استفاده از قارچ‌های تولیدکننده مواد فعال سطحی در رفع آلودگی‌های نفتی محیط زیست[1]

عالیه محمدالفت[2]

چکیده

در شرایط درون شیشه[3]، توان تجزیه نفت و تولید مواد فعال سطحی[4] توسط ١٠ گونه قارچ متعلق به دو رده آسکومیست[5] و دوترومیست[6] مورد ارزیابی قرار گرفت. همبستگی بالایی بین رشد میسلیوم[7] و توان تولید مواد فعال سطحی در محیط‌های نفتی (٤٪ غلظت حجمی) وجود داشت که توان تجزیه هیدروکربن‌های‌نفتی و سنتز Denovo مواد فعال‌سطحی را نشان می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: موادفعال‌سطحی، آلاینده‌های محیطی، قارچ‌های تجزیه‌کننده نفت، هیدروکربن‌های‌نفتی، آسکومیست، دوترومیست و میسلیوم

١- تاریخ دریافت:٧٩/٣/٢٦، تاریخ تصویب نهایی : ٨٠/٤/١٨

٢- مربی گروه زیست‌شناسی دانشگاه محقق اردبیلی

٣-In vitro
٤-Surfactant
٥-Ascomycete
٦-Deutromycete
٧-Mycelium

مقدمه

روند رشد قارچ اهمیت دارد و می‌تواند به‌عنوان ابزار بیوتکنولوژی به‌کار برود (١٣). از آنجایی که قارچ می‌تواند روی مواد مختلف رشد کند، قادر به ترشح آنزیم جهت حل و جذب مواد نیز است (١). قارچ‌ها در محیط رشدشان در تماس مستقیم با مواد غذایی بستر قرار دارند. مولکول‌های کوچک از قبیل قندهای ساده و اسیدهای آمینه می‌توانند به‌طور مستقیم به‌وسیله ریسه جذب شوند، ولی مولکول‌های بزرگ غیرقابل جذب ابتدا تحت تاثیر آنزیم‌های خارج سلولی قارچ قرار می‌گیرند(٢٢). مولکول‌های بزرگ شکسته‌شده و به اجزای کوچکتر تبدیل می‌شوند. آنزیم‌های هضمی فوق‌العاده اختصاصی عمل کرده و قادرند هیدرولیز مولکول‌های ویژه را کنترل کنند (۴). هضم مولکول‌های پلیمر نیز مرحله به مرحله انجام می‌شود (٣). ممکن است این کار به کمک آنزیم‌های مختلفی انجام شود تا اینکه مولکول‌های ساده و قابل‌حل در آب آزاد شوند. همین مولکول‌های ساده هستند که جذب قارچ می‌شوند. پس از آنکه مولکول‌های ساده وارد سلول قارچ شدند، تحت تاثیر آنزیم‌های داخل سلولی قرار می‌گیرند. توانایی قارچ در مصرف مولکول‌های بزرگ، به توانایی آن در تولید آنزیم‌های هضمی بستگی‌دارد (۴). قارچ‌ها اصولا آنزیم‌های زیادی دارند، اما بسیاری از این آنزیم‌ها ممکن است تا زمانی‌که قارچ با سوبسترایی در تماس نباشد، فعالیتی نداشته باشند. همچنین قارچ ممکن است فاقد آنزیم‌های ضروری باشد، از این‌رو روی محیط کشتی که حاوی سوبسترای غیرقابل هضم است، رشد نخواهد کرد. البته چنین تصوری کاملاً درست نیست، چرا که با حصول شرایط مناسب، امکان فعال شدن آنزیم‌های غیرفعال وجود دارد (١٥). در برخی موارد، آنزیم‌های سازشی[1] به‌وجود می‌آیند. برای مثال قارچی که فاقد آنزیم لازم برای هضم یک هیدروکربور است، درصورتی‌که به محیط کشت حاوی هیدروکربور مزبور منتقل شود، ممکن است آنزیم‌های ضروری برای مصرف هیدروکربور را تولید کند (۴). در این میان، استفاده از مواد فعال‌سطحی مصنوعی برای فعال‌سازی آنزیم‌ها و به‌ویژه مواد فعال سطحی قارچ مناسب است.

امروزه لیپازها در پتروشیمی و سنتز مواد آلی، کاربرد مهم صنعتی پیدا کرده‌اند (١٥). کاربرد بالقوه لیپازهای میکروبی در هیدرولیز چربی‌ها، موضوع مطالعات جدی و عملی شده است (٧). به‌نظر می‌رسد مواد فعال سطحی قارچ عملی مشابه لیپازهای میکروبی دارد، ولی تاکنون مطالعات جامعی در این مورد صورت نگرفته است. قارچ‌های آسکومیست و دوترومیست بیشترین جمعیت قارچی اکوسیستم‌ها را تشکیل می‌دهند (۶، ١٨). ولی مطالعات در مورد این رده‌ها محدود به بررسی خصوصیات سیستماتیکی، بوم‌شناختی و فیزیولوژیکی محض بوده است و مطالعات تلفیقی وجود ندارد و هر گروهی از محققان براساس هدف از تحقیق خود به برخی از پارامترها مثل گونه‌های آزمایشی، ترکیب کشت، دما، مدت تیمار، فرم القای آلودگی، غلظت مواد آلاینده و... پرداخته‌اند. فعالیت آنزیمی تعدادی از این قارچ‌ها توسط زارع مایوان (١٣٧٠ و ١٩٨٧) و زارع مایوان و شیرر (١٩٨٨) بر روی محیط‌های کشت کربنه بررسی شده است. محمدالفت نیز گزارشی از تجزیه هیدروکربن‌های نفتی توسط قارچ ارائه داده

١- Adaptive

است (۳). علاوه‌براین، نقش مواد فعال سطحی مصنوعی در حلالیت هیدروکربن‌های لجن‌های نفتی بررسی گردیده است (۱۰). گزارش‌هایی نیز در مورد تجزیه نفت خام و مشتقات نفتی توسط قارچ‌ها در دسترس می‌باشد (۹ و ۱۲) . در این تحقیق فعالیت تجزیه‌ای قارچ‌ها و تولید مواد فعال سطحی در گونه‌هایی از آسکومیست‌ها و دوترومیست‌ها که به طور معمول روی منابع کربنه (برگ و چوب) رشد می‌کنند، ارزیابی و پتانسیل بالقوه آنها در آلودگی‌زدایی طبیعی مشخص شده است.

مواد و رو ش‌ها

بخش اول

ده گونه قارچ متعلق به دو رده آسکومیست‌ها و دوترومیست‌ها از بین قارچ‌هایی که توسط قادریان (۱۹۹۱) از زاینده‌رود اصفهان ایران، شیرر (۱۹۸۳)، زارع مایوان (۱۹۸۷) و زارع مایوان و شیرر (۱۹۸۸) و متوالی و شیرر (۱۹۸۹) از رود جوردان گریک آمریکا جمع‌آوری شده بودند، انتخاب شدند. نحوه جمع‌آوری و جداسازی این قارچ‌های آبزی به شرح زیر بوده است:

طعمه‌گذاری برگ‌ها درون آب: برگ‌های خزان شده گونه‌های چنار *(Platanus orientalis)*، سپیدار *(Populus alba)*، پده *(P.euphratica)* و توسکا *(Alnus subcordata)* از درختان کنار رودخانه جمع‌آوری گردیدند. برگ‌های هر گونه در دسته‌های ده‌تایی روی یکدیگر قرار داده شده، با نخ پلاستیکی به هم دوخته شدند و هر بسته ده‌تایی درون کیسه توری پلاستیکی (با منافذی به ابعاد ۲×۱ میلی‌متر) گذاشته شد و سپس دهانه کیسه‌ها دوخته شد. برای هر گونه حدود ۲۰ کیسه فراهم شد. سپس چهار کیسه از هر گونه درون یک زنبیل توری پلاستیکی قرار گرفتند و در محل‌های موردنظر (ایستگاه‌ها) که به فاصله ۱۰۰ متری از یکدیگر انتخاب شده بودند، مستقر گردیده و به‌وسیله سیم ماهیگیری به تنه درخت کنار رودخانه بسته شدند و مدت ۸-۴ ماه در محل باقی گذاشته شدند.

برداشت نمونه: هر دو ماه یک‌بار از هر زنبیل یک کیسه از هر نوع برگ بیرون آورده شد. کیسه‌های موردنظر در یخچال نگهداری شده و بسرعت به آزمایشگاه منتقل گردیدند. از چوب‌های غرقابی نیز نمونه‌برداری شد.

آماده‌سازی نمونه‌ها در آزمایشگاه: دسته‌های ده‌تایی برگ از کیسه‌های توری بیرون کشیده‌شده و برگ‌ها از یکدیگر جدا گردیدند و به طور جداگانه داخل تشتک‌های آب مقطر استریل شستشو داده شدند. سپس از هر بسته پنج برگ انتخاب و از هر برگ با استفاده از سوراخ‌کن تعداد ۲۰ عدد دیسک به قطر ۵ میلی‌متر بریده شد و دیسک‌های حاصل از هر برگ درون ظروف پتری حاوی ۳۰ میلی‌متر آب مقطر استریل قرار داده شدند. دیسک‌ها برای کنیدی‌زائی قارچ‌های سطح آنها به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور (۱۹-۱۷ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. همچنین قطعاتی از چوب‌های غرقابی در ظروف پتری سترون حاوی دو لایه کاغذ واتمن شماره یک مرطوب در دمای اتاق کشت شدند.

جداسازی قارچ‌ها: ابتدا ظروف پتری حاوی ۲۵ میلی‌لیتر آنتی‌بیوتیک – آب آگار (AWA) و نیز لوله‌های آزمایش حاوی ۲ میلی‌لیتر آب مقطر تهیه شد و ۳ تا ۵ دیسک آماده شده در مرحله قبل از هر برگ، به درون لوله آزمایش ریخته شد

و پس از تکان دادن آنها محتویات آب لوله‌ها به‌آرامی به درون ظروف پتری حاوی AWA اضافه گردید. ظروف پتری به طور افقی در سطح میز تکان داده شد تا آب در تمام سطح آنها پخش شود. پس از یک ساعت، آب اضافی درون ظروف پتری خالی گردید و ١٢ ساعت بعد در داخل اتاق کشت سترون، درب ظروف پتری برداشته شد و در زیر میکروسکوپ تشریح با سوزن آزمایشگاهی سترون، تکه‌های کوچک آگار محتوی تک کنیدی جوانه‌زده به سطح AWA منتقل گردید. به‌منظور شناسایی این قارچ، دیسک‌هایی از قسمت جوان و انتهای ریسه قارچ از محیط کشت AWA برداشته و به درون لوله‌های آزمایش حاوی آب مقطر سترون شده ریخته شد و توسط پمپ اکواریومی در ١٥ درجه سانتی‌گراد هوادهی گردید. پس از گذشت ٤٨-٧٢ ساعت قارچ‌ها شروع به کنیدی‌زایی نمودند. در این حالت با نمونه‌برداری از قطعات درون آب و با رنگ‌آمیزی با لاکتوفنل‌اتن‌بلو بررسی شده و شناسایی شدند (٢، ١٧ و ٢٢).

از کشت خالص، حداقل ٥ جدا کشت برای هر گونه قارچی تهیه شد. سپس دیسک‌های تلقیح به قطر ٥ میلی‌متر از پیرامون کلنی‌های کشت خالص بریده شده و به مرکز ظروف پتری حاوی ٢٥ میلی‌لیتر محیط کشت دارای CMA روش چاله‌گذاری انتقال یافتند. از هر گونه قارچی در دو محیط کشت مواد فعال سطحی (١٪ حجمی) و شاهد بدون مواد فعال سطحی سه تکرار به‌عمل آمد. اندازه‌گیری رشد شعاعی یک روز در میان به‌مدت ٢١ روز روی چهار قطاع از پیش تعیین شده در ظروف پتری با استفاده از استریومیکروسکوپ صورت گرفت.

بخش دوم

بررسی‌خصوصیات‌مورفولوژیکی‌وسیستماتیکی گونه‌ها و تعیین خلوص کشت‌ها : تعدادی از این گونه‌ها قبلا شناسایی شده بودند (٢، ١٧ و ٢٢). شناسایی بقیه گونه‌ها، به‌ویژه جنس‌ها، با استفاده از کلیدهای شناسایی (١١، ١٨ و ١٩) و روش‌های مختلف تحریک اسپورزایی (٨ و ٢٠) انجام شد که شامل موارد زیر بود:

١-کشت لامی[١]: فرم اصلاح‌شده این روش به‌کار گرفته شد. قطره‌ای از آگار استریل مذاب روی لام داخل پتری قرار داده شد، پس از سردشدن از وسط دونیم و بعد از ایجاد شکاف و فاصله از هر دو طرف تلقیح شد. سپس با Coverslipe روی آن پوشانده شد و بعد از ٤-٧ روز کشت زیرمیکروسکوپ مطالعه گردید. این روش برای مطالعه روند پلاسموگامی و تشکیل آسکوگارپ در تعدادی از گونه‌ها به‌کار رفت.

٢- روش غوطه‌وری و هوادهی: که در آب مقطر ارلن مایر صورت گرفت.

٣- روش شوک سرمایی: که برای گونه‌های سخت اسپوردهنده به‌کار برده شد.

٤- استفاده از نور لامپ مهتابی: این نور مقادیر زیادی پرتو فرابنفش نزدیک از خود ساطع می‌کند. منبع نوری به فاصله مشخص (حدود ٢٠ سانتی‌متر) از ظروف پتری قرار داشت. شرایط نوری اعمال‌شده به ترتیب١٢ ساعت روشنایی و ١٢ ساعت تاریکی بود، بررسی در این مرحله طی ٣ دوره روشنایی و تاریکی متناوب صورت گرفت. سپس بخش‌های کوچکی از قطعات هیفی، همراه با ساختار زایشی تشکیل‌شده بریده شد و بعد از غوطه‌وری در آب مقطر روی لام منتقل و پس از

١- Slideculture

رنگ‌آمیزی با کاتن‌بلولاکتوفنل اسلاید میکروسکوپی تهیه گردید و خصوصیات مورفولوژیکی و سیستماتیکی‌شان مطالعه شد.

بخش سوم

۱۰ گونه قارچی ذکرشده در محیط‌های کشت آگار، آگار و نفت ۴٪ حجمی، محیط کشت آگار و نفت دارای مواد فعال‌سطحی (۱٪ حجمی) کشت داده شدند (نفت به‌کار برده شده، نفت خام سبک صادراتی جزیره خارک بود). شرایط و نحوه کشت همانند بخش اول بود. اندازه‌گیری رشد شعاعی در هر سه گروه با سه تکرار به‌مدت ۲۱ روز ادامه یافت. میزان رشد و فعالیت تجزیه‌ای نفت بررسی و نمودار رشد خطی برای هر گونه ترسیم شد.

برای مقایسه میانگین رشد گروه‌ها، از آنالیز واریانس (روش ANOVA) استفاده شد. دو برآورد ۱) واریانس درون تک تک نمونه‌ها (S^2p) و ۲) واریانس بین تمام نمونه‌ها ($S^2\bar{x}$) به‌عمل آمد. برای تعیین حداقل مقدار، از تفاوت لازم برای معنی‌دار بودن اختلاف (L.S.D) استفاده شد:

$$L.S.D=t(\alpha,r(n-1)\sqrt{2/n\ S^2\ P})$$

در این رابطه، α = ۰/۰۵ است.

نتایج

بخش اول

بررسی کشت‌های بدون مواد فعال سطحی مصنوعی (Tween) و کشت‌های دارای مواد فعال سطحی نشان داد اختلاف رشد بجز در مورد *Seiridium sp.* در بقیه گونه‌ها معنی‌دار نیست (جدول ۱). هرچند الگوی رشد در این دو محیط کشت متفاوت است.

بخش دوم

شرایط اعمال‌شده برای اسپورزایی در این زمینه پاسخگو بوده است. کنیدی، آسکوکارپ و پکنید و ساختارهای زایشی دیگر در گونه‌های مختلف تشکیل گردید.

بخش سوم

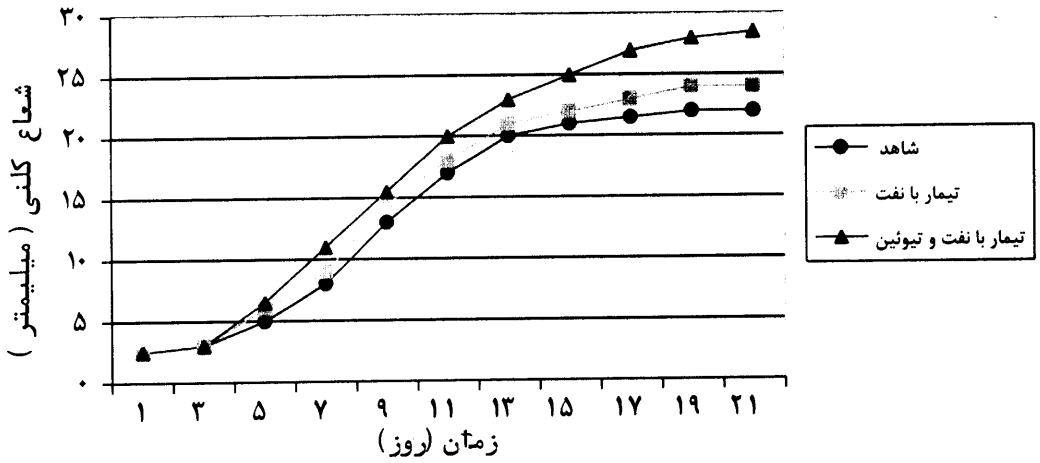
تمام گونه‌ها بجز *Seiridium sp.* قادر به رشد در محیط آگار و نفت بودند. همچنین اختلاف رشد گونه‌های *Leptodothiorella bedwelli* و *Halosarpheia retorquens* و *Nectria haematococca* در دو محیط کشت آگار و آگار و نفت معنی‌دار بود. مقایسه دو محیط کشت آگار و نفت و محیط کشت آگار و نفت دارای مواد فعال‌سطحی نشان داد که اختلاف رشد علاوه بر گونه‌های فوق، در مورد گونه‌های دیگر بجز *Seiridium sp.* نیز معنی‌دار است. *Seiridium sp.* با افزودن مواد فعال سطحی به محیط کشت نفتی قادر به رشد در آن محیط و فعالیت تجزیه‌ای می‌باشد (جدول ۲). همچنین افزودن مواد فعال سطحی به محیط کشت فاز رشد خطی را تسریع می‌کند (شکل‌های ۱-۱۰).

جدول ١- میزان رشد (شعاع کلنی برحسب میلی‌متر) در دو گروه شاهد و تیمار در کشت جامد بعد از ٢١ روز کشت در شرایط تاریکی و دمای ٢٧°c

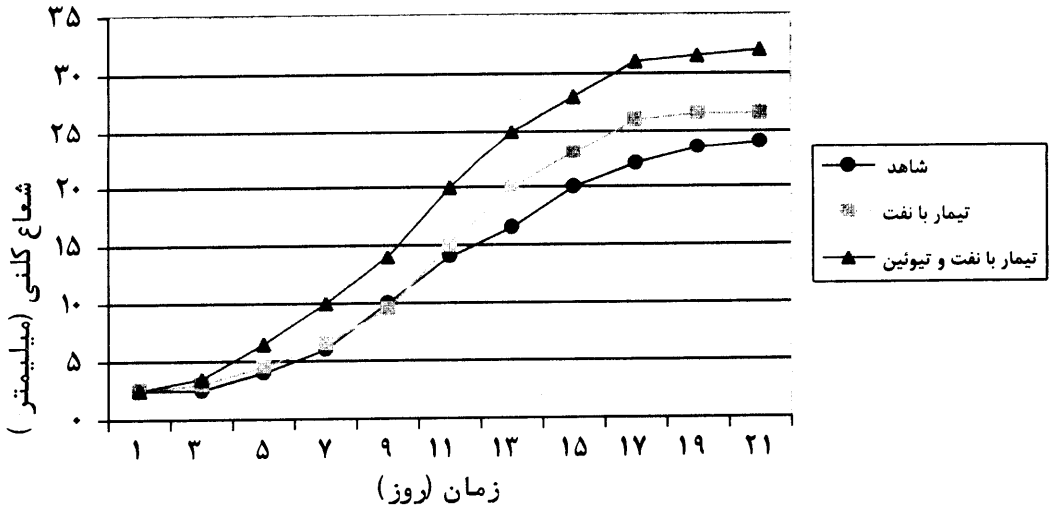
گونه قارچی	شاهد (CMA)	(CMA+Tween)
Ascomycetes	-	-
Halosarpheia retorquens	٣٢/٥	٣٣
Nectria haemtococca	٤٥	٤٥
Nectria lucidum	٣١/٨	٣٢
Deturomycetes	-	-
Leptodothiorella bidwelli	٤٠	٤١/٢
Seiridium sp.	٤٠	٤٤
Alternaria ramulosa	٣٨	٣٨/٤
Anguillospora gigantea	٣٩	٤١
Anguillospora longissima	٣٧/٦	٣٩/٢
Montosporella tuberculata	٢٨	٣٠
Tetracladium marchalianum	٢٧/٣	٢٩

جدول ٢- میزان رشد (شعاع کلنی برحسب میلی‌متر) در سه گروه شاهد آگار و تیمار نفت و تیمار نفت و تیوبین در کشت جامد بعد از ٢١ روز کشت در شرایط تاریکی و دمای ٢٧°c

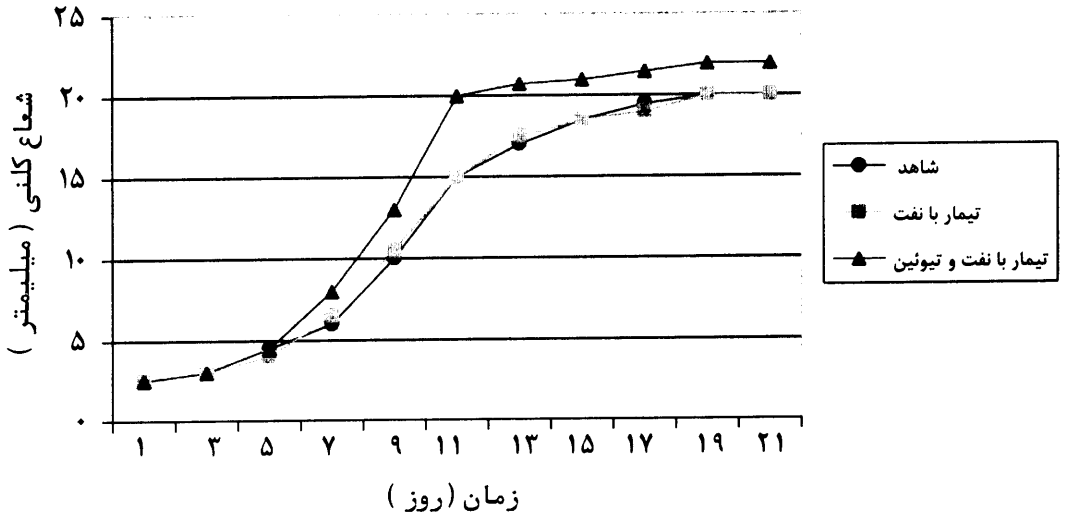
گونه قارچی	شاهد Agar	نفت + Agar	Tween+ نفت + آگار
Ascomycetes	-	-	-
Halosarpheia retorquens	٢٢	٢٤	٢٨/٥
Nectria haematococca	٢٤	٢٦/٥	٣٢
Nectria lucidum	٢٠	٢٠	٢٢
Deutromycetes	-	-	-
Leptodothiorella bidwelli	٢٣	٢٦/٨	٣١/٢
Seiridium sp.	٢٠	-	٢٥
Alternaria ramulosa	٢٢	٢٢	٢٦
Anguillospora gigantea	٢٠/٣	٢٠/٥	٢٤/٨
Anguillospora longissma	٢٠/١	٢٠	٢٣
Montosporella tuberculata	١٨/٤	١٩/١	٢٢/٦
Tetracladium marchalianum	١٦/٢	١٧/٣	١٩



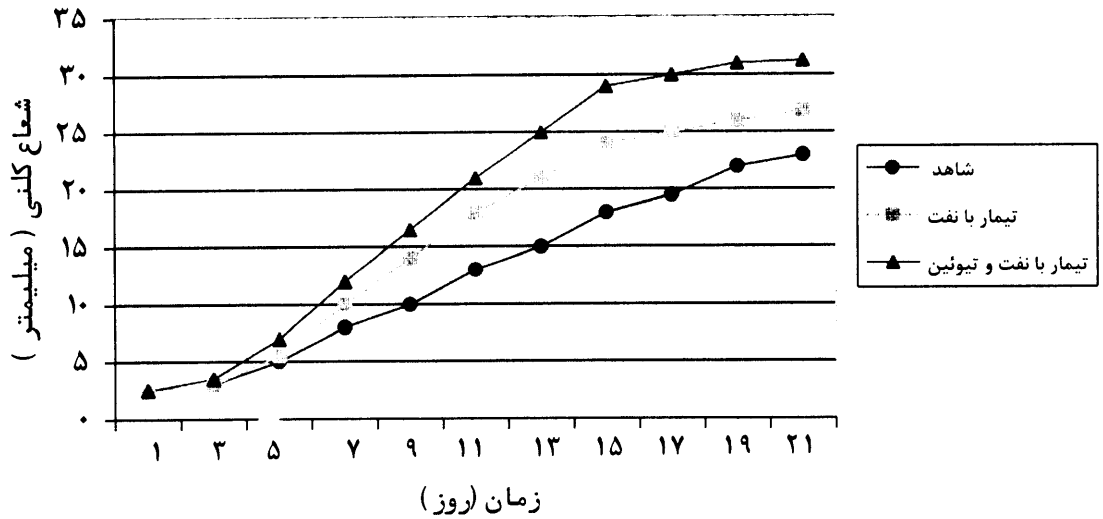
شکل ۱- منحنی رشد شعاعی *Halosarpheia retorquens* در ۲۱ روزکشت



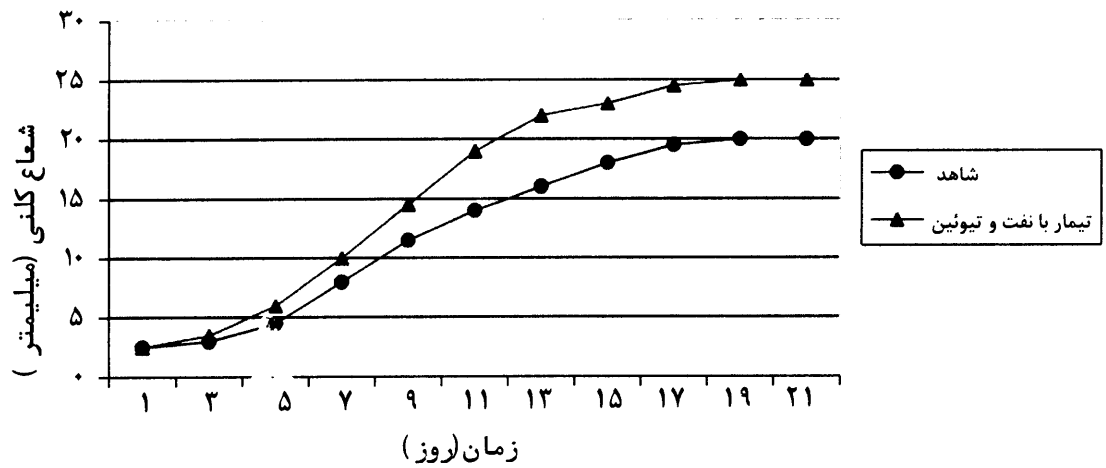
شکل ۲- منحنی رشد شعاعی *Nectria haematococca* در ۲۱ روزکشت



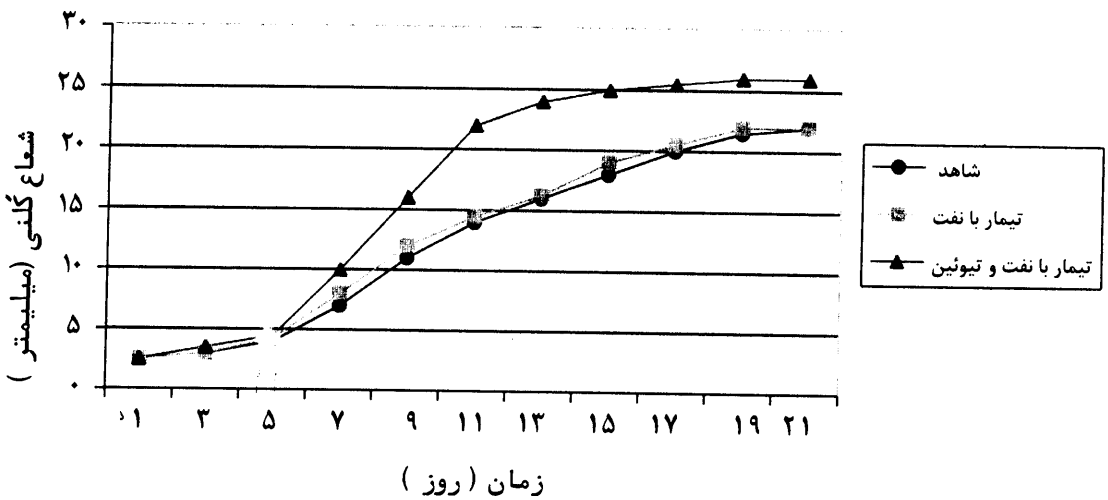
شکل ۳- منحنی رشد شعاعی *Nectria lucidum* در ۲۱ روزکشت



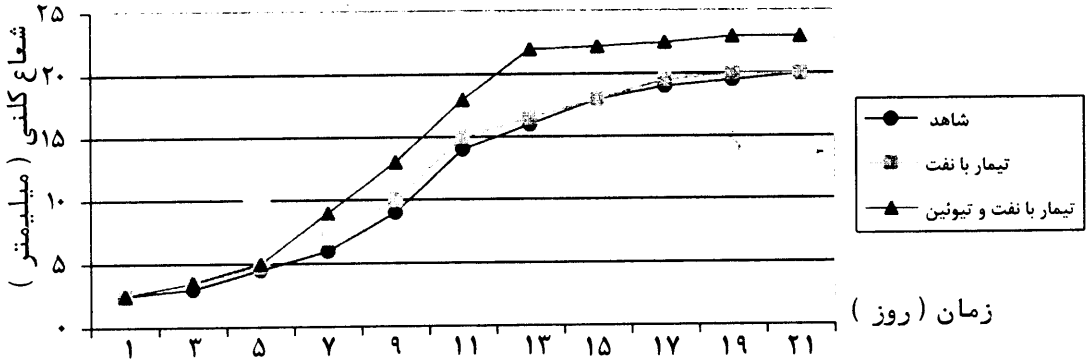
شکل ٤- منحنی رشد شعاعی *Leptodohiorella bidwelli* در ٢١ روزکشت



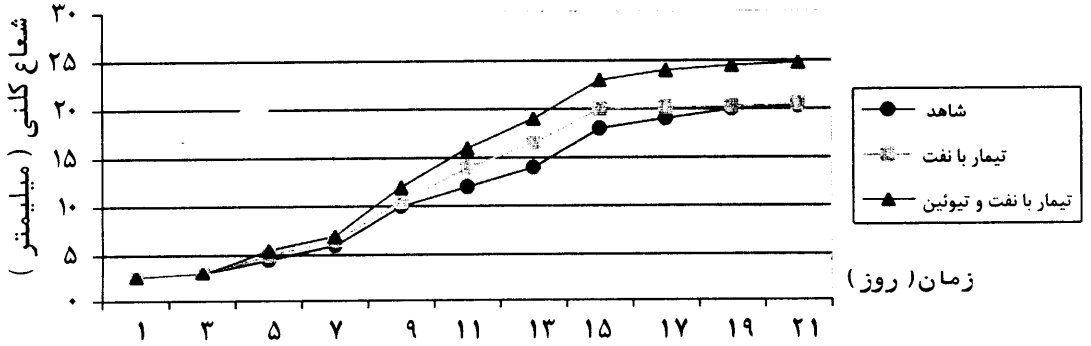
شکل ٥- منحنی رشد شعاعی *Seiridium* sp. در ٢١ روزکشت



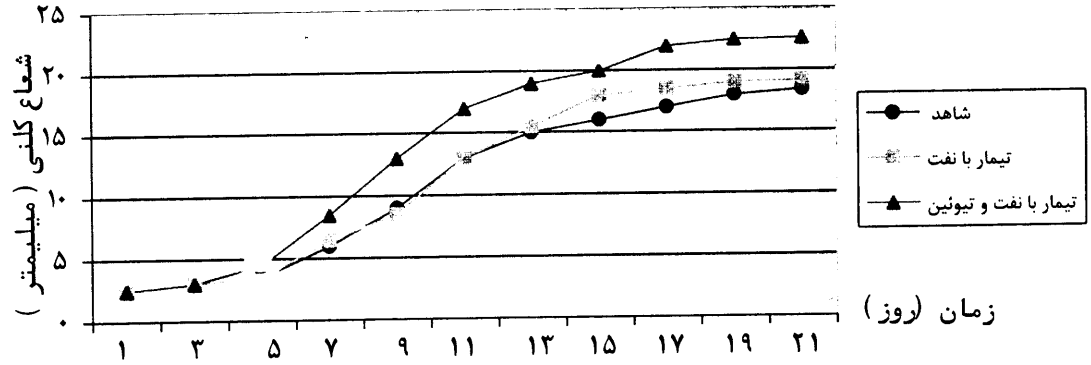
شکل ٦- منحنی رشد شعاعی *Alternaria ramulosa* در ٢١ روزکشت



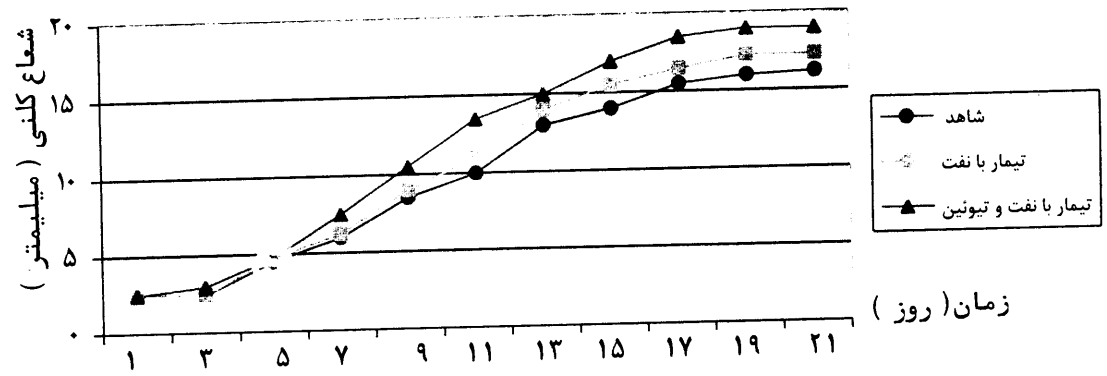
شکل ۷- منحنی رشد شعاعی *Anguillospora gigantea* در ۲۱ روزکشت



شکل ۸- منحنی رشد شعاعی *Anguillospora longissima* در ۲۱ روزکشت



شکل۹- منحنی رشد شعاعی *Montosporella tuberculata* در ۲۱ روزکشت



شکل۱۰- منحنی رشد شعاعی*Tetracladium marchalianum* در ۲۱ روزکشت

بحث و نتیجه‌گیری

قارچ‌ها به لحاظ اینکه هتروتروف‌های شیمیوتروفیک هستند، از مواد آلی به‌عنوان اسکلت کربنه و منبع انرژی برای بیوسنتز استفاده می‌کنند (۴ و ۲۲). ساختار شیمیایی بیشتر این منابع کربنه موردنیاز قارچ، پیچیده است. برای استفاده از این ترکیبات، لازم است که تغییراتی در فیزیولوژی قارچ صورت گیرد. آنزیم‌های جدید باید ساخته شوند یا به‌عمل برسند تا شیمی سلولی را تغییر دهند (۴). مهمترین آنزیم‌های قارچی، آنزیم‌های برون‌سلولی هستند که از دیواره سلولی قارچی آزاد می‌شوند (۲۲). بخشی از آنزیم‌های آزادشده در داخل محیط کشت انتشار می‌یابند و بقیه در حصار دیواره باقی می‌مانند و در مراحل بعدی رشد قارچ آزاد می‌شوند. گاهی آزاد شدن اینها نیاز به تیمارهای خاص دارد. عمل تجزیه ترکیبات کربوهیدراته از جمله نفت، یک عمل آنزیمی است که توسط آنزیم‌های برون سلولی صورت می‌گیرد و بعد از تشکیل ترکیبات ساده‌تر و جذبشان توسط قارچ، آنزیم‌های درون سلولی آنها را به دی اکسید کربن و آب و سایر متابولیت‌های لازم برای رشد قارچ تبدیل می‌کنند (۳). قارچ‌های تجزیه‌کننده نفت نیز با استفاده از مکانیسم مشابهی، هیدروکربن‌های آلیفاتیک و آروماتیک حلقه‌ای را تجزیه می‌کنند (۲۱). هیدروکربن‌ها در غلظت زیاد، برای غشای سیتوپلاسمی سمی‌اند، ولی در غلظت کم توسط فنیل اکسیدازهای قارچی تجزیه می‌شود (۵). گونه‌های *Halosarpheia retorquens*، *Nectria haematococca* و *Anguillospora longissima* دارای آنزیم‌های فنیل اکسیداز هستند که ترکیبات فنلی را اکسیده می‌کنند(۲۲). پاره‌ای از این قارچ‌ها با داشتن آنزیم‌های اکسیداتیو هیدرولیک سلولز را تجزیه می‌کنند (۴). قارچ‌های مورد بحث در این تحقیق در محیط کشت (CMA) (جدول ۱) نسبت به محیط کشت آگار بهتر رشد می‌نمایند (جدول ۲)، چرا که برای رشد و بیوسنتز نیاز به منبع کربنه وجود دارد که در آگار موجود نیست، ولی در کورن میل آگار وجود دارد. مقایسه دو محیط کشت آگار و آگار- نفت در بیشتر گونه‌های قارچی اختلاف معنی‌دار در رشد کلنی نشان می‌دهد (جدول ۲). میزان رشد در آگار و نفت نسبت به محیط کشت پایه آگار بیشتر است (جدول ۲) و با آنالیز واریانس معین می‌شود. این امر نشان می‌دهد که گونه‌های مختلف قارچی از ترکیبات هیدروکربن نفت به عنوان منبع کربن و انرژی استفاده می‌کنند. فقط در مورد گونه‌ای از *Seiridium* در محیط آگار – نفت رشدی مشاهده نشد، درحالی‌که این گونه با اضافه‌کردن مواد فعال سطحی بخوبی رشد می‌کند که نشان‌دهنده اکسیداسیون همراه (Co oxidation) ترکیبات سرسخت است (جدول ۲).

مقایسه دو محیط کشت CMA و محیط کشت CAM همراه با مواد فعال سطحی، نشان می‌دهد که بجز در مورد *Seiridium*، در بقیه موارد اختلاف معنی‌دار نیست. رشد در هر دو محیط به دلیل وجود منبع کربنه و انرژی و سهولت دسترسی بالاست. مقایسه‌ای نیز بین گونه‌هایی که ابتدا در کشت‌های نفتی رشد کرده و سپس به محیط حاوی مواد فعال سطحی منتقل شده‌اند با گونه‌هایی که از ابتدا در CMA بوده‌اند صورت گرفت که نشان داد که سطح جذب در محیط‌های اولی بیشتر است. به‌نظر می‌رسد که در محیط CMA چنین کمپکس

آنزیمی و فعال شدن گیرنده‌ها صورت نمی‌گیرد. مقایسه دو محیط کشت آگار – نفت و این محیط همراه با مواد فعال سطحی نشان می‌دهد که در محیط دوم میزان رشد کلنی بیشتر و در اثر گونه‌ها اختلاف معنی‌دار است. به نظر می‌رسد که استفاده از مواد فعال سطحی تماس فیزیکی بین هیدروکربورهای با وزن مولکولی بالا در نفت و قارچ را افزایش می‌دهد (۱۶ و ۱۰) و امکان تجزیه را بیشتر و حتی سریع‌تر می‌سازد و رسیدن به فاز رشد خطی را کوتاهتر می‌کند. در حقیقت، گیرنده‌های بیشتری را در سطح پلاسمالم قارچها فعال‌تر می‌سازد. این مورد با مطالعات فاق و همکاران (۱۹۹۳) که بر روی ترکیبات PAHS انجام شد، مطابقت دارد (۲۱).

مطالعه و بررسی گونه‌های قارچی *Montosporella tuberculata* و *Tetracladium marchalianum* نشان می‌دهد که میزان رشد این قارچها در محیط نفتی نسبت به شاهد بالا و چشمگیر است. این مورد با گزارش این دو گونه قارچی از آب‌های آلوده به مواد آلی مطابقت دارد (۷). بررسی سنتیک رشد گونه‌های مختلف قارچی نشان می‌دهد که الگوی رشد از یک گونه به گونه دیگر متفاوت (۱۳) و فاز تاخیر از لحاظ زمانی در گونه‌های کند رشد بیشتر است. استفاده از مواد فعال سطحی برای فعال‌سازی مواد فعال سطحی خود قارچ مفید خواهد بود و این فاز تاخیر را کاهش می‌دهد. در مورد گونه‌های سریع‌الرشد، مواد فعال سطحی یا بیوسورفاکتانت قارچی در مجاورت و در تماس با سوبسترا فعال می‌شوند و نیاز به سیستم القایی ندارند، ولی در مورد گونه‌های کندرشد مثل *Seiridium sp.*، *Montosporella tuberculata* و *Tetracladium marchalianum* نیاز به القای‌آنزیمی سیستم‌های گیرنده می‌باشد. مواد فعال سطحی قارچی همانند مواد فعال سطحی مصنوعی خاصیت کف‌کنندگی دارند و به‌نظر می‌رسد از سری لیپازهای میکروبی باشند که در هیدرولیز چربی‌ها و اسیدهای چرب (به‌صورت محدود) به‌کار می‌روند. مطالعات تلفیقی اسپورزایی و توان تجزیه همراه با تولید مواد فعال سطحی و سنتز Denovo آن در قارچهای فوق نشان می‌دهد که روند اسپورزایی در گونه‌ها متفاوت است و این به الگوی متفاوت رشد رویشی در قارچها برمی‌گردد. استفاده از Tween 20 و Tween 80 نتایج مشابهی داده، به‌نظر می‌رسد که فعال‌شدن مواد فعال سطحی قارچی در محل گیرنده‌ها نباید زیاد هم اختصاصی باشد. سنتز Denovo این مواد فعال سطحی توسط قارچها در شرایط آزمایشگاهی با مقایسه میزان رشد گونه‌های مختلف تعیین و اثبات شده است. جداسازی این ترکیبات و تعیین ماهیت این ماده و ژن‌های موردنظر و کلون‌سازی این ژن‌ها در موجودات برتر، دریچه‌ای به روی تحقیقات جدید می‌گشاید. انتظار می‌رود با استفاده از مهندسی ژنتیک و کاربرد روش‌های مختلف کلون‌سازی ژن موردنظر با PCR و شیوه‌های نوین دیگر، بتوان این ژن‌ها را به دیگر گونه‌های کندرشد انتقال داد و در آینده نزدیک‌محصولات‌مفیدی‌را در صنعت به‌دست آورد.

منابع

۱- زارع مایوان، حسن، ۱۳۷۰. مبانی قارچشناسی، انتشارات فرهنگ جامع، تهران، ۲۸۳ ص.

٢- قادریان، مجید، ١٣٧٠. شناسایی و مطالعه اکولوژیکی هیفومیست‌های آبی برگزی رودخانه زاینده‌رود اصفهان، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تربیت مدرس تهران، ۶۷ ص.

٣- محمدالف، عالیه، ١٣٧٧. قارچ‌ها و تجزیه هیدروکربن‌های نفتی، رشد و آموزش زیست‌شناسی (٣٨): ٣۴ - ٣۶.

۴- مهرآوران، حمید، ١٣٧٢. مبانی قارچ‌ها، انتشارات دانشگاه ارومیه، ارومیه، ۵٣٣ ص.

5-Atlas. R. M. 1993. Bacteria & bioremediation of marine oill spills. Oceanus. Vol 36:p.71.

6-Barnett. H.L. 1980. Illustrated genera of imperfect fungi, Burgess pub. Co., Minneapolis, Minn. 226 pp.

7-Britton. L. N. 1989. Microbial degradation of organic compound, Eds. David. T. Gibson Marcel Dekkler. New York. PP:89-129.

8-Dahlberg. K.R. 1992. Physiology and biochemistry of fungal sporulation. Ann. Rew. Phytopathol. Vol 20:287-307.

9-Davis. J.S. & D.W.S. Wesclake. 1995. Crude oil utilization by fung, Canadian Journal of microbiology. Vol 25:196-206.

10-Janivani. K.K. & S.R. Wait. 1993. Solubilization of hydrocarbons from oil sludge synthetic surfactants. J. Chem. Tech. Biotechnol. 58:305-308.

11-Kendrick, B. 1977. Taxonomy of fungi Imperfecti. Univ. Toranto Press Ontario. 309pp.

12-Kerina. H. J. 1993. Metabolism of P-Cresol by fungi. Microbiology. Vol 4:1125-1130.

13-Lindleg, N.D. 1992. Hydrocarbon degrading yeast & filamentus fung. Biotechnology importance. In: Fungal biotechnology. France. PP:905-929.

14-Metwalli, A.A & C.A. Shearer, 1989. Aquatic hyphomycetes communities in clear-cut and wooded areas of Illinois stream. Trans. Illinois Acad.Sci. Vol 82:5-16.

15- Micchael. P.C. 1990. Microbial Enzyme & Biotechnology, Eds. William M.Fayarty & Catherna. T.Kelly 2nd ed. appliad science. London. 750PP.

16-Schulz, D. & Z.Naturforsch, 1995. Marine biosurfactants, Journal-article No: 1-2:1125-1130.

17-Shearer. C.A. 1983. Patterns of occurrence of ascomycetes associated with decomposing twigs in a midwestern stream, Mycologia. Vol 75(3): 518-230 .

18-Sutton. B.C. 1980. The Coleomycetes. C.M. I.PP: 35-280.

19-Talbot. D.H. B. 1977. Principales of fungal taxonomy, St. Martin's press. NewYork. 274PP.

20-Webster. S. 1975. Further studies of sporulation of aquatic hyphomycetes in relation to aeration. Trans. Br. Mycol. Soc. Vol 64:119-127.

21-Wilson. S.C. & K. Clanes, 1993. Bioremediation of soil contaminated with poly nuclear aromatic hydrocarbon (PAHS). Environmental pollution. Vol 81:229-240.

22-Zare-Maivan. H.1987. Extracelluar enzyme production and cell wall degradation by fresh water lignicolous fungi: ph.D thesis, University of Illinois, Champaigin. II.U.S.A.

23-Zare-Maivan, H. & C.A. Shearer, 1988. In vitro interactions among wood and leaf ascomycetes and imprfect fungi from fresh water habitates, Mycologia. Vol 80:37-37.

The Use of Surfactant Producing Fungi in Removing Environmental Pollution

A. Mohammad Olfat[1]

Abstract

Ten selected fungi from Ascomycetes and Deutromycetes were used for evaluation of oil degrading and surfactant producing capability. High correlation was observed between mycelium growth and surfactant yield in oily medium (4% v/v) indicating the capability of fungi in degrading oil and Denovo synthesis of surfactant.

Keywords: Surfactant, Environmental Pollutants, Oil degrading fungi, Oil-hydrocarbons, Ascomycete, Deutromycete, Mycelium

[1] *-Faculty Member, Department of Biology, Sciences Faculty of Ardabil University*