The role of fungi in the degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons with special reference to Shatt Al- Arab River and NW Arabian Gulf.

MARINA MESOPOTAMICA 19(2): 267-296 2004

دور الفطريات في عملية تكسر المركبات الاروماتية المتعددة الانوية في البيئة مع الاشارة الى بيئة شط العرب وشمال غرب الخليج العربي

مصطفى عبد الوهاب الدوسري سمير خلف عبد الله حامد طالب السعد*

قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة البصرة، العراق

**مركز علوم البحار، جامعة البصرة، العراق*

الخلاصة

تعتبر المركبات الاروماتية المتعددة الانوية (PAH) من المركبات الخطرة على الإنسان والكائنات الحية وفي الدراسة الحالية سيتم عرض لأهم مصادر هذه المركبات في البيئة عموما وفي منطقة شمال غرب الخليج وشط العرب خصوصاً، ودور الفطريات في عملية تكسير وإزالة مثل هذه المركبات من البيئية بصورة عامة وفي منطقة شط العرب وشمال غرب الخليج العربي خاصة ،حيث تم الإشارة إلى أهم المجاميع الفطرية التي تقوم بعملية تكسير هذه المركبات والإنزيمات التي تستعملها في عملها والمواد الايضية الناتجة منها كذلك تم التطرق إلى إمكانية استعمال هذه الفطريات في عمليات المعالجة الحيوية لهذه المركبات في البيئة.

المقدمة

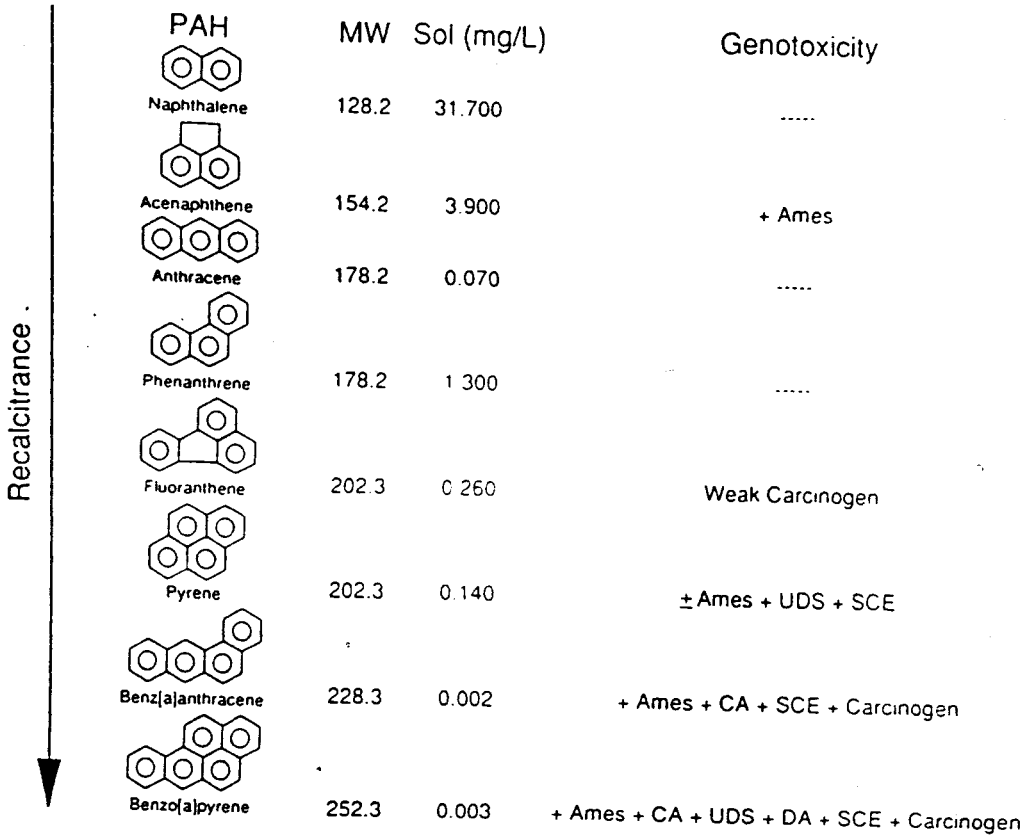
ان صناعة ونقل النفط الخام والمركبات الكيمياوية خلال القرن الاخير ادى الى تلويث البيئة بشكل خطير بالمركبات الكيميائية السامة، ومن هذه المركبات الخطيرة هي المركبات الاروماتية متعددة الانوية polycyclic aromatic hydrocarbon شكل (1) وهي عبارة عن حلقتين من

شكل (1) : الاشكال الحلقية لبعض المركبات الاروماتية متعددة النوى
ماخوذ من Cerniglia, (1997) .

البنزين او اكثر متحدة مع بعضها وتنتشر بصورة واسعة في البيئة والعديد منها يبقى ثابت لمدة طويلة مما زاد من الاهتمام بدراستها خاصة وان العديد منها وخاصة المركبات ذات الوزن الجزيئي العالي تعتبر ذات قابلية مسرطنة وسامة ومطفرة للخلايا (Atlas & Cerniglia, 1995 Mueler *et al* ., 1996; Shuttleworth & Cerniglia, 1995) وكما موضحة في الشكل (2).

ونلاحظ ان شط العرب والذي يعتبر المصدر الاساسي للمياه في المنطقة يستقبل المياه من دجلة والفرات والكارون والتي تحمل كميات هائلة من المواد العالقة الحاوية على المواد العضوية المدمصة عليها ومن الواضح ان مركبات (PAH) تشكل جزءاً مهماً من هذه المواد العضوية المحمولة بهذه المياه خاصة وانها تمر عبر مناطق صناعية وسكانية متعددة (Al-Saad *el al*., 1998) والمركبات الاروماتية بعد دخولها للمياه تصبح ثابتة بصورة اكبر واقل تاثراً بالعوامل الخارجية وعادة ما تبقى المركبات ذات الوزن الجزيئي العالي متصلة بالمواد العالقة وهنا لوحظ ان زيادة نشاط واعداد الكائنات المجهرية في المناطق الملوثة يشير الى انها تلعب دوراً هاماً في تحليل وازالة مثل هذه المركبات من البيئة (Cerniglia, 1993).

وعلى عكس البكتريا فان الفطريات تستعمر التربة بابعادها الثلاثة بواسطة الخيوط الفطرية وتكوين السبورات والاجسام المقاومة للظروف البيئية والتي تبقى مدة طويلة في البيئة مما يعطيها مجال اوسع لتكون بتماس اكبر مع هذه المركبات كذلك ثبت ان الفطريات تمتلك نظاماً انزيمياً يمكنها من تكسير العديد من المركبات الهايدروكاربونية المعقدة التركيب وازداد الاهتمام بها لاستخدامها في المعالجة الحيوية للملوثات في البيئة (Classen *et al*., 2000) وبيئتنا تعتبر غنية بالفطريات (Abdullah & abbas, 1997; Abdullah & Abbas a,b, 1994 ; Abdullah & Hassan, 1995) والتي يمتلك العديد منها قابليات مهمة على تكسير المركبات الاروماتية المختلفة جدول (1) وبسبب قلة البحوث المنشورة حول دور



شكل (2): بعض الخواص السمية والكيمياوية والفيزياوية لمركبات (PAH)
1992, Cerniglia

جدول (1) بعض الفطريات التي لها القدرة على تكسير مركبات (PAH)

1992, Cerniglia

Compound	Organisms
Acenaphthene	*Cunninghamella elegans*
Anthracene	*Bjerkandera* sp, *Cunninghamella elegans*, *Haematoloma frowardii*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Phanerochaete laevis*, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus sajor-caju*, *Ramaria* sp, *Rhizoctonia solani*, *Trametes versicolor*
Phenanthrene	*Aspergillus niger*, *Cunninghamella elegans*, *Haematoloma frowardii*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Phanerochaete laevis*, *Pleurotus ostreatus*, *Syncephalastrum racemosum*, *Trametes versicolor*
Fluoranthene	*Cunninghamella elegans*, *Haematoloma frowardii*, *Luetiporus sulphureus*, *Penicillium* sp, *Pleurotus ostreatus*
Fluorene	*Cunninghamella elegans*, *Luetiporus sulphureus*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Pleurotus ostreatus*, *Trametes versicolor*
Pyrene	*Aspergillus niger*, *Agrocybe aegerita*, *Candida parapsilopsis*, *Crinipellis maxima*, *Crinipellis perniciosa*, *Crinipellis stipitaria*, *Crinipellis zonata*, *Cunninghamella elegans*, *Fusarium oxysporum*, *Kuehneromyces mutabilis*, *Marasmiellus ramealis*, *Marasmius rotula*, *Mucor* sp, *Haematoloma frowardii*, *Penicillium janczewskii*, *Penicillium janthinellum*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Pleurotus ostreatus*, *Syncephalastrum racemosum*, *Trichoderma harzianum*
Benz[a]anthracene	*Candida krusei*, *Cunninghamella elegans*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Phanerochaete laevis*, *Pleurotus ostreatus*, *Rhodotorula minuta*, *Syncephalastrum racemosum*, *Trametes versicolor*
Benzo[a]pyrene	*Aspergillus ochraceus*, *Bjerkandera adusta*, *Bjerkandera* sp, *Candida maltosa*, *Candida maltosa*, *Candida tropicalis*, *Chrysosporium pannorum*, *Cunninghamella elegans*, *Mortierella verticillata*, *Haematoloma frowardii*, *Neurospora crassa*, *Penicillium janczewskii*, *Penicillium janthinellum*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Phanerochaete laevis*, *Pleurotus ostreatus*, *Ramaria* sp, *Saccharomyces cerevisiae*, *Syncephalastrum racemosum*, *Trametes versicolor*, *Trichoderma* sp, *Trichoderma viride*
Chrysene	*Cunninghamella elegans*, *Penicillium janthinellum*, *Syncephalastrum racemosum*
Benzo[e]pyrene	*Cunninghamella elegans*

الفطـــريات فـــي تكســـير مـــثل هـــذه المركـــبات وللاهمـــية العالـــية لهـــذه الكائـــنات لذلـــك فقد ركزت الدراسة الحالية على عرض اهم البحوث المنشورة والـــتعريف بـــأهم الميكانيكـــيات التـــي تسلكها الفطريات لازالة وتحطيم مثل هذه المركبات من البيئة والمواد الايضية الناتجة منها.

مصادر ومصير المركبات الاروماتية المتعددة الانوية في البيئة :

بصـــورة عامة تصل هذه المركبات الى البيئة من ثلاث مصادر رئيسية هي:

1- المصادر الطبيعية (Biogenic):-

تنتشـــر هـــذه المركبات بصورة واسعة في البيئة وخاصة كمكونات للشمع الذي يغطي الاوراق النباتية وفي الزيوت النباتية وكيوتكل الحشرات وفي تركيـــب الاحـــياء المجهـــرية والاحـــياء المائـــية الاخـــرى (Millero & Shon , 1991).

2- المصادر الجيوكيمياوية (Geochemical) :-

تـــتكون هـــذه المركـــبات بصـــورة طبيعية في البيئة عند تعرض المواد العضـــوية للحـــرارة العالـــية بعملـــية تدعـــى التحلل الحراري Pyrolsis (Mueller *et al* ., 1996)

3- المصادر البشرية (Anthropogenic):-

وتشـــمل كـــل العمليات التي يقوم بها الانسان والتي تعمل على ادخال هذه المركـــبات للبيـــئة وهو اهم واخطر مصدر لتلويث البيئة ويشمل حوادث التســـرب النفطـــي وانتشـــار مخلفـــات الصـــناعات النفطية والصناعات البتروكيمـــياوية وســـوء ادارة المنشـــآت الصناعية مما يؤدي الى طرح فضلات الصناعة غير المعاملة ومياه وأوحال المجـــاري للبيئـــة ودخـــان

السجائر وغيرها من المصادر الاخرى (Mueller *et al* .,1996; GESAMP,1993).

وقد وجد ان التساقط من الهواء الجوي لجزيئات الرماد الناتجة من حرق الغابات والاعشاب والوقود الفحمي والنفط يعمل على نقل هذه المركبات لمسافات ابعد حيث تتساقط هذه المركبات على سطح المياه وتغادر للرواسب او تترسب على المناطق الارضية ومن ثم تنقلها مياه الامطار الى الانهار والمصبات (UNEP,1992)، اما مصير هذه المركبات في البيئة فيشمل التطاير والاكسدة الضوئية والكيميائية والتراكم الحيوي والترسيب والتحلل الحيوي (Cerniglia,1992;1993).

وهذا العامل يعتبر الاساس لتلويث شط العرب بهذه المركبات حيث يطرح فيه الكثير من مياه المجاري والمخلفات النفطية المحملة بهذه المركبات (Al-Saad *et al*., 1998)، ولوحظ ان هناك عدة عوامل بيئية تؤثر مجتمعة في مصير هذه المركبات في البيئة وتشمل الصفات الفيزيائية والكيميائية لهذه المركبات وحجم التلوث بهذه المركبات ونوعية التربة وتوفر الماء والاوكسجين ووجود المغذيات ونشاط المجموعات الميكروبية في البيئة والتعرض السابق لمثل هذه المركبات ودالة الحموضة والحرارة، وعوامل اخرى تؤثر مجتمعة على مصير وبقاء هذه الملوثات في البيئة (Weissenfels *et al*.,1992).

الانزيمات التي تستخدمها الفطريات في عملية تكسير مركبات (PAH)

وجد ان الفطريات تستخدم ثلاث انواع من المعقدات الانزيمية في عملية تكسير مركبات (PAH) وهي:-

1- انزيم Cytochrome P-450 monooxygenase:-

لقد تم الاهتمام بهذا الانزيم منذ اكتشافه في الكائنات اللبونة وهو من الانزيمات المحتوية على مادة الهيم Heme- containing enzyme وعلى الاقل فان هناك نوعين من هذا الانزيم مكتشفة في الفطريات الخيطية والخمائر والنوعين يحتويان

على مـــادة Protoprophyrin IX ويدخـــلان كمكونات في سلسلـــــة انزيمـــــات Monooxygenase والتي تشترك في اكسدة العديد من المركبات الاليفاتية والاروماتية جدول (2).

وهـــذان النوعان من انزيمات Cytochrome p450 الموجودان في الفطريات يتمـــيزان عن بعضهما بالاختلافات في المركبات التي اما تحث على تصنيعهما او تثبط نشاطهما وكذلك فهما يظهران اختلافات في الطول الموجي الممتص لكل منهما وهذان النوعان هما:-

A- P-450 14dm:- وتشترك في التصنيع الحيوي للستيرولات .

B- P-450alk:- وتشترك في ايض الهايدروكاربونات والاحماض الدهنية والمواد السامة.

وفـــي كـــلا النوعـــيـــن فـــــــأن الالكـــــترون اللازم لبدأ نشـــــــاط انـــزيمات Monooxygenase يمـــنح مـــن قـــــبل NADPHعـــبر انـــزيم NADPH-Cytochrome P450 reductase (Atlas & Cernigila,1995).

انزيم Cytochrome P450 في الخمائر :-

بعـــد فترة قصيرة من اكتشاف هذا الانزيم في الكائنات اللبونة تم اكتشافه في خمـــيرة *Saccharomyces cerevisise*. وبالرغم من ان الخميرة تنتج الانزيم تحت الظـــروف الهوائـــية وقلـــيلة التهوية الا انه لوحظ ان الكمية الاكبر منه تفرز من المـــزارع قليلة الاوكسجين ووجد انه يشترك في تصنيع الستيرولات في الخميرة (Cerniglia *et al* ., 1992,1985).

وكذلـــك وجد ان التراكيز العالية من الكلوكوز(20%) تحث على انتاج الانزيم داخل الخمائر، ولوحظ ان مركبات، PCBs و Lindane تحث الخميرة على انتاج هـــذا الانزيـــم بكثـــرة في وســـط غني بالكلوكوز. امـــا نمو الخميرة على وسط

جدول (2) بعض الفطريات الحاوية على انزيم Cytochrome P450 Cerniglia وجماعته 1992.

النوع
Aspergillus ochraceus
Aspergillus parasiticus
Brettanomyces anomalus
Candida albicans
Candida datilla
Candida glabrata
Candida guilliermondii
Candida lipolytic
Candida maltosa
Candida pulcherrima
Candida tropicalis
Candida utilis
Claviceps purpurea
Cunninghmella bainieri
Cunninghmella elegans
Curvularia lunata
Fusarium oxysporum
Kluyveromyces marxianus
Nectria haematococca
Penicillium griseofulvum
Pichia fermentans
Pichia polymorpha
Rhizopus oryzae
Rhizopus stolonifer
Saccharomyces cerevisiae
Saccharomyces exiguous
Schizosaccharomyces japonicus
Schizosaccharomyces pombe
Torulasporta delbrueckii
Torulasporta formicaria
Torulasporta hansenii
Torulopsis candida
Trichosporon beigelii
Zygoosaccharomyces rouxii

غـــير غنـــي بالسكريات مثل D-ribose و D-xylose فانه لايشجع على انتاج هذا الانزيم (Ceniglia *et al.*, 1992).

اما في الخميرة *Candida* فقد وجد نوع اخر Cytochrome P450alk اذ وجد ان هـذا الـنوع يفـرز هـذا الانـزيم بكـثرة عند نموه على وسط يحتوي على الهايدروكاربونـات، واول مـرة لوحـظ فـيها دور للخمائر في تكسير الالكانات والاحماض الدهنية هو في وسط الخميرة *Candida tropicalis* الذي يحتوي على مركب tetradecane (Ceniglia *et al* ., 1992).

انزيم Cytochrome P4 50 في الفطريات الخيطية:-

اول تسـجيل لهـذا الانـزيـم فـي الفطـريات الخيطـية كـان فـي الفطـر *Clasviceps purpurea* ولوحـظ ان الفطر *Cunninghmella echinulata* يظهـر عـدة فعالـيات لهذا الانزيم حيث يستطيع تحليل عدة مواد كيميائية مثل aniline و anisole و naphthalene ووجـد ان ذرة الاوكسـجين التي يستخدمها الفطـر لـبدء تحليل هذه المركبات تشتق من الاوكسجين الذري (O_2) كما وجد ان نمـو الفطر على وسط يحتوي على Phenanthrene مع الكلوكوز يؤدي الى انتاج الفطـر لكميات كبيرة من هذا الانزيم اكبر من نمو الفطر لوحده ومن دون المركب الاروماتي Phenanthrene (Ferris *et al.*, 1996)، كذلك وجد ان الفطر *C. elegans* ينـتج هـذا الانـزيم بتركيز عالي ويبدأ بواسطة عملية التكسير الحيوي للنفثالين والمركبات الاروماتية الاخرى (Zhang *et al.*, 1996).

2- انزيمات Manganese & Lignin peroxidase :-

ان العديد من الفطريات البازيدية تعمل على انتاج هذه الانزيمات وهي

انـزيمات تحـتوي على مادة الهيم ايضاً، وتعمل على اكسدة اللكنين في الخشب والـذي تستعمله الفطريات كمصدر للتغذية (Aust,1996)، حيث لوحظ ان السليلوز والنشـا وغـيرها تحـث هـذه الفطريات انتاج هذا الانزيم لتكسير هذه المركبات واسـتخدامها كمصدر للطاقة وبنفس الوقت تعمل هذه الانزيمات على تكسير مدى واسع من المواد الضارة الموجودة في البيئة (Stahl & Aust, 1997).

ومـن اكثر الفطريات المعروفة بأنتاجها لهذه الانزيمات وباقابليتها الواسعة لتحلـيل مـواد متـنوعة فـي البيـئة هـو الفطـر الـبازيدي *Phanerochaete chrysosporium* الـذي له القـدرة علـى تحليل مدى واسع من المواد الملوثة ومنها المركبات الروماتية (Aust, 1997).

هـذا بالاضافة الى العديد من الفطريات الاخرى والتي تنتج هذا الانزيم مثل *Crinipellis stipitaria* و *Trametes versicdas* و *Pleurotus ostreatus* .

ولوحـظ ان بعض هذه الفطريات تمتلك قابليات انزيمية متنوعة حيث بالاضافة لانـتاجها لهذا الانزيم فأنها تنتج انزيم Cytochrome P450 و Laccase لتستخدمه في تكسير مركبات PAH (Cerniglia,1997).

4- انزيم Laccase:-

هـذا الانـزيم يوجد في عدة انواع من الفطريات وله القدرة على اكسدة مدى واسـع مـن المركبات الفينولية حيث وجد ان الفطر *Rhizoctonia praticola* ينـتج انـزيم خـارج خلوي يعمل على بلمرة الفينول وغيرها من المركبات الاخرى (Cerniglia *et al* ., 1992).

التحليل الحيوي لمركبات (PAH) بواسطة الفطريات :-

مـن الثابـت ان الفطـريات تلعب دوراً مهماً في عمليات العلاج الحيوي (Bioremediation) لمركبات PAH الملوثة للبيئة (Cerniglia 1997) فالعديد من الفطريات الخيطية والخمائـر لها القابليـة على تحليل المركبـات الاروماتيـة

متعددة الانوية في البيئة وان اغلب هذه الفطريات تحلل هذه المركبات (detoxification) جدول (3) وعلى عكس البكتريا التي تحطم الحلقة الاروماتية كبداية لاستغلالها كمصدر للطاقة والكربون (Pothuluri *et al* .,1994 Sack & Fritsche,1997).

في البداية لابد من الاشارة الى بعض النقاط المهمة والتي تخص عملية تحليل مركبات (PAH) من قبل الفطريات وهي ما يلي :-

1- ان انواع متعددة من الفطريات لها القابلية على ايض مركبات (PAH) والتي يتراوح عدد حلقاتها من حلقتين الى ست حلقات.

2- ان الفطريات لا تستعمل مركبات (PAH) كمصدر اساس للطاقة والكربون ولذالك فان الوسط الذي تنمو فيه يجب ان يحتوي على مصدر للكربون حتى تستطيع الفطريات ان تحلل هذه المركبات.

3- عملية الايض التي تجري على مركبات (PAH) من الفطريات غير البازيدية ينتج عنها اكسدة لهذه المركبات فقط وتحويلها الى مواد ايضية مختلفة.

4- بعض الفطريات البازيدية لها قابلية الايض الكامل لمركبات (PAH) وتحويلها الى (CO_2) وماء.

5- ان الانظمة التي تشترك في ايض مركبات (PAH) من قبل الفطريات تشمل Cytochrome P450 monooxygenase و Lignin & manganese peroxidase و Laccase.

6- ان ايض الفطريات لمركبات (PAH) قد يحصل نتيجة مهاجمة الحلقة الاروماتية من موقع واحد او عدة مواقع.

7- ان الفطريات لا تؤكسد مركبات (PAH) بنفس سرعة البكتريا.

8- ان المواد الناتجة من الاكسدة تكون ذات ذائبية عالية من الماء ونشاط كيمياوي مما يشجع على ايض هذه المركبات من قبل البكتريا المتواجدة في التربة.

جدول (3) المواد الايضية الناتجة من تحليل الفطريات للمركبات الاروماتية المتعددة الانوية 1992, Cerniglia

Compound	Organisms
Naphthalene	*Absidia glauca, Aspergillus niger, Basidiobolus ranarum, Candida utilis, Choanephora campincta, Circinella* sp., *Claviceps paspali, Cokeromyces poitrassi, Conidiobolus gonimodes, Cunninghamella bainieri, Cunninghamella elegans, Cunninghamella japonica, Emericellopsis* sp., *Epicoccum nigrum, Gilbertella persicaria, Gliocladium* sp., *Helicostylum piriforme, Hyphochytrium catenoides, Linderina pennispora, Mucor hiemalis, Neurospora crassa, Panaeolus cambodginensis, Panaeolus subbalteatus, Penicillium chrysogenum, Pestalotia* sp., *Phlyctochytrium reinboldtae, Phycomyces blakesleeanus, Phytophthora cinnamomi, Psilocybe cubensis, Psilocybe strictipes, Psilocybe stuntzii, Psilocybe subaeruginascens, Rhizophlyctis harderi, Rhizophlyctis rosea, Rhizopus oryzae, Rhizopus stolonifer, Saccharomyces cerevisiae, Saprolegnia parasitica, Smittium culicis, Smittium culisetae, Smittium simulii, Sordaria fimicola, Syncephalastrum racemosum, Thamnidium anomalum, Zygorhynchus moelleri*
Anthracene	*Bjerkandera* sp., *Cunninghamella elegans, Phanerochaete chrysosporium, Ramaria* sp., *Rhizoctonia solani, Trametes versicolor*
Acenaphthene	*Cunninghamella elegans*
Phenanthrene	*Cunninghamella elegans, Phanerochaete chrysosporium, Trametes versicolor*
Fluoranthene	*Cunninghamella elegans*
Pyrene	*Cunninghamella elegans, Phanerochaete chrysosporium*
Benz[a]anthracene	*Cunninghamella elegans*
Benzo[a]pyrene	*Aspergillus ochraceus, Bjerkandera adusta, Bjerkandera* sp., *Candida maltosa, Candida tropicalis, Chrysosporium pannorum, Cunninghamella elegans, Mortierella verrucosa, Neurospora crassa, Penicillium* sp., *Phanerochaete chrysosporium, Ramaria* sp., *Saccharomyces cerevisiae, Trametes versicolor, Trichoderma viride*

9- ان ايــض مركــبات (PAH) مــن قبل الفطريات وتكون المواد الايضية المــتحدة يمكــن ان يعتبر كعملية لنزع سمية هذه المركبات Detoxification حيث انها اما تحطم مركبات (PAH) كلياً او تجعلها اقل سمية.
(Pothuluri *et al.*, 1994; Sutherland *et al.*, 1995; Cerniglia , 1997).

امــا عــن الطــريقة التــي تســتطيع بها الفطريات اخذ مثل هذه المركبات الهايدروكاربونــية فقد أشار الباحثان (Singer & Finnerty, 1984) الى ان امكانية اخذ الهايدروكارونات من قبل الخمائر تتضمن الخطوات التالية:-

1- ادمصــاص هذه المركبات لخلايا الخمائر عن طريق تلامس السطوح الكارهة للماء مع بعضها.
2- تحرك المركبات الهايدروكاربونية عبر جدار الخلية من خلال ثقوب او قنوات موجــودة فــيه مــع استمرار التجمع لهذه المواد على السطح الخارجي لغشاء الخلية.
3- تحــرك الهايدروكاربونــات الى الاجسام الدقيقة في داخل خلايا الخمائر والى مواقع الاكسدة الاخرى في الخلية.

أمــا الباحــثان(Kappli & Fiechter, 1981) فقد اشار الى طريقة مغايرة لأخذ الهايدروكاربونــات مــن قــبل الفطــريات تعتمد اساسا على افراز مواد مستحلبة (emulisifiers) من قبل الفطريات وعلى شكل معقدات من الاحماض الدهنية وهذه المعقــدات تعمل على استحلاب الهايدروكاربونات وتحث على اخذ الهايدروكاربون النقي، وقد لوحظ بأن هذه المواد المستحلبة تختلف بالكمية والنوعية باختلاف الكائن الذي يفرزه.

كما لوحظ ان نمو الفطريات على مزيج من المركبات الهايدروكاربونية يشجعها على نقل مثل هذه المركبات الى داخل خلاياها مما يؤدي الى اكسدة

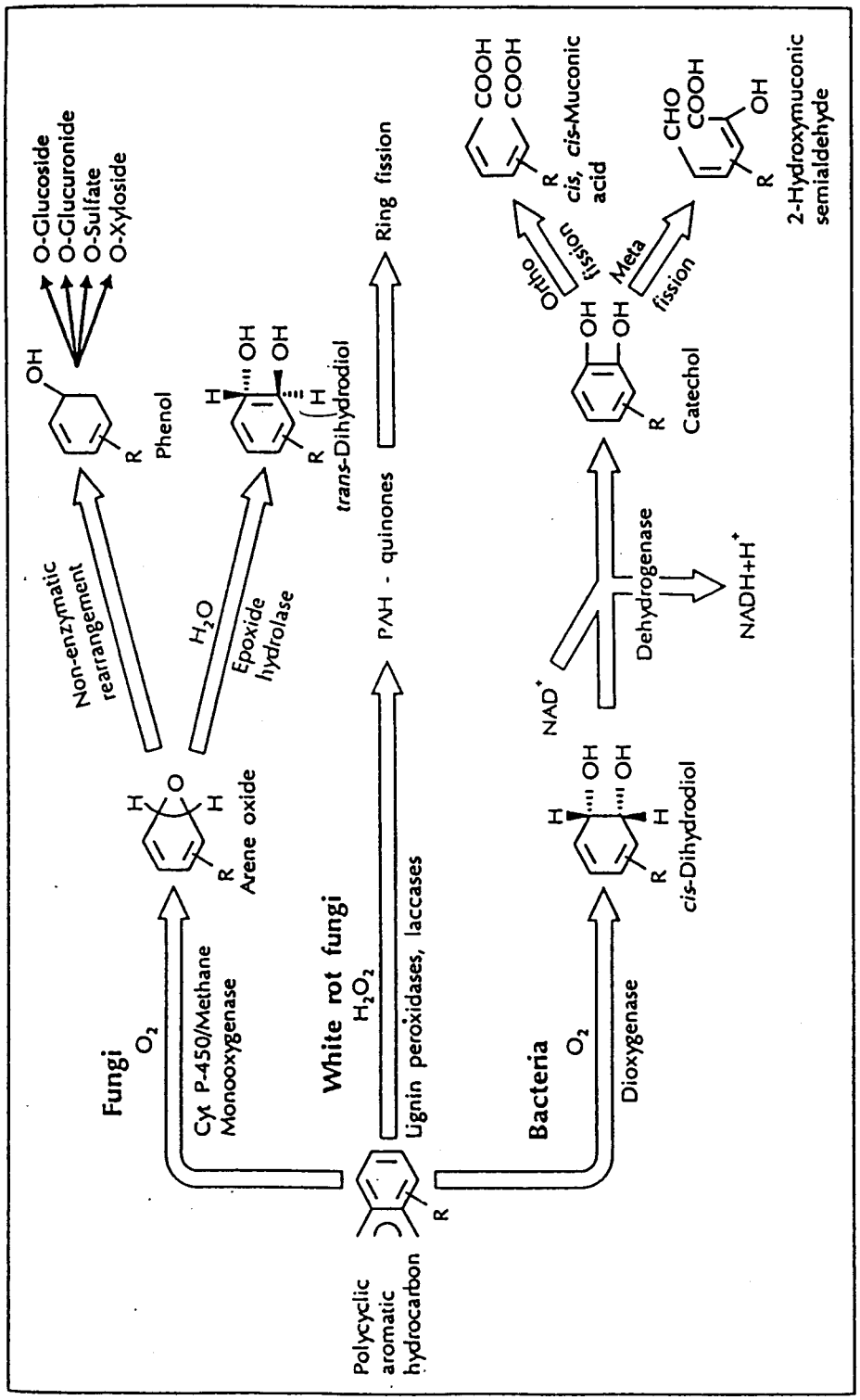
المركبات الاروماتية مثل النفثالين (Ahearn & Crow ,1986) وبصورة عامة تعمل الفطريات على تكسير المركبات الاروماتية بواسطة طريقتين رئيسيين هما كالتالي:-

1-الفطريات غير المحللة للكنين Non Ligninioltic fungi :

وهي الفطريات التي ليس لها القدرة على تحليل مادة اللكنين وتعمل هذه الفطريات على ايض مركبات (PAH) بطريقة مشابهة لما موجود في الكائنات اللبونة مع بعض الاختلافات البسيطة (Cerniglia, 1992; 1993, Sutherland 1992,) (شكل 3). وخطوات التحليل تشمل تكوين المركبات التالية:-

أ-Arene oxide:-

اول خطوة في التحليل هي استخدام انزيم Monooxygenase Cytochrome P-450 لاكسدة الحلقة الاروماتية عن طريق ادخال ذرة واحدة من الاوكسجين (O_2) الى الحلقة الاروماتية لتكوين المركب الوسطي arene oxide وهو مركب غير مستقر بينما تختزل ذرة الاوكسجين الاخرى الى ماء (شكل 4) (Cerniglia *et al.*, 1992) . هذا المركب اما تحصل عليه اضافة جزيئة ماء بواسطة الانزيم epoxide hydrolase ليكون المركب الوسطي trans-dihydrodiols او تحصل عليه عملية اعادة تنظيم لا انزيمية لينتج الفينول (Cerniglia, 1992,1993). هذا المركب لم يعزل من وسط نمو الفطريات ولكن المركب naphthalene 1,2-oxide لوحظ بصورة غير مباشرة عند نمو الفطر *Cunninghamella elegance* عن طريق المواد المشعة ، وان سمية مركب arene oxide عادة اقل من مركب (PAH) الاصلية فمثلاً المركب , benzo(a) pyrene 7,8 oxide والمصنع مختبرياً يملك فقط



شكل (3) : الخطوات الأساسية لعملية أكسدة المركبات الأروماتية متعددة النوى من قبل الفطريات والبكتريا .

ماخوذ من Cerniglia, (1993) .

(20%) من القبلية المسرطنة للمركب Benzon (a) pyrene (Sutherland, 1992).

ب- Trans dihydrodiols:-

يحفز الانزيم epoxide hydrolase على اضافة جزيئة ماء الى مركب arene oxide لتكوين trans-dihydrodiol. ومن الواضح بأنه لكل مركب من المركبات الاروماتية فأن الفطريات تنتج مركب trans-dihydrodiol يختلف عن الاخر كما ان الفطر الواحد عندما يقوم بتحليل المركب الواحد فأنة قد ينتج عدد من الايزرومرات لهذا المركب مثل الفطر *C.elegans* والذي ينتج المركب trans-1,2,3,4,9,10 dihydrodiol عند تحليل مركب الفينانثرين phenanthrene . (Sutherland, 1992)

جـ- Phenols:-

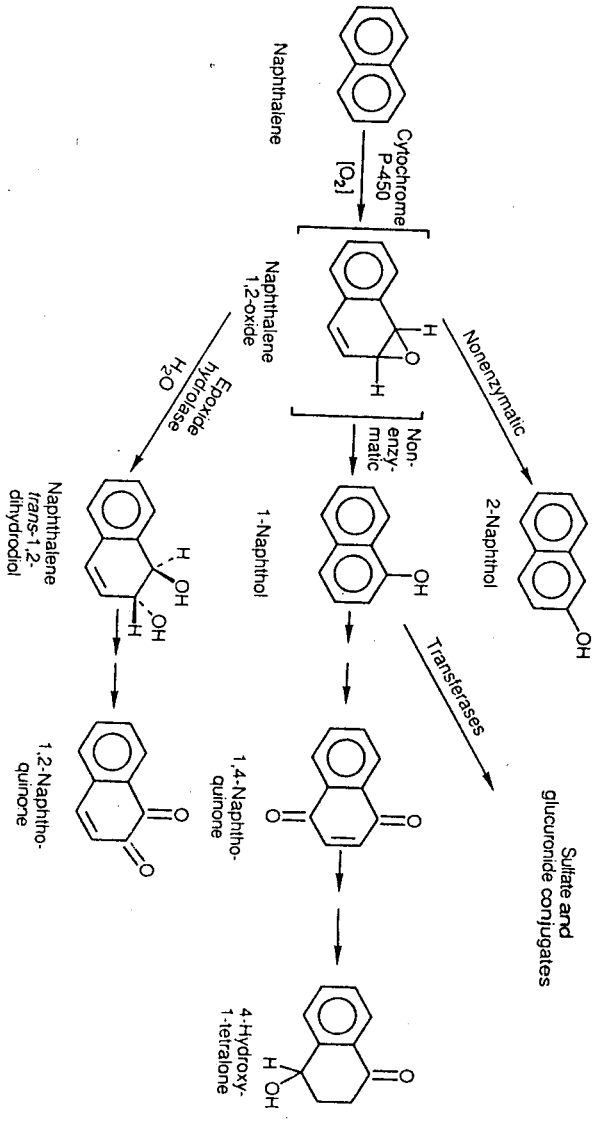
ان اعادة التنظيم اللاانزيمية لمركب Arene oxide تنتج واحد او اكثر من ايزومرات الفينول (Phenols) (Pothuluri *et al.*, 1994) فمثلاً Naphthalene 1,2 oxide ينتج عنه 1-naphthol مع كمية صغيرة من 2-naphthol ، وعادة ما تكون هذه المركبات اقل سمية من المركبات الاروماتية الصلبة (Cerniglia *et al.*, 1992).

د-Quinones & Tetralones:-

الفينول المتكون تستمر عليه العمليات الايضية لتكوين مركبات Quinones ومن ثم Tetralones، فبعض انواع الفطريات تكون 1,2- & 1,4-naphtho-quinone من النفثالين شكل (4) واستمرار العمليات الايضية على هذه المركبات تحولها الى مركبات Tetralones (Cerniglia *et al.*,1992).

هـ - Dihydrodiol epoxides:-

في بعض الاحيان تستمر عمليات الاكسدة بواسطة انزيم Cytochrome P-450 monooxygenase على مركبات transdihydrodiol والناتج



شكل (4): أيض مركب النفثالين من قبل الفطريات Sutherland، 1992.

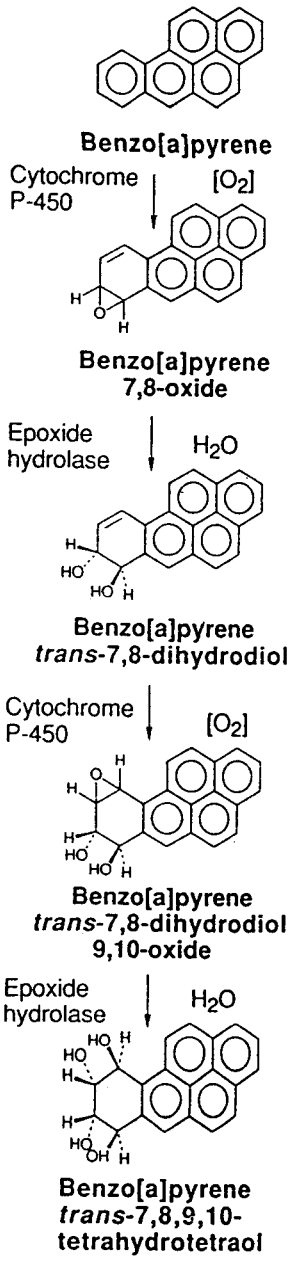
هو مركبات dihydrodiol epoxide (شكل 5)، فالمركب Benzo (a) pyrene trans-7,8 dihydrodiol 9,10-oxide يعتبر واحد من اقل المركبات الوسطية تكوناً من قبل الفطر *C. elegans* ويعتبر من اقوى المركبات المسرطنة والمطفرة للكائنات الحية وهذا المركب تستمر عليه العمليات الايضية لتحوله الى مركبات tetralones الاقل سمية من المركب الاول (Sutherland, 1992).

و- Conjugates:-

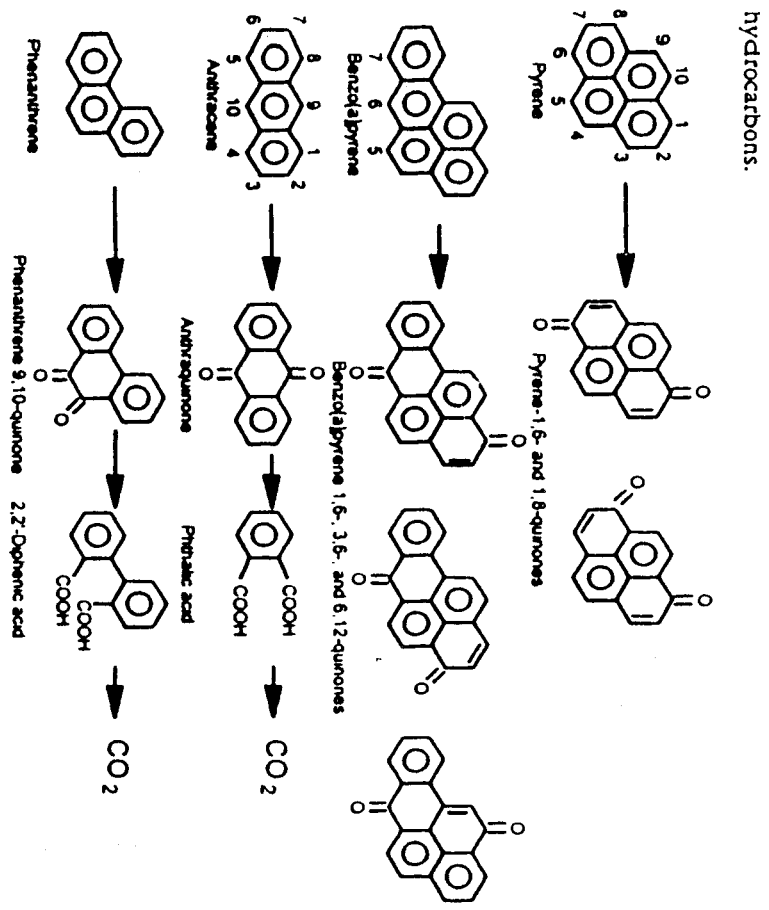
خلال الطور الثاني من العمليات الايضية فأن مركبات الفينول تزال سميتها كلياً وذلك بأتحادها وتكوينها معقدات مع الكبريتات Sulfates والزايلوز Xylosides والكلوكوسيدات Glucosides وحامض الكلوكورنك Glycuronides وعادة هذه المركبات تكون غير سامة للكائنات الحية (Cerniglia , 1992; 1993; Sutherland, 1992)

الفطريات المحللة للكنين :-

تستخدم الفطريات في هذا المجال انزيمات Lignin & Manganese peroxidase وهي انزيمات خارج خلوية تفرزها الفطريات البازيدية عند نموها على وسط يحتوي على الكلوكوز او السيلولوز واللكنين (Sutherland, 1992). ويعد الفطر *Phanerochaete chrysosporium* من اكثر الفطريات المدروسة في هذا المجال حيث يبدأ عملية التحليل بأفراز هذه الانزيمات وبوجود بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) تستطيع ازالة الكترون واحد من الحلقة الاروماتية وتحفز استمرار الاكسدة لتكوين مركبات quinone وتستمر الاكسدة على هذه المركبات حتى ينتهي بتكوين ثاني اوكسيد الكاربون (CO_2) (الشكلين 3 و 6) (Fernando &Aust, 1994; Barr & Aust, 1994).



شكل (5): تكوين وتحليل مركب Dihydrodiol epoxide مـن قبـل الفطـر *C. elegans*
Sutherland، 1992.



شكل (6): اكسدة بعض مركبات (PAH) من قبل الفطريات المحللة للكنين Cerniglia ,1997

ومؤخرا وجد ان العديد من الفطريات البازيدية مثل *Crinipellis stipitaria* و *Trametes versicolor* و *Pleurotus ostreatus* لها القابلية على ايض مركبات (PHA) وفي بعض الاحيان فأن هذه الفطريات لا تنتج انزيمات Lginin; peroxidase او تنتج كميات قليلة منها ولذلك فأن من الواضح ان هذه الفطريات تستخدم نظم انزيمية اخرى وقد وجد لن الفطر *T. versicolar* يؤكسد benzo(a) pyrene anthracene والناتج النهائي الاكبر هو Anthraquinone وهو يستخدم انزيمات Laccase في عمليات الاكسدة (Collins *et al.*, 1996).

وكذلك وجد ان الفطر *P. chrysosporium* يستطيع ايضا ان يؤكسد مركب Phenanthrene بواسطة استخدام انزيم Cytochrome P450 monooxygenase ليكون Phenathrene trances 9,10-dihydrodiol (Cerniglia, 1997). كذلك وجد ان الفطر *P.ostreatus* له قابلية على ايض مدى واسع من المركبات الاروماتية بطريقة مشابهة للفطريات غير المحللة للكنين وبنفس الوقت يستخدم انزيمات Laccasese & Manganese Peroxidase لتحليل هذه المركبات مثل الفطريات البازيدية (Bezalel *et al.*, 1996).

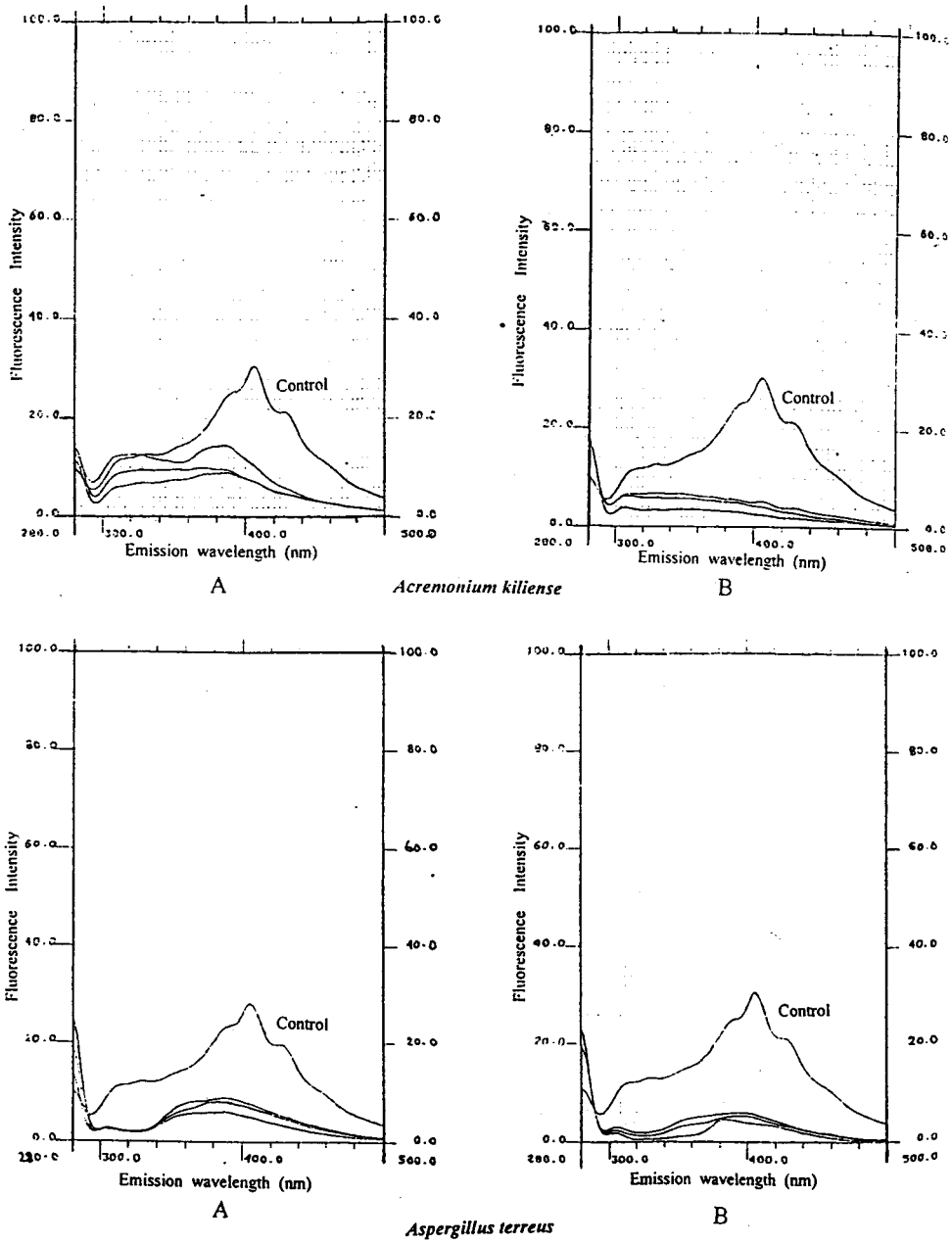
وفي منطقة شط العرب وشمال غرب الخليج العربي فان الدراسات حول هذا الموضوع قليلة ففي دراسة Al-Dossary *et al.*, (2001) قاموا بعزل الفطريات من المناطق الملوثة بهذه المركبات واختاروا اربعة انواع منها لدراسة قابليتها على تكسير مزيج من خمسة مركبات اروماتية بصورة مختبرية وهي مركبات :-

. Acenaphthene, Phenanthrene, Fluoranthene, pyrene; Benzo (a) pyrene

ووجد ان لها قابلية على تكسير مثل هذه المركبات جدول (4) والشكلين (7 و 8) مما يشير الى القابلية العالية للفطريات في منطقتنا على تكسير وازالة مثل هذه المركبات من البيئة.

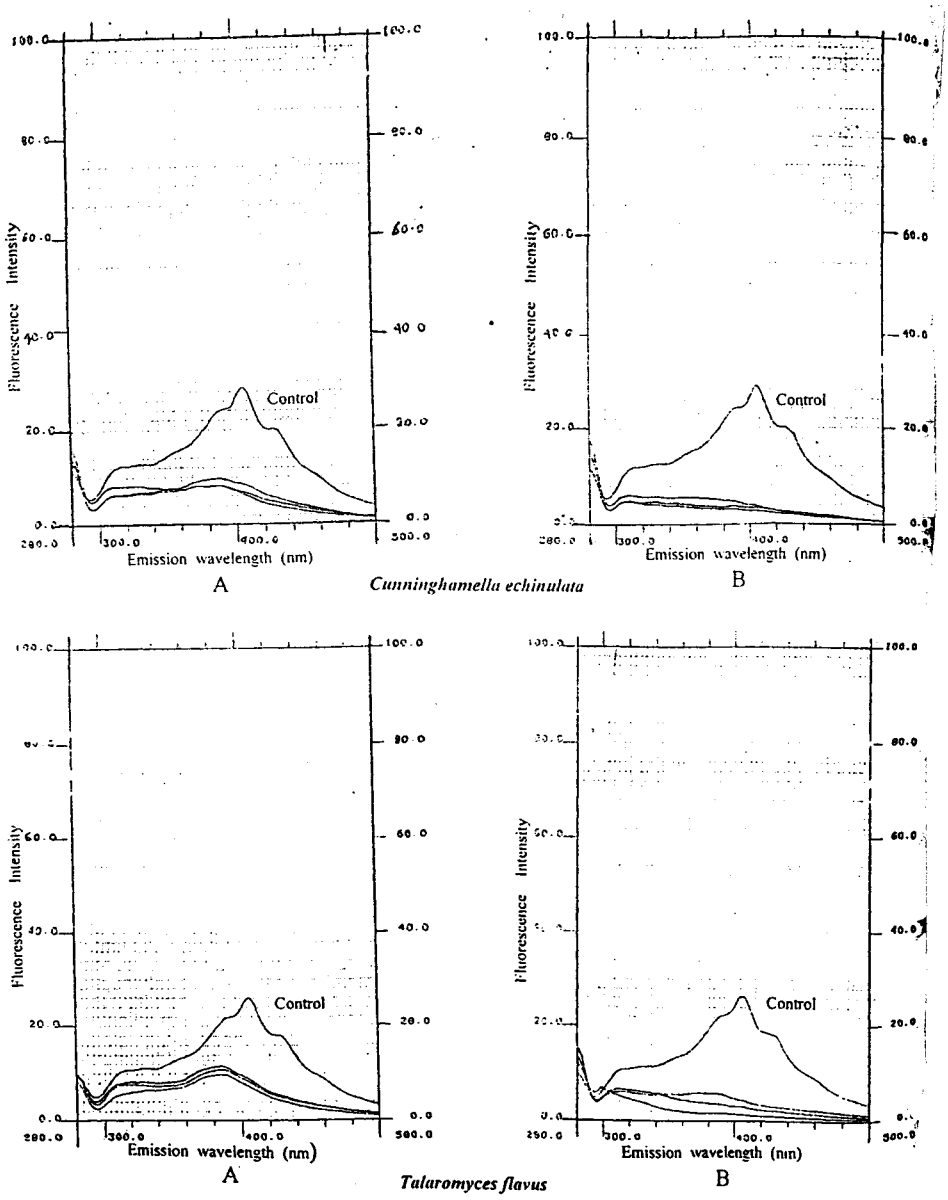
جدول (14) النسبة المئوية لتحلل المركبات الهيدروكاربونية الاروماتية من قبل الفطريات المختلفة .

الفطريات	المركب الاروماتي	النسبة المئوية لتحلل المركبات الاروماتية					
		الايام / 2	4	6	8	10	12
1- Acremonium kiliense	Acenaphthene	31	46.5	61.5	62	68	80
	Phenantrene	22.5	44.5	51	67.5	69.5	80
	Pyrene	43.5	59.5	59.5	72.5	78	87.5
	Benzo (a) Pyrene	67	72.5	73	78	83.5	89
	Fluoranthene	83.5	83.5	83.5	87.5	90	91.5
2- Aspergillus terreus	Acenaphthene	89	89	89	89	91	95
	Phenantrene	51.5	56	67	67.5	72.5	78.5
	Pyrene	56	61.5	70	70	73	79
	Benzo (a) Pyrene	66.5	68.5	79.5	79.5	83.5	84
	Fluoranthene	79.5	80	89	89	89.5	93
3- Cunninghamella echinulata	Acenaphthene	56	62	65	67	73	78
	Phenantrene	46.5	56	56	69	78.5	79.5
	Pyrene	54	62	67	78	79.5	83.5
	Benzo (a) Pyrene	62.5	72.5	78	80.5	86.5	89
	Fluoranthene	83.5	84.5	89	89.5	91	91
4- Talaromyces flavus	Acenaphthene	54.5	56.5	67	67	67.5	78
	Phenantrene	35	40	46.5	67	78	89
	Pyrene	51	56	57	77	81	91
	Benzo (a) Pyrene	68.5	72.5	78	83.5	88.5	94.5
	Fluoranthene	83.5	83.5	88.5	88.5	90	96



شكل (7) : عدد من الكروماتوكرامات تمثل التراكيز الكلية للمركبات الهايدروكاربونية الاروماتيـــة والمستخلصة من مزرعة النمو السائلة للفطرين *Acremonium kiliense* و *Aspergillus terreus* والمقاســة بطريقة الفلورة مقارنة مع معاملة السيطرة .

(A) التراكيز المسجلة للايام (2 , 4 , 6) ، (B) التراكيز المسجلة للايام (8 , 10, 12) .



شكل (8) : عدد من الكروماتوكرامات تمثل التراكيز الكلية للمركبات الهيدروكاربونية الاروماتية والمستخلصة من مزرعة النمو السائلة للفطريين *Cunninghamella echinulata* و *Talaromyces flavus* والمقاسة بطريقة الفلورة مقارنة مع معاملة السيطرة .

(A) التراكيز المسجلة للايام (2 , 4 , 6) ، (B) التراكيز المسجلة للايام (8 , 10 , 12) .

القابلية المسرطنة للمركبات الايضية الناتجة من قبل الفطريات :-

القليل من المركبات الايضية الناتجة من ايض الفطريات لمركبات PAH تكون اكثر خطورة من المركبات الاصلية وهي تشمل :

Benz(a) anthracene trans-3,4, dihydrodiol, benzo(a) pyrene trans-7,8-dihydrodiol,9,10-oxide, 1-hydroxy-3-methyl cholanthrene trans-9,10-dihydrodiol.(Sutherland, 1992).

وعلى الرغم من ان زيادة خطورة هذه المركبات القليلة فان الناتج النهائي لعملية الايض هو تقليل خطورة وسمية هذه المركبات (Mueller *et al.*, 1992).

ففي وسط النمو للفطر *Syncephalastrum racemosum* مع مركب 7,12-dimethylbenz(a) anthracene، فان القابلية المطفرة تقل تدريجياً مع تحول المواد الايضية الى معقدات مع الكبريتات وحامض الكلوكورنك، وهذه المعقدات بدورها تتحلل من قبل كائنات اخرى في البيئة مثل البكتريا والتي تمتلك انزيمات مثل Sulfatases وglucuronidases و glucosidases والتي تحلل هذه المركبات وتزيلها كليا من البيئة(Sutherland *et al.*, 1995) .

استخدام الفطريات في عمليات المعالجة الحيوية :-

تم التركيز في السنوات الاخيرة على الفطريات لاستخدامها في عمليات المعالجة الحيوية للملوثات في البيئة وبخاصة الفطريات البازيدية والتي وجد ان لها القابلية على ازالة المركبات الاروماتية وغيرها من الملوثات من البيئة ، حيث استخدم الفطر *P.chrysospouium* وبصورة واسعة في هذا المجال اضافة الى فطريات بازيدية اخرى (Aust ; Aust & Bumpus, 1989; Eaton, 1985 (Stahl & ،1997; Fernando & Aust , 1994; Bumpus *et al.*, 1989

كذلك استخدمت الخمائر الحاوية على انزيم Cytchrome P-450 في عمليات المعالجة الحيوية للملوثات النفطية ومنها مركبات (PAH) وذلك في المناطق الساحلية الملوثة بها (David *et al.*, 1995) حيث اثبتت الفطريات دوراً مهما في

عملية ازالة مثل هذه الملوثات مما ادى الى زيادة الاهتمام لاستخدامها كاداة فعالة في عمليات المعالجة الحيوية.

REFERENCES

Abdullah, S.K & Abbas, B.A.1994a. Occurrence of thermophilic and thermo tolerant fungi in aquatic sediments of Shatt Al-Arab river and its creeks at Barah, Iraq. Marina Mesopotamica, 9: 39-47.

Abdullah, S. K. & Abbas B. A. 1994b. Taxonomic study on fungi from water and surface sediments of Shatt Al-Arab river and its creeks. 1- ascomycetes. Marina Mesopotamica, 9: 91-100.

Abdullah , S.K. & Abbas B.A. 1994b. Taxonomic study on fungi from water and surface sediments of Shatt Al-Arab river and its creeks. II. Hyphomycrtes. J. Basrah Researchers, 13: 46-54.

Abdullah, S.K. & Hassan, D.A. 1995. Isolation of dermatophytes and other Keratinoohilic fungi from surface sediments of Shatt Al-Arab river and its creeks at Basrah ,Iraq. Mycoses, 38:163-166.

Ahrean, D.G. & Crow, S.A..1986. Fungi and hydrocarbon in the marine environment. In Biology of marine fungi. Ed. Moss, S.T. Cambridge University Press, PP ; 12-15.

Al-Dossare, M.A.; Abdullah, S.K. & Al-Saad, H.T. 2001. Biodegradation of some polycyclic aromatic compounds by fungi isolated from sediments of the Shaat Al-Arab Estuary. Marina Mesopotamica. 16:191-207. (in Arabic).

Al-Saad, H.T., Shamshoom, S.M. & Abaychi, J.K. 1998. Polycyclic Aromatic hydrocarbons (PAH) in the Shatt Al-Arab estuary North West Arabian Gulf . marina Mesopotamia , 13:281-305.

Atlas, R.M. & Cerniglia, C.E. 1995. Bioremediation of Petroleum Pollutants Bioscience, 45: 332-338.

Aust S.D. 1996. Biochemistry of white rot fungal peroxidases relevant to improve the quality of priority pollutants. In culture collection to improve the quality of life. Proceeding of the 8th International Congress For Culture Collections, 331-335.

Aust, S.D. & Bumpus, J.A. 1989. Biological mineralization of constituente of coal and coal derived substances.1-15.

Barr , D. P. & Aust S.D. 1994 .Pollutant degradation by white rot fungi, Reviews of Envi. Contam and Toxico ., 138: 49-72.

Bezalel, L., Hadar, Y. & Cerniglia, C.E. 1996. Mineralization of polycyclic aromatic hydrocarbon by white rot fungus *Pleurotus ostreatus*, appli .Envi. Microb.,62: 292-295.

Bumpus, J.A., Jien, M.; Whiht, D. & Aust, S.D. 1985. Oxidation of persistent environmental pollutants by a white rot fungus . Science 1434-1436.

Cerniglia, C.E. 1992. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons, Biodegradation, 3: 351-368.

Cerniglia, C.E. 1993. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons, Biodegradation,4:331-338.

Cerniglia, C.E. 1997. Fungal metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons. Past. Present and Fungal application in bioremediation. Indust. Microb. Biotech.19: 324-333.

Cerniglia, C.E., Whit, G.L. & Heflich, R.H. 1985. Fungal metabolism and detoxification of polycyclic aromatic hydrocarbons. Arch. Microbio., 143:105-110.

Cerniglia, C.E. Sutherland, J.B. & Crow, S.A. 1992. Fungal metabolism of aromatic hydrocarbons. *In* G. Winkelmn (ed.) microbial degradation of Natural Products , VCH Press, Weinheim, pp:193-217.

Classen, J.J., Engler , C.R., Kenerlry, C.M & Whittaken , A.D. 2000. A logistic model of subsurface fungal growth with application to bioremediation . J. Envi . Scie. Health, 35: 465-488.

Collins ,P.J.; Kotterman, J.J.; Field, J.A. & Dobson, A.D. 1996. Oxidation of anthracene and benzo(a) pyrene by laccases from Trametes vesicolor, Appli. Envi. Microb., 62: 4563-4567.

David, J.,J., Gupta, R. mohan, C. &. Nair, S. 1995. Candidates for the Development of consortia capable of petroleum hydrocarbon degradation in marine environment. in Second International Oil Spill Research and Development Forum. Vol. l: l4-21.

Eaton, D.C. 1985. Mineralization of polychlorinated biphenyls by phanenochaete chrysosponium. Enzyme microbe. Technol, pp: 194-196.

Fernando, T. & Aust, S.D. 1994. Biodegradation of toxic chemicals by white rot fungi. In biological degradation and bioremediation of toxic chemicals ed. Chaudhry, G. R., Dioscorides Press, pp: 386-402.

Ferris , J. P., Fasco, M. J., Stylianopoulon, F. L., Jerina, D. M.; Daly, J.W. & Jeffrey, A.M. 1973. Monooxygenase activity in Cunnighamella bainieri evidence for Fungal system similar to liver microsomes. Arch. Biochem . Biophysis. 156: 97 -103.

GESAMP 1993. Joint Group of Export on the Scientific Aspects of marine pollution (GESAMP). Impact of oil and related chemicals and wastes on the marine environment. Report and studies , No. 50, IMO, London pp. 180.

Guengerich, F.P. 1993. Cytochrome P-450 enzymes. Amer. Sci., 81: 440-447.

Kappti, O. & Fiechter, A. 1981. Properties of hexadecane uptake by Candida tropicalis). Curr. Microb., 6: 21-26.

Millero, F.J. &. Shon, M.L. 1991. Chemical oceanographic Boca Ration, CRC Press, 531p.

Mueller, J. G. Cerniglia, C. E.& Pritchard, P.H. 1996. Bioremediation of environments contaminated by polycyclic aromatic hydrocarbons. Principle and Application, Bioremediation, 5: 125-192.

Pothuluri, J.V., Evans, F.E., Heinze , T.M.& Cerniglia, C.E.1994. Fungal metabolism of 3-nitro flouranthene. J. tox.: Envi. Health, 42:209-218.

Sack, U. & Fritsche, W. 1997. Enhancement of pyrene mineralization in soil by wood decaying fungi. Microb.Ecol., 22: 77-83.

Shuttleworth, K.L. & Cerniglia, C.E. 1995. Environmental aspects of PAH Biodegradation, Appli . Biotech., 54: 291-302.

Singer, M.E. & Finnerty, W.R.1984. Microbial. Metabolism of straight vhain and branched chain .In petroleum microbiology, ed Atlas, R. M., Macmillan , New York.PP.1-60.

Stahl, J.D. & Aust, S.D. 1997. Use of Fungi in bioremediation. Envi. Toxico. 1:1-6.

Sutehrland, J.B. 1992. Detoxification of polycyclic aromatic hydrocarbons by Fungi. J. Indus. Microb., 9: 53-62.

Sutehrland, J.B.; ffi,F., Khan, A.A. & Cerniglia, C.E. 1995. Mechanisms of polycyclic aromatic hydrocarbon degradation. *In*: L.Y.Young; C.E. Cerniglia and Wileyliss (eds.) Microbial transformation and degredation of toxic organic chemicals, New York, pp: 269-306.

UNEP (United Nations Environment program) 1992. Adsorption of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments .Reference method for marine pollution studies . No .20, pp:75.

Weissenfels, W.D.; lewer, S.H. & Langhoff, J. 1992. Adsorption of polycyclic aromatic hydrocarbons by soil particles. Influence on biodegradability and biotoxicity. Appli. Microb. Biotech., 36: 689-696.

Zhang, D.; Yang, Y.; Leakey, J.E. & Cerniglic, C.E. 1996. Phase I and Phase II enzyme produce by Cunninghamella elegans for the metabolism of xinobiotics. FEMS Microbiology Letters, 138: 221-226.

THE ROLE OF FUNGI IN THE DEGRADATION OF POLYCYLIC AROMATIC HYDROCARBONS WITH SPECIAL REFERENCE TO SHATT AL-ARAB RIVER AND NW ARABIAN GULF

M. A. W. Al-Dossary S. K. Abdullah H. T. Al-Saad*
Dept., Biology, College of Science, Univ. Basrah, Iraq
* *Marine Science Centre, Univ. Basrah, Iraq*

ABSTRACT

The polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) were considered as one of the most hazard compounds on human health and other living organisms. This article is intended to present concentrates on the review of these compound and the role fungi in the degradation and removal of these compound from the environment generally in Shatt Al-Arab and Northwest Arabian Gulf particularly, with reference to the most important group of fungi that did the biodegradation and the enzymes used in these process and the by-product of them, and use of fungi in the bioremediation.