مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية_ سلسلة العلوم الأساسية المجلد (٥) العدد (١) 2021
Tartous University Journal for Research and Scientific Studies- Basic Sciences Series Vol. (5) No. (1) 2021

عزل وتشخيص الفطرين *Aspergillus fumigatus* & *Aspergillus sclerotiorum* من التربة الملوثة بالنفط

أميمة ناصر*

(تاريخ الإيداع ٩ / ١١ / ٢٠٢٠ . قُبل للنشر ١٧ / ١ / ٢٠٢١)

ملخص

هدفت هذه الدراسة إلى عزل وتشخيص عزلتين من فطريات تربة ملوثة بالمركبات النفطية، وتحديد العزلة الأكثر قدرة على احتمال التراكيز العالية للمركبات الهيدروكربونية. حيث تم التعرف على هاتين العزلتين الفطريتين وتشخيصهما اعتماداً على الصفات الشكلية والبيومترية على الوسط الزرعي Potato Dextrose Agar (PDA). عزلة من النوع *Aspergillus fumigatus*، وعزلة من النوع *Aspergillus sclerotiorum*. بينت النتائج أن العزلة الفطرية *A. fumigatus* سجلت أعلى معدل للنمو على وسط (PDA)، وكانت أكثر كفاءة في تحطيم المركبات الهيدروكربونية الموجودة في التربة الملوثة بالنفط من العزلة الفطرية *A. sclerotiorum*. تدل هذه المعدلات العالية على إمكانية استخدام الفطريات المعزولة في المعالجة الحيوية للتربة الملوثة بالنفط.

الكلمات المفتاحية: تربة ملوثة، نفط، التحلل الحيوي، فطريات، *Aspergillus fumigatus*، *Aspergillus sclerotiorum*.

*أستاذ مساعد في قسم الوقاية البيئية (اختصاص أحياء دقيقة)– المعهد العالي لبحوث البيئة– جامعة تشرين– محافظة اللاذقية– سوريا.

مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية_ سلسلة العلوم الأساسية المجلد (٥) العدد (١) 2021
Tartous University Journal for Research and Scientific Studies- Basic Sciences Series Vol. (5) No. (1) 2021

Isolation and characterization of *Aspergillus fumigatus* & *Aspergilluss sclerotiorum* from soils contaminated with oil

Omiema Nasser*

(Received 9 / 11 / 2020 . Accepted 17 / 1 / 2021)

Abstract

This study aimed to isolate and identify two fungal isolates from polluted soil with petroleum compounds, and to determine the most efficient tolerate high concentrations of hydrocarbons. These two fungal isolates were identified and characterized depending on the morphological and biometric characteristics on Potato Dextrose Agar (PDA)medium, isolate of *Aspergillus fumigatus*, and isolate of *Aspergillus sclerotiorum*.

The results showed that *A. fumigatus* isolate recorded the highest growth rate on (PDA) medium, and was more efficient than the fungal isolate of *A. sclerotiorum* isolate in degrading hydrocarbons compounds present in oiled soil.

Keywords: Poluted soil, oil, biodegradation, fungi, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergilluss sclerotiorum.*

*Department of Environmental Prevention – Higher Institute for Environmental Research- Tishreen University- Latakia- Syria.

مقدمة:

تعد الصناعة النفطية هامة وتشكل عصب الحياة للاقتصاد الوطني في العديد من البلدان على مستوى العالم [1]، وتسبب هذه الصناعة بزيادة التلوث البيئي بالمركبات الهيدروكربونية والعطرية والفينولية والمعادن خاصة [3,2]، ونتيجة الكوارث الكبيرة التي تعرضت لها بعض المسطحات المائية بسبب تسرب النفط إليها [4,2]، دعى الباحثين إلى التركيز على هذا الجانب من التلوث لخطورة المركبات الناتجة على البيئة المائية والبرية والصحة العامة على حد سواء[8,7,6,5,3].

إذ تعد الهيدروكربونات النفطية– لاسيما العطرية منها– من الملوثات البيئية الخطيرة من خلال انتقالها في السلسلة الغذائية [9] فضلاً عن تأثيرها الضار للنباتات(تكاثر النبات، إزالة معظم الغطاء النباتي، انخفاض عام في نمو النبات، انخفاض في إنبات البذور)، وسميتها للأحياء وفعلها المطفر والمسرطن، وصفاتها الكيميائية والفيزيائية المعقدة التي تجعل منها صعبة التحلل[11,10] ، هذا وتستخدم حالياً عدة طرائق لإزالة أو معالجة المركبات النفطية كالطرائق الفيزيائية والكيميائية والحيوية [15,14,13,12].

تعد المعالجة الحيوية سواء في الأوساط المائية أو في التربة هي الطريقة المناسبة التي تعد من أهم التقانات الحيوية نجاحاً في مختلف الأوساط البيئية، لأنها ذات فعالية جيدة، وكفاءة عالية، ولأنها طريقة صديقة للبيئة[19,18,17,16,3]، والأكثر ملاءمة، والأقل تكلفة، إذ يمكن من خلالها بواسطة الأحياء الدقيقة هضم الملوثات (المركبات الهيدروكربونية) إلى مواد قابلة للتحلل بشكل كامل أو شبه كامل[21,20]، كما اتضح أيضاً أن الاستصلاح السريع للتربة الملوثة بالنفط الخام يتم بعملية تنشيط للأحياء الدقيقة التي تستعمل الهيدروكربونات الموجودة في النفط كمصدر للكربون والطاقة[22].

تعرف المعالجة الحيوية بأنها إمكانية استخدام الأحياء الدقيقة في هدم وإزالة السمية بطريقة فعالة، ولاسيما بالمعالجة الفطرية(Mycoremediation) التي هي جزء من النظام البيئي وغير مكلفة اقتصادياً، فضلاً عن كونها تزيل الملوثات دون أن تخلف بقايا منها وتفككها إلى نواتجها النهائية الطبيعة في البيئة [24,23]، وقد ازداد الاهتمام بالفطريات لاستخدامها في المعالجة الحيوية للنفط الخام والملوثات البيئية الأخرى، حيث تمتلك نظاما أنزيمياً معقداً يزيد من قابليتها على تحلل عدد كبير من الملوّثات كالهيدروكربونات النفطية الخطرة على الإنسان والبيئة، وتعدّ الفطريات من أهم الأحياء الدقيقة الموجودة في التربة والتي تعمل على تحلل العديد من الملوثات ومنها الهيدروكربونات النفطية[25]، إذ تحتاج هذه الكائنات إلى مغذيات مثل الكربون والآزوت والفوسفات والمياه للنمو والبقاء، سوف تساعد تلك الظروف الأحياء الدقيقة على تفكيك الملوثات العضوية، واستخدامها كمصدر للكربون في الطاقة والنمو.[26]

ونظراً لقلة الدراسات التي تناولت تنوّع العزلات الفطرية التي قد تكون لها كفاءة في تحلل الملوّثات كان الغرض من هذه الدراسة عزل وتشخيص الفطريات من التربة الملوثة بالنفط واختبار كفاءة الفطريات المعزولة في تحلل الهيدروكربونات مخبرياً، حيث تتضمن استراتيجيات المعالجة الحيوية استعمال الأحياء الدقيقة لتحويل الملوثات الضارة للبيئة إلى منتجات صديقة للبيئة، وذلك بالحصول على عزلات فطرية نقية معروفة وجيدة في تحطيم المركبات الهيدروكربونية الملوثة للبيئة[29,28,27].

أهمية البحث وأهدافه:

ترافق عمليات استخراج النفط ونقله طرح ملوثات تصل إلى البيئة المحيطة، لذلك لابد من الاهتمام بمعالحتها بأفضل الطرائق وأكثرها فعالية، لاسيما الطريقة الحيوية التي يتم فيها تحويل الملوثات الخطرة إلى مواد أقل خطورة بفعل أحياء دقيقة متخصصة بتفكيك هذه الملوثات، وتأتي أهمية هذه الدراسة في عزل سلالات فطرية من التربة الملوثة بمركبات نفطية والعمل على تصنيفها، بحيث يتم تنميتها وإكثارها واستخدامها كمحفز، وتحديد مقدرتها في تفكيك المركبات الهيدروكربونية الناتجة عن الصناعة النفطية، وبالتالي تخفيف عبء التلوث للأوساط البيئية المختلفة، وذلك في إطار المعالجة الحيوية.

يهدف البحث إلى:

١- عزل وتشخيص فطريات من تربة ملوثة بالنفط.

٢- تحديد كفاءة الفطريات المعزولة في تحلل المركبات الهيدروكربونية الناتجة عن الصناعة النفطية.

مواد وطرائق البحث:

١- **جمع العينات:** جمعت العينات من مصفاة بانياس من شهر كانون الأول حتى شهر أيلول عام (٢٠١٨)م، وذلك من تربة ملوثة بالمنتجات النفطية بعمق (٥-١٥) سم، ووزن(٢)كغ، حيث جمعت عينات منفردة تم مجانستها بشكل جيد ثم أخذت منها عينة وسطية (مركبة)، وضعت في أكياس بلاستيكية معقمة، وكتب عليها رقم العينة، وتاريخ الجمع، ونقلت العينات إلى المختبر لإجراء الزرع والعزل للفطريات واختبار كفاءة العزلات في إزالة الهيدروكربونات باستغلالها كمصدر للكربون والطاقة.

٢- **تحضير العينات:** أخذ (١) غ من التربة الجافة الملوثة بالنفط، ووضعت في أنبوب اختبار يحتوي (٩) مل من الماء المقطر المعقم، وتم رجها لمدة (٥) دقائق، ونقلت كمية من الرشاحة بوساطة إبرة الزرع (الأبرة ذات العقدة)، وزرعت بطريقة الفرش على الأطباق الحاوية على الوسط المغذي (PDA) (المعقم عند الدرجة ١٢١ درجة مئوية، لمدة ١٥ دقيقة)، والحاوي على المضاد الحيوي الستريبتومايسين، وحضنت الأطباق في درجة حرارة (٢٥±٢) درجة مئوية بواقع ثلاث مكررات لكل معاملة، مدة (٥-٧) أيام، وفحص النمو الفطري، وعزلت بعد ذلك المستعمرات الفطرية النامية وأعيد زرعها مرات عديدة حتى الحصول على مستعمرات فطرية نقية ليتم التعرف عليها.

٣- **عزل الفطريات وتحديدها:** فُحصت المستعمرات الفطرية النامية على الوسط المغذي (PDA) بعد كل نمو للمكررات الثلاثة، وصُنفت الأنواع الفطرية اعتماداً على: خصائص الزرع وصفات نمو المستعمرات الفطرية (الملاحظة العينية مثل لون وجهي المستعمرة، سرعة نمو المستعمرة، ملمس المستعمرة، وتغيراتها مع مرور الزمن،

والمظهر الخارجي للمستعمرة مثل الشكل واللون)، والفحص المجهري (الشكل، الحجم، اللون، تركيب الحوامل والأبواغ والتراكيب الأخرى) وذلك بعد حضن المستعمرات عند الدرجة (٢٥±٢) درجة مئوية ولمدة سبعة أيام. وبالمقارنة مع الدراسات المرجعية المتخصصة بالتصنيف[31,30].

٤- **اختبار كفاءة الفطريات المعزولة في تفكيك المركبات الهيدروكربونية:** تم اختبار كفاءة الفطريات المعزولة من التربة الملوثة بمدى قدرتها على النمو في أوساط ملوثة بالنفط (عينة زيت) بتركز (٢- ٤- ٦)% ومقارنة أيهما أكثر كفاءة على النمو، حضر وسط (PDA)، وأضيف إليه تراكيز مختلفة من الزيت (٢- ٤- ٦)% عند درجة حرارة (٤٥) درجة مئوية مع إضافة مضاد بكتيري ستريبتومايسين، مزج الخليط على خلاط مغناطيسي قبل صبه في الأطباق للحصول على تراكيز متجانسة في كل طبق، ثم لقحت الأطباق بالخيط الفطري المعزول من مستعمرة فطرية بعمر الأسبوع، باستخدام طريقة الحفر بالثاقب الفليني المعقم ذي قطر (٥)ملم، وحضنت الأطباق في درجة حرارة (٢٥) درجة مئوية، وقيست أقطار المستعمرات بعد سبعة أيام من الحضن باستخدام المسطرة المدرجة، وقورنت مع الطبق الشاهد.

٥- **التحليل الإحصائي:** استخدمت طريقة ANOVA لتحليل البيانات إحصائيا عند مستوى معنوية أقل من (٠,٠٥) باستخدام نظام Statistical Packages For Social Sciences (SPSS)

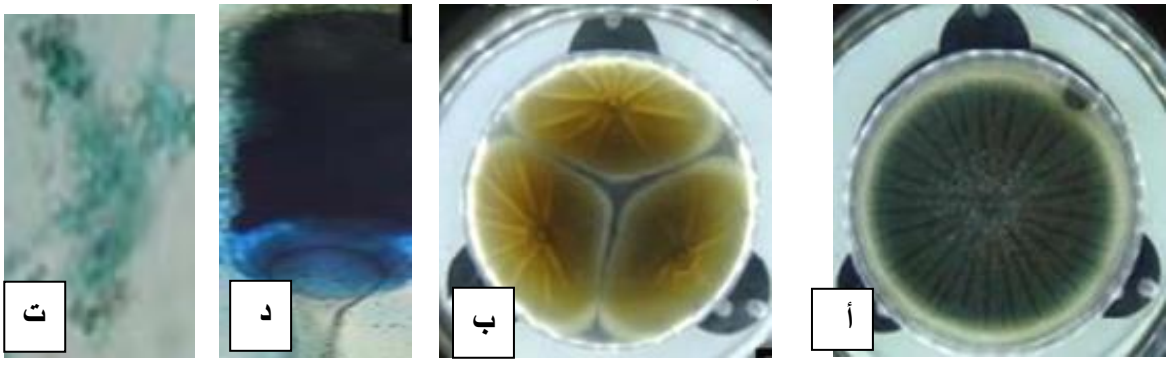
النتائج والمناقشة:

١-خصائص العزلة الفطرية (A):

-**الخصائص الزرعية:** لوحظ أن المستعمرة سريعة النمو على الوسط الزرعي (PDA)، بلغ قطرها إلى (60) ملم.

-**الخصائص الشكلية:** لوحظ أن شكل الرأس الكونيدي عمودي، والميسيليوم مقسم، تراوح طول الحامل الكونيدي بين (١٣٦-١٩٠) ميكرومتر، وعرضه بين(٣,٩-٦,٩)ميكرومتر، الحويصل كروي، والأبواغ الكونيدية شبه كروية سطحها أملس، أبعاد الأبواغ الكونيدية (٢-٢,٥)ميكرومتر.

-**التلوين والفحص المجهري:** ظهر لون الوجه العلوي للمستعمرة رمادي، وبدا الوجه السفلي بلون أصفر داكن، كما هو موضح في الشكل(1).



الشكل (1): الخصائص الزرعية والشكلية واللونية للعزلة الفطرية (A)على وسط PDA

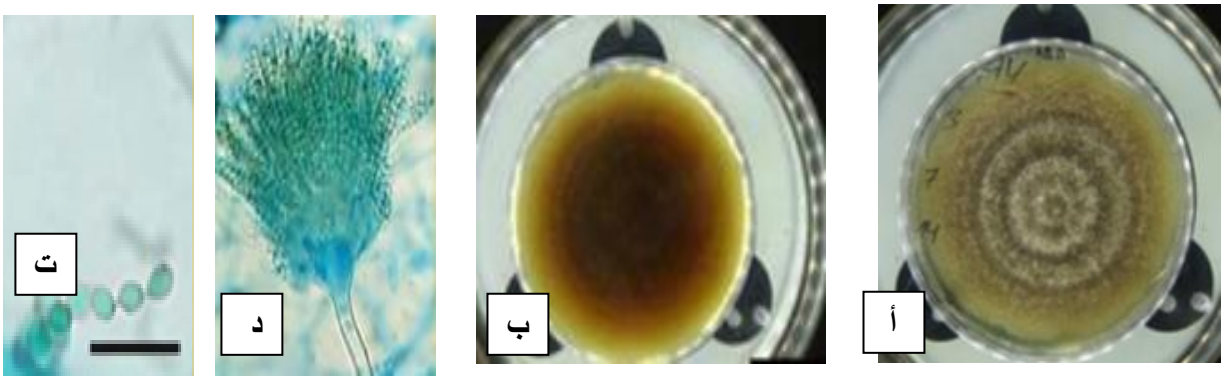
(حيث: أ الوجه العلوي، ب الوجه السفلي، د الرأس الكونيدي، ث الأبواغ) (وحدة قياس مقياس الرسمμm10)

٢-خصائص العزلة الفطرية (B):

-**الخصائص الزرعية:** المستعمرة سريعة النمو على وسط (PDA)، يصل قطرها إلى (70) ملم

-**الخصائص الشكلية:** لوحظ أن شكل الرأس الكونيدي عمودي، والميسيليوم مقسم، تراوح طول الحامل الكونيدي بين (٦٠-٢٠٢) ميكرومتر، وعرضه بين(٣,٧-٦,٧)ميكرومتر، الحويصل شبه كروي، والأبواغ الكونيدية شبه كروية سطحها متوسط الخشونة، أبعاد الأبواغ الكونيدية (٣,٤-٤,٥)ميكرومتر.

-**التلوين والفحص المجهري:** ظهر لون الوجه العلوي للمستعمرة بني في بداية النمو ، بينما لوحظ أن الوجه السفلي للمستعمرة كان بني مصفر، كما هو موضح في الشكل (2).



الشكل (2): الخصائص الزرعية والشكلية واللونية للعزلة الفطرية (B)على وسط PDA
(حيث: أ الوجه العلوي، ب الوجه السفلي، د الرأس الكونيدي، ث الأبواغ)
(وحدة قياس مقياس الرسم10µm)

بينت النتائج بعد دراسة كل من الخصائص الزرعية والشكلية للعينات الفطرية المعزولة، وتصنيفها بالاعتماد على مفاتيح تصنيفية عالمية تبين أن العزلة الفطرية A هي *A.fumigatus* [32] ، والعزلة الفطرية B هي *A. sclerotiorum* [33] ، وتوافقت هذه النتيجة مع دراسة[34] إذ تم فيها عزل العديد من الفطريات من التربة الملوثة بالنفط، وسجلت أعلى نسبة تنوع وتواجد لفطر *Aspergillus* ، لما له من القدرة على النمو في أوساط حاوية على المركبات الهيدروكربونية، ويعزى هذا لما يتميز به هذا الفطر من قابلية النمو في بيئات مختلفة وقابليته الأنزيمية العالية التي تمكنه من السيادة على بقية الأجناس الفطرية الأخرى.

.

٣- نتائج اختبار كفاءة الفطريات المعزولة في تفكيك المركبات الهيدروكربونية:

بينت النتائج كما هو موضح في الجدول (١) أن معدل النمو الفطري لفطر *A.fumigatus* بلغت (٧,٤٧)ملم عند استخدام الزيت بتركيز ٢%، وهو أعلى من معدل النمو الفطري الذي بلغ (6.96،7.10) ملم عند التركيز (٤-٦)%على التتالي، بينما بلغ معدل النمو الفطري عند الشاهد للعزلة الفطرية *A.fumigatus* القيمة (٧,٨)ملم، وهو أعلى معنوياً من جميع القيم المسجلة عند جميع التراكيز المستخدمة في هذه الدراسة.

كما بينت النتائج كما هو موضح في الجدول (١) أن معدل النمو الفطري لفطر *A. sclerotiorum* لعينة الشاهد أعلى معنوياً من القيم المسجلة لمعدل النمو عند التراكيز (2-4-6)% والتي بلغت (٥,٢٥، ٥,٢٠,٥,١٢)ملم على التتالي، ولاتوجد فروق معنوية بين التراكيز المستخدمة في الدراسة.

الجدول (١): تأثير تركيز الزيت على النمو الفطري للفطرين المعزولين

العزلة الفطرية	تركيز الزيت %	المتوسط (mm)
A.fumigatus	**الشاهد**	٧,٨٠
	٢	٧,٤٧
	٤	٧,١٠
	٦	٦,٦٩
A. sclerotiorum	**الشاهد**	٥,٦٦
	٢	٥,٢٥
	٤	٥,٢٠
	٦	٥,١٢

بينت هذه الدراسة أن الفطريات تملك القدرة على النمو في الأوساط الحاوية على المركبات الهيدروكربونية بنسب مختلفة، وهذا يتوافق مع دراسات سابقة كدراسة [35] التي بينت قدرة فطر *A.fumigatus* على استقلاب النفط الخام وتحطيم الأنتراسين، ودراسة [36] التي أوضحت بأنه يمكن استخدام مجموعة من الفطريات العائدة للجنس *Aspergillus* والجنس *Rhizopus* في المعالجة البيولوجية للتربة الملوثة بالنفط، وتوافقت نتائج هذه الدراسة مع دراسة [37] التي أكدت أن فطر *Aspergillus* له القدرة العالية على النمو وإزالة المركبات الهيدروكربونية من التربة، وذلك لقدرته على الاستحلاب والامتزاز في هذه الأوساط، وهذا يتوافق مع ماأكدته الدراستين [39,38] بالقدرة العالية لفطر *Aspergillus* على تحلل الكيروسين بسبب نموه الفطري البارز وإنتاج الإنزيمات خارج الخلية.

الاستنتاجات والتوصيات:

١-تم عزل وتصنيف العزلتين الفطريتين (A) *Aspergillus fumigatus* و (B) *Aspergillus sclerotiorum*.

٢-تمتلك العزلتين الفطريتين القدرة على استهلاك المركبات الهيدروكربونية الأخرى.

٣-تتصف العزلة الفطرية *A. fumigatus* بالقدرة على استهلاك المركبات الهيدروكربونية بكفاءة بكافة التراكيز المستخدمة في الدراسة.

٤-متابعة الدراسة وعزل أحياء دقيقة أخرى من البيئة المحلية ومعرفة كفاءتها في تفكيك المركبات الهيدروكربونية.

المراجع:

[1]-Ojumu, T.V., Bello, O.O; Sonibare, J.A., (2004). *Evaluation of Microbial Systems for Bioremediation of Petroleum Refinery Effluents in Nigeria, African Journal of Biotechnology*, 4(1), 31-35.

[2]-Gargouri, B. F; Karry, N; Mhiri, F; Aloui, S., (2011). *Application of a Continuously Stirred Tank Bioreactor (CSTR) for Bioremediation of Hydrocarbon-Rich Industrial Wastewater Effluents, Journal of Hazardous Materials*, 189,427–434.

[3]-Bako, S.P., Chukwunonsu, T.D; Adamu, A.K., (2008). *Bioremediation of Refinery Effluents by Strains of Pseudomonas aeuriganosa and Penicillium janthinellum. Applied Ecology and Environmental Research*, **6(3),**49-60.

[4]-Adekunle, A. A; Adebambo, A. O., (2007). *Petroleum Hydrocarbon Utilization by Fungi Isolated from Detarium Senegalense (J. F Gmelin) Seeds. Journal of American Science*, 3(1).

[5]- Diyauddeen, B. W; Wandaud, A. A., (2011). *Treatment Technologies for Petroleum Refinery Effluents: A Review. Process Safety and Environmental Protection*, 89: 95–10.

[6]-Domde, P. A. Kapley, P. Y; Purohit, J.H., (2007). *Impact of Bioaugmentation with a Consortium of Bacteria on the Remediation of Wastewater-Containing Hydrocarbons. Env. Sci. Pollut.*, 14 (1), 7 – 11.

[7]-Ansaria, T. M; Marr, I. L; Tariq, N., (2005). *Heavy Metals in Marine Pollution Perspective -A Mini Review. Journal of Applied Science*, 4(1), p.1-20.

[8]-Pradipta,R. B., (2005). *Evalution Of Biological Treatment For The Degradation Of Petroleum Hydrocarbons In A wastewater Treatment Plan***.**

[9] – محمد، فايز عبدالحميد؛ شعيب، فر محمد .(2017) .*عزل وتعريف بكتيريا بحرية محللة للنفط الخام وقياس قدرتها على النمو في تراكيز مختلفة من النفط الخام والمحلية وإمكانية تكوين مستحلب .المجلة الليبية العالمية* –جامعة بنغازي – العدد السابع عشر.

[10]- Shahaby, Ahmad F; Alharthi1, Abdulla A.; El Tarras Adel E.(2015)**.** *Bioremediation of Petroleum Oil by Potential Biosurfactant-Producing Bacteria using Gravimetric Assay***.** *2Cairo University, College of Agriculture, Department of Microbiology,* Cairo, Egypt. pp. 390-403.

[11] – الطائي، ميسون صالح؛ حمد، نداء شهاب؛ البكري، جولان جبار صاحب .(2016) .دراسة إمكانية إزالة الهيدروكربونات النفطية وبعض الملوثات في مياه المخلفات النفطية لمصفى النجف .مجلة جامعة بابل/للعلوم الصرفة التطبيقية ١ (٢٤) (50– 60).

[12]-Hamza, U. D; Mohammed, I.A; Ibrahim, S. S., (2009). *Kinetics of Biological Reduction of Chemical Oxygen Demand from Petroleum Refinery Wastewater, JOUR Researcher,* VOL1,NO.2.

[13]-Guo, L. Z; Yue, T. W; Xin, P. O; Qin,P. M, (2005*). Biodegradation of crude oil by Pseudomonas sp in the presence of rhamnolipids. Journal of Zhejiang University Science* ,10.

[14]-Bassam, M; Mohammed, N. B., (2005). *Biodegradation of total organic carbons (TOC) in Jordanian petroleum sludge. Journal of Hazardous Materials*, P.120.

[15]-Audrone, Z; Viktorija, J; Olga, B**;** Dalia, A**;** Zaneta, S**., (**2008**).** *Impact of heavy metals on the oil products biodegradation. process. Waste Management* , Vol.26, No.6, P.500-507 .

[16]-Vasconcellos, S. P; Crespm, E; Cruz, G. F; Senatore, D. B; Simioni, K. M; Neto, E. S; Marsaioli, A. G; Oliveira, V. M., (2009). *Isolation, biodegradation ability and molecular detection of hydrocarbon degrading bacteria in petroleum samples from a Brazilian offshore basin. Organic Geochemistry,* Vol 40, Issue 5, P.574-588.

[17]- Franzetti, A. D; Gennaro, P; Bestetti, G; Lasagni,, M; Pitea, D; Collina, E., (2008). *Selection of surfactants for enhancing diesel hydrocarbons-contaminated media bioremediation. Journal of Hazardous Materials* .Vol 152,NO.15, Issue 3, P.1309-1316 .

[18]- Ojo, O. A., (2006). *Petroleum Hydrocarbon Utilization by Native Bacterial Population from a Wastewater Canal Southwest Nigeria, African Journal of biotechnology,* VOL 5,NO.4, P. 333-337.

[19]-Bento, F. M; Camargo, F.O; Okeke, B. C; Frankenberger, W. T., (2005). *Comparativebioremediation of soils contaminated with diesel oil bynatural attenuation, biostimulation and bioaugmentation. Bioresour, Technol.*VOL 96, P.1049–1055.

[20]-Head, I. M; Martin, J. D; Roling, W. M., (2006). *Marine microorganisms make ameal of oil. Nature Reviews Microbiology,* Vol 4,NO, P.173-182.

[21]-Head, I. M; Martin, J. D; Larter, S. R., (2003). *Biological activity in the deep subsurface and the origin of heavy oil. Nature 4*26 NO, P.344–352.

[22] – أبوالغيث، سعاد محمد .(2010) .*عزل بكتيريا مؤكسدة للهيدروكربونات من البيئة المحلية وتعريفها* – رسالة ماجستير –جامعة الزاوية– العراق.

[23]-Hameed, S. M.; Al-Khesraji, O. T.; Bander, A.K. (2013). *Study of Seasnnal Variation in Fungi Isolated From Petrolium Contaminated Soils In Baiji, Salah adin Province. Tikrit Journal of Pure Science.* 18 (5): 114-122.

[24]-Alwan, S. L. And 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.

[25]- حميد، مروان سالم .(2015) *.اختبار قابلية بعك الأنواع الفطرية على النمو في أوساط ملوثة بالنفط الخام- مجلة تكريت للعلوم الصرفة-* جامعة تكريت -العراق. ٢٠(٥): ٤٧-٥٥.

[26]-Ikhajiagbe*, Beckley; Edegbai ,Boniface.;Aibudefe,Francis.(2017). *Hydrocarbon Utilization by Culturable Microbial Species in the Rhizosphere of Eleusine indica in Oil-Polluted Soils.* NISEB Journal Vol. 17, No. 1.

[27]-Long, H., (2007). *Wastewater treatment methods and disposal*, 3441, Empire road, U.S.A, www.water.me.vccs.edu/courses/ENV149/treatment.htm).

[28]- Plaza, G. A; Jangid, K; Llukasik, G. N; Jawecki, C.J; Berry, R. L., (2008). *Reduction of Petroleum Hydrocarbons and Toxicity in Refinery Wastewater by Bioremediation, Bull Environ. Contam. Toxicol*., 81, P. 329–333.

[29]- Leahy, J. G; Colwell, R. R., (1990**).** *Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. American Society of Microbiology, Microbiological Reviews*, 54(3), P. 305-315.

[30]- Domsch, K. H.; W. Gams And Anderson,T.H. (1980). *Compendium of Soil Fungi Academic Press.*859 pp.

[31]- Gilman, J. C. (1957). *A manual of soil fungi. Iowa State Univ. Press, Ames*, Iowa, USA, (PP.450)

[32]-Pringle, A.; Baker, D. M.; Platt, J. L.; Wares, J. P.; Latge, J. P.; Taylor, J. W.; (2005). *Cryptic Speciation in the Cosmopolitan and Clonal Human Pathogenic Fungus Aspergillus fumigatus*. *Evolution*, Vol. 59, No. 9, 1886-1899.

[33]-Huber, G. (1993). *Aspergillus Sclerotiorum and Its Relation to Decay of Apple. Phytopathology*, Vol. 23, No. 3, 306-308.

[34]-Dawood, V.; Madani, M.; Tahmourespour, A. And Golshani, Z. (2015). *Hetertropic and Crude Oil Uitilizing Crude Oil Contaminated Regions. J BioremedBiodeg.*

[35]-Ye, J.-S. , Yin, H. , Qiang, J. , Peng, H. , Qin, H.-M. , Zhang, N. , & He, B.-Y. (2011). Biodegradation of anthracene by *Aspergillus fumigatus* . Journal of hazardous materials, 185(1), 174–181.

[36]– أبوالغيث، سعاد محمد؛ محمد زعيط، أحلام القمودي. (٢٠٢٠). *عزل وتعريف واختبار كفاءة بعض الفطريات في تحلل الهيدروكربون من التربة الملوثة بالنفط. مجلة العلوم التطبيقية*، العراق.

[37]-Al-Hawash Ab; Zhang X; Ma F. (2019). *Removal and biodegradation of different petroleum hydrocarbons using the filamentous fungus Aspergillus sp.J Microbiologypen*. jan 8(1).

[38]- Kadri, T. , Rouissi, T. , Brar, S. K. , Cledon, M. , Sarma, S. , & Verma, M. (2017). Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by fungal enzymes: A review. Journal of Environmental Sciences, 51, 52–74.

[39]- Zhang, J. H. , Xue, Q. H. , Gao, H. , Ma, X. , & Wang, P. (2016). Degradation of crude oil by fungal enzyme preparations from *Aspergillus* spp. for potential use in enhanced oil recovery. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 91(4), 865–875.