drillwest. Oil and gas institute, Krakow, Poland. Pol. J. Environ. Stud. Vol. 21, No. (2): 471-479.
23. **Okoh, A. I. (2006).** Biodegradation alternative in the cleanup of petroleum hydrocarbon pollutants. Standard Review. Biotechnology and Molecular Biology Review. Vol. 1 (2), 38-50.
24. **Hamzah, A.; Abu-Zarin, M.; Abdulhamid, A.; Omar, O. and Senafi, S. (2012).** Optimal physical and nutrient parameters for growth of Trichodermavirens UKMP-IM for heavy crude oil degradation. Sains Malaysiana 41(1):71-79.
25. **Lindstorm, J. E.; White, D. M.; and Braddock. J.F. (1999).** Biodegradation of Dispersed oil using corexit 9500. A report produced for the Alaska department of environmental conservation division of spill prevention and response 1-35.
26. **Adenipekun, C. O.; Fasidi, I. O. (2005).** Bioremediation of oil- polluted Soil by *Lentinus subnudus*, a Nigerian white- rot Fungus. African. J. of biotechnology. Vol. 4 (8) . 796-798.
27. **Burghal, A.A.; Abu-Mejdad. N.M.J.A; and Al-Tamini, W.H (2016).** Mycodegradation of crude oil by fungal species isolated from petroleum contaminated soil. International J. of innovative research in science engineering and technology. Vo;,5. P:1517-1524.
28. **Moustafa, A.M. (2016).** Bioremediation of oil spill in kingdom of Saudi Arabia by using fungi isolated from polluted soils. Int. J. curr. Microbiol. App. Sci. (2016). 5(5): 680-691.
29. **Majekodunml, A.O. and Adongbede, E.M. (2016).** Biodegradation of crude oil using *aspergillus niger* isolated from the rhizosphere of Helianthus annuus. Res. J. of Agriculture and Environmental management Vol. 5 (4) PP. 132-137
30. **Vincent, A. O.; Felix, E.; Weltime, M. O.; Ize-iyamu, O. K.; and Daniel, E. E. (2011).** Microbial Degradation and its kinetics on crude oil polluted soil. Research. J. Chem. Sci. Vol. 1 (6), 8-14.
31. **Norton, J. M. (2012).** Fungi for bioremediation of hydrocarbon pollutants. University of Hawaii at Hilo, Hawaii Community College, HOHONU. Vol. 10, p. 18-21.
32. **Hamzah, A.;Salleh, S. N. M. and Sarmani, S. (2014).** Enhancing Biodegradation of Crude Oil in Soil Using Fertilizer and Empty of Oil Palm. Sains Malaysiana 43(9):1327-1332.
33. **Thamer, M.; Al-kubaisi, A.; Zahrawy Z.; Aldin Abdullah, H.; Hindy, I. and Abdkadium, A. (2013).** Biodegradation of Kirkuk light crude oil by *Bacillus thuringiensis*, Northern of Iraq. Natural Science, vol. 5, No. 7, 865 - 873.
34. **Gopinathan, R.; Prarkash, M.; and Bharathirajan, R. (2012).** An experimental study for crude oil biodegradation in contaminated soil. Int. J. Curr. Microbial. App. Sci. 1(1): 12 – 16.

ISSN: 1813 – 1662 (Print)
E-ISSN: 2415 – 1726 (On Line)

The Biodegradation for Two Kinds of Crude Oils by the Action of *Fusarium moniliforme* and *Aspergillus flavus*

Yassien Hussian Owaied Al-Juboory
Department of Biology , College of Education for Women , University of Tikrit , Tikrit , Iraq
yassien.dr57@yahoo.com

Abstract

The results showed that two fungi used in this research had positive and effective role in biodegradation of Kirkuk mid crude oil and Al-Qayarah heavy crude oil. Synergism between *F.moniliforme* and *A.flavus* was able to biodegrade hydrocarbons of Kirkuk mid crude oil by percent 86.6% then *A.flavus* could biodegrade the same crude oil by percent 85.3% where's *F.moniliforme* at third stage by percent 68.6%.

But the percent of biodegradation of Al-Qayarah heavy crude oil, showed that synergim could biodegrade by percent 81.05%. *A.flavus* by percent 78.9% but *F. moniliforme* by percent 65.4%.

From the results of viable counts for the two grown fungi on the two kinds of crude oil showed adaptation for new ecology and increase in 1st and 2nd weeks from growth but decrease the viable counts for two fungi in the 3rd., 4th. weeks of growth, analysis by gas-chromatography improved biodegradation the hydrocarbons of two kinds of crude oil by the action of two fungi used in this research.

These two techniques produced another type for measured the profile oil hydrocarbons and disappeared many of peaks include components of crude oil which cleared through hydrocarbons profile before and after using two fungi as biotic analyzed factors, to affirmative results which cleared by weight as percent's in this research.