Research Article

Agricultural Engineering., 47(2) (2024) 185-200 ISSN (E): 2588-526X

DOI: 10.22055/agen.2024.46614.1720 ISSN (P): 2588-5944

Investigation of the tolerance to crude oil in the fungal strains isolated from the Maron oilfield of Ahvaz

F. Dehdari [1], M. Mehrabi-Koushki [2], H. Alvanipour [3*] and J. Hayati[4]

1. Former M. Sc. student, Department of Plant protection, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran.

2. Associate Professor, Department of Plant protection, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran.

3. Ph.D. in Mycology and Plant Pathology, Department of Plant protection, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran.

4. Associate Professor, Department of Plant protection, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran.

Received: 16 pril 2024 Accepted: 25 May 2024 *Corresponding Author: alwanii.2006@gmail.com

Abstract

Introduction: Soil contamination by crude oil occurs in oilfield in different processes including extraction, transfer and refining of crude oil and its products. Bioremediation is an interesting strategy to remediation of soils polluted with crude oils and its derivatives. During bioremediation process, microorganisms degrade and transform persistent crude oil hydrocarbons into simple and less persistent molecules. It is very important to identify the microorganisms that can utilize and degrade these pollutants. Generally, fungi play an essential role in the biodegrading and remediation of soils polluted with hydrocarbons. Therefore, the present study was carried out to evaluate the tolerance of the fungal isolates obtained from the oil-contaminated soil to crude oil in Maroon oilfield.

Materials and Methods: Twenty-three fungal isolates belonging to 12 genera were used to investigate their tolerance to crude oil. These fungi had been isolated in December 2016 from soil samples contaminated with crude oils from four sites in the maroon oilfield of Ahvaz. The fungal isolates were obtained from the fungal collection of the department of plant protection of Shahid Chamran University of Ahvaz. The fungi had been identified based on phylogenetic analysis and morphological characteristics. The tolerance of these fungi to crude oil was studied by growing them on PDA medium containing concentrations of 30, 40, and 50% V/V of crude oil and through radial growth measurements. The tolerance to crude oil was calculated based on growth inhibition percentage of fungal isolates. The research was conducted in a factorial completely randomized design for analysis of the growth-inhibitory percentages.Three replications were performed for each control (PDA-Tween culture medium without crude oil) and treatment. Mean data comparisons were performed based on Duncan's multi-range method at 1% significance level ($P<0.01$), using SAS 9.1 software.

Results and Discussion: All isolates grew in the culture medium containing different concentrations of crude oil. The results of variance analysis showed significant difference between the main effects of isolates and different levels of crude oil, as well as their interaction effects on growth inhibition ($P< 0.01$). The growth inhibition means of three concentrations of 50, 40, and 30% was 33.6, 26.1, and 21.4,

© 2024 The Author(s). Published by Shahid Chamran University of Ahvaz. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

respectively, which indicated the direct relationship between the concentration level and the growth inhibition percentage. *Aspergillus* sp. SCUA-Deh-3 indicated the lowest growth by 65.1 inhibition growth and highest sensitivity to oil. There was significant difference between this isolate and all fungi ($P< 0.01$). *M. circinelloides* SCUA-34 and *Cladosporium puyae* SCUA-m5f4 ranked next with 45.1 and 41.8 inhibition of growth, respectively. *Alternaria destruens* SCUA-Deh-1 and *Aspergillus* sp.SCUA with 5.05 and 6.5 inhibitions had the lowest sensitivity and inhibition. Also, the growth rate of both used *Alternaria* isolates enhanced by increasing oil concentration in media. The growth inhibition means were equal only in two isolates, *Penicillium chrysogenum* SCUA-Deh-12 and *Aspergillus* sp. SCUA-m1f8r2, in two concentrations of 30 and 40 % (4.6 and 19.6, respectively). Also, *Aspergillus* sp. SCUA-m3f10 had equal growth inhibition in two concentrations of 40 and 50 (28.5). Furthermore, the growth of *Aspergillus* sp. SCUA-Deh-3 initially stimulated at 40% concentration and then the growth inhibition increased at concentration of 50%.

Conclusion: These results showed that *Alternaria destruens* SCUA-Deh-1 and *Aspergillus* sp. SCUA-m1f7r2 have more growth potential than other fungi at presence of crude oil in growth medium. Also, the growth inhibition of *Alternaria* decreased by increasing of crude oil concentration. These two isolates were considered the most tolerant isolates to crude oil. So it seems; these native isolates are among the best fungi for bioremediation of oil-contaminated soils. However, regarding the biological degradation of crude oil, it is necessary to consider physicochemical properties and bioavailability of hydrocarbon pollutants for these two isolated and their degredation mechanisms.

Keywords: ***Growth inhibition, Tolerance, Fungi, Maron, Crude oil***

مهندسی زراعی (مجله علمی کشاورزی) جلد ۴۷ شماره۲، تابستان ۱۴۰۳

مقاله پژوهشی

بررسی میزان تحمل به نفت خام در سویه‌های قارچی جداسازی شده ازحوزه‌ی نفتی مارون اهواز

فرزانه دهداری[۱]، مهدی مهرابی کوشکی[۲]، حمید علوانی پور[۳*] و جمشید حیاتی[۴]

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد،گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، ایران
۲- دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، ایران
۳- دکترای قارچ‌شناسی و بیماری شناسی گیاهی، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، ایران
۴- دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، ایران

تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۲۸

پذیرش نهایی: ۱۴۰۳/۰۳/۰۵

کلمات کلیدی:

بازدارندگی از رشد،

تحمل،

قارچ،

مارون،

نفت خام

* عهده دار مکاتبات:
Email:alwanii.2006@gmail.com

چکیده

آلودگی‌های نفتی در خاک حوزه‌های نفت‌خیز، در مراحل مختلف استخراج، پالایش و حمل و نقل نفت و فرآورده‌های آن امری معمول است. شناسایی ریزجاندارانی که توانایی استفاده از این مواد نفتی و تجزیه‌ی آنها را دارند بسیار حائز اهمیت است. بنابراین این تحقیق، در جهت ارزیابی میزان تحمل سویه‌های قارچی به دست آمده از حوزه‌ی نفتی مارون نسبت به نفت خام اجرا شد. ۲۳ سویه‌ی بومی متعلق به ۱۲ جنس جهت بررسی مقاومت سویه‌های قارچی به ترکیبات نفتی به کار رفت. جهت انجام آزمون بررسی میزان تحمل به مواد نفتی، میزان رشد شعاعی سویه‌ها روی محیط غذایی PDA حاوی غلظت‌های ۳۰، ٤٠ و ٥٠ درصد نفت خام اندازه‌گیری شد. میزان تحمل به مواد نفتی براساس فرمول درصد بازدارندگی از رشد محاسبه گردید. این پژوهش در یک آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی برای متغیر درصد بازدارندگی از رشد انجام شد. آنالیز آماری مقایسات میانگین داده‌ها نیز بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن صورت گرفت. تمام سویه‌ها در محیط‌های غذایی حاوی مواد نفتی رشد و تولید زیتوده کرده و نسبت به غلظت‌های مختلف نفت خام متحمل بودند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد بین اثرات اصلی سویه‌ها و سطوح مختلف نفت خام و همچنین اثرات متقابل آنها در سطح احتمال ۰/۰۱ اختلاف معنی‌داری وجود دارد. میانگین درصد بازدارندگی از رشد برای سه غلظت ۳۰، ٤٠ و ٥٠ درصد به ترتیب ۲۳/۱، ۲٦/۱ و ۳۲/۱ بود که حاکی از رابطه‌ی مستقیم سطح غلظت و درصد بازدارندگی می‌باشد. مقایسه میانگین درصدهای بازدارندگی از رشد در سویه‌های مختلف در حضور غلظت‌های مختلف نفت خام نشان داد *Aspergillus* sp.SCUA-Deh-3 با

۶۱/۹ و *Mucor circinelloides* SCUA-34 با ٤٥/١ درصد بازدارندگی از رشد، کمترین توانایی رشد و بالاترین حساسیت به محیط نفتی را داشته و به‌طور معنی‌داری (P< 0.01) نسبت به سایر سویه‌ها از درصد بازدارندگی بالاتری برخوردار بودند. سویه‌های *Alternaria destruens* SCUA-Deh-1 و *Aspergillus* sp.SCUA-m1f7r2 به ترتیب با ٥/٠٥ و ٦/٥ درصد بازدارندگی کمترین میزان حساسیت و بازدارندگی را داشته و با تمام سویه‌های دیگر اختلاف معنی دار(P< 0.01) داشتند. همچنین در هر دو سویه-ی به کار رفته قارچ *Alternaria*، بازدارندگی از رشد با افزایش غلظت نفت خام، روند کاهشی داشت. این نتایج گویای این مهم است که *Alternaria destruens* SCUA-Deh-1 *Aspergillus* sp.SCUA-m1f7r2 در محیط‌های آلوده به نفت خام از پتانسیل و توان رشدی بیشتری نسبت به سایر قارچ‌ها برخوردار هستند. سرعت رشد قارچ *Alternaria* با افزایش غلظت نفت خام افزایش داشت. این دو سویه به عنوان متحمل‌ترین سویه‌ها به نفت خام بوده و به نظر می‌رسد جزء بهترین قارچ‌ها برای مباحث زیست پالایی خاک‌های آلوده به نفت در مناطق بومی باشند.

مقدمه

افزایش فعالیت‌های انسانی، اکوسیستم را به شکل-های مختلف تحت تاثیر قرار داده و باعث انتشار انواع آلاینده‌ها در بوم‌های زیستی شده است. آلودگی‌های حاصل از استخراج، پالایش و حمل و نقل نفت و فرآورده‌های آن از مخاطرات و اصلی‌ترین نگرانی‌های جهان امروز به حساب می‌آیند (۶، ۱۳، ۱۸). شواهد حاکی از آن است که چالش‌های حاصل از آلودگی‌های نفتی منجر به ایجاد بحران‌های بزرگی در هر دو بعد زیستی و غیر زیستی شده است (۲۱، ۲۹). ترکیبات آلاینده‌ی نفتی به دلیل سمیت بالا، سرطان‌زا و ژنوتوکسیک بودن سلامت موجودات را به شدت تهدید کرده و خطر مستقیم و غیرمستقیمی برای تمام اشکال حیات سیاره‌ی خاکی ایجاد کرده‌اند (۵، ۲۲، ۲۹). در مباحث مرتبط با آب، خاک و گیاه ترکیبات نفتی بر رشد و نمو گیاه اثر سمی داشته و باعث تغییر در خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک می-شوند. بنابراین پتانسیل چنین خاک‌هایی برای کشت و زرع به شدت پایین می‌آید (۵، ۶، ۱۳). از طرف دیگر گسترش آلودگی و نشت مداوم مواد نفتی، آلودگی آب‌های زیرزمینی را در پی داشته (۲۱) و محیط زیست دریایی که به عنوان بزرگ‌ترین مخزن آلاینده‌های نفتی است را نیز متاثر کرده است. هیدروکربن‌های نفتی ترکیبات پایداری هستند که حذف آنها از خاک امری ضروری است. نفت خام مخلوط ناهمگنی متشکل از هیدروکربن‌های آروماتیک و آلیفاتیک، رزین‌ها و آسفالتین‌ها می‌باشد. مکانیسم تجزیه‌ی زیستی این مواد متفاوت بوده و به وزن مولکولی آنها بستگی داشته و به طور کلی این مواد از نظر حساسیت به زیست تخریبی به ترتیب حالت افزایشی دارند (۹، ۲۹). با وجودی که هیدروکربن‌های نفتی منبع غنی از انرژی و کربن برای بعضی از میکروارگانیسم‌ها هستند (۱۴) لکن پاکسازی زیستی مناطق آلوده به نفت خام عمدتا به دلیل تنوع زیستی ضعیف میکروفلور بومی و کمبود میکروب‌های تخصصی بومی محدود است (۲۹). در راستای پاکسازی و دفع این آلاینده‌های خطرناک و اصلاح خاک‌های

آلوده توجه روز افزون به توسعه و به کارگیری راهبرد-های نوآورانه شده است (۲۱، ۲۹).

زیست‌پالایی[1] یک راهبرد جذاب برای مهار و خنثی کردن آلودگی خاک با استفاده از میکروارگانیسم‌های اولئوفیل می‌باشد. این روش نسبت به روش‌های فیزیکوشیمیایی مقرون به صرفه، سازگار با محیط زیست و دارای راندمان بالا می‌باشد (۲، ۵، ۱۴، ۲۹). این روش مبتنی بر به کارگیری عواملی است که قادر به سنتز آنزیم‌هایی هستند که باندهای C:H را از هیدروکربن‌های نفتی جدا و آنها را به مولکول‌های بی‌ضرر و کم دوام تبدیل می‌کنند (۲۳). زیست پالایی به دلیل عاری بودن از آثار مخرب زیستی یک جایگزین ایمن برای سایر روش‌های تیماری آلاینده‌ها است (۲).

قارچ‌ها نقش اساسی در تجزیه و تبدیل مواد شیمیایی خطرناک به مواد بی‌خطر طی فرآیند زیست‌پالایی دارند. این قابلیت و پتانسیل بالای پاکسازی زیستی قارچ‌ها مرهون تولید هیف گسترده و زیتوده‌ی بزرگ و ترشح آنزیم‌های قوی خارج سلولی بوده که از آلاینده‌ها به عنوان بستری برای رشد استفاده می‌کنند (۲۲). عموما قارچ‌ها روی انواع مختلف مواد آلی رشد کرده و تحت تنش‌های مختلف محیطی زنده مانده و حالت رشد انتهایی، آنها را قادر می‌سازد تا مناطق گسترده‌ای از خاک را تسخیر و میسیلوم خود را توسعه دهند. بنابراین گفته می‌شود زیست پالایی توسط قارچ‌ها نسبت به باکتری‌ها کاراتر است (۷، ۱۳، ۲۶). آنزیم‌های کاتابولیکی خارج سلولی قارچ‌ها با گزینش پذیری کم توانایی تجزیه‌ی کربوهیدرات‌های پیچیده را داشته و به قارچ‌ها ظرفیت بیوشیمیایی و اکولوژیکی بالایی می‌دهند (۵، ۲۲). در واقع قارچ‌ها می‌توانند ماکرومولکول‌هایی نظیر لیگنین و شبه لیگنین را که هتروپلیمر مقاوم و غیر فنلی هستند و شبیه مولکول‌های هیدروکربنی مقاوم موجود در نفت خام هستند، را تجزیه کنند. سیستم تجزیه مولکول‌هایی نظیر لیگنین شامل به کارگیری اگزوآنزیم-های اکسیداتیو غیر اختصاصی نظیر لاکازها (Lac) و لیگنینولیتیک پراکسیدازهایی با پتانسیل رداکس بالا از جمله لیگنین پراکسیداز (LiP) و منگنز پراکسیداز (MnP) بوده که معمولاً این آنزیم‌ها نسبت به سوبسترا اختصاصی نیستند (۵، ۹، ۲۲). قارچ‌ها موجوداتی هستند که می‌توانند از مواد نفتی به عنوان منبع کربن استفاده کنند. نتایج تحقیقات نشان داده که حداقل سطح کربن کافی در محیط غذایی فاقد منبع کربن و حاوی نفت خام سبک برای قارچ‌های متحمل به نفت خام جداسازی شده از الجزایز یک دهم درصد است و پایین‌تر از این میزان قارچ‌ها رشد نمی‌کنند (۱۴).

قارچ‌های مختلفی فلور خاک‌های آلوده به مواد نفتی را تشکیل می‌دهند. *Aspergillus* و *Penicillium* رایج‌ترین جنس‌های موجود در خاک‌های استوایی هستند که قادر به تجزیه هیدروکربن‌ها می‌باشند (۱۱). جنس *Trichoderma* نیز در منابع متعدد به عنوان عامل تجزیه هیدروکربن‌های نفتی ذکر شده است (۹، ۱۱). در پژوهش‌های انجام شده یکی از جدایه‌های *Trematophoma* جداسازی شده از خاک‌های آلوده به نفت در مارون، با قابلیت ۷۰ درصد تخریب در طی ۱۵ روز، به عنوان فعال‌ترین جدایه در تخریب نفت خام و تولید زیتوده معرفی شده بود (۱۵). در خوزستان پژوهش‌هایی در رابطه با جداسازی و شناسایی قارچ‌های بومی مناطق نفتی استان خوزستان به انجام رسیده است (۷، ۸).

ایران از نظر ذخایر نفتی سومین کشور دنیا بوده و استان خوزستان با ذخایر عظیم نفت و گاز از مهمترین مناطق ایران به شمار می‌آید (۴). در ایران انجام عملیات حمل و نقل فرآورده‌های نفتی با استفاده از شبکه‌ی خطوط فرسوده و نشت لوله‌ها و مخازن ذخیره‌سازی (۲۰) و پساب پالایشگاه باعث افزایش ورود آلاینده‌های نفتی به محیط شده است (۲۲). از این رو با توجه به اهمیت موضوع، در این تحقیق میزان حساسیت سویه‌های

1- Bioremediation

قارچی بومی جداسازی شده از خاک‌های آلوده به مواد نفتی در حوزه‌ی نفتی مارون را بررسی شده است. شرکت بهره‌برداری نفت و گاز مارون اهواز یکی از شرکت‌های وابسته به شرکت ملی مناطق نفت خیز جنوب بوده و با وسعتی بالغ بر ۱۴۰۰ کیلومتر مربع در برگیرنده‌ی چندین میدان نفتی است.

مواد و روش‌ها

سویه‌های بومی جداسازی شده از خاک آلوده به مواد نفتی

در این بررسی، ۲۳ سویه‌ی بومی متعلق به ۱۲ جنس جهت بررسی مقاومت سویه‌های قارچی به ترکیبات نفتی به کار رفت. این سویه‌ها در آذرماه سال ۱۳۹۶ از نمونه‌های خاک آلوده به مواد نفتی از چهار میدان نفتی در حوزه‌ی مارون، از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری خاک، جداسازی و براساس آنالیزهای تبارزایی (نواحی ژنی ITS، 28S-D1/D2 و GPDH بر حسب نوع قارچ) و بررسی دقیق ریخت‌شناسی شناسایی شده بودند (۸). سویه‌ها از کلکسیون قارچی گروه گیاهپزشکی دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز تهیه شدند.

آزمون میزان تحمل به نفت خام

روش‌های متعددی برای ارزیابی فعالیت ریزجانداران در محیط‌های آلوده به هیدروکربن‌ها وجود دارد که بطور کلی در دو گروه روش‌های وابسته به کشت و تکنیک‌های مستقل از کشت طبقه‌بندی می‌شوند (۸). در این تحقیق از روش کشت محیط غذایی جامد PDA و سه سطح غلظتی ۳۰، ۴۰ و ۵۰ درصد نفت خام استفاده شد. جهت تهیه‌ی محیط کشت جامد PDA محتوی غلظت‌های مختلف نفت‌خام از پودر سیب‌زمینی-دکستروز-آگار تجاری (QUELAB) حاوی یک میلی‌لیتر محلول پایه ۵۰ میلی‌گرم در لیتر آنتی‌بیوتیک سولفات استرپتومایسین استفاده شد. جهت اختلاط مناسب محیط کشت با نفت‌خام از توین ۸۰ استفاده شد. محیط کشت‌ها در ظروف ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری توزیع و نفت‌خام متناسب با غلظت مورد نظر به آن افزوده شد. بر این اساس برای تهیه ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت PDA حاوی ۳۰٪ نفت‌خام، به هر ارلن، میزان ۳۵ میلی‌لیتر محیط کشت اضافه و محیط استریل گردید. سپس در شرایط سترون به هر ارلن ۱۵ میلی‌لیتر نفت‌خام و ۱/۵ میلی‌لیتر توین ۸۰ اضافه و با استفاده از شیکر مغناطیسی دو فاز قطبی و غیر قطبی محیط کشت-نفت‌خام کاملاً با هم مخلوط و فاز یکنواخت ایجاد شد. بعد از آن ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت بین سه ظرف پتری بصورت کاملاً مساوی تقسیم شد. برای تهیه ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت PDA حاوی ۴۰٪ نفت‌خام نیز به ۳۰ میلی‌لیتر محیط کشت، ۲۰ میلی‌لیتر نفت‌خام و ۲ میلی‌لیتر توین ۸۰ اضافه شد. همچنین برای تهیه‌ی ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت PDA حاوی غلظت ۵۰٪ نفت‌خام، ۲۵ میلی‌لیتر محیط کشت،۲۰ میلی‌لیتر نفت‌خام و ۲ میلی‌لیتر توین اضافه شد. جهت انجام آزمون بررسی میزان تحمل به مواد نفتی، سویه‌ها بر روی محیط PDA کشت و ظروف پتری در شرایط تاریکی در دمای ۲۸°C نگهداری شدند تا از میزان اسپورزایی سویه‌ها کاسته شود. سپس از حاشیه در حال رشد هر سویه دیسک‌هایی به قطر ۵/ میلی‌متر برداشته و به هر ظرف پتری حاوی محیط کشت- نفت‌خام مایه‌زنی شد و ظروف در انکوباتور در دمای ۲۸°C نگهداری شدند. رشد شعاعی سویه‌ها در همه محیط کشت‌ها به صورت روزانه اندازه‌گیری و ثبت شد. برای محاسبه‌ی درصد بازدارندگی از رشد هر سویه، میزان رشد شعاعی در هر تکرار تیمار با میانگین رشد شعاعی در شاهد مقایسه شد و درصد بازدارندگی بر اساس فرمول زیر محاسبه گردید.

$$\text{درصد بازدارندگی از رشد} = \frac{\text{میانگین رشد شعاعی در شاهد} - \text{رشد شعاعی هر تکرار تیمار}}{\text{میانگین رشد شعاعی در شاهد}} \times ۱۰۰$$

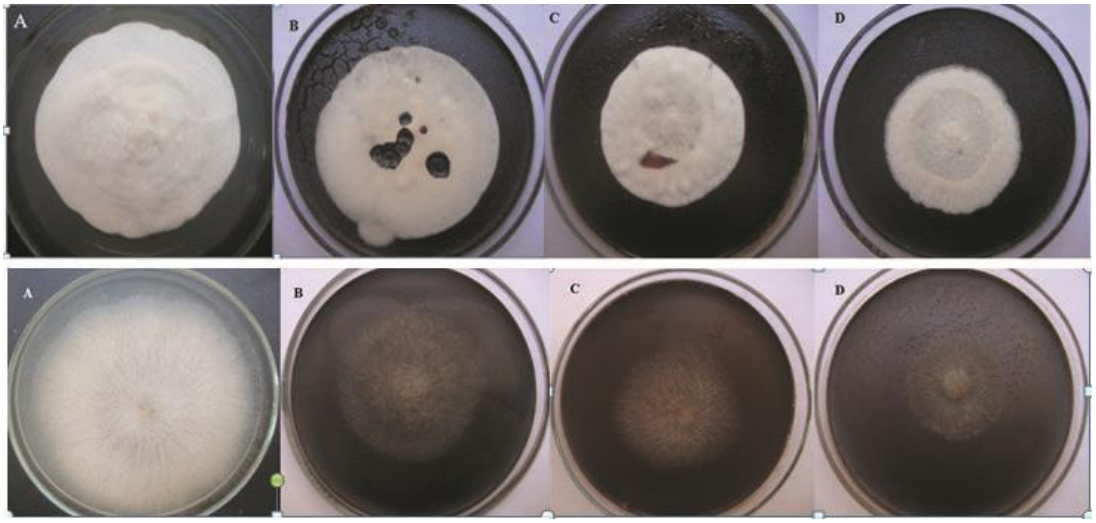
آنالیزهای آماری

این تحقیق در یک آزمایش فاکتوریل (۲۳×۳) در قالب طرح کاملاً تصادفی برای متغیر درصد بازدارندگی از رشد انجام گرفت. فاکتور یک شامل سه سطح غلظت نفت خام (۳۰ ، ۴۰ و ۵۰ درصد حجمی/حجمی) و فاکتور دو شامل ۲۳ سویه‌ی قارچی بود. برای هر شاهد (محیط کشت PDA–توئین فاقد نفت خام) در سه تکرار در نظر گرفته شد. آنالیز آماری داده‌ها شامل: تجزیه واریانس و مقایسات میانگین‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن ($P<0/01$)، با استفاده از نرم‌افزار SAS ۹/۱ انجام شد.

نتایج

مطالعه‌ی رفتار سویه‌های قارچی در غلظت‌های مختلف نفتی، با ثبت روزانه‌ی رشد شعاعی پرگنه‌ها و بر اساس شاخص درصد بازدارندگی صورت پذیرفت. همانطور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود توده‌ی میسلیومی و پرگنه‌ی سویه‌های قارچی در سطح سیاه رنگ محیط کشت PDA حاوی غلظت‌های مختلف نفت خام رشد کرد (شکل ۱). غلظت‌های مختلف نفت باعث متوقف شدن رشد هیچ کدام از سویه‌ها نشد.

جدول تجزیه‌ی واریانس درصدهای بازدارندگی از رشد سویه‌های قارچی در غلظت‌های متفاوت نفتی نشان داد که بین اثرات اصلی سویه‌ها و سطوح مختلف نفت خام تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۱ وجود دارد. اثرات متقابل فاکتورها نیز در سطح احتمال ۰/۰۱ با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشتند (جدول ۱)(ضریب تغییرات= ۱۷/۰۸)).



شکل (۱) رشد سویه‌ی *Penicillium oxalicum* SCUA-Deh-25 (بالا) بعد از هفت روز نگهداری و *Mucor circinelloides* SCUA-34 (پایین) بعد از سه روز نگهداری در دمای ۲۸ درجه سلسیوس، A: محیط کشت شاهد B: محیط کشت حاوی نفت خام با غلظت ۳۰/. C: غلظت ۰/۴۰ نفت خام D: غلظت ۵۰/. نفت خام.

Figure (1) Growth of *Penicillium oxalicum* SCUA-Deh-25 (above) after seven days and *Mucor circinelloides* SCUA-34 (below) after three days at 28°C, A: control medium, B: medium contains 30%. crude oil concentration C: medium contains 40% crude oil concentration and D: medium contains 50% crude oil concentration

جدول (۱) تجزیه واریانس درصد بازدارندگی از رشد سویه‌های قارچی در غلظت‌های متفاوت نفت خام

Table (1) Variance analysis of growth inhibition percentage for fungal isolates at different crude oil concentrations

P value	F Value	میانگین مربعات Mean Square	درجه‌ی آزادی df	منابع تغییرات Source of variation
0.001	73.96	0.158	22	سویه‌ها Isolates
0.001	68.54	0.147	2	غلظت‌ها Concentrations
0.001	5	0.010	44	غلظت‌ها × سویه‌ها Isolates * Concentrations
		0.0021	138	خطا Error

مقایسه‌ی میانگین‌های درصد بازدارندگی از رشد در فاکتور سطوح مختلف نفت خام با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن نشان داد که سطوح مختلف نفت خام در سطح احتمال ۰/۰۱ اختلاف معنی‌داری دارند. براساس این جدول غلظت‌ها و درصد بازدارندگی از رشد با هم رابطه‌ی مستقیم داشته و سطح غلظت ۵۰ درصد با میزان ۳۲/۱ درصد، نسبت به دو سطح غلظتی دیگر از بازدارندگی بیشتری برخوردار بود. کمترین میزان بازدارندگی (۲۳/۱ درصد) مربوط به سطح غلظت ۳۰ درصد بود. همچنین سطح غلظت ۴۰ درصد با ثبت میانگین ۲۶/۱ درصد بازدارندگی با دو غلظت دیگر اختلاف معنی‌دار داشت (جدول ۲).

نتایج مقایسات میانگین در فاکتور سویه‌های قارچی از نظر تحمل و واکنش به نفت خام نشان داد در سطح احتمال ۰/۰۱، سویه‌ها در چندین گروه آماری قرار می‌گیرند (جدول ۳). بر اساس گروه‌بندی آماری درصدهای بازدارندگی از رشد، سویه‌ی *Aspergillus* sp. SCUA-Deh-3 با ۶۱/۹ درصد بازدارندگی از رشد و قرارگیری در گروه a، کمترین توانایی رشد و بالاترین حساسیت به محیط نفتی را داشته و به‌طور معنی‌داری در سطح ۰/۰۱ نسبت به سایر سویه‌ها درصد بازدارندگی بالاتری داشت. سویه‌های *M. circinelloides* SCUA-34 و *Cladosporium puyae* SCUA-m5f4 به ترتیب با ۴۵/۱ و ۴۱/۸ درصد در رتبه‌های بعدی و در گروه b قرار گرفتند. سویه‌های *Alternaria destruens* SCUA-Deh-1 و *Aspergillus* sp. SCUA-m1f7r2 به ترتیب با ۵/۰۵ و ۶/۵ درصد بازدارندگی و قرارگیری در گروه m دارای بیشترین رشد و کمترین حساسیت به ترکیبات نفت خام بوده و با تمام سویه‌های دیگر اختلاف معنی‌دار داشتند. سویه‌ی *Neodidymelliopsis* sp. SCUA-22 نیز با ۱/۰۸ بازدارندگی از رشد و قرارگیری در گروه l در رتبه‌ی بعدی کمترین میزان حساسیت و بازدارندگی قرار گرفت.

بررسی آماری هر دو فاکتور سویه‌های قارچی و غلظت‌های مختلف نفت خام نشان داد بازدارندگی از رشد در دو غلظت ۳۰ و ۴۰ درصد نفت خام تنها در دو سویه‌ی *Penicillium chrysogenum* SCUA-Deh-12 و *Aspergillus* sp. SCUA-m1f8r2 به ترتیب با ۴/۶ و ۱۹/۶ درصد بازدارندگی مساوی هم بود. همچنین در سویه‌ی *Aspergillus* sp. SCUA-m3f10 میزان بازدارندگی در دو غلظت ۴۰ و ۵۰ درصد نفت خام با میزان ۲۸/۵ درصد با هم برابر بود. در سویه‌ی *Aspergillus* sp. SCUA-Deh-3 نیز

روند بازدارندگی از رشد در ابتدا در غلظت ۴۰ درصد نفت خام به صورت کاهشی و تحریک به رشد و سپس در غلظت ۵۰ درصد نفت خام به صورت بازدارندگی و کاهش رشد بود. در هر دو سویه‌ی به کار رفته از قارچ *Alternaria* بازدارندگی از رشد با افزایش غلظت نفت خام، روند کاهشی داشت (جدول ۴).

جدول (۲) میانگین درصد بازدارندگی از رشد فاکتور اصلی غلظت‌های مختلف نفت خام

Table (2) Growth inhibition mean for the main factor of different concentrations of crude oil

غلظت‌ها Concentrations	میانگین بازدارندگی از رشد Mean of growth inhibition	گروه‌بندی Grouping
50%	32.1	a
40%	26.1	b
30%	23.1	c

جدول (۳) گروه‌بندی میانگین درصد بازدارندگی از رشد فاکتور اصلی سویه‌های مختلف قارچی

Table (3) Grouping of the growth inhibition mean for the main factor of different strains

سویه‌ها Strains	میانگین بازدارندگی از رشد Mean of growth inhibition	گروه‌بندی Grouping
Aspergillus sp. SCUA-Deh-3	61.9	a
Mucor circinelloides SCUA-34	45.1	b
Cladosporium puyae SCUA-m5f4	41.8	bc
Rhizopus oryzae SCUA-37	39.6	cd
Penicillium oxalicum SCUA-Deh-11	38.2	cd
A. destruens SCUA-Deh-9	37.1	d
Penicillium sp. SCUA-m3f7	32.4	e
Paramyrothecium terrestris SCUA-32	32	e
Penicillium oxalicum SCUA-m3f15	29.8	ef
Alternaria destruens SCUA-Deh-2	29.6	ef
Aspergillus sp. SCUA-m1f7r2	27.3	fg
Aspergillus sp. SCUA-m1f2	25.8	fgh
Aspergillus sp. SCUA-m3f10	25.3	fgh
Aspergillus terreus SCUA-6	24.1	ghi
Penicillium chrysogenum SCUA-Deh-12	21.6	hij
Allophoma sp. SCUA-16	19.8	ij
Fusarium chlamydosporum SCUA-Deh-10	19.7	ij
Acremonium sclerotigenum SCUA-33	18.3	jk
Penicillium oxalicum SCUA-Deh-25	17.3	jk
Curvularia sp. SCUA-8.1	13.9	kl
Neodidymelliopsis sp SCUA-22	10.8	l
Aspergillus sp. SCUA-m1f8r2	6.5	m
Alternaria destruens SCUA-Deh-1	5	m

میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

جدول (٤) میانگین درصد بازدارندگی از رشد اثر متقابل سویه‌های مختلف قارچی و غلظت‌های مختلف نفت خام

Table (4) Growth inhibition mean for the interaction effect of different fungal strains and different crude oil concentrations

سویه‌ها Strains	غلظت ۳۰٪ 30% concentration	غلظت ۴۰٪ 40% concentration	غلظت ۵۰٪ 50% concentration
Aspergillus terreus SCUA-6	17.9±4.6	20.6±0.0	33.8±4.6
Aspergillus sp. SCUA-m1f8r2	4.6±3.1	4.6±3.1	10.2±3.1
Curvularia sp. SCUA-8.1	10.3±3.0	13.9±0.0	17.5±6.2
Alternaria. destruens SCUA-Deh-9	29.8±7.1	39±1.9	42.5±2.0
Fusarium chlamydosporum SCUA-Deh-10	12.3±2.1	22.7±0.0	24.2±2.5
Penicillium oxalicum SCUA-Deh-11	31.2±6.2	37.5±0.0	45.8±3.6
Penicillium chrysogenum SCUA-Deh-12	19.6±0.0	19.6±0.0	28.5±5.1
Aspergillus sp.SCUA-m1f7r2	24.4±3.7	26.6±0.0	31.1±3.8
Allophoma sp. SCUA-16	12.5±4.7	20.7±4.7	26.2±0.0
Aspergillus sp. SCUA-m3f10	18.9±8.2	28.5±0.0	28.5±0.0
Cladosporium puyae SCUA-m5f4	36.8±4.3	41.8±4.3	46.9±0.0
Neodidymelliopsis sp SCUA-22	5.6±0.0	11.8±5.4	15.0±0.0
Penicillium oxalicum SCUA-Deh-25	4.7±0.0	7.3±4.5	33.3±0.0
Penicillium oxalicum SCUA-m3f15	28.1±4.4	28.1±4.4	30.7±4.4
Penicillium sp. SCUA-m3f7	28.3±3.1	33.6±3.0	35.4±0.0
Aspergillus sp.SCUA-m1f2	21.5±0.0	31.2±5.6	36.5±0.0
Paramyrothecium terrestris SCUA-32	28.5±0.0	36.5±4.6	36.5±0.0
Acremonium sclerotigenum SCUA-33	13±0.0	18.8±5.0	23.2±1.2
Mucor circinelloides SCUA-34	38.5±5.8	44.7±0.0	52.2±0.0
Rhizopus oryzae SCUA-37	27.6±3.0	34.6±1.7	56.7±6.9
Alternaria destruens SCUA-Deh-1	8.3±2.8	5.1±8.5	1.7±2.8
Alternaria destruens SCUA-Deh-2	34.7±4.2	32.3±5.7	24.9±7.3
Aspergillus sp.SCUA-Deh-3	73.7±2.1	54.8±0.7	57.2±0.4

بحث

در عصر حاضر آلودگی‌های نفتی به یک معضل جهانی برای اکوسیستم تبدیل شده است. در استان خوزستان استخراج و پمپاژ مستمر نفت خام و انتقال فرآورده‌های نفتی سبب تشدید این بحران شده است. بروز حوادث ناخواسته‌ای نظیر فوران چاه ۱۰۴ مارون در سال ۱۳۸۸ و آلودگی ۱۰۰ هزار هکتار از زمین‌های اطراف توسط ۲۰ هزار بشکه (۷) و وقوع جنگ خلیج فارس در سال ۱۹۹۱ و ریخته شدن هشت میلیون بشکه نفت در خلیج فارس و انتقال مقادیر عظیمی از این آلودگی‌ها به استان باعث ورود میزان زیادی کربن آلی به خاک و بالا رفتن نسبت C/N شده است. لذا این آلودگی‌ها خطر زیست محیطی جدی به شمار آمده و رفع سریع آنها امری اجتناب ناپذیر است (۲۸). قارچ‌ها ریزجانداران بی‌همتایی هستند که می‌توانند از نفت خام به‌عنوان تنها منبع کربن و انرژی و بستری برای رشد استفاده کنند (۵). قارچ‌های به کار رفته در پژوهش حاضر جزء اصلی‌ترین جنس‌های قارچی گسترش یافته در مناطق آلوده به مواد نفتی بوده و نقش آنها در متابولیز و رشد روی ترکیبات نفتی در منابع متعددی گزارش

شده است (۲۱، ۲۹). به طور کلی گفته می‌شود قارچ هایی نظیر *Cladosporium*، *Aspergillus* و *Mucor* در تجزیه زیستی هیدروکربن‌های آلیفاتیک شرکت کرده (۱۲، ۱۳) در حالیکه قارچ‌های متعلق به جنس‌های *Penicillium* ، *Fusarium* و همچنین *Aspergillus* می‌توانند در تجزیه هیدروکربن‌های آروماتیک نقش داشته باشند (۱۳). در پژوهش حاضر ریسه‌ی سویه‌های قارچی در محیط غذایی حاوی مواد نفتی گسترش و قارچ‌ها با توان تحمل به مواد نفتی از منبع کربن و انرژی موجود در محیط کشت جهت رشد و تولید زیتوده استفاده کردند (شکل ۱). مطالعات سایر محققین نشان داده که ریسه قارچ‌هایی نظیر *Alternaria* و *Penicillium* به شدت به سطح هیدروکربن‌های سنگین نفتی (HCO) متصل شده و حتی بررسی قارچ *Alternaria* در حین رشد در هیدروکربن‌های فوق سنگین نفتی (EHCO)، با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی، نشان دهنده‌ی اتصال محکم توده‌ی متراکم ریسه‌ها و کنیدیوم‌های تیره رنگ قارچ به سطح ذرات نفت می‌باشد (۲۳). به طور کلی گفته می‌شود تحت شرایط تنش‌های محیطی نظیر تنش مواد شیمیایی سمی، قارچ‌ها با ساز و کارهایی نظیر محدود کردن رشد روی بستره، تولید سلول‌هایی با دیواره‌ی ضخیم و به شدت ملانیزه و تولید اسپورهای غیرجنسی فراوان باعث صرفه‌جویی در انرژی شده و بقا می‌یابند (۱۶). این موجودات تنوع و سازگاری شگفت انگیزی در استفاده از ترکیبات آلی از خود نشان می‌دهند (۲۵، ۲۶، ۲۸) ولی عموما همانگونه که اشاره شد این میکروارگانیسم‌ها جهت رشد و تغذیه روی بستره‌های حاوی مواد نفتی، آنزیم‌های چند منظوره و اسیدهای خارج سلولی تولید می‌کنند و با شکستن زنجیره‌های طولانی C-H، مولکول‌های هیدروکربن مقاوم نفتی آنها را به ترکیبات ساده تبدیل کرده و وارد سلول خود می‌کنند (۹، ۲۶). هم‌چنانکه، آنالیز بیان ژن در *Penicillium* حاکی از تنظیم مثبت ژن‌های دخیل در انتقال تراغشایی و متابولیسم کربوهیدرات‌های شش کربنه را نشان می‌دهد (۲۳). قارچ‌ها هیدروکربن‌ها را با مکانیسم هوازی متابولیزه کرده و آنها را به آب، دی اکسید کربن و زیتوده تبدیل می‌کنند و باعث کاهش هیدروکربن‌های نفتی موجود در خاک می‌شوند (۲۵، ۲۸).

در پژوهش حاضر تحمل قارچ‌ها به غلظت‌های مختلف نفتی (جدول ۴) گویای توانایی تمام سویه‌ها در تحمل به نفت خام در تمام غلظت‌هاست به طوری‌که مواد نفتی حتی در بالاترین غلظت خود حالت قارچ‌ایستان[1] یا قارچکش[2] مطلق در سویه‌ها به وجود نیاوردند. چنین نتایجی در مطالعات محسن زاده و همکاران[3] (۲۰۱۶) نیز حاصل شد و تمام ده گونه قارچ *Trichoderma* به کار رفته در پژوهش این محققین در حداکثر غلظت نفت (۶ درصد) به رشد و تشکیل کلنی ادامه دادند و حتی در بعضی از گونه‌ها میزان رشد قطری قارچ با شاهد بدون نفت خام تفاوت معنی‌داری نداشت (۱۹). در مطالعات مشابه دیگر نیز مشخص شد دو قارچ *A. oryzae* و *M. irregularis* در مخلوط هیدروکربنی روغن موتور ۲۰ درصد به رشد و بقای خود ادامه دادند (۵). همچنین کوهکن و همکاران[4] (۲۰۲۰) گزارش دادند که سرعت رشد *A. flavus* در محیط‌های حاوی گازوئیل و نفت سنگین تا غلظت یک دهم درصد افزایش و در غلظت ۲ دهم درصد نیز رشد این قارچ ادامه یافت (۱۳).

در تحقیق حاضر نتایج حاصل از مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف نفت خام گویای اختلاف معنی‌دار غلظت‌ها در بازدارندگی از رشد بود و مشخص شد روند بازدارندگی از رشد در فاکتور سطوح غلظتی حالت نمایی دارد. این بدان معنی است سمیت نفت خام با افزایش غلظت آن افزایش می‌یابد. این نتایج با نتایج سایر

1- Fungistatic
2- Fungitoxic
3- Mohsenzadeh *et. al*
4- Koohkan *et. al*

محققین همسو می‌باشد به طوری که در یک مطالعه، افزایش غلظت نفت‌خام در محیط کشت PDA باعث کاهش سرعت رشد گونه‌های قارچی شده است (۱۰). همچنین بررسی فعالیت ۱۳ گونه قارچ جداسازی شده از ریشه‌ی گیاهان در خاک آلوده‌ی پالایشگاه کرمانشاه تحت غلظت‌های ۱۵،۱۰،۲۰ و ۵۰ درصد نشان داد تمام گونه‌های مورد مطالعه در سطح یک درصد مواد نفتی، پرگنه تشکیل داده و در سطح ۱۰ درصد آلودگی نفتی تنها گونه‌های محدودی فعالیت رشدی دارند و در بین آنها *Fusarium equiseti* و *F. oxysporum* بالاترین مقاومت به آلودگی نفتی داشتند (۱۷). چنین نتایجی در مطالعه‌ی سازش‌پذیری بعضی از گونه‌های *Trichoderma* به مواد نفتی در غلظت‌های ۲، ۴ و ۶ درصد نیز حاصل شد (۱۹). محققین عراقی نیز عنوان کردند غلظت‌های پایین (۰/۰۵ و ۰/۱) نفت خام تاثیری بر رشد قطری قارچ مورد تحقیق نداشت در حالیکه با افزایش غلظت نفت (۰/۵ و ۱) تاثیر سمی تدریجی بر قارچ‌ها به وجود آمد (۲۷). العزیز و همکاران[1] (۲۰۲۱) نیز مشخص کردند غلظت نفت خام به طور قابل ملاحظه‌ای بر راندمان تجزیه‌ی زیستی نفت خام تاثیر می‌گذارد به طوریکه غلظت ۲۰٪ نفت خام کارایی تجزیه زیستی را به کمتر از ۱۸٪ کاهش داد (۹). به طور کلی افزایش سمیت نفت خام همگام با افزایش غلظت آن را می‌توان به ماهیت شیمیایی نفت خام مربوط دانست چرا که نفت خام مخلوط پیچیده‌ای از ترکیباتی نظیر هیدروکربن‌ها، گوگرد معدنی و سایر عناصر سنگین و املاح است (۲۷). هیدروکربن‌های نفتی بر غشای سلول اثر کرده و باعث کاهش آب سلول و مهار زنجیره‌ی انتقال الکترون می‌شوند. گروه‌های هیدروفیل اسیدهای آمینه، پروتئین‌ها و قندها با جذب آب، در اطراف خود یک لایه‌ی هیدراته ایجاد کرده و بر محتوای آب سلول تاثیر می‌گذارند (۲۴). با این وجود اثر سمی و بازدارندگی نفت خام تنها به نوع و نسبت ترکیبات هیدروکربنی موجود در نفت خام محدود نمی‌شود؛ بلکه وجود ترکیبات غیر هیدروکربنی نظیر ترکیبات ازته و به ویژه گوگرد بر رشد قارچ‌ها اثر منفی می‌گذارد. به طور کلی ترکیبات ازته و گوگردی موجود در آلاینده‌های نفتی سبب ایجاد رادیکال‌های خطرناک نیتروژنی شده و این رادیکال‌ها با تحریک فعالیت پروتئازها و یا اتصال مستقیم به پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه باعث ایجاد اختلال در فرآیندهای فیزیولوژیکی سلولی می‌شوند (۲۴). علاوه بر این عنصر گوگرد به عنوان یک مهار کننده‌ی بسیار فعال رشد و جوانه‌زنی قارچ‌ها محسوب شده که عموما در بسیاری از قارچکش‌های آلی و معدنی وجود دارد. گوگرد از انتقال الکترون بین سیتوکروم‌ها ممانعت به عمل می‌آورد و به صورت پذیرنده‌ی هیدروژن عمل کرده و باعث قطع واکنش‌های هیدروژناز و دهیدروژناز می‌شود.

قارچ‌های مختلف ظرفیت‌های متفاوتی برای تبدیل هیدروکربن‌ها به انرژی یا زیتوده دارند. (۲۶، ۲۸). در تحقیق حاضر نیز بین سویه‌های مختلف قارچی در پاسخ به تحمل به نفت خام اختلاف معنی‌داری وجود داشت به طوری‌که سویه‌ی *Aspergillus* sp. SCUA-Deh-3، *M.circinelloides* SCUA-34 و *C. puyae* SCUA-m5f4 بیشترین درصد بازدارندگی از رشد و بالاترین حساسیت به محیط نفتی را داشتند. در تحقیقاتی که پیش از این انجام شده بود مشخص شده که سویه‌ی *A. oryzae* در محیط حاوی غلظت نفتی ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد دارای شاخص بازدارندگی به ترتیب ۵۳/۹۷، ۴۶/۹۶، ۳۹/۰۷ و ۳۹/۴۰ بوده و توانایی *M. irregularis* برای تحمل این غلظت‌های نفتی به ترتیب ۷۵/۵۲، ۵۹/۹۶، ۵۱/۲۴ و ۴۵/۸۵ بود. ضمنا در حالی که *A. oryzae* روی تمام اجزای هیدروکربنی روغن موتور عمل می‌کرد *M. irregularis* فقط هیدروکربن‌های زنجیره بلند را تخریب می‌کند (۵).

1- El-Aziz *et al.*

همچنین حیدری تبار و همکاران[1] (۲۰۱۷) با جمع آوری ۱۵ سویه‌ی مختلف از پالایشگاه‌های قم، تهران، مارون و سیری اعلام کرد که یکی از سویه‌های مربوط به *M. circinelloides* مارون با بیش از ۵۵ درصد حذف نفت خام توانمندترین سویه در حذف مواد نفتی و تولید زیست بود (۱۲).

در پژوهش حاضر پاسخ تحمل سویه‌های قارچی به غلظت‌های نفتی نمایان ساخت سویه‌های *Alternaria destruens* SCUA-Deh-1 و *Aspergillus* sp.SCUA- در بالاترین غلظت نفتی بیشترین سازگاری و بالاترین پتانسیل رشدی را نسبت به بقیه‌ی سویه‌ها داشتند. نتایج تحقیق حاضر مبین این مهم است که توان رشدی این قارچ‌ها در محیط‌های آلوده به نفت خام نیز می‌تواند بیش از سایر قارچ‌ها باشد به عبارت دیگر این سویه‌ها به همراه دیگر سویه‌ی بومی *Neodidymelliopsis* sp، در زمره‌ی متحمل‌ترین سویه‌ها به نفت خام قرار گرفتند. در یک مطالعه‌ی میدانی در منطقه آلوده به نفت پالایشگاه اراک، مشخص شد *Alternaria* sp. نسبت به سایر جنس‌های جداسازی شده از پالایشگاه اراک از توانایی بالاتری برای رشد در محیط حاوی نفت برخوردار بود ولی میزان تخریب نفتی آن از *A. terreus* کمتر است (۱۸). گونه‌های مختلف قارچ *Aspergillus* میکروفلور غالب مناطق آلوده به نفت را تشکیل می‌دهند. مطالعات متعدد حاکی از آن است که گونه‌های مختلف این جنس توانایی بالایی در رشد روی مواد نفتی و تجزیه‌ی آنها دارند (۳، ۵، ۱۴) مطالعات Al-Jawhari (۲۰۱۴) نشان داد در بین قارچ های مورد مطالعه، *A. niger* بالاترین مقاومت را در برابر آلودگی نفتی ۲ درصد (با قطر پرگنه ۸/۵ سانتی‌متر و وزن خشک مسلیوم۱/۲ گرم پس از ۷ روز) نشان داد. با این وجود در مطالعات دیگر مشخص شد با وجودی که *A. oryzae* نسبت به *M. irregularis* در محیط حاوی ۲۰٪ روغن موتور، دارای سطح بالاتری از تخریب هیدروکربن، با استفاده از تولید آنزیم‌های زیاد خود، است لکن *M. irregularis* روی همان محیط از سرعت رشد بیشتری برخوردار بود. به عبارتی تحمل قارچ‌ها به هیدروکربن‌های نفتی تابعی از توانایی تجزیه آن‌ها نبوده و همچنین توانایی ترشح آنزیم بیشتر در قارچ‌ها تخریب هیدروکربن‌ها را بیشتر از تحمل به آن افزایش می‌دهد (۵). از سوی دیگر بررسی سرعت رشد چهار گونه‌ی مختلف قارچ *Aspergillus* و یک قارچ *Rhizopus* در غلظت های ۱ و ۳ درصد نفت خام نشان داد که سرعت رشد *Rhizopus* از تمام گونه‌های *Aspergillus* بیشتر بود (۲۷). چنین نتایجی در مطالعات Abu Al-Ghaith و Zuait (۲۰۲۰) نیز به دست آمد (۱). در تحقیق دیگری که بر روی ۱۴ جنس جداسازی شده از ریشه‌ی گیاهان خاک‌های آلوده به مواد نفتی در کرمانشاه انجام شد کمترین میزان رشد و تحمل به غلظت ۱۰ درصد مربوط به *A. terreus* بود و *Fusarium equiseti* و *F. oxysporum* بالاترین مقاومت و بالاترین میزان تخریب آلودگی نفتی را نشان دادند (۱۷).

نتایج این تحقیق نشان داد که حضور نفت‌خام باعث تحریک رشد سویه‌های *A. destruens* SCUA-Deh-1 و *A. destruens* SCUA-Deh-2 می‌گردد. در تحقیقات پیشین نیز مشاهده شده که علیرغم اینکه شرایط نفتی می‌تواند رشد اکثر جنس‌های قارچی را محدود کند ولی در عین حال باعث تحریک رشد برخی قارچ‌های مقاوم خصوصا *Alternaria* می‌شود (۳۰). گفته می‌شود در مورد چنین قارچ‌هایی به نظر می رسد که نفت و مواد تشکیل دهنده‌ی آن نه تنها ضرری برای آنها نداشته بلکه تامین کننده مواد غذایی لازم برای رشد آنها نیز می‌باشد (۱۹).

اگرچه به نظر نمی‌رسد تحمل میکروبی نسبت به هیدروکربن‌ها ارتباط مستقیمی با تخریب مواد نفتی داشته باشد لکن ارزیابی تحمل میکروب‌ها به نفت بسیار حائز

1- Heidarytabar *et al.*

اهمیت است (۳۱). استفاده از جدایه‌های متحمل، فارغ از توانمندی یا عدم توانمندی در تخریب، می‌تواند توانایی سایر جوامع قارچی و باکتریایی را از طریق کومتابولیسم[1] و تحریک به تخریب مواد نفتی بهبود بخشد (۳۱). میکروارگانیسم‌های متحمل با فعالیت‌های متابولیکی نظیر سنتز مواد بیوسرفکتانت و ایجاد فراهمی زیستی اثر هم‌افزایی با سایر جوامع میکروبی دارند. علاوه بر این هیف این قارچ‌ها با گسترش در خاک و ایجاد تهویه، سازگاری سایر میکروارگانیسم‌ها را افزایش می‌دهد به طوری‌که نشان داده شده است که در حضور میکروارگانیسم‌های مختلط، سازگاری میکروبی افزایش و میزان تخریب مواد نفتی در خاک نیز بیشتر شده است (۳۱). در مجموع نتایج مطالعه‌ی حاضر موید این است که قارچ‌هایی که در گروه m قرار گرفتند از عملکرد رشدی بسیار بالاتری نسبت به بقیه‌ی قارچ‌ها در محیط نفتی برخوردارهستند. به عبارت دیگر این قارچ‌ها این قابلیت و پتانسیل را دارند که در مباحث حذف آلودگی‌های نفتی و زیست پالایی خاک‌های آلوده مناطق بومی از آنها بهره جست. البته در رابطه با تخریب زیستی مواد نفتی ذکر این نکته لازم به نظر می‌رسد که خواص فیزیکوشیمیایی و فراهمی زیستی[2] آلاینده‌های هیدروکربنی نقش بسیار مهمی در پاکسازی آنها ایفا می‌کند (۲۹). مکانیسم‌های پالایش زیستی آلاینده‌های نفتی علاوه بر تولید آنزیم‌هایی نظیر لاکاز و انواع پلی فنل اکسیدازها به توانایی تولید و میزان مواد بیوسورفکتانت نیز مربوط می‌شود (۲۴) و بعضی از قارچ‌ها با سنتز مواد بیوسورفکتانت می‌تواند نقش کمکی و مکمل در تسهیل دسترسی زیستی هیدروکربن‌ها به سایر جوامع میکروبی داشته باشند (۱۴).

1- Cometabolism
2- Bioavailability

References

1. Abu Al-Ghaith, S., and Zuait, A.A.M. 2020. Isolating, identifying, and testing the efficiency of some fungi in hydrocarbon decomposition from oil-contaminated soil. Journal of Applied Science, 4: 78-90.

2. Al-Hawash, A. B., Alkooranee, J. T., Abbood, H. A., Zhang, J., Sun, J., Zhang, X., and Ma, F. 2018). Isolation and characterization of two crude oil-degrading fungi strains from Rumaila oil field, Iraq. Biotechnology Reports, 17: 104-109.

3. Al-Jawhari, I.F.H., 2014. Ability of some soil fungi in biodegradation of petroleum hydrocarbon. Journal of Applied and Environmental Microbiology, 2 (2): 46-52.

4. Anonymous. 2024. https://www.opec.org/opec_web/en/

5. Asemoloye, M.D., Tosi, S., Daccò, C., Wang, X., Xu, S., Marchisio, M.A., Gao, W., Jonathan, S.G., and Pecoraro, L., 2020. Hydrocarbon degradation and enzyme activities of *Aspergillus oryzae* and *Mucor irregularis* isolated from nigerian crude oil-polluted sites. Microorganisms, 8 (12): 1912.

6. Daâssi, D., and Almaghrabi, F.Q. 2023. Petroleum-Degrading fungal isolates for the treatment of soil microcosms. Microorganisms, 11 (5): 1-20.

7. Dawoodi, V., Madani., M., and Tahmourespour, A. 2013. Flora of soil fungi in Khuzestan province's oil regions. Biological Journal of Microorganism, 3(10): 87-96. (in Persian).

8. Dehdari, V. 2018. Isolation and identification of oil tolerant fungi from lands affected by Marun oil field in Ahvaz. M.Sc. dissertation. Shahid Chamran University of Ahvaz. Khuzestan. (in Persian with English abstract).

9. El-Aziz, A. R. A., Al-Othman, M. R., Hisham, S. M., and Shehata, S. M. 2021. Evaluation of crude oil biodegradation using mixed fungal cultures. Plos One, 16 (8): 1-19.

10. Eshghi Malayeri, B., Mohsenzadeh, F., Chehregani, A., Shir Khani, Z., and Molaheydari, V. 2011. Study on the possibility of application of rhizospheral fungi for bioremediation of petroleum polluted soils. 14th National Congress On Environmental Health. Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd. (in Persian with English abstract).

11. Fraga, M. E., Zonta, E., and Balieiro, F. C. 2011. Isolation and selection of filamentous fungi from petroleum contaminated soil. Bioresearch Bulletin, 4: 227-235.

12. Heidarytabar, Rezvan, Ehsan Azin., and Hamid Moghimi. 2017. Introduction of halotolerant *Mucor circinelloides* UTMC 5032 for bioremediation crude oil hydrocarbons Biological Journal of Microorganism, 6 (21): 31-45. (in Persian with English abstract).

13. Koohkan, H., Golchin, A., Mortazavi, M. S., Hemati, R., and Shahryari, F. 2020. Reduction of crude oil pollution in soil by phytoremediation, bioaugmentation and bioaugmented phytoremediation. Iranian Journal of Soil and Water Research, 50 (10): 2645-2660.

14. Maamar, A., Lucchesi, M.E., Debaets, S., Nguyen van Long, N., Quemener, M., Coton, E., Bouderbala, M., Burgaud, G., and Matallah-Boutiba, A., 2020. Highlighting the crude oil bioremediation potential of marine fungi isolated from the port of Oran (Algeria). Diversity, 12 (5): 1-19.

15. Moghimi, H., Heidary Tabar, R., and Hamedi, J. 2017. Assessing the biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons and laccase production by new fungus *Trematophoma* sp. UTMC 5003. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 33: 1-10.

16. Mohammadian, Elham, Mahdi Arzanlou., and Asadollah Babai-Ahari. 2017 Diversity of culturable fungi inhabiting petroleum-contaminated soils in Southern Iran. Antonie Van Leeuwenhoek, 110: 903-923.

17. Mohsenzadeh, F., Nasseri, S., Mesdaghinia, A., Nabizadeh, R., Zafari, D., Khodakaramian, G., and Chehregani, A. 2010. Phytoremediation of petroleum-polluted soils: Application of *Polygonum aviculare* and its root-associated (penetrated) fungal strains for bioremediation of petroleum-polluted soils. Ecotoxicology and Environmental Safety, 73 (4): 613-619.

18. Mohsenzadeh, F., Chehregani Rad, A., and Akbari, M. 2012. Evaluation of oil removal efficiency and enzymatic activity in some fungal strains for bioremediation of petroleum-polluted soils. Iranian journal of environmental health science and engineering, 9: 1-8.

19. Mohsenzadeh F., Zafari D., and Noorisafa B. 2016. Adaptation of some fungal species of *Trichoderma* to petroleum pollution. Cellular and Molecular Research (Iranian Journal of Biology), 29 (3): 321-330. (in Persian with English abstract).

20. Neisi, A., Jorfi, S., Goudarzi, G., Ardakani, M.R., Mahmoudi, P., and Takdastan, A., 2024. Biodegradation potential of native hydrocarbon degrading bacteria by using bio-stimulation on crude oil in soils of Khuzestan province (Abadan, Ahvaz and Andimeshk)- Iran. Bioremediation Journal, 28 (1):79-88.

21. Obire, O., Aleruchi, O., and Wemedo, S. 2020. Fungi in biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in oilfield wastewater. Acta Scientific Microbiology, 3: 220-224.

22. Pourfakhraei, E., Badraghi1, J., Mamashli, F., Nazari, M., and Saboury, A.A. 2018. Biodegradation of asphaltene and petroleum compounds by a highly potent *Daedaleopsis* sp. Journal of Basic Microbiology, 58 (7): 609–622.

23. Romero-Hernández, L., Velez, P., Betanzo-Gutiérrez, I., Camacho-López, M. D., Vázquez-Duhalt, R., and Riquelme, M. 2021. Extra-heavy crude oil degradation by *Alternaria* sp. isolated from deep-sea sediments of the Gulf of Mexico. Applied Sciences, 11 (13): 1-15.

24. 24- Roshandel, F., Saadatmand, S., Iranbakhsh, A., and Oraghi, A.Z., 2021. Effect of petroleum contaminant on pin creating and amino acid content of *Pleurotus florida* (*P. Kumm*). Iranian Journal of Plant and Biotechnology, 16 (2): 19-30. (in Persian with English abstract).

25. Saravanan, A., Karishma, S., Kumar, P. S., and Rangasamy, G. 2023. Biodegradation of oil-contaminated aqueous ecosystem using an immobilized fungi biomass and kinetic study. Environmental Research, 220: 1-8.

26. Sari, E. M., Novianty, R., Awaluddin, A., and Pratiwi, N. W. 2019. Effectiveness of crude oil degrading fungi isolated from petroleum hydrocarbon contaminated soil in Siak, Riau. Acta Biochimica Indonesiana, 2 (1): 15-22.

27. Shafiq, S.A., and Mizil, S.N. 2009. Effect and utilIzation of crude oil on some of fungi isolated from soil. Ibn Al-Haitham Journal for Pure and Applied Sciences, 22: (4). (in Arabic with English abstract).

28. Sharifi Hosseini, S., Shahbazi, A., Yazdipour, A., and Kamranfa, I. 2009. The effect of agricultural fertilizers on bioremediation of a crude-oil polluted. Journal of Water and Soil, 23 (3): 14-155. (in Persian with English abstract).

29. Varjani, S. J. 2017. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons. Bioresource Technology, 223: 277-286.

30. Wang, H., Kuang, S., Lang, Q., and Yu, W. 2018. Effects of aged oil sludge on soil physicochemical properties and fungal diversity revealed by high-throughput sequencing analysis, Archaea: 1-8.

31. Zafra, G., Absalón, Á.E., Cuevas, M.D.C., and Cortés-Espinosa, D.V. 2014. Isolation and selection of a highly tolerant microbial consortium with potential for PAH biodegradation from heavy crude oil-contaminated soils. Water, Air and Soil Pollution, 225: 1-18.