

العزل والتوصيف الجزيئي لبعض الميكروبات المسؤولة عن تكسير الهيدروكربونات الناتجة من تسرب النفط في البيئة السعودية

ياسر أنور أنور الحق

د. عمرو عبد المعطي سمرة

المستخلص

السعودية من أكبر الدول المصدرة للنفط على مستوى العالم ومعظم النفط الخام المصدر، ويصدر بطريقة السكب التي ينتج عنها تسرب للنفط. وهذا التسرب لا يؤثر فقط على الطبيعة والبيئة فقط بل يخلق مشاكل وخطر شديد على صحة الإنسان. ويستلزم ذلك أهمية البكتيريا المحللة للنفط الخام وتأثيرها المحتمل في التفكيك. وهذا يسرع من عملية تنظيف بيئة السعودية من تلوث النفط. تعتبر الهيدروكربونات عديده الحلقات وهي احد اهم مكونات زيت البترول الخام من اهم الملوثات البيئية التي تشكل خطورة على البيئة. اهتمت الدراسة الحالية بعزل سلالات بكتيرية وفطرية من البيئات الملوثة بزيت البترول تكون قادره على الهدم الحيوي للمركبات الهيدروكربونية. في هذا الإطار تم عزل ١٢٣ عزله يكتريه من مناطق ملوثة بالزيت الخام قرب شواطئ البحر الأحمر. تم اختيار ١٢ سلالة من هذه السلالات بناء على كثافته نموها على الزيت الخام ودرجه كفاءتها في الهدم الحيوي لزيت البترول الخام. تم اختيار هذه السلالات بناء على اختبار DCPIP. اوضحت نتائج تحليل تتابع النيكلوتيدات للحامض النووي الريبوز انتماء هذه السلالات الى اجناس *Pseudomonas*, *Nitratireductor*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Erwinia*, *Enterobacter*. اوضحت النتائج ان من بين هذه السلالات هناك ٣ سلالات حققت اعلى معدل هدم حيوي للزيت الخام وهي سلالات S5 (*Pseudomonas sp.*) حيث حققت معدل هدم ٩٥% وسلالة (*Nitratireductor sp.*) b ٤ بمعدل هدم حيوي ٧٠% بينما حققت سلالة *Pseudomonas stutzeri* والمعزولة من منطقته قريه من معامل تكرير النفط التابعة لشركة ارامكو معدل هدم ٧٧%. تم ايضا قياس معدل الهدم الحيوي للزيت الخام باستخدام طرق لونية كما باستخدام تحليل الطيف الكمي الكروماتوجرافي حيث اكدت النتائج كفاءة السلالات المنتخبة وامكانيه استخدامها عمليا في القضاء على التلوث البيئي. فيما يتعلق بالسلالات الفطرية فقد تم عزل ٢٧ عزله فطرية من نفس مناطق التربة الملوثة بالنفط

بالقرب من شواطئ البحر الأحمر. تم اختيار ٣ سلالات منهم بناء على اختبار DCPIP وتم إجراء التعريف الجزيئي لهم والذي أوضح انتمائهم الى اجناس *Aspergillus*, *Penicillium*. أوضحت تحليلات الهدم الحيوي باستخدام الطرق اللونية وطريقه تحليل الطيف الكمي الكروماتوجرافي كفاءه عالية للسلالة Y2 (*Aspergillus oryzae*) حيث حققت معدل هدم حيوي قدر ب ٩٩%. مما يشير الى امكانيه استخدامها بكفاءة للقضاء على أي تلوث نفطي قد يلحق بالبيئة السعودية.

ISOLATION AND MOLECULAR PROFILING OF MICROORGANISMS RESPONSIBLE FOR DEGRADING HYDROCARBONS FROM OIL SPILLS ON SAUDI ARABIAN ENVIRONMENT

YASIR ANWAR

Abstract

Polyaromatic hydrocarbons main component of crude Oil, is one of important pollutant present in environment. Our study aims was to isolate and identify microorganisms (Fungi and bacteria) from crude-oil contaminated environments, which has the ability to degrade petroleum hydrocarbons. About 123 crude-oil-degrading bacteria were isolated from oil-contaminated sites near the Red sea. Based on a high growth rate on crude oil and on hydrocarbon degradation ability, 12 strains were selected from the 123 isolated strains for further study. These 12 strains were selected on the basis of DCPIP Assay. Determination of the nucleotide sequence of the 16S rRNA gene showed that these isolated strains belonged to genus *Pseudomonas*, *Nitratireductor*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Erwinia* and *Enterobacter*. Among the 12 isolates, strains S5 (*Pseudomonas* sp., 95 %), 4b (*Nitratireductor* sp., 70 %) and (*Pseudomonas stutzeri*, 77 %) were the most effective in degrading crude oil. Rate of crude-oil and Enzyme Assay were observed using spectrophotometer and GC-MS after two week of cultivation in Bushnell Haas medium. Rate of degradation was also increases up to 15 %, after immobilization of *Pseudomonas* sp. with polyvinyl alcohol. In another study about 27 oil degrading fungi were isolated also from the same oil contaminated sites near Red sea. Three fungal isolates were selected among 27 oil degrading strains, based on their ability to degrade the crude oil and DCPIP assay. The next generation sequencing studies of fungal diversity, *ITS1* and *ITS2* shows that these strains belongs to genus *Aspergillus* and *Penicillium*. Among these three strains Y2 *Aspergillus Oryzae* (99%) was the most effective crude oil degrading Fungi. The degradation and enzyme activity were observed using spectrophotometer and GC-MS after two weeks of cultivation in BHS medium. Screening for Group II alkane hydrolase also indicate that Y2 express *AlkB* gene in the presence of crude oil and has almost 98 % sequence similarity with bacterial *AlkB* gene retrieved from NCBI. Which show that these strains has the ability to degrade and may be use for cleaning the Saudi Arabian environment.