المؤتمر الدولي الأول لكليات العلوم – جامعة الزاوية
19 - 20 ديسمبر 2021

الأحياء الفطرية في الترب الليبية الملوثة بالهيدروكربونات.

محمد أحمد الرياني[1]، حنان المبروك الوحيشي[2] ، سالمة محمد السويح[3]،
صلاح الدين البشير البلعزي[4]،سناء الهادي أبوعجيلة[5].
[1]قسم علم النبات ، كلية العلوم ، جامعة الزنتان ، profdrnani@gmal.com
[5،4،2] قسم علم النبات ، كلية العلوم ، جامعة صبراتة ، ليبيا، ، hanan.m.alwhi@gmail.com
[3] قسم علم النبات ، كلية العلوم ، جامعة الزاوية ، ليبيا،roaahammed93@gmail.com

الملخص:

تهدف هذه الدراسة إلى التعرف على الفطريات السائدة في الترب الليبية الملوثة بالنفط الخام ومشتقاته، إذ تم جمع 17 عينة من ترب ملوثة بمواد هيدروكربونية من مناطق مختلفة متمثلة في التربة المحيطة بآبار النفط بحقل الوفاء للنفط والغاز بمنطقة الحمادة، و مصفاة الزاوية لتكرير النفط، و مجمع مليته للنفط والغاز، و محطات الوقود والديزل، و محطات تغيير زيوت السيارات والتشحيم، و ورش صيانة السيارات بمنطقتي صبراتة و صرمان، مائة وخمسة وأربعون عزلة فطرية عرفت خلال الدراسة، تمثل 26 نوعاً فطرياً مختلفاً، تنتمي تصنيفياً إلى 3 قسيمات، وتندرج تحت 4 رتب، و6 فصائل و10 أجناس.

بينت النتائج سيادة قسيم الفطريات الناقصة Deuteromycotina على بقية القسيمات الفطرية، بنسبة تردد بلغت 58.62%، مقابل 29.66% لقسيم الفطريات الزيجوية Zygomycotina، بينما تواجدت الفطريات الزقية Ascomycotina في الترب الملوثة هيدروكربونياً بنسبة أقل 11.72 %، و حققت بعض الأنواع سيادة على إجمالي الأنواع المعزولة، مسجلة نسب تردد هي الأعلى، وهي على التوالي: (Rhizopus stolonifer 20%, Aspergillus terreus 17.24%, A. candidus 8.97%).

الكلمات المفتاحية : الترب الملوثة، التحلل الحيوي، حقل الوفاء، الفطريات الناقصة، Aspergillus terreus.

*ايميل الباحث المرسل:profdrnani@gmal.com

ABSTRACT

This study aimed to identify the fungi prevalent in Libyan soils contaminated with crude oil and its derivatives, as 17 samples, that were collected from soils contaminated with hydrocarbons from different areas represented in the soil surrounding oil wells in Al-Wafa Oil and Gas Field in Hamada, Al-Zawiya Oil Refinery, and Mellitah Oil and Gas Complex, fuel and diesel stations, car oil and lubricant change stations, and car maintenance workshops in the Sabratha and Surman regions. One hundred and forty-five fungal isolates were identified in this study, representing 26 different fungal species, belonging to 3 taxonomic subdivisions, and falling under 4 orders, 6 families and 10 genera.

The results showed that, the dominance of the Deuteromycotina subdivision was over the rest of the other fungal subdivisions, with a frequency of (58.62%), compared to 29.66% of the Zygomycotina subdivision, while Ascomycotina was present in hydrocarbon-contaminated soils with a lower percentage of 11.72%, and some species achieved dominance over the total Isolated species, with the highest frequency rates recorded, respectively: (*Rhizopus stolonifer* 20%, *Aspergillus terreus* 17.24%, *A. candidus* 8.97%).

Key words: Polluted soils, biodegradation, Al-Wafa field, imperfect fungi, Aspergillus terreus.

1.المقدمة:

التلوث البيئي كارثة لا حدوداً إقليمية لها ومع وجود الرياح والتيارات المائية سيأخذ التلوث البيئي مساحات أوسع، وتحديدا المواد الهيدروكربونية Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) فهي أحد ملوثات البيئة (Santos *وآخرون*، 2018)، وتتجمع بكميات ضخمة جداً في البيئة نتيجة حرق الوقود، و انبعاثات عوادم السيارات، و عمليات استخراج النفط، بالإضافة إلى المخلفات الصناعية وعمليات معالجة التربة بمخلفات المجاري كمخصبات (Czarny *وآخرون*، 2020؛ dos Santos و Maranho، 2018؛ Pickard *وآخرون*، 1999)، وتعدّ الهيدروكربونات لاسيّما الأروماتية منها Aromatic hydrocarbons من الملوثات البيئية الخطيرة من خلال انتقالها في السلسلة الغذائية (محمد وشعيب، 2017)، فضلا عن سميتها للأحياء وفعلها المطفر Mutagenic، و المسرطن Carcinogenic، وصفاتها الكيميائية والفيزيائية المعقدة التي تجعل منها صعبة التحليل (Khan *وآخرون*، 2018؛ الطائي *وآخرون*، 2016)، و تحظى المعالجة الإحيائية Bioremediation باهتمام كبير كونها طريقة صديقة للبيئة وعواملها، و تعرف بأنها إمكانية استخدام الكائنات الحية الدقيقة في هدم وإزالة السمية بطريقة فعالة ولاسيما بالمعالجة الفطرية Mycoremediation التي هي جزء من النظام البيئي وغير مكلفة

اقتصادياً، فضلا عن كونها تزيل الملوثات دون أن تخلف بقايا منها وتفككها إلى نواتجها النهائية الطبيعة في البيئة (Santos *وآخرون*، 2018؛ Hameed *وآخرون*، 2013؛ Alwan و Seker، 2010).

يزداد الاهتمام بالفطريات لاستخدامها في المعالجة الحيوية للنفط الخام والملوثات البيئية الأخرى لامتلكها نظاما أنزيميا قويً ومعقداً يزيد من قابليتها على تكسير أو تحويل عدد كبير من الملوّثات الخطرة على الإنسان والبيئة (الدوسري *وآخرون*، 2009)، وتعدّ الفطريات والبكتيريا من أهم الأحياء المجهرية الموجودة في التربة و التي تعمل على تكسير الملوثات ومنها الهيدروكربونات النفطية (Li *وآخرون*، 2020؛ Singh، 2006).

النفط عصب الحياة في مختلف الدول المتطورة والنامية، وتتعدد مجالات استخدامه في مختلف المجلات، و ليبيا من الدول المنتجة للنفط مند عشرات السنين، وتمتلك كميات كبيرة من الاحتياطات النفطية، و ترافق عمليات استخراج النفط ونقله وتكريره واستخدامه مخاطر وأضرار بيئية عديدة على اليابسة والمصادر المائية، لذلك لابد من أخذ هذه المخاطر بالاعتبار وإيجاد أفضل الطرائق العلمية الفعالة لمعالجتها، هذا وتعد المعالجة الحيوية من أهم الطرائق المتبعة في معالجة المناطق الملوثة بالمركبات الهيدروكربونية الناتجة عن النفط أو المشتقات النفطية أو الصناعات الأخرى بسبب فاعليتها وإمكانية الحصول على الأحياء الدقيقة الفعالة في هذا المجال، وإمكانية تطبيقها مختبرياً وحقلياً، إضافة إلى تكاليفها الاقتصادية المنخفضة نسبياً، و محافظتها على خصائص البيئة من خلال معالجة بعض حالات التلوث مثل تلوث التربة بالنفط أو تلوث المصادر المائية بتركيزات منخفضة من المركبات الهيدروكربونية (Jiji و Prabakaran، 2020؛ Li و Li، 2011).

تكمن أهمية هذه الدراسة في أنها تهدف إلى دراسة التنوع الحيوي الفطري بعزل وتعريف الأنواع الفطرية القاطنة في الترب الليبية الملوثة بمركبات نفطية والعمل على تصنيفها، ودراسة مدى و نسب ترددها، بحيث يتم تنميتها وإكثارها لاحقاً وصولاً إلى محفز نشيط يتم استخدامه في تفكيك المركبات النفطية الملوثة للأوساط البيئية المختلفة، وذلك في إطار المعالجة الحيوية.

2.المواد وطرائق العمل:

2.1.تجميع العينات:

جمعت (17) عينة من الترب الملوثة بالمخلفات النفطية ومشتقاتها من المواقع التالية؛ حقل الوفاء للنفط والغاز بمنطقة الحمادة، و مصفاة الزاوية لتكرير النفط، و مجمع مليته للنفط والغاز، محطات الوقود و الديزل، ومحطات تغيير زيوت السيارات و تشحيمها، و ورش تصليح السيارات، جمعت العينات عشوائياً، وبعمق 5–10 سم من سطح التربة، و بوزن حوالي 250 جم/عينة، و وضعت في أكياس بلاستيكية معقمة، ثم نقلت إلى المختبر لإجراء الاختبارات الميكروبيولوجية بعد تسجيل بياناتها، جدول رقم (1).

جدول رقم (1): نوع التلوث الهيدروكربوني وأماكن تجميع عينات التربة.

العينة	نوع التلوث الهيدروكربوني بعينة التربة	مكان تجمع العينة
1	نفط خام	مجمع مليته للنفط والغاز.
2، 3	[3]، زيت خام[2]ديزل	حقل الوفاء للنفط والغاز بالحمادة.
4	Oil 15w40 زيت محركات	ورشة صيانة المولدات الكهربية والآليات الثقيلة بحقل الوفاء.
5	ديزل	ورشة تصليح سيارات بمدينة صبراتة – منطقة زواغة.
6	زيت محرك سيارات	ورشة تصليح سيارات بمدينة صبراتة – منطقة زواغة.
7	زيت محرك	مغسلة سيارات بمدينة صبراتة – منطقة زواغة.
8، 9	زيت محرك[8.9].	ورشتين لتصليح السيارات بمدينة صرمان – منطقة أبي الريش.
10	ديزل	محطة وقود سيارات بمدينة صرمان – أم الحشان – دواخل.
11	ديزل	محطة تغيير الزيوت وتشحيم السيارات بمدينة صرمان – منطقة السوق.
13،14،12	[14]، زيت خام[13]، زيت خام[12]نفط خام	مصفاة الزاوية.
15	زيت محرك	محطة تغيير الزيوت وتشحيم السيارات بمدينة صبراتة – منطقة خرسان.
16	ديزل	محطة وقود سيارات بمدينة صبراتة – منطقة خرسان.
17	زيت محرك	محطة غسيل سيارات بمدينة صبراتة – منطقة خرسان.

2.2.عزل الفطريات:

عُزلت الفطريات من الترب بمختبر المعهد القومي لعلاج الأورام- صبراتة، بطريقة التلقيح المباشر (Direct Plate Method) لعدد17عينة من الترب الملوثة، وذلك بنثر1 جرام من كل عينة على طبق بتري يحوي الوسط المغذي آجار دكستروز البطاطس PDA، وبواقع ثلاث مكررات لكل عينة، و حضنت الأطباق في درجة حرارة 25±2 درجة مئوية، وتم متابعة النمو و عزل المستعمرات حديثة النمو في صورة نقية على الوسط المغذي آجار شيبك دوكس Czapek Dox Agar (CYA)، ثم حضنت على درجة حرارة 25 - 27 °م مع متابعة النمو اليومي (Ekundayo *وآخرون*، 2012 ؛ Pitt و Hocking، 1997؛ Warcup، 1960).

2.3.تعريف الفطريات المعزولة:

عرفت الفطريات النامية المتحصل عليها من عمليات العزل والتنقية بمعمل كلية العلوم – جامعة الزنتان بدراسة خصائص وصفات المزارع الفطرية العينية والدقيقة المجهرية، والتعرف على الشكل الظاهري والوحدات التكاثرية الجنسية و اللاجنسية للفطريات، و الاستعانة بالمراجع العلمية المتخصصة في وصف وتعريف الفطريات؛ (العبد، 2014؛ Campbell *وآخرون*، 2013؛ Samson *وآخرون*، 2011؛ Pitt و Hocking، 2009؛ Ellis *وآخرون*، 2007؛ Domsch *وآخرون*، 2007؛ de-Hoog *وآخرون*، 2000؛ Alexopoulos *وآخرون*، 1996؛ Moubasher، 1993؛ Samson و Pitt، 1985؛ Samson و Gams، 1985؛ Raper و Fennel، 1965).

2.4.حفظ العزلات الفطرية النقية:

حفظت العزلات الفطرية التي تم عزلُها في صورة نقية من الأطباق في أنابيب اختبار تحتوي كل منها على حوالي 10 مل من الوسط الغذائي المائل (PDA) الحاوي على المضاد الحيوي كلورمفينكول 500 ملجرام/ لتر، حيث تم تلقيح أنبوبتين من كل طبق وحضنت على درجة حرارة 25± 2°م، مع المتابعة اليومية إلى أن يظهر النمو بصورة جيدة على سطح الآجار المائل، ثم تحفظ هذه الأنابيب في الثلاجة على درجة حرارة 4°م، إلى حين الاستعمال، ويجدد النمو كل 6 إلى 12 شهر(Camelini *وآخرون* 2012؛ Ekundayo *وآخرون*، 2012؛ George-Okafor *وآخرون*، 2009؛ López *وآخرون* 2002).

3.النتائج والمناقشة:

صُنفَ خلال هذه الدراسة 26 نوعاً فطرياً مختلفاً، عزلت من 17 عينة تربة ملوثة بالمشتقات النفطية الجدول رقم (2) والملحق رقم (1)، و أظهرت الدراسة تنوعاً على مستوى الأقسام والأجناس والأنواع.

تنتمي الأنواع الفطرية المعزولة تصنيفياً إلى3 قسيمات، و 4 رتب، و 6 فصائل، تتضمن 10 أجناس، حيثُ بلغ عدد العزلات الفطرية 145عزلة، صنفت إلى85 عزلة تندرج تحت قسيم الفطريات الناقصة Deuteromycotina، تضمنت 4 أجناس، و 14 نوعاً فطريً، تليها 17عزلة من قسيم الفطريات الزقية Ascomycotina، تضمنت 4 أجناس، صنفت إلى 6 أنواع فطرية، و 43 عزلة من قسيم الفطريات الزيجية Zygomycotina، صنفت إلى جنسين و 6 أنواع فطرية، و ساد قسيم الفطريات الناقصة على القسيمات الفطرية الأخرى بنسبة تكرار بلغت (58.62 %)، مسجلا 85 عزلة من مجمل عزلات الدراسة البالغة 145 عزلة الجدول رقم(2)، و يحتمل أن تعود سيادة هذا القسيم إلى الانتشار الواسع لأنواعه، لقدرتها على التكيف مع الظروف البيئية المختلفة، فضلاً عن كونها فطريات رمية قادرة على استهلاك مصادر كربونية وعضوية متنوعة، سجل جنس .*Aspergillus* spp أعلى تنوعاً وتكراراً، عُزل منه 55 عزلة تضمنت 8 أنواع، وصلت نسبة تكراره إلى 37.93%، حيث سجل النوع *A. terreus* أعلى تكراراً بين مجمل الأنواع المعزولة خلال هذه الدراسة، وتجدر الإشارة هنا إلى أن معظم الأنواع في جنس .*Aspergillus* spp قد تم وضعها من قبل بعض العلماء المختصين بدراسة علم الفطريات ضمن طائفة الفطريات الناقصة، وذلك نظراً لوجودها وانتشارها في الطبيعة على هيئة أطوار كونيدية، و اختفاء أطوارها الكاملة على الرغم من قدرة بعضها على إنتاج هذه الأطوار، أو لعدم التعرف على الثمار الزقية في عدد كبير من

أنواعها، أي لا يزال الطور الكامل لبعض فطريات *Aspergillus* spp. غير معروف ومن المحتمل أن تكون هذه الأنواع قد فقدت قدرتها على التكاثر الجنسي ولهذا تُضم مثل هذه الأنواع إلى قسيم الفطريات الناقصة Deuteromycotina، و فطريات جنس *Aspergillus* spp. التي تصنف تحت قسيم Ascomycotina تمتلك مثل هذا الطور مثل *A. herberiorum* و *A. repens* التي لم تظهر في نتائج دراستنا (العبد، 2014؛ الرحمة، 1993)، يليه جنس *Fusarium* spp. ثاني أكثر الأجناس تكراراً بنسبة 9.66% من مجمل العزلات، مسجلاً 3 أنواع، كان أكثرها تكراراً النوع *F. solani* (11 عزلة، و بنسبة تكرار 7.59%)، بينما سجل جنس *Alternaria* spp. نسبة تكرار بلغت 8.28% ممثلاً بنوعين و 12 عزلة فطرية أهمها: *A. alternata* (11عزلة و بنسبة تكرار 7.59%)، والنوع *A. chlamydospora* (عزلة واحدة بنسبة تكرار 0.69%)، وتمثل الجنس *Ulocladium* spp. بأربع عزلات لنوع فطري واحد *U. botrytis* مسجلاً نسبة تكرار 2.96%.

قسيم الفطريات الزيجية ثاني أكبر المجموعات الفطرية المعزولة بنسبة بلغت 29.66%، عزل منه 43 عزلة، صنفت إلى جنسين و6 أنواع، و يبين الجدول (2) أن جنس *Rhizopus* spp. سُجل في المرتبة الأولى من حيث التكرار والتنوع وبنسبة (26.90 %) تمثل في **5** أنواع، وسجل النوع *R. stolonifer* أعلى نسبة تكرار بين أنواع الفطريات الزيجية بلغت (20%)، وشمل 29 عزلة توزعت على أغلب العينات، ويعد هذا النوع واسع الانتشار، ويوجد في مختلف الأوساط، لكنه أكثر شيوعا في التربة كما أنه أحد مسببات الأمراض النباتية، يسبب أعفاناً طرية على ثمار العديد من الفواكه والخضروات (Edmunds، 2008) يليه النوع *R. parasiticus* مسجلاً 7 عزلات، ورصدت عزلة واحدة لكل من باقي الأنواع *R. delemar* و *R. oryzae* و *R. arrhizus* بتكرار نسبته 0.69 %، ويعد *R. oryzae* المسبب الأكثر شيوعاً للأمراض الزيجية Zygomycosis (Baghela، 2010)، في حين تمثل جنس *Mucor* spp. بنوع واحد *M. hiemalis* مسجلاً 4 عزلات فقط و بنسبة تكرار بلغت 2.76 %.

الفطريات الزقبة كما هو موضح بالجدول رقم (2) أن النوعان *Gibberella fujikuroi* و *Cochliobolus australiensis* أقل تكراراً بعزلة واحدة فقط لكل منهما، وبنسبة تكرار 0.69%، وسُجلت عزلتين لخميرة الكانديدا *Candida albicans* بنسبة تكرار بلغت (1.38%)، أما النوعان *Emericella nidulans* و *Emericella quadrilineata* سجلا كل منهما 4 عزلات بنسبة تكرار 2.76، في حين سجل النوع *Gibberella intricans* خمس عزلات تكررت بنسبة بلغت 3.45%.

جدول رقم (2): تكرار و نسبة تكرار الأنواع الفطرية المعزولة من الترب الليبية الملوثة بالهيدروكربونات النفطية.

الأنواع الفطرية / عينات التربة	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	التكرار	التكرار %
Alternaria alternata	-	**3**	**2**	-	-	-	**1**	-	-	-	-	**1**	-	-	-	**4**	-	**11**	**7.59**
A. chlamydosporum	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	**1**	-	**1**	**0.69**
Aspergillus alutaceus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	**2**	-	**2**	**1.38**

8.97	13	-	1	1	-	-	3	-	5	-	-	-	-	-	-	3	-	-	*A. candidus*
1.38	2	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	*A. flavus*
5.72	8	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	2	-	-	-	4	-	*A. nidulans*
1.38	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*A. niger*
0.69	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	*A. oryzae*
1.38	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	*A. sydowii*
17.24	25	3	1	3	3	-	5	-	4	1	-	-	3	-	-	-	2	-	*A. terreus*
1.38	2	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	*Candida albicans*
0.69	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	*Cochliobolus australiensis*
2.76	4	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	2	-	-	-	-	-	-	*Emericella nidulans*
2.76	4	-	2	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	*E. quadrilineata*
0.69	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	*Fusarium chlamydosporum*
1.38	2	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*F. equiseti*
7.59	11	-	1	3	-	-	3	2	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	*F. solani*
0.69	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	*Gibberella fujikuroi*
3.45	5	-	-	-	-	-	1	1	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	*G. intricans*
2.76	4	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	1	-	-	-	-	*Mucor hiemalis*
0.69	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	*Rhizopus arrhizus*
0.69	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	*R. delemar*
0.69	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*R. oryzae*
4.83	7	-	-	1	-	-	3	-	1	-	-	-	-	-	-	-	2	-	*R. parasiticus*

20	29	4	-	-	3	7	-	-	-	2	1	-	5	-	-	2	2	3	*R. stolonifer*
2.7	4	-	-	-	-	-	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-	*Ulocladium botrytis*
100%	145	9	16	10	6	7	18	3	14	10	4	10	11	2	0	8	14	3	المجموع
55		2	6	5	2	1	5	2	4	4	3	7	3	2	0	4	4	1	عدد الأجناس
71		3	10	6	2	1	7	2	5	6	4	8	4	2	0	4	6	1	عدد الأنواع

جدول رقم (3): توزيع العزلات الفطرية المسجلة نبعاً للأقسام التصنيفية.

القسيم	عدد العزلات	عدد الأجناس	عدد الأنواع	النسبة المئوية للتكرار%
الفطريات الناقصة	85	10	14	58.62
الفطريات الزيجية	43	2	6	29.66
الفطريات الزقية	17	4	6	11.72
المجموع	145	16	26	% 100

سجل الجنسان .*Rhizopus* spp و .*Aspergills* spp أعلى نسبة تكرار بينما كان جنس .*Aspergillus* spp أعلى نسبة في التنوع الفطري للأنواع المعزولة، ويعزى ذلك إلى ما تتميز به أنواع هذا الجنس من قابلية نمو في بيئات مختلفة و قدرتها الأنزيمية عالية تمكنها من السيادة على بقية الأجناس(Karaoglu و Ulker، 2006)، ولقد بين (Ogbonna *وآخرون*، 2020) في دراسة تهدف إلى توصيف الأحياء الدقيقة المحللة لزيت النفط الخام في نجيريا والمعزولة من ترب مزرعة جامعة ولاية ريفرز (Rivers State University) الزراعية الملوثة عمداً بالزيت الخام جمعت بعد 21 يوماً من المعاملة وقورنت بالتربة الطبيعية، ثم أُجريت عمليات العزل الميكروبي والتحليل وفقًا للإجراءات الميكروبيولوجية القياسية، و تم تعريف العزلات باستخدام الدراسات الجينومية، نتائج التعداد الميكروبي أظهرت وجود 6 أجناس بكتيرية؛ *Nitrosomonas* و *Pseudomonas* و*Staphylococcus* و *Bacillus* و *Proteus*و*Citrobacter*، و أربع أجناس فطرية؛ *Penicillium* و*Mucor* و *Rhzopus* و*Fusarium* عزلت من عينات التربة الشاهد والملوثة عمداً، وهذا مؤشر لقدرتها على النمو في الترب الملوثة، وتحليل واستغلال الملوثات الهيدروكربونية.

كذلك لوحظ عدم نمو المستعمرات الفطرية في التربة الملوثة بالزيت من نوع Oil 15w40 المستعمل لمحركات عربات الشحن والآليات الثقيلة ومولدات الكهرباء بحقل الوفاء بمنطقة الحمادة في العينة رقم (4) المجمعة من

ورشة صيانة المولدات الكهربية والشاحنات، وهذا قد يعود إلى التراكيز العالية للمواد الهيدروكربونية الداخلة في تركيبه، وتأثيرها المثبط على نمو الفطريات، أو وجود عوامل ساعدت في عدم تكسير هذه المواد كصفاتها الفيزيائية والكيميائية، أو تكوينها لمواد سامة ربما كان لها تأثير تثبيطي على نمو الفطريات (Aitken و Pfaender، 2007)، واتفقت هذه النتائج مع ما أشار إليه (Dawoodi *وآخرون*، 2015) عندما عزلوا الفطريات من التربة الملوثة بالمشتقات النفطية، و من بينها فطرة .*Rhizopus* spp، بينما كانت نسبة التنوع وتواجد فطر *Aspergillus* .spp عالية جداً مقارنة بفطر .*Rhizopus* spp، وهذا ما أكدته الدراسة التي قام بها (حميد، 2015) أن جنس .*Aspergillus* spp أكثر الفطريات سيادة مقارنة بالفطريات التي تم عزلها، وتأكيداً لما توصلت إليه الدراسة التي قام بها (فرج *و آخرون*، 2013) بأن جنس .*Aspergillus* spp إحدى الفطريات التي تم عزلها من التربة الملوثة بالهيدروكربونات، كذلك لما أشار إليه (شفيق *و* مزعل، 2009) بأن هناك تباين في نسب وانتشار العزلات الفطرية حيث كانت السيادة لجنس .*Aspergillus* spp في حين أظهرت نتائج دراسة العزلات الفطرية المعزولة من عينات التربة الملوثة بالنفايات البترولية تبايناً للأنواع الفطرية ونسب تكرارها، حيث سجلت ثاني أعلى نسبة تكرار للنوع *Emericella nidulans* يليه .*Fusarium* spp (حبه *و آخرون*، 2015)، وفي دراسة للباحتين (Jiji و Prabakaran، 2020) تهدف إلى عزل وتعريف الكائنات الدقيقة من مجموعة مواقع لترب ملوثة بالهيدروكربونات النفطية بمنطقة كوتايام (Kottayam) ولاية كيرالا (Kerala) الهندية، تم عزل 6 سلالات بكتيرية وأربع أنواع فطرية كان أكثرها انتشاراً وقدرة على تحليل الملوثات النفطية جنس *Aspergillus niger* يليه *A. flavus* .

4.التوصيات:

لأهمية موضوع البحث نوصي بإنشاء معشبة فطرية تضم قاعدة بيانات للأنواع الفطرية المعزولة من البيئة الليبية لتنميتها وتجديدها دورياً والمحافظة عليها، و بإجراء المزيد من الدراسات التطبيقية لعزل وتعريف الكائنات الدقيقة الموجودة في المناطق الملوثة بالمخلفات النفطية وغيرها، و العمل على تنمية الأنواع ذات الفاعلية الهامة بيئياً و اقتصادياً واستثمارها في عملية المعالجة الحيوية.

5.المراجع:

حبه، أصيل منذر.، عيدان، رامي محمود.، و دلي، هبة فرحان (2015). دراسة تأثير بعض العزلات الفطرية المعاملة بالنفط الخام على إنبات بذور الكرفس، مجلة العلوم المستنصرية، كلية العلوم، قسم علوم الحياة، 26 (1): 1- 5.

حميد، مروان سالم (2015). اختبار قابلية بعض الأنواع الفطرية على النمو في أوساط ملوثة بالنفط الخام، مجلة تكريت للعلوم الصرفة، جامعة تكريت، 20 (5): 47-55.

الدوسري، مصطفى عبد الوهاب.، الإمارة، فارس جاسم.، و عبد الله، سمير خلف (2009). قابلية بعض الفطريات المعزولة من رسوبيات أهوار جنوب العراق على تكسير النفط الخام مختبرياً، المؤتمر العلمي الثالث لإعادة التأهيل الأهوار، 13-23.

الرحمة، عبدالله بن ناصر (1993). أساسيات علم الفطريات، الطبعة الثانية، عمادة شؤون المكتبات، جامعة الملك سعود، الرياض، ص، 192.

شفيق، شذى علي و مزعل، شيماء نغيش (2009). تأثير واستغلا النفط الخام من بعض الفطريات المعزولة من التربة، مجلة ابن الهيثم للعلوم الصرفة والتطبيقية، جامعة المستنصرية، 22(4).

الطائي، ميسون صالح.، حمد، نداء شهاب.، و البكري، جولانجبار صاحب (2016). إمكانية إزالة الهيدروكربونات النفطية وبعض الملوثات في مياه المخلفات النفطية لمصفى النجف، مجلة جامعة بابل، لعلوم الصرفة التطبيقية، 24: 50- 60.

العبد، وئام عبدالله (2014). دراسة التنوع الفطري لروث بعض الثدييات الأليفة في محافظة اللادقية، رسالة ماجستير، قسم علوم الحياة النباتية، كلية العلوم، جامعة تشرين، سوريا.

فرج، فوزية.، مؤيد، سرى.، و محمد، رسل (2013). التحلل الحيوي للمركبات الهيدروكربونية بواسطة الفطريات، مجلة جامعة الكوفة لعلوم الحياة، المؤتمر العلمي الأول للعلوم البيولوجية، جامعة بغداد.

. عزل وتعريف بكتيريا بحرية محللة للنفط الخام وقياس قدرتها (2017)محمد، فايز عبدالحميد و شعيب، فرج محمد على النمو في تراكيز مختلفة من النفط الخام والمحلية وإمكانية تكوين مستحلب، المجلة الليبية العالمية، جامعة بنغازي، 17: 1- 25.

Aitken, M. & Pfaender, F. (2007). Bioavailability and Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. project 5, University of North Carolina.

Alexopoulos, C. J., Mims, C. W. & Blackwell, M. (1996). Introductory Mycology. 4th ed John Wiley and Sons, Inc. United States of America, Pp.869.

Alwan, S. L. & Seker, A. R. (2010). Test the ability of Some Fungi Species in Biodegradation of Some Chemical Pesticides. *Kofa University Journal for Life Science. 2 (2): 78- 89.*

Baghela, A., Thungapathra, M., Shivaprakash, M. R. & Chakrabarti, A. (2010). Multilocus microsatellite typing for *Rhizopus oryzae*, *Journal of Medical Microbiology. 59: 1449–1455.*

Camelini, C. M., Pena, D. A., Gomes, A., Steindel, M., Rossi, M. J., Giachini, A. J. & de Mendonça, M. M. (2012). An efficient technique for in vitro preservation of Agaricus subrufescens (A. brasiliensis). *Annals of microbiology, 62(3), 1279-1285.*

Campbell, Colin K.. Johnson, Elizabeth M. & Warnock, David W. (2013). Identification of Pathogenic Fungi. 2nd ed Health Protection Agency. Published by Blackwell Publishing Ltd. 337 pp.

Czarny, J., Staninska-Pięta, J., Piotrowska-Cyplik A., Juzwa, W., Wolniewicz, A. & Marecik, R. (2020). *Acinetobacter* sp. as the key player in diesel oil degrading community exposed to PAHs and heavy metals. *Journal of Hazardous Materials.383:121168.* https://doi.org/ 10. 1016/ j.jhazmat. 2019.121168

Dawoodi, V., Madani, M., Tahmourpour, A. & Golshani, Z. (2015). The Study of Heterotrophic and Crude Oil-utilizing soil fungi in crude oil contaminated regions. *Journal of Bioremediation and Biodegradation. 6: 270.*

De-Hoog, G. S., Cuarro, J., Gene, J. & Figueras, M. J. (2000). Atlas of Clinical Fungi, 2nd ed. Schimmel cultures, Utrecht, The Netherlands and Univeritate Rovira; Virgili, Reus, Spain.

Domsch, K. H., Gams, W. & Anderson, T. H. (2007). Compendium of Soil Fungi, 2nd ed. IHC-Verlag. Eching, pp. 672.

dos Santos, J. J., & Maranho, L. T. (2018). Rhizospheric microorganisms as a solution for the recovery of soils contaminated by petroleum. A review. *Journal Environment Management. 210:104–113.* https://doi.org/10.1016/j. jenvman.2018.01.015

Edmunds, B. A. U.(2008). Factors Affecting Susceptibility to - and Management of - Postharvest Soft Rot of Sweet potatoes Caused by *Rhizopus stolonifer.* Thesis of doctor of philosophy , North Carolina State University.

Ekundayo, F. O.; Olukunle, O. F. & Ekundayo, E. A.(2012). Biodegradation of Bonny light crude oil by locally isolated fungi from oil contaminated soils in Akure, Ondo state, *Malaysian Journal of Microbiol. 8 (1) pp. 42-46.*

Ellis, D., Davis, S., Alexiou, H., Handke, R. & Bartley, R. (2007). Descriptions Of Medical Fungi, 2nd ed, University Of Adelaide, Adelaide, AUSTRALIA. pp.198.

George-Okafor, U., Tasie, F. & Muotoe-Okafor, F. (2009). Hydrocarbon Degradation Potentials of Indigenous Fungal Isolates from Petroleum Contaminated Soils, *Journal Physical and natural sciences. 3, pp. 1-6.*

Hameed, S. M., Al-khesraji, O. T. & Bander, A. K. (2013). Study of Seasonal Variation in Fungi Isolated From Petroleum Contaminated Soils In Baiji, Salah adin Province. *Tikrit Journal of Pure Science. 18 (5): 114-122.*

Jiji, J. & Prabakaran, P. (2020). Isolation and Identification of Microorganisms From Total Petroleum Hydrocarbon-Contaminated Soil Sites. *Malaysian Journal of Soil Science Vol. 24: 107-119.*

Karaoglu, S. A. & Ulker, S. (2006). Isolation, identification and seasonal distribution of soil borne fungi in tea growing areas of lyidere- ikizdere vicinity (Rize-Turkey). *Journal of basic microbial. 46 (3): 208-218.*

Khan, M. A. I., Biswas, B., Smith, E., Naidu, R. & Megharaj, M. (2018). Toxicity assessment of fresh and weathered petroleum hydrocarbons in contaminated soil. A review. *Chemosphere. 212:755–767.* https://doi. org/10.1016/j.chemosphere.2018.08.094

Li, Q., Liu, J. & Gadd, G. M. (2020). Fungal bioremediation of soil co-contaminated with petroleum hydrocarbons and toxic metals. *Applied Microbiology and Biotechnology 104:8999–9008.*

Li, Y. & Li, B.(2011). Study on fungi-bacteria consortium bioremediation of petroleum contaminated mangrove sediments amended with mixed biosurfactants. *Journal of Advanced Research. 183: 1163- 1167.*

López Lastra, C. C., Hajek, A. E. & Humber, R. A. (2002). Comparing methods of preservation for cultures of entomopathogenic fungi. *Canadian Journal of botany, 80(10), 1126-1130.*

Moubasher, A. H. (1993).Soil fungi in Qatar and other Arab countries. Center of Scientific and Applied Research, Doha University of Qatar .p. 566.

Ogbonna, D. N., Douglas, S. I. & Awari, V. G. (2020). Characterization of Hydrocarbon Utilizing Bacteria and Fungi Associated with Crude Oil Contaminated Soil. *Microbiology Research Journal International 30(5): 54-69.*

Pickard, M. A., Roman, R., Tinoco, R. & Duhalt, R. V. (1999). Polycyclic aromatic hydrocarbon metabolism by white rot fungi and oxidation by *Coriolopsis gallica* UAMH 8260 Laccase. *Applied and Environmental Microbiology Journal. 65:3805–3809.*

Pitt, J. I. & Hocking, A. D. (1997). Fungal and Food Spoilage. 2nd ed. London, U.K.: Professional. pp.511.

Pitt, J. I. & Hocking, A. D. (2009). Fungal and Food Spoilage. Springer. Verlag, USA.

Raper, K. B. & Fennell, D. I. (1965). The genus *Aspergillus*. Baltimore Williams and Williams and Wilkins, USA.

Samson, R. A. & Gams, W. (1985). Typification of the species of *Aspergillus* and associated teleomorphs. In: Samson R. A., Pitt J. I., editors. Advances in *Penicillium* and *Aspergillus* Systematics. Plenum Press; New York: pp, 31-54.

Samson, R. A. & Pitt, J. I. (1985). Integration of Modern Taxonomic Methods For *Penicillium* and *Aspergillus* Classification. British Library Cataloguing in Publication Data, pp 501.

Samson, R. A., Varge, J. & Meijer, M. (2011). New taxa in *Aspergillus* section Usti. *Studies in Mycology. 69: 81-97.*

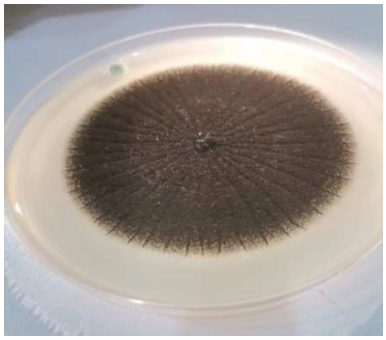
Santos, J. V. D. O., Ferreira, Y. L. A., Silva, L. L. D. S., Lyra, I. M. D. L. B. D., Palácio, S. B. & Cavalcanti, I. M. F. (2018). Use of bioremediation for the removal of petroleum hydrocarbons from the soil. An overview, *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology. 3 (5).1831-1838.*

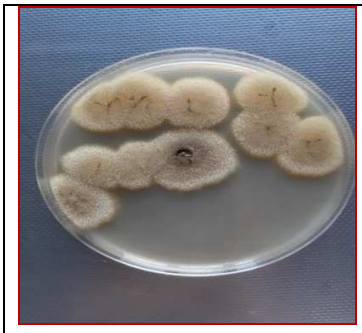
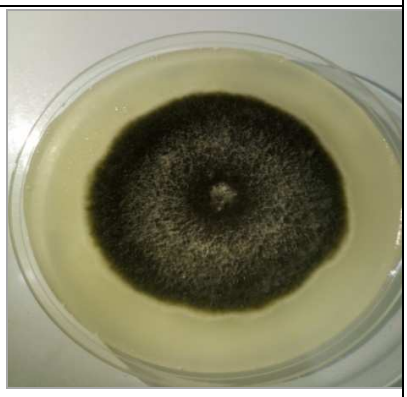
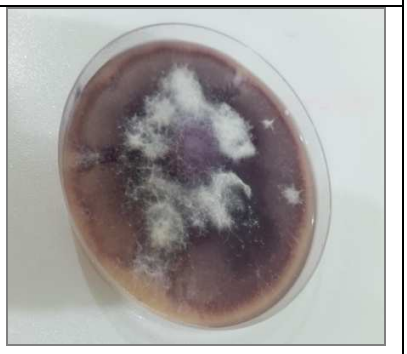
Singh, H. (2006). Myco-remediation. John Wiley and Sons, Inc. Hoboken. New Jersey. p 592.

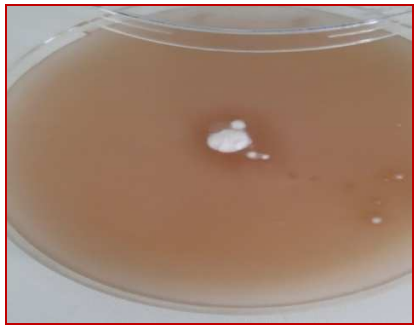
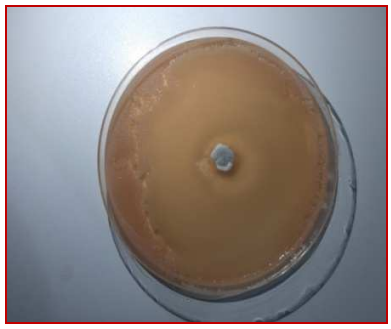
Warcup, J. H. (1960). Methods For Isolation And Estimation Of Activity Of Fungi In Soil. In: The Ecology Of Soil Fungi (Eds.) Parkinson D. P. J. S. Liverpool University Press. pp. 3- 21.

6.الملاحق:

(CYA). عينات الترب الملوثة و المزارع الفطرية المعزولة من عينات التربة علي الوسط المغذي الملحق رقم(1): يبين صور لبعض

		
Alternaria alternata	***Cochliobolus australiensis***	***Aspergillus niger***

		
Aspergillus alutaceus	*Aspergillus terreus*	*Aspergillus flavus*
		
Rhizopus stolonifer	*Rhizopus parasiticus*	*Ulocladium botrytis*
		
Mucor hiemalis	*Fusarium solani*	*Alternaria chlamydosporum*

Rhizopus oryzae	***Fusarium chlamydosporum***	***Emericella nidulans***
		
Ulocladium botrytis	***Candida albicans***	***Aspergillus candidus***
Gibberella fujikuroi	(Direct Plate Method)	***Gibberella intricans***