دراسة التغيرات الفصلية للفطريات المعزولة من ترب ملوثة بالمخلفات النفطية في بيجي ، محافظة صلاح الدين

مروان سالم حميد ، طالب عويد الخزرجي ، خليل إبراهيم بندر

قسم علوم الحياة ، كلية التربية ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

(تاريخ الاستلام: 2013/2/17 ---- تاريخ القبول: 2013/6/17)

الملخص

أسفرت الدراسة عن تشخيص 36 نوعا فطريا موزعه على 17 جنس أغلبها (94.4%) يعود لصف الفطريات الناقصه *Deuteromycetes* إذ ضمت 34 نوعاً في حين تعود بقية الأنواع البالغة نوعين (5.6%) الى صف الفطريات اللاقحيه *Zygomycetes* ، فضلا عن الخيوط الفطرية العقيمة *Sterile fungi* ومن بين هذه الفطريات سجلت الاجناس *Aspergillus* و *Fusarium* و *Penicillium* و *Cladosporium* و *Trichoderma* سيادة وترددات عالية في الترب المدروسة كان الجنس *Aspergillus* الأكثر سيادة وترددا (32%) وظهورا (100%) مقارنة ببقية الأجناس المعزولة وضم 7 أنواع كان النوع *A.niger* من أكثر الأنواع ظهورا (100%) وترددا (9.5%) في الترب المدروسة يليه النوع *A.terreus* بنسبة ظهور 87.5% وتردد7.8% .

بينت نتائج الدراسة الحالية أن معدل العدد الكلي للمستعمرات الفطرية المسجلة (CFU) colony forming unit للترب المحيطة بالجذور تراوح ما بين 4.96×10^3_8.11×10^3 مستعمرة /غم تربة جافة خريفا و $3,25\times10^3$_$4,62\times10^3$ مستعمرة /غم تربة جافة شتاء و $3,93\times10^3$_$6,12\times10^3$ مستعمرة/غم تربه جافه صيفا ، بينما كان هذا المعدل للتربة الجرداء $1,77\times10^3$_$2,45\times10^3$ مستعمره/غم تربه جافه و $1,55\times10^3$_$1,86\times10^3$ مستعمره/غم تربه و $1,63\times10^3$_$2,01\times10^3$ مستعمره/غم لهذه الفصول على التوالي . وفيما يخص تأثير فصول السنه ، فقد أظهر فصل الخريف تنوعا فطريا عاليا ونسب مئوية عالية للتردد وكان الأعلى بالنسبة لمعدل العدد الكلي للمستعمرات مقارنة بفصلي الشتاء والصيف ، أذ بلغ عدد الأنواع الفطرية المعزولة خلال هذه الفصول الثلاثة 34 و23 و27 نوعا على التوالي . كما بينت نتائج الدراسه الحالية أن المواقع الملوثه في منطقة الدراسه تتباين في محتواها من الفطريات (التنوع الفطري وترددائه) وأن الموقع 2 سجل أعلى مستوى للتنوع الفطري وفي جميع فصول الدراسة إذ بلغ 31 نوع خريفا و17 شتاءً و25 صيفا بينما سجل الموقع 3 أدنى مستوى للتنوع الفطري ولكافة الفصول المدروسة إذ بلغ 22 و16 و19 نوع فطري على التوالي .

الكلمات المفتاحية : التنوع الفطري ، فطريات محيطة بالجذور ، المخلفات النفطية .

المقدمة

يكتسب موضوع التلوث النفطي في وقتنا الحاضر اِهتماما عالميا واسعا بوصف التلوث بالنفط الخام (Crude oil) ومشتقاته يشكلان عوامل رئيسة في تدهور البيئة [1 و2] اذ تقدر كمية النفط الخام التي تطلق الى المياه العالمية بحوالي 2 مليون طن متري سنويا وحوالي 90% من هذه الكمية تطرح الى البيئة بفعل انشطة الانسان [3] وتعتبر الهيدروكربونات النفطية لاسيما الاروماتيه منها (Aromatichy drocarbons) من الملوثات البيئية الخطيرة لما لها من دور مهم في التكبير الحيوي Biomagnification من خلال انتقالها في السلسلة الغذائية ، فضلا عن سميتها للأحياء وفعلها المطفر Mutagenic والمسرطنCarcinogenic [4] وصفاتها الكيمياوية والفيزياوية المعقدة التي تجعل منها صعبة التحليل بفعل الاحياء المجهرية [5] وتتوافر حاليا طرائق عدة لإزالة أو معالجة الملوثات النفطية مثل الطرائق الفيزياوية (الحجز booming والقشط Skimming والشفط بالماءwater flushing والكيمياوية (مثل استخدام المشتتات dispersing agent والمستحلبات emulsifiers) والأحيائية (مثل استخدام النباتات والاحياء المجهرية) . ومن بين هذه الطرائق تحظى المعالجة الأحيائية Bioremediation لاسيما نوعها المعروف بالمعالجة الفطرية Mycoremediation باهتمام المؤسسات العلمية والفنية المعنية بهذا الشأن بوصفها طريقة صديقه للبيئة وعواملها (الفطريات) هي جزء من النظام البيئي وغير مكلفة اقتصاديا فضلا عن كونها تزيل الملوثات دون ان تخلف بقايا منها وتفكيكها الى نواتجها النهائية الطبيعية في البيئة [6 و7] . وعلى الرغم من الدراسات الكثيرة على دور الاحياء المجهرية في تحليل المركبات النفطية الا أنها على الأغلب أنصبت على الهيدروكربونات النقية وعلى القدرات الأنزيمية للأحياء المجهرية والجانب الوراثي الهادف الى تحسين هذه القدرات [8 و9] وتبعاً لذلك فأن المعلومات المتوافرة على التداخل بين الأحياء المجهرية والمركبات النفطية المعقدة والعوامل البيئية الأخرى [10] مازالت قليلة ، خصوصا وأن التحليل الحيوي Biodegradation للمركبات النفطية (بضمنها الهيدروكربونات) بوساطة الأحياء المجهرية يعتمد على العوامل البيئية والمغذيات المتوافرة في البيئة الملوثة [10و11] . ولهذا فأن الاتجاه الحالي لكثير من الدراسات تتركز حول معرفة مصير الملوثات النفطية في البيئة ودور الأحياء المجهرية في الحد من هذا التلوث . وعلى أساس ما تقدم ولندرة الدراسات على علاقة الفطريات بالمخلفات النفطية في

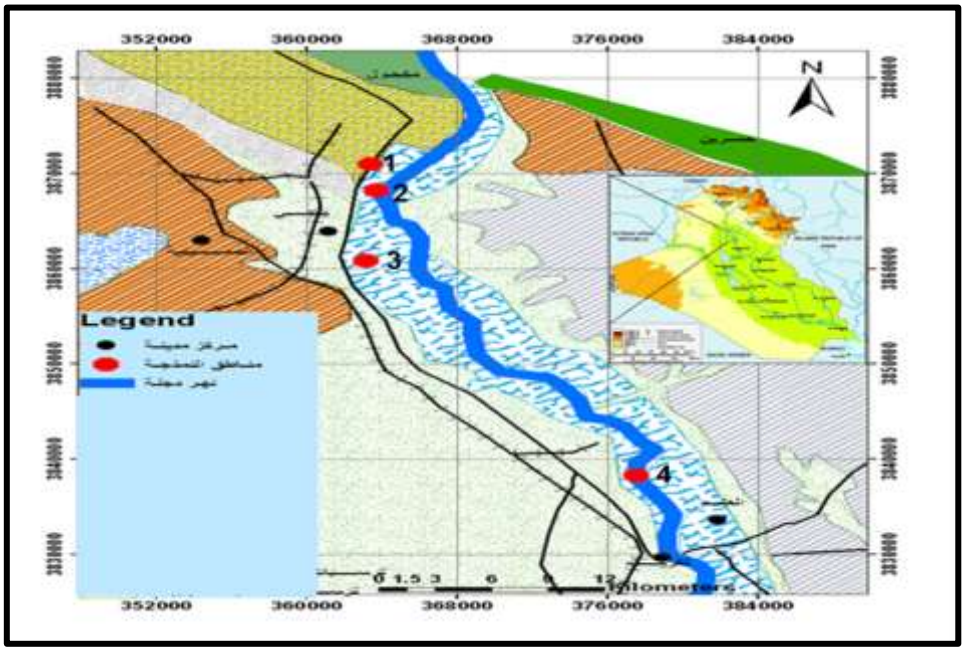
البيئة لاسيما في العراق والبلدان النفطية المجاورة واستكمالا للدراسات على العلاقة بين النباتات الراقية [12] والواطئة [13] والعراهين الفطرية [14] والمخلفات النفطية في قضاء بيجي / محافظة صلاح الدين فقد استهدفت الدراسة الحالية :

1- عزل وتشخيص الفطريات من الترب الملوثة بالمخلفات النفطية (مصدرها شركة مصافي الشمال / بيجي) وبالتحديد ترب المواقع الجرداء والترب المحيطة بجذور نباتات البردي *Typha domingensis* والقصب *Phragmites austarlis* والأسل *Juncus acutus* في قضاء بيجي .

2- الدراسة الموسمية للتنوع الفطري وترددة في الترب الملوثة بالمخلفات النفطية في منطقة الدراسة .

المواد وطرق العمل

1- مواقع الدراسة شملت هذه الدراسة أربعة مواقع في محافظة صلاح الدين ، ثلاث منها ملوثة بالمخلفات النفطية لشركة مصافي الشمال/ بيجي ، موزعة على طول قناة نوري (وهي القناة التي تنقل المياه الملوثة بالمخلفات النفطية الخارجة من الشركة بطول 10 كلم من المنبع وحتى مصبها في نهر دجلة الى الجنوب من الشركة) وموقع رابع غير ملوث بالقرب من مدينة تكريت (موقع السيطرة) . الموقع 1 يمثل منبع قناة نوري وهو عبارة عن حوض لتجمع المياه العادمة المحتوية على المخلفات النفطية الخارجة من الشركة بعرض 20 م وعمق 2 م وتسود في هذا الموقع نباتات القصب والبردي والأسل بشكل كثيف ودائم ، والموقع 2 يقع في قرية البو جواري وهي القرية التي تمر بها قناة نوري وهو عبارة عن وادي بعمق 4 أمتار وعرضة 15 م ويسودها نباتي القصب والبردي بشكل كثيف ، أما الموقع 3 يمثل منطقة أتصال القناة بنهر دجلة بعرض 4 م وعمق 2 م ويحتوي النباتات نفسها، والموقع 4 (موقع السيطرة) يقع في مدينة تكريت وهو خالٍ من التلوث وتنتشر فيه نباتات القصب والبردي أيضا يبعد حوالي 40 كلم جنوب قضاء بيجي عن الشركة (الشكل 1) .



شكل 1. منطقة الدراسة

2- جمع العينات

جمعت العينات خلال الفترة من تشرين الأول 2011 ولغاية تموز 2012 بواقع ثلاثة فصول هي الخريف والشتاء والصيف من المواقع الاربعة قيد الدراسة ، أذ تم جمع التربة من المحيط الجذري Rhizosphere لنباتات البردي والقصب الموجودة على جانبي قناة نوري فضلا عن تربة المحيط الجذري لنبات الأسل في الموقع الأول فقط لعدم وجوده في بقية المواقع، كما تم جمع عينات من الترب الجرداء (الخالية من النبات)Bar area ولكل موقع مدروس، وبالطريقة نفسها تم جمع عينات ترب المحيط الجذري للنباتات المدروسة والتربة الجرداء في موقع السيطرة (الموقع الرابع) ، واخذت العينات بوساطة مجرفة صغيرة معقمة بكحول أثيلي 70% بعد تنظيف وجه التربة. ومن عمق يصل الى 15 سم تقريبا من سطح التربة وبواقع أربع عينات لكل نبات وتربة جرداء ووضعت في اكياس بلاستيكية معقمة بكمية (500 غم لكل عينة) تم غلقها بأحكام وسجل عليها موقع وتاريخ الجمع وأسم النبات ونقلت الى المختبر وخلطت العينات الأربعة لكل نوع نباتي وتربة جرداء مع بعضها للحصول على عينة مركبة ممثلة لكل نبات مدروس وحفظت في الثلاجة بدرجة 5مْ لحين أجراء الفحوصات المختبرية عليها [15] .

3- طرائق عزل الفطريات

3-1 طريقة التخفيف Dilution plate method

استخدمت طريقة التخافيف المتسلسلة لعزل الفطريات من التربة ، أخذ 10غم تربة جافة ووضعت في دورق سعة 250 مل يحتوي على 90 مل ماء مقطر معقم . رجت جيداً بوساطة هزاز Shaker لمدة 3 دقائق. وحضر منها تخافيف متسلسلة لغاية التخفيف 10000:1 الذي أمكن منه تنقية العزلات الفطرية على وسط أكار البطاطا والدكستروز PDA . اخذ1مل من كل تخفيف بوساطة ماصة دقيقة معقمة ونشر على الاطباق الحاوية على الوسط الزرعي المعقم بعدها حضنت الاطباق في الحاضنة بدرجة حرارة 25±2(استخدمت لكل عينة ثلاث مكررات) [16] .

3-2 طريقة الزرع المباشر Direct plate method

تم نثر 1غم من كل عينه من التربة بعد تجفيفها وطحنها بواسطة ملعقة صغيره معقمه في طبق بتري معقم بقطر 9سم حاوي على الوسط الزرعي PDA المعقم بعدها حضنت الاطباق المزروعة تحت درجة حراره 25±2 م (استخدمت لكل عينه ثلاث مكررات) **[17]** .

3-3 فحص وتشخيص الفطريات المعزولة

فحصت العينات المزروعة بعد 3_5 ايام من الحضن لغرض حساب عدد المستعمرات الفطرية النامية على الاوساط الزرعية وتم الفحص الاولي للأطباق المزروعة باستخدام مجهر التشريح Dissecting microscope نوع wild للتعرف على الصفات المظهرية للفطريات النامية والتي تعد من احدى الوسائل المهمة التي يجب الاخذ بها للتعرف على الفطريات ، مثل فترة الحضانة و شكل المستعمرة (غائره أو بارزه او مسطحة) ولون نسجتها (مسحوقيه أو قطنيه أو زغبيه) كما يتم قياس قطر المستعمرة بعد توقف النمو ثم عزلت الفطريات في مزارع نقيه لغرض تشخيصها بشكل دقيق [18و19] . واعتمدت المصادر التالية في تشخيص الفطريات المعزولة في هذه الدراسة [20 و21 و22 و23 و24 و25].

3-3-1 الفحص المجهري للمستعمرات الفطرية

تم التحري عن الفطريات بطريقتين الاولى هي طريقة التحميل الرطب وذلك بتحميل لقاح من مزرعة الفطر على شريحة زجاجية حاوية على قطرة من اللاكتوفينول ازرق القطن lactophenol cottan blue وفحصها تحت المجهر المركب [18] .

اما الطريقة الثانية فتتلخص بأخذ بصمه بالشريط اللاصق من حافة المستعمرة ولصقها على شريحة زجاجية حاوية قطرة من نفس الصبغة اعلاه وفحصها تحت المجهر [19] .

3-4- حفظ العزلات الفطرية النقية

حفظت العزلات الفطرية التي تم الحصول عليها بعد تنميتها على وسط PDA المائل Slant الحاوي على المضاد الحيوي الكلورومفينكول بتركيز 250 ملغ/لتر في درجة حرارة 25مْ لمدة 7 ايام في الثلاجة بدرجة 5م مع مراعاة تجديدها شهريا وبواقع مكررين لكل عزله لحين اجراء الدراسات اللاحقة عليه [26] .

3-5 تحليل المجتمع الفطري

1-حساب معدل اعداد المستعمرات الفطرية (CFU) Colony forming unit [27]

تم حساب معدل اعداد الوحدات المكونة للمستعمرات (cfu) لكل عينة مدروسة من خلال المعادلة الاتية :

معدل CFU(لكل غرام تربة جافة)= عدد المستعمرات × مقلوب التخفيف

2-حساب النسبة المئوية للتردد Frequency % [27]

حُسبت النسبة المئوية لتردد الاجناس والانواع الفطرية لكل عينة مدروسة حسب المعادلة الاتية :

$$\text{النسبة المئوية للتردد}(\%\mathbf{F}) = \frac{\text{عدد عزلات الجنس او النوع}}{\text{عدد العزلات الكلية}} \times \mathbf{100}$$

النتائج والمناقشة

يلاحظ من جدول (1) أن أعلى معدل لأعداد المستعمرات الفطرية وبصرف النظر عن الموقع والفصل كان للتربة المحيطة بجذور نبات القصب $^{3}10\times9{,}37$ cfu /غم وأدناه لتربة نبات البردي وكان $^{3}10\times3.17$ cfu/غم . كما يتضح من هذا الجدول ان الموقع 2 وبصرف النظر عن النبات أظهر أعلى معدل لأعداد المستعمرات الفطرية الكلية مقارنة ببقية المواقع في حين أظهر الموقع 3 أدنى معدل لأعداد المستعمرات . كما يتضح ان معدل العدد الكلي للمستعمرات الفطرية للتربة الجرداء وبصرف النظر عن العوامل الاخرى المدروسة يقل كثيرا ($^{3}10\times1.55$_$^{3}10\times2.45$) cfu / غم عن نظيره للترب المحيطة بالجذور ($^{3}10\times3.25$_$^{3}10\times8.11$) cfu/ غم . وتبين أيضا ان عدد الانواع الفطرية وبغض النظر عن نوع التربة والنبات يختلف باختلاف الموقع والفصل المدروس . ويعود السبب في اختلاف معدل اعداد المستعمرات الفطرية في الترب المختلفة في هذة الدراسة الى عوامل عدة منها مقدار التلوث بالمخلفات النفطية ونوع التربة والاس الهيدروجيني ومحتوى المادة العضوية ونسبة الملوحة ونوع الغطاء النباتي والمنطقة الجغرافية [28] و[29] .

جدول (1) معدل أعداد المستعمرات الفطرية CFU للترب المدروسة وعدد الأنواع

الفصل	الموقع	تربة قصب	تربة بردي	تربة أسل	التربة المحيطة بالجذور	تربة جرداء	عدد الأنواع الفطرية
الخريف	1	*10×8.5^3	10×5.77^3	10×7.17^3	10×7.15^3	10×2.12^3	29
	2	10×9.37^3	10×6.85^3		10×8.11^3	10×2.45^3	31
	3	10×5.62^3	10×4.30^3		10×4.96^3	10×1.77^3	22
	سيطرة	10×4.45^3	10×3.99^3		10×4.22^3	10×1.65^3	15
الشتاء	1	10×4.15^3	10×3.47^3	10×3.92^3	10×3.85^3	10×1.63^3	15
	2	10×4.80^3	10×4.52^3		10×4.66^3	10×1.86^3	17
	3	10×3.32^3	10×3.17^3		10×3.25^3	10×1.55^3	16
	سيطرة	10×3.65^3	10×3.12^3		10×3.38^3	10×1.43^3	15
الصيف	1	10×5.77^3	10×4.22^3	10×5.47^3	10×5.15^3	10×1.84^3	21
	2	10×6.52^3	10×5.72^3		10×6.12^3	10×2.01^3	25
	3	10×4.02^3	10×3.85^3		10×3.93^3	10×1.63^3	19
	سيطرة	10×3.95^3	10×3.77^3		10×3.86^3	10×1.48^3	12

***الارقام تمثل معدل ثلاث مكررات**

وتبين من هذة الدراسة وبصرف النظر عن كل من نوع النبات والموقع والفصل عزل 36 نوعا فطريا موزعة على 17 جنسا عائدة الى صفين من الفطريات هما الفطريات الناقصة Deuteromycetes والفطريات اللاقحيه Zygomycetes (جدول 2 والأشكال 1_48) . يلاحظ من جدول (2) ان فطريات الصفين(الناقصة واللاقحيه) موجودة في كلا نوعي التربة (المحيطة بالجذور والجرداء) على ان التربة المحيطة بالجذور كانت هي الأكثر تنوعا فطريا من التربة الجرداء . أذ أظهرت الأولى 33 نوعا فطريا في حين أظهرت التربة الجرداء 21 نوعا فطريا وذلك مقارنة بالسيطرة (16 نوع فطري) .

جدول (2) الأنواع الفطرية المشخصة في الدراسة

التسلسل	الأنواع الفطرية	التربة المحيطة بالجذور	التربة الجرداء	السيطرة
1	*Alternaria alternate*	* +	–	+
2	*Aspergillus albus*	+	–	–
3	*A.carbonarius*	+	+	+
4	*A.flavus*	+	+	+
5	*A.ochraceus*	+	+	–
6	*A.terreus*	+	+	+
7	*A.niger*	+	+	+
8	*Aspergillus* sp.	+	–	–
9	*Aureobasidium* sp.	+	–	–
10	*Cladosporium herbarum*	+	+	–
11	*C.cladosporioides*	+	+	–
12	*Dictyoarthrinium* sp.	+	–	–
13	*Diplodia* sp.	+	–	+
14	*Fusarium circinatum*	+	–	–
15	*F. equiseti*	+	+	+
16	*F. graminearum*	+	+	–
17	*F. konzum*	+	–	–
18	*F. pseudocircinatum*	+	–	–

19	*F. sacchari*	+	–	–
20	*F. solani*	+	+	+
21	*Fusarium* sp.	–	–	+
22	*Gliocladium* sp.	+	–	–
23	*Mucor* sp.	+	+	+
24	*Monilie* sp.	–	+	–
25	*Nigrospora* sp.	–	+	–
26	*Paecilomyces* sp.	+	+	+
27	*Penicillium.chrysogenum*	+	+	–
28	*P. citrinum*	+	–	–
29	*P.italicum*	+	+	+
30	*Penicillium* sp.	+	+	+
31	*Phoma* sp.	+	+	+
32	*Rhizoctonia solani*	+	–	–
33	*Rhizopus stolonifer*	+	+	+
34	*Stemphylium* sp.	+	+	–
35	*Trichoderma harzianum*	+	+	+
36	*Trichoderma viride*	+	–	–
37	*Mycelia sterile*	–	+	+
	عدد الانواع	**33**	**21**	**16**

(+) تعني موجود و(–) تعني غير موجود

ويعزى وجود الفطريات بكثرة في التربة المحيطة بالجذور الى عوامل عده أهمها محتواها من المواد العضوية المطروحة من خلال رواشح الجذور وخلايا الجذور الميتة وإن هذه المواد تكون محدودة في الترب الجرداء وبذلك يقل التنوع الفطري فيها [30 و31] . ويلاحظ من جدول 2 أيضا أن غالبية الأنواع الفطرية المشخصة تعود للفطريات الناقصة (34 نوع من 15 جنس) وبما يشكل 94.4% من مجموع الأنواع المشخصة في هذة الدراسة . ويعود سبب الانتشار الواسع لهذه المجموعة الفطرية الى مقدرة معظم أنواعها أو أجناسها على انتاج وحدات تكاثرية بأعداد كبيرة وتكوينها لتراكيب تكاثرية مثل السبورات الكلاميدية Chlamydospores والاجسام الحجرية Sclerotia تكيفها لمقاومة الاجهادات البيئية(مثل التلوث بالمخلفات النفطية) وهو ما جعلها مقاومة للظروف البيئية المختلفة . فضلا عن نشاطها الانزيمي العالي وقدرتها على تحليل مدى واسع من المواد العضوية المختلفة وبسهولة انتشار وحداتها التكاثرية بوساطة الرياح والمياه والحشرات مما جعلها واحدة من اكثر المجاميع الفطرية انتشاراً في البيئة وهو ما يتفق والدراسات السابقة على الفطريات في بيئات مختلفة [31] . اما جدول (3) فيبين وجود الانواع الفطرية المشخصة في المواقع والفصول المدروسة وذلك بغض النظر عن النبات ونوع التربة (محيطة بالجذور أو جرداء) . ويتضح من هذا الجدول أن الموقع 2 وبصورة عامة ولكافة الفصول المدروسة هو الأكثر في وجود الأنواع الفطرية المشخصة في هذة الدراسة مقارنة بالمواقع الأخرى وأن فصل الخريف وبصورة عامة هو الاخر الأكثر في وجود هذة الأنواع مقارنة ببقية الفصول المدروسة من السنة ، على أن أنواع الجنس *Aspergillus spp.* كانت هي السائدة في الموقع الثاني ولجميع الفصول المدروسة من السنة مقارنة بأنواع الاجناس الأخرى مما يشير الى القابليات التكيفية العالية التي تمتلكها أنواع هذا الجنس لظروف هذا الموقع . أما الموقع الثالث في هذة الدراسة فقد كان الأدنى في وجود الأنواع الفطرية خلال الفصول المدروسة وأن كثير من أنواع الجنس*.Aspergillus spp* ومرة أخرى هي السائدة في هذا الموقع . ويبدو أن لنوع التربة (محيطة بالجذور أو جرداء) ومستوى التلوث بالمخلفات النفطية والصفات الأخرى للتربة (مثل نسجة التربة) تدخل جميعها في هذة الاختلافات بين الأنواع الفطرية المشخصة على مستوى وجودها من عدمه [32] .

جدول (3) الفطريات المشخصة من المواقع الاربعة خلال فصول الدراسة

الفطريات المشخصة	الموقع 1			الموقع 2			الموقع 3			موقع السيطرة		
	خريف	شتاء	صيف	خريف	شتاء	صيف	خريف	شتاء	صيف	خريف	شتاء	صيف
Alternaria alternata	+ *	_	+	+	_	+	+	_	+	+	_	_
Aspergillus albus	_	_	+	+	+	+	_	+	_	_	_	_
A.carbonarius	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	_	+
A.flavus	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	_	_
A.ochraceus	+	+	+	+	+	+	+	_	_	+	_	_
A.terreus	+	+	+	+	+	+	+	+	+	_	+	+
A.niger	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Aspergillus sp.	+	_	+	+	+	+	_	_	_	_	+	_
Aureobasidium sp.	+	_	_	_	_	_	_	_	_	_	_	_
Cladosporium herbarum	+	_	+	+	_	+	+	_	+	_	_	_
C. cladosporoides	+	_	_	_	_	+	+	_	_	_	_	_
Dictyoarthrinium sp.	+	_	+	+	+	+	+	+	_	_	_	_
Diplodia sp.	_	_	_	_	_	_	+	+	_	_	_	_
Fusarium circinatum	_	_	_	_	_	+	_	_	_	_	_	_
F. equiseti	+	+	_	+	+	+	+	_	+	+	+	+
F. graminearum	+	_	_	+	_	+	+	+	+	_	+	+
F. konzum	+	_	+	+	_	+	_	_	_	_	_	_
F. pseudocircinatum	_	_	_	_	_	+	_	_	_	_	_	_
F. sacchari	+	_	_	_	_	+	_	_	_	_	_	_
F. solani	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Fusarium sp.	_	_	_	_	_	_	_	+	+	_	+	+
Gliocladium sp.	+	_	_	_	_	_	_	+	_	+	+	_
Mucor sp.	+	+	+	+	_	+	+	+	_	+	+	+
Monilia sp.	_	_	_	+	_	_	_	_	_	_	_	_
Nigrospora sp.	_	_	_	_	_	+	_	_	_	_	_	_
Paecilomyces sp.	+	+	+	+	+	+	+	_	+	_	+	_
Penicillium chrysogenum	+	+	+	_	+	+	+	+	_	_	_	_
P. citrinum	+	_	_	_	_	+	+	_	_	_	_	_
P.italicum	+	+	+	+	+	+	_	+	+	+	+	+
Penicillium sp.	+	+	+	+	+	+	_	+	+	_	+	+
Phoma sp.	+	+	+	+	+	+	_	+	+	+	_	+
Rhizoctonia solani	+	_	_	+	+	+	+	+	+	_	+	_
Rhizopus stolonifer	+	+	+	+	+	+	_	+	+	+	+	+
Stemphylium sp. .	+	_	_	_	_	+	_	_	_	_	_	_
Trichoderma harzianum	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Trichoderma viride	+	_	+	+	_	+	+	_	+	_	_	_
Mycelia sterile	+	_	_	+	_	+	+	_	_	+	_	+
عدد الانواع	29	15	21	31	17	25	22	16	19	14	15	12

(+) تعني موجود (−) تعني غير موجود

3- عدد العزلات والنسبة المئوية للتردد

يبين جدول (4) العدد الكلي للعزلات والنسبة المئوية لتردد الأنواع الفطرية المعزولة خلال فترة الدراسة وذلك بصرف النظر عن النبات ونوع التربة والموقع والفصل ، ويلاحظ من هذا الجدول أن الأجناس *Aspergillus* و *Fusarium* و *Penicillium* و *Cladosporium* و *Trichoderma* ومقارنة ببقية الاجناس المشخصة سجلت أعلى نسبة مئوية للتردد في منطقة الدراسة على أن الجنس *Aspergillus* (بمجموع انواعه المشخصة) سجل أعلى نسبة مئوية للتردد(32.7%) وبعدد عزلات 113 عزلة فطرية من المجموع الكلي للعزلات البالغ 345 عزلة . وتوزعت أعلى النسب المئوية للتردد داخل هذا الجنس

على الانواع *A.niger* أذ بلغت نسبته 9.5% وبعدد عزلات 33 عزلة و *A.terreus* بنسبة مئوية للتردد 7.8% وبعدد عزلات 27 عزلة و *A.carbonarius* بنسبة مئوية للتردد 4.9% وبعدد عزلات 17 عزلة مما يشير الى امتلاك هذة الأنواع قابليات أنزيمية عالية ومتنوعة وكفؤة تستطيع بوساطتها تحليل مدى واسع من المواد العضوية المعقدة والمركبات الهيدروكربونية (منها المخلفات النفطية) مما يمكنها من استغلال مواد متنوعة في البيئة كمصادر للكربون والطاقة وكذلك تكوينها وحدات تكاثرية كثيرة جدا وتكيفها لمدى واسع من درجات الحرارة والأس الهيدروجيني ولتراكيز عالية من الملوحة مما يمكنها من النمو والتكاثر في ظروف بيئية مختلفة وبيئات متنوعة منها البيئات الملوثة بالنفط هذا وكثير ما عزلت هذة الانواع من الترب الملوثة بالنفط [32 و 33 و 34] .

ويلي الجنس *Aspergillus* ، الجنس *Fusarium* الذي سجل نسبة مئوية للتردد بلغت 14.7% وبعدد عزلات 51 عزلة وضم 8 أنواع هي *F.circinatum* و *F.sacchari* و *F.konzum* و *F.equiseti* و *F.Pseudocircinatum* و *F.graminearum* و *F.solani* و *F.sp.* . ومن بين هذة الانواع فقد سجل النوع *F.solani* أعلى التـرددات أذ بلغت نسبته 3.7% وبواقع 13 عزلة يليه النوع *F.equiseti* بنسبة 2.8% بواقع 10 عزلة ثم النوع *F.konzum* بنسبة 2.3% وبواقع 8 عزلة وذلك مقارنة ببقية أنواع الجنس . ويحتمل أن يكون سبب الانتشار الواسع لأنواع هذا الجنس الى رواشح جذور النباتات المدروسة والظروف أو العوامل الأخرى للتربة الملوثة بما في ذلك وجود الملوثات ودرجة الحرارة والرطوبة المناسبتين [33 و 35] .

جدول (4)عدد العزلات والنسبة المئوية الكلية لتردد الانواع الفطرية المسجلة خلال فترة الدراسة

التسلسل	الانواع الفطرية	عدد العزلات الكلي	النسبة الكلية للتردد(%)
1	*Alternaria alternata*	11	3.1
2	*Aspergillus albus*	6	1.7
3	*A.carbonarius*	17	4.9
4	*A.flavus*	14	4.0
5	*A.ochraceus*	10	2.8
6	*A.terreus*	27	7.8
7	*A.niger*	33	9.5
8	*Aspergillus* sp.	6	1.7
9	*Aureobasidium* sp.	2	0.5
10	*Cladosporium cladosporoides*	7	2.0
11	*Cladosporium herborum*	21	6.0
12	*Dictyoarthrinium* sp.	7	2.0
13	*Diplodia* sp.	4	1.1
14	*Fusarium circinatum*	2	0.5
15	*F. equiseti*	10	2.8
16	*F. graminearum*	8	2.3
17	*F. konzum*	8	2.3
18	*F. pseudocircinatum*	2	0.5
19	*F. sacchari*	4	1.1
20	*F. solani*	13	3.7
21	*Fusarium* sp.	4	1.1
22	*Gliocladium sp.*	5	1.4
23	*Mucor* sp.	10	2.8
24	*Monilie* sp.	2	0.5
25	*Nigrospora* sp.	2	0.5
26	*Paecilomyces* sp.	10	2.8
27	*Penicillium chrysogenum*	9	2.6
28	*P. citrinum*	3	0.8
29	*P.italicum*	14	4.0
30	*Penicillium* sp.	10	2.8
31	*Phoma* sp.	11	3.1
32	*Rhizoctonia solani*	10	2.8
33	*Rhizopus.stolonifer*	13	3.7
34	*Stemophylium* sp.	3	0.8
35	*Trichoderma harzianum*	15	4.3
36	*Trichoderma viride*	7	2.05
37	*Mycelia sterile*	9	2.6
	المجموع الكلي العزلات الفطرية	345	100

اما الجنس *Penicillium* فقد سجل بأنواعه نسبة مئوية للتردد بلغت 10.4% وبعدد عزلات 36 عزلة وضم 4 أنواع من بينها النوع *P.italicum* الذي سجل أعلى نسبة مئوية للتردد بلغت 4% وبواقع 14 عزلة مقارنة ببقية أنواع هذا الجنس (جدول 4) . وهذه المعلومات تتفق مع دراسات عدة على الفطريات المعزولة من ترب مختلفة بضمنها الترب الملوثة بالنفط [29] و[36] ويلاحظ من جدول 4 ايضاً أن الجنس *Cladosporium* sp. سجل نسبة مئوية للتردد بلغت 8.1% وبعدد عزلات 28 عزلة في حين سجل الجنس *Trichoderma* sp. نسبة مئوية للتردد بلغت 6.4% وعدد عزلات 22 عزلة فطرية . على أن الترددات العالية لهذين الجنسين بأنواعهما المسجلة في هذه الدراسة تتفق والنتائج المستحصل عليها في دراسات سابقة سجلت وجودهما في الترب الملوثة بالمخلفات النفطية[29] .

اما أقل الاجناس ترددا فكانت كل من الجنس *Monilia* sp. و*Aureobasidium* sp و*Nigrospore* sp *أذ بلغت نسبة كل* منها0.5% وبعزلتين لكل جنس (جدول4) وربما يعود السبب في ذلك لطبيعة معيشتها الرمية وطبيعة جهازها الانزيمي وكذلك التضاد الحياتي بين الأنواع وطبيعة تحملها للظروف البيئية في منطقة الدراسة وتتلائم هذه النتائج مع ماتوصل ألية كل من[9] و[31] .

المصادر

المعالجة البيولوجية. أطروحة دكتوراه، كلية العلوم جامعة البصرة.175 صفحة .

10- Kas, J.; Burkhard, J.; Demnerova, K.; Kostal, J.; Macek, T.; Mackova, M. and Pazlarova, J. (1997) . Perspectives in biodegradation of alkanes and PCBs. Pure and Appl.. Chem. 69(11): 2357-2389.

11- Garapati ,V.K. and Mishra , S .(2012) . Hydrocarbon Degradation using Fungal Isolate: Nutrients Optimized by Combined Grey Relational Analysis. Department of Chemical Engineering, National Institute of Technology, Rourkela, Odisha ./International Journal of Engineering Research and Applications (IJERA). vol.2, pp. 390_399.

12- الجرجري ، شامل نايف أبراهيم.(2013) . دراسة تأثير المخلفات النفطية على بعض النباتات النامية في محافظتي كركوك وصلاح الدين. رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة تكريت. 200 صفحة .

13- عبد القادر، رشدي صباح . (2013).تأثير المياه العادمة لشركة مصافي الشمال- بيجي في بعض أنواع النباتات الواطئة . أطروحة دكتوراه قيد الطبع ، كلية التربية، جامعة تكريت .190 صفحة .

14- القيسي ، عبير رؤوف. (2013) . دراسة فعالية بعض الفطريات البازيديه الكبيرة في المعالجة الحيوية للمياه الملوثه بالمخلفات النفطية في مصفى بيجي. أطروحة دكتوراه قيد الطبع . كلية التربية ، جامعة تكريت .205 صفحة .

15- Johnson , L.F. and E.A. Curl (1972) . Methods for Research on The Ecology of Soil – Borne Plant Pathogens .Burgess Publishing Company. 247 pp.

16- Johnson, L. E., Curl, E. A., Bond, J. H. and Fribourgh, H. A. (1959). Methods for studying soil microflora- plant disease relationships. Burgess Pub. Co. Minneapolis, Mn. USA .

17- Warcup, J. H. (1960). Methods For Isolation And Estimation Of Activity Of Fungi In Soil. In: The Ecology Of Soil Fungi (Eds.) Parkinson D. P., And Waid J. S. Liverpool University Press Pp.3- 21.

18- Kwon-Chung , K.J. and Bennett , J.E. (1992). Medical Mycology. Lea and Febiger ,Philadelphia.

19- Baron , E.J ; Peterson, L . R. and Finegold.S.M. (1994). Bailey and Scotts diaghostic microbiology . 9th ed , Mosby Baltimor ,London.

1- Atlas, R.M. and Creiniglia, C.E. (1995). Bioremediation Of Petroleum Pollutants . ioscience , 45(5): 332- 338 .

2- Ozaki, F., C.M. Pannuti, A.V. Imbronito, W. Pessotti and L. Saraiva et al., (2006). Efficacy of a herbal toothpaste on patients with established gingivitis: A randomized controlled trial. Braz. Oral Res., 20: 172-177.

3- Zhu, X; Venosa, A. D; Suidan, M. T. and Lee, K. (2004) . Guidelines for the Bioremedation of oil–contaminated salt marshes. National risk management research laboratory. Office of Research and Development U. S. Environmental protection Agency ,Cincinnati. EPA/600/R-04/074.

4- Kanaly, R. A. and Harayama, S. (2000). Biodegradation of high – Molecular – Weight polycyclic aromatic hydrocarbons by bacteria. American society for microbiology. Journal of Bacteriology. Vol. 182, No. 8. PP: 2059 – 2067 .

5- Bennett, J. W. ; Wunch, K. G. And Faison, B .D. (2002). Use Of Fungi In Biodegradation. In: J. Hurst (Ed.) Manual Of Environmental Microbiolo-Gy 2nd Edition, Asm Press Washington. Pp: 960-971.

6- Vidali, M. (2001). Bioremediation. An Overview. Pure. Appl. Chem.,, Academic Press, London. 73:1163-1172.Vol. 1 .

7- Thapa, B.and Ghimire, A. (2012). Areview on bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminants in soil. asian institute of technology, pathumthani Bangkok, Thailand. kathmandu university journal of science, engineering and technology. vol. 8, pp 164-170 .

8- Baldi, F.; Pepi, M.; Capone, A.; Giovampaola, C. M.; Milanesi, C.; Fani, R. And Focarelli, R. (2003). Envelope Glycosylation Determined By Lectins In Microscopy Sections Of Acinetobacter Venetianus Induced By Diesel Fuel. Research In Microbiology 154: Pp: 417 – 424 .

9- الدوسري ، مصطفى عبد الوهاب، (2008) . عزل وتشخيص الفطريات من رسوبيات أهوار جنوب العراق وأختبار قابليتها في

20-Ellis, M.B.(1971).Dematiaceous Hyphomycetes .Common Wealth Mycological Institute , Kew ,Surrey , England .603 pp.
21- Domsch , K.H . ; W. Gams and T.H . Anderson .(1980). Compendium of Soil Fungi Academic Press .859 pp.
22- Ogoshi , A.(1987) . Ecology and Pathogenicity of anastomosis and interaspecific groups of *Rhizoctonia solani* (Kuhn) . Ann . Rev.phytopathol .25:125- 143.
23-Ranasingh,N.;A.Saurabband M . Nedunchezhiyan (2006). Use of *Trichoderma* in Disease Management . Orissa Review . 3pp .
24- Leslie ,J.f. and B.A. Summerell (2006) .the *Fusarium* Laboratory Manual . Black well Publishing . 388 pp.
25- Barnett , H.l. and Hunter, B.B. (2006) . Illustrated Genera of Imperfect Fungi . Burgess Publishing Company . 241 pp.
26- Jong, S.C .(1981) . Isolation ,Cultivation and mai and tenance of candidial fungi , In biology of candidial fungi . Vol.2. Edited by Cole, G. T. and Kendrick , B. acad. Press, New York.
27- Booth , T .Gorrie , S .and Mabsin , T.M. 1988 . Life Strategies among fungal,assemblages onSalicornia europase agg . Mycologia : 80: 176-191.
28- Abdullah, W.R. and Abdullah, S.K. (2009). Taxonomic study on black aspergilli from soil in Kurdistan region of Iraq. *J.Duhok Univ*. 12 (special issue), 288-295.
29- Obire, O.,E. C. Anyanwu and R.N. Okigbo. (2008). Saprophytic and crude oil-degrading fungi from cow dung and poultry droppings as bioremediating agents. International Journal of Agricultural Technology. 4(2): 81-89.
30- Rovira , A. D.(1985).Interaction Between Plant Root And Soil Microorganisms . Ann . Rev. Microbiol . 19 : 241 – 266 .
31- ألدباغ ، هبة هادي طة . (2011) . عزل وتشخيص الفطريات المصاحبة لبعض أنواع نباتات ثلاثية ورباعية الكربون . رسالة ماجستير . كلية التربية ، جامعة تكريت . 105 صفحة .
32- De Vries , R.P.; and Visser, J. (2001). *Aspergillus* enzymes involved in Degradation of plant cell wall polysaccharides. Microbiol. Molec. Biol. Rev., 65:497-522 .
33- Mohsenzade, F., Nasseri, S., Mesdaghinia, A., Nabizadeh, R., Zafari, D. and Chehregani , A .(2009) 'Phytoremediation of petroleum-contaminated soils: Pre-screening for suitable plants and rhizospheral fungi',Toxicological and Environmental Chemistry, 91: 8, 1443 — 1453.
34- Ekundayo,F.O; Olukunle,O.F; Ekundayo,E.A .(2012). Biodegradation of Bonnylight crude oil by locally isolated fungi from oil contaminated soils in Akure. Department of Microbiology, Federal University of Technology, Nigeria. Malaysian Journal of Microbiology. Vol 8(1) pp. 42-46 .
35- Al-Zujaji , R.N.(2000) .Study Of Fungal Community To The Soil Alhagi Graecorum And Phonix Dactylifera In Kerbala And Babylon Province .M.Sc. Thesis Coll.Sci. Univ. Babylon .
36- Adeniyi,S.A; Victoria,T.S;Omowunmi,S.K;and Sunday, S.J. (2011). biodeterioration of premium motor spirit (pms) by fungal species. college of technology, yaba- lagos, Nigeri.International journal of science and nature. vol. 3(2): 276-276.

Study of seasonal variation in fungi isolated from petroleum contaminated soils in Baiji , Salah aldin Province

Marwan S.Hameed , Talib O .Al-khesraji , Khalil A.Bander
Dept.of Biology College of Education Tikrit Univ ,Tikrit , Iraq
(Received:17/2/ 2013 ---- Accepted:17/6/2013)

Abstract
The study recorded 36 fungal species belonging to 17 genera , most of them (94.4%) from *Deuteromycete* and the rest (5.6%) from *Zygomycetes* where *Aspergillus , Fusarium , Penicillium , Cladosporium* . and *Trichoderma* were the most dominant and frequent genera in soils studied. Among these genera *Aspergillus*. Was the most dominant genus with highest frequency (32%) and occurrence (100%) and among *Aspergillus*. Species, *A. niger* showed (100%) occurrence and (9.5%) frequency followed by *A. terreus* with occurrence of (87.5%) and frequency of (7.8%) compared with other *Aspergillus*. Species isolated . CUF for rhizospheric soils was ranged between 4.96×10^3_8.11×10^3 colony/ gm dry soil in autumn . 3.25×10^3 _ 4.66×10^3cfu/gm in winter and 3.93×10^3_6.12×10^3 cfu/gm in summer . Results also showed that polluted rhizospheric soils contained more fungal species (33 species) than both bulk (21 species) and contaminated rhizospheric (16 species) . Highest number of fungal species (34species) with highest frequency was found in autumn , compared with that in winter (23 species) and summer (27 species) .It was revealed that the frequency and number of fungal species , were different in different sites studied, where site 2 showed the highest number of fungal species (31 , 17 , 25 species in autumn ., winter .and summer respectively) while site 3 showed the lowest number of fungal species (22, 16 and 19 species in autumn , wined and summer respectively). However , rhizospheric soils of *Phragmitis* (Polluted or not) were found to contain more fungal species (28 species) than those of *Typha* (24 species) and *Juncus* (14 species) .
Keywords: Fungal diversity; Rhizospher; petroleum pollution .