

اثر آلاینده نفتی بر باردهی و محتوای اسیدهای آمینه قارچ *Pleurotus florida* (P.Kumm)

فرزانه روشن دل^۱، سارا سعادت‌مند (نویسنده مسئول)^{۲*}، علیرضا ایرانبخش^۳، زهرا اوراقتی اردبیلی^۴

۱- دانشجوی دکتری، گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران،

Roshandel.farzaneh@gmail.com

۲- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، sadatmandsara@gmail.com

۳- استاد تمام، گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، Iranbakhsh@iau.ac.ir

۴- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران، Zahraoraghi@yahoo.com

تاریخ دریافت: خرداد ۱۴۰۰ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۴۰۰

Effect of petroleum contaminant on pin creating and amino acid content of *Pleurotus florida* (P.Kumm)

Farzaneh Roshandel¹, Sara Saadatmand (Corresponding author)^{2*}, Alireza Iranbakhsh³, Zahra Oraghi Ardebili⁴

1- Ph.D student, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, Roshandel.farzaneh@gmail.com

2*- Associate professor, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, Sadatmandsara@gmail.com

3- Professor, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, Iranbakhsh@iau.ac.ir

4- Associate professor, Department of Biology, Garmsar Branch, Islamic Azad University, Garmsar, Iran, Zahraoraghi@yahoo.com

Received: June 2021

Accepted: August 2021

Abstract

Pleurotus florida is an edible mushroom with a high potential for removing oil pollutants. In this study, the effect of gas oil on pin creating and amino acids content was investigated. The gas oil concentrations were used 2.5-10% and for 30 days. The results showed that gas oil has a positive effect on the pinning stage, and increasing its concentration increases the number of pins. Increasing the concentration of gas oil in the treatments reduced the water consumption pattern. The highest consumption of the aqueous phase belonged to the control sample. Seventeen amino acids were evaluated. The study of amino acids showed that the growth of fungi in gas oil-contaminated environments causes a significant increase in the content of amino acids (15 amino acids). The amino acid hydroxyproline was not reported in the selected gas oil treatment sample. According to these findings, *P. florida* can be considered as a safe species, with fast growth and resistance to petroleum pollutants for simultaneous removal of contaminants and the use of biomass to produce the required amino acids in the industry.

Keywords: Amino acids, Mushroom, Oil contaminant, Pinning stage, *Pleurotus florida*.

چکیده

قارچ *Pleurotus florida* یک قارچ خوراکی با پتانسیل بالای حذف آلاینده‌های نفتی می‌باشد. در این مطالعه اثر آلاینده گازوئیل به عنوان نماینده آلودگی‌های نفتی بر باردهی و تولید اسیدهای آمینه این قارچ مورد بررسی قرار گرفت. غلظت‌های گازوئیل مورد استفاده ۲/۵-۱۰٪ و طول دوره مطالعه ۳۰ روز بود. نتایج نشان داد گازوئیل اثری مثبت بر مرحله پین‌دهی داشته و افزایش غلظت آن سبب افزایش تعداد پین‌ها یا به عبارتی باردهی قارچ می‌گردد. افزایش غلظت گازوئیل در تیمارها سبب کاهش الگوی مصرف آب شد. به طوری که بیشترین میزان مصرف فاز آبی متعلق به نمونه شاهد بود. همچنین در مطالعه اسیدهای آمینه هفده اسید آمینه مورد ارزیابی قرار گرفت. این بررسی‌ها نشان داد کشت قارچ در محیط آلوده به گازوئیل سبب افزایش قابل توجه میزان اسیدهای آمینه می‌شود، به طوری که پانزده اسید آمینه در نمونه تیمار شده با گازوئیل افزایش معنی‌دار داشتند. اسید آمینه هیدروکسی پرولین در نمونه تیمار برگزیده گازوئیل گزارش نشد. با توجه به این یافته‌ها می‌توان قارچ خوراکی *P. florida* را به عنوان یک گونه بی‌خطر، دارای رشد سریع و مقاوم به آلاینده‌های نفتی برای حذف همزمان آلاینده‌ها و استفاده از بیوماس حاصله به منظور تولید اسیدهای آمینه مورد نیاز در صنایع معرفی نمود.

کلمات کلیدی: اسیدهای آمینه، آلاینده نفتی، باردهی، قارچ صدفی.

مقدمه و کلیات

Pleurots sp. یا قارچ صدفی یک قارچ خوراکی از خانواده Pleurotaceae بوده و از جمله قارچ های پوسیدگی سفید به شمار می رود (Menaga et al., 2021). تا کنون ۴۰ گونه از این قارچ در جهان شناسایی گردیده که ۲۵ گونه از آن ها به صورت پرورشی کشت داده می شوند (Julian et al., 2018). گونه های مختلف این قارچ به لحاظ ارزش غذایی بالا (Venturella and Gargano 2017)، خواص دارویی فراوان (Menaga et al., 2021)، توان تولید ترکیبات زیست فعال (Bioactive) (Velioglu and Urek, 2015) و پتانسیل قابل قبول جهت پالایش زیستی آلاینده ها (Mohammadi-Sichani et al., 2017) بسیار مورد توجه هستند. مطالعات نشان می دهد قارچ های صدفی توان پالایش زیستی طیف وسیعی از آلاینده ها را دارند به عنوان مثال: استفاده از *P. pulmonarius* در زمینه پاکسازی خاک های اطراف کارخانجات سیمان و باتری سازی (Adenipekun et al., 2011)، بهره گیری از *P. tuber-regium* در رابطه با پاکسازی خاک ها از فلزات سنگین (Li et al., 2017) و سمیت زدایی خاک های آلوده به ترکیبات نفتی توسط *P. ostreatus* (Mohammadi-Sichani et al., 2017). این مطالعات سبب شده تا محققین بیشتر به یافتن مکانیسم های قارچ پالایی توجه کنند تا تغییراتی که در خود این ارگانیسم های ارزشمند ضمن انجام پالایش زیستی اتفاق می افتد (Liu et al., 2017). یکی از گونه های پرورشی قارچ صدفی می باشد (Menaga et al., 2021). این

گونه پتانسیل قابل توجهی در پالایش زیستی پساب کارخانجات نساجی داشته و توانایی آن در حذف برش های سبک تا سنگین آلاینده های نفتی بویژه در غلظت های بالا به اثبات رسیده است. مکانیسم های پالایش زیستی آلاینده های نفتی توسط این قارچ عبارتند از: جذب سطحی، کاهش اسیدیته محیط، تولید مقادیر قابل توجه بیوسورفکتانت، افزایش فعالیت آنزیم لاکاز، تعامل پلی فنل اکسیدازهای خارج و داخل سلولی (Sathiya et al., 2007; Roshandel et al., 2021). اما متأسفانه اطلاعات راجع به تغییرات بیوشیمیایی و باردهی این قارچ ضمن پالایش زیستی بسیار محدود است (Adenipekun and Lawal, 2012; Chatterjee et al., 2017). لذا در این مطالعه به بررسی باردهی و محتوای اسیدهای آمینه قارچ *P. florida* در مجاورت آلاینده گازوئیل پرداخته شده است.

فرآیند پژوهش

تهیه قارچ: قارچ *P. florida* از بانک جلبک و قارچ دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران تهیه گردید.

طرز تهیه تیمارها و تلقیح قارچ به آن ها: در این مطالعه از گازوئیل معمولی تولید ۱۷ فروردین سال ۱۳۹۷ پالایشگاه اصفهان استفاده گردید. گازوئیل معمولی (بیش از ۵۰۰ppm) نسبت به گازوئیل دارای استانداردهای آلاینده ای اتحادیه اروپا، گوگرد بالاتری دارد. گازوئیل را نمی توان اتوکلاو کرد چون برخی از ترکیبات خود را تحت فشار و دمای بالا ممکن است از دست بدهد لذا بعد از تهیه بستر رشد در شرایط استریل این گازوئیل به کمک میکروفیلترهایی

ارلن های ۱۵۰ میلی لیتری توزیع گردید و بعد از آن به اتوکلاو منتقل شد. از هر تیمار هشت تکرار تهیه گردید. پس از خارج شدن محیط های کشت از اتوکلاو، در شرایط استریل گازوئیل به آن ها افزوده شد و سپس هر تیمار با یک عدد دیسک یک سانتیمتری حاوی میسلیم قارچ تلقیح گردید.

با قطر منافذ $0.22 \mu\text{m}$ فیلتر و با حجم های مورد نظر به محیط افزوده شد. جهت تهیه غلظت های ۰٪ (شاهد)، ۵٪، ۱۰٪ و ۱۰٪ (V:V) از گازوئیل و محیط کشت (Potato dextrose broth) PDB ابتدا محاسبات برای حجم کلی ۵۰ ml بستر رشد مطابق جدول (۱) انجام گرفت سپس محلول محیط کشت PDB ساخته شد و قبل از قرار گرفتن درون اتوکلاو، مطابق حجم های محاسبه شده در جدول (۱) داخل

جدول ۱- تهیه تیمارها

Table 1- Preparation of treatments

نمونه	غلظت گازوئیل (%)	حجم کلی ۵۰ ml		تعداد تکرار
		حجم PDB (mL)	حجم گازوئیل (mL)	
	۵/۲٪	۷۵/۴۸	۲۵/۱	۸
تیمار	۵٪	۵/۴۷	۵/۲	۸
	۱۰٪	۴۵	۵	۸
شاهد	۰٪	۵۰	۰	۸

محیط کشت مصرف شده را محاسبه نمود. برای انجام این بخش از محاسبات در روز سی ام توده زیستی حاصله از محیط کشت جدا شد (۱۵ min، ۴ °C، ۱۳۰۰۰ rpm)، سپس مایعات باقیمانده با دقت از یکدیگر تفکیک شدند و محیط کشت PDB مورد توزین قرار گرفت. این روش دقت بالایی ندارد اما یک دید کلی راجع به الگوی مصرف آب توسط قارچ در محیط های حاوی آلاینده های نفتی ارائه می دهد.

مشاهدات ظاهری: کلیه نمونه ها جهت بررسی تشکیل چنگک اتصال (Clamp connection) (نشان دهنده ورود قارچ به مرحله دوم زندگی و ایجاد دیکاریون ها می باشد) و پین دهی (مرحله آغازین

نمونه ها در شیکر اربیتالی دائم کار (۱۲۰ rpm) به مدت ۳۰ روز قرار گرفتند. این نمونه ها در یک اتاق تاریک با دمای ۲۴-۲۲ درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

بررسی میزان مصرف محیط کشت PDB: در کشت قارچ های خوراکی آب یکی از فاکتورهای بسیار مهم است. در این مطالعه تغییر الگوی مصرف فاز آبی با افزایش غلظت گازوئیل در تیمارها مورد ارزیابی قرار گرفت. ابتدا به کمک دستگاه ویسکومتر (Austria (SVM 3000, Anton Paar, USA) چگالی محیط کشت PDB و گازوئیل به طور جداگانه اندازه گیری شد. حال با دانستن وزن یا حجم محیط کشت در روزهای نخست و پایانی به سادگی می توان میزان

مورد هضم قرار گرفت. در مرحله مشتق سازی از محلول اتانل: تری اتیل آمین (Merck آلمان): آب مقطر: فنیل ایزوتیوسیانات (Merck آلمان) به نسبت ۱: ۱: ۷ (V: V) استفاده شد. نمونه ها پس از مشتق سازی توسط بافر نمونه رقیق شده و ۲۰ میکرولیتر از هر نمونه به دستگاه تزریق گردید. بافر نمونه شامل: فسفات سدیم (Merck آلمان)، آب مقطر و استونیتریل (Merck آلمان) بود. به دلیل حساسیت بسیار بالای دستگاه HPLC کلیه مواد مورد استفاده HPLC grade بودند.

بافرهای فاز متحرک:

بافر A: استات سدیم (Merck آلمان) به همراه استونیتریل (Merck آلمان) و بافر B: استات سدیم (Merck آلمان) به همراه استونیتریل (Merck آلمان) و آب مقطر

شرایط تزریق:

نام دستگاه: Younglin clarity ساخت کره، ستون: C18, 5µm, with guard column holder ابعاد ستون: ۲۵۰ × ۴/۶ mm، دمای ستون: ۳۸ درجه سانتی گراد، نرخ جریان: ۱ میلی لیتر در دقیقه، حجم تزریق: ۲۰µm، نوع آشکار ساز: UV detector، طول موج آشکار ساز: ۲۵۴ nm

(Bach et al., 2017)، استاندارد اسیدهای آمینه شامل هفده اسید آمینه (Merck آلمان): آسپاراتات (Asp, L-Aspartic acid)، گلوتامات (Glu, L-Glutamate)، هیدروکسی پرولین (H-Pro)، هیدروکسی پرولین (Ser, L-Serine)، سیرین (Hydroxyproline)، گلیسین (Gly, L-Glycine)، هیستیدین (His, L-Histidine)، آرژنین (Arg, L-Arginine)

تولید جسم بارده) به طور روزانه مورد مشاهدات ظاهری و میکروسکوپی (میکروسکوپ نوری) قرار گرفتند (Dennis, 1970).

سنجش پروتئین: ۱ گرم از وزن تر هر نمونه توسط ۱/۵ میلی لیتر بافر فسفات ۰/۰۱ مولار، pH ۷ در شرایط سرما (بر روی یخ) به سرعت ساییده و هموژن گردید و سپس به سانتریفیوژ یخچال دار rpm ۱۳۰۰۰، دمای ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه منتقل شد و سرانجام مایع رویی جهت سنجش پروتئین مورد استفاده قرار گرفت. ۲۵ میکرولیتر از هر عصاره با ۷۵ میکرولیتر بافر استخراج (بافر فسفات، ۰/۰۱ مولار، pH ۷) رقیق شد و به آن ۲۹۰۰ میکرولیتر معرف برادفورد افزوده گردید. مخلوط واکنش سریعاً تکان داده شد، پس از پنج دقیقه انکوباسیون در تاریکی با طول موج ۵۹۵ nm مورد سنجش قرار گرفت. بلانک حاوی معرف برادفورد و ۱۰۰ میکرولیتر بافر استخراج بود. با کمک معادله منحنی استاندارد سرم آلبومین گاوی و اعداد جذبی خواننده شده غلظت پروتئین کل (میلی گرم بر گرم وزن خشک) در نمونه ها محاسبه گردید (Bradford, 1976).

سنجش کمی و کیفی اسیدهای آمینه به روش HPLC (High Performance Liquid): در این بخش تیماری که بالاترین غلظت پروتئین را داشت (تیمار ۱۰٪ گازوئیل) برای مقایسه با نمونه شاهد انتخاب شد. توده زیستی توسط دستگاه (CHRIST, ALPHA 1-4 LD, Germany) در شرایط خلا (۲۴ °C -۵۶) خشک شد. ابتدا یک گرم وزن خشک نمونه به کمک اسیدکلریدریک ۶ N (Merck آلمان)

عبارتی دیگر افزایش غلظت آلانینده سبب افزایش پروتئین سازی در قارچ می گردد. از این تیمار به عنوان تیمار برگزیده جهت سنجش کمی و کیفی اسیدهای آمینه و مقایسه آن با نمونه شاهد استفاده شد (شکل ۴).

نتایج سنجش کمی و کیفی اسیدهای آمینه: در سنجش کیفی هفده اسید آمینه تنها اسید آمینه هیدروکسی پرولین در تیمار ۱۰٪ گازوئیل مشاهده نشد (شکل ۵ و جدول ۲). در این تیمار پانزده اسید آمینه آسپاراتات، گلوتامات، گلیسین، هیستیدین، آرژنین، ترئونین، آلانین، تیروزین، پرولین، والین، ایزولوسین، لیزین، لوسین، فنیل آلانین و متیونین نسبت به شاهد افزایش معنی دار ($P \leq 0/05$) نشان دادند. بیشترین میزان اسیدهای آمینه در هر دو نمونه شاهد و تیمار متعلق به گلوتامات و آسپاراتات بود (شکل ۵ و جدول ۲).

کاهش مصرف فاز آبی، بالا رفتن میزان پروتئین موجود در وزن تر قارچ و افزایش تعداد پین های تشکیل شده در توده زیستی (به عنوان معیاری برای افزایش باردهی) همزمان با افزایش غلظت گازوئیل در تیمارها میل قارچ به مصرف آلانینده گازوئیل و اثر مثبت آن بر رشد و ماده سازی را به اثبات می رساند. این یافته ها با گزارشات Adenipekun و همکاران (۲۰۱۳)، Azin و Moghimi (۲۰۱۸) و Elhusseeiny و همکاران (۲۰۱۹) تایید می گردد. اما برخی از مطالعات انجام شده بر روی قارچ های *Trichophyton ajelloi* VS. *Adenipekun* and *Lentinus squarrosulus* (Ulfig et al., 2003) و از Isikhuemhen, 2008 نشان دهنده کاهش رشد و از

ترئونین (Ala, L-Threonine)، آلانین (Thr, L-Alanine)، تیروزین (Tyr, L-Tyrosine)، پرولین (Pro, L-Proline)، والین (Val L-Valine)، ایزولوسین (Ilo, L-Isoleucine)، لیزین (Lys, L-Lysine)، لوسین (Leu, L-Leucine)، فنیل آلانین (Phe, L-Phenylalanine) و متیونین (Met, L-Methionine).

آنالیز داده ها:

آنالیز آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS ورژن ۲۳ انجام شد. آزمون واریانس یک طرفه ANOVA و مقایسه میانگین ها توسط آزمون Tukey صورت پذیرفت. در نهایت نمودارها در نرم افزار Excel رسم گردیدند.

نتایج و بحث

نتایج بررسی میزان مصرف محیط کشت PDB: چگالی محیط کشت ۰/۹۵ گرم بر میلی لیتر و چگالی گازوئیل ۰/۸۲ گرم بر میلی لیتر محاسبه شد. بر این اساس بالاترین میزان مصرف محیط کشت PDB در نمونه شاهد و سپس تیمار ۲/۵٪ گازوئیل به دست آمد (شکل ۱).

نتایج مشاهدات ظاهری: در مشاهدات میکروسکوپی چنگک اتصال در کلیه تیمارها به جز نمونه شاهد مشاهده گردید (شکل ۲). در بازه زمانی ۱۸-۲۰ روز پین های مولد جسم بارده در کلیه تیمارها به جز نمونه شاهد تشکیل شدند. تعداد پین ها با افزایش غلظت گازوئیل در تیمارها رابطه مستقیم داشت (شکل ۳).

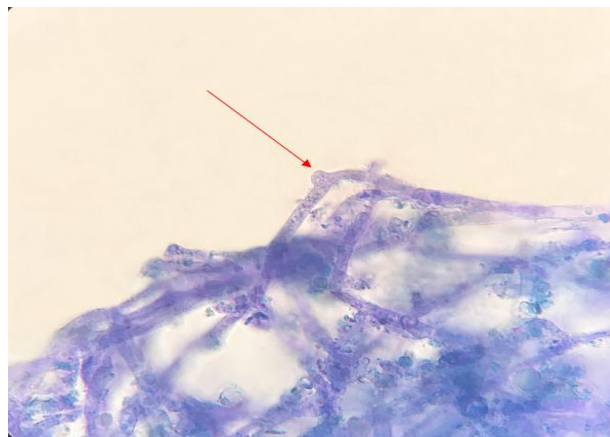
نتایج سنجش پروتئین: در سنجش پروتئین بیشترین میزان پروتئین متعلق به تیمار ۱۰٪ گازوئیل بود به

بین رفتن قارچ در غلظت های بالای آلاینده های نفتی است.



شکل ۱- الگوی مصرف آب در تیمارها. با افزایش غلظت گازوئیل در تیمارها مصرف فاز آبی کاهش معنی دار ($P \leq 0.001$) نشان داد. (***) نشان دهنده تغییرات معنی دار می باشد.

Fig 1- The pattern of water consumption in treatments. With increasing the concentration of gas oil in the treatments, the consumption of the aqueous phase showed a significant decrease ($P \leq 0.001$). (*) indicates significant changes.**



شکل ۲- نمایی از یک چنگک اتصال در تیمارهای گازوئیل. رنگ آمیزی لاکتوفنول، بزرگنمایی ۴۰ ×

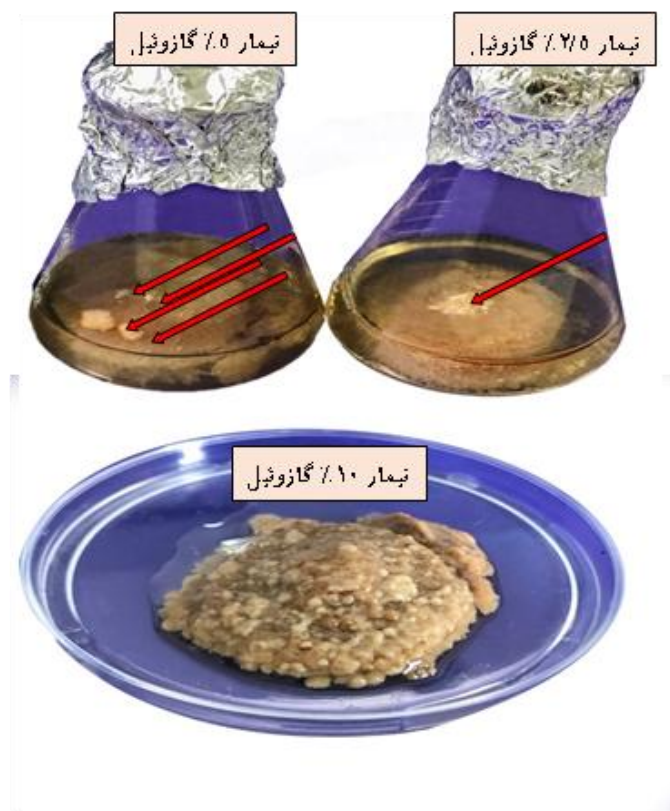
Fig 2- View of a clamp connection in gas oil treatment. Lactophenol staining, $\times 40$

ترکیبات گوگرد دار و مقادیری فلزات سنگین. هیدروکربن های نفتی با اثر بر روی غشاء سلول سبب کاهش آب درون سلول و مهار زنجیره انتقال الکترون می شوند. گروه های هیدروفیل OH ، NH_3

افزایش پروتئین و اسیدهای آمینه در معرض آلاینده نفتی را می توان به این صورت توضیح داد: آلاینده های نفتی به طور کلی شامل چهار دسته از ترکیبات هستند: هیدروکربن های نفتی، ترکیبات ازته،

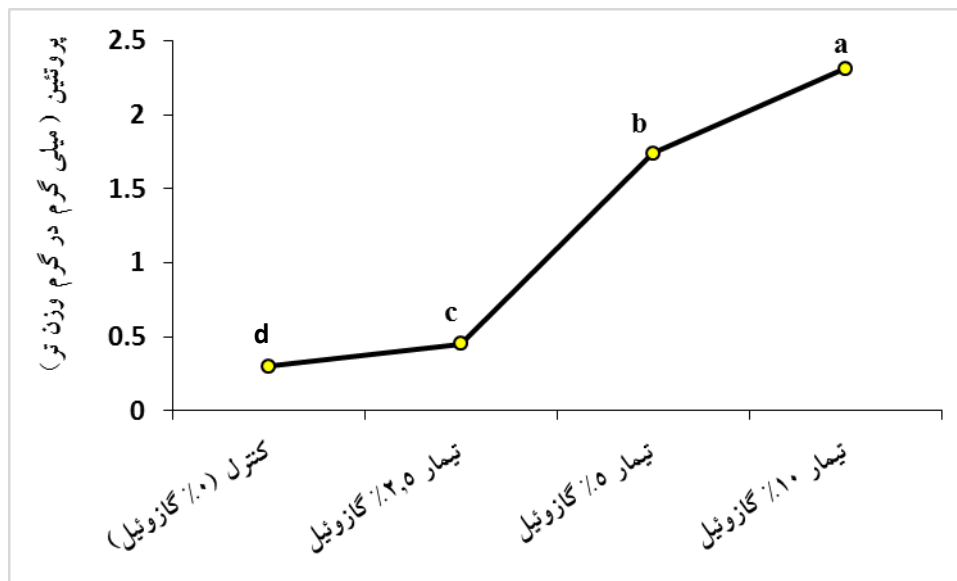
فلزات سنگین نیز سبب مداخلات مخرب در متابولیسم سلولی می گردند ولی قندها و پروتئین ها با اتصال به آن ها فعالیت فلزات سنگین را مهار می کنند (Rajasekaran *et al.*, 2002; Agarwal and Pandey, 2004; Sharma and Dietz, 2006; Peretiemo-Clarke and Achuba, 2007; Zhang *et al.*, 2010; Calvo *et al.*, 2014; Al-Hawash *et al.*, 2017). نتایج مطالعات کمی و کیفی اسیدهای آمینه با یافته های دیگر محققین در رابطه با سایر گونه های *Pleurotus sp.* و دیگر قارچ های خوراکی مطابقت داشت (Musieba *et al.*, 2013; Kayode *et al.*, 2015; Sanon *et al.*, 2017).

و COOH پروتئین ها، اسیدهای آمینه و قندها با جذب آب یک لایه هیدراته در اطراف خود ایجاد کرده و موجب جذب بیشتر آب و افزایش محتوای نسبی آن می گردند. ترکیبات ازته و گوگردی موجود در آلاینده های نفتی سبب ایجاد رادیکال های خطرناک نیتروژنی شده و این رادیکال ها با تحریک فعالیت پروتئازها و یا اتصال مستقیم به پروتئین ها و اسیدهای آمینه اثر سوء خود را اعمال می نمایند. ارگانسیم های مقاوم به این آلاینده ها با افزایش تولید اسیدهای آمینه و پروتئین ها به نوعی به جاروبگری این رادیکال ها و رفع آثار مضر آن ها می پردازند.



شکل ۳- ایجاد پین های مولد جسم بارده در تیمارهای گازوئیل. با افزایش غلظت گازوئیل تعداد پین های تشکیل شده در تیمارها افزایش یافت.

Fig 3- Creating productive pins of the fruiting body in gas oil treatments. With increasing the concentration of gas oil, the number of pins formed in the treatments increased.

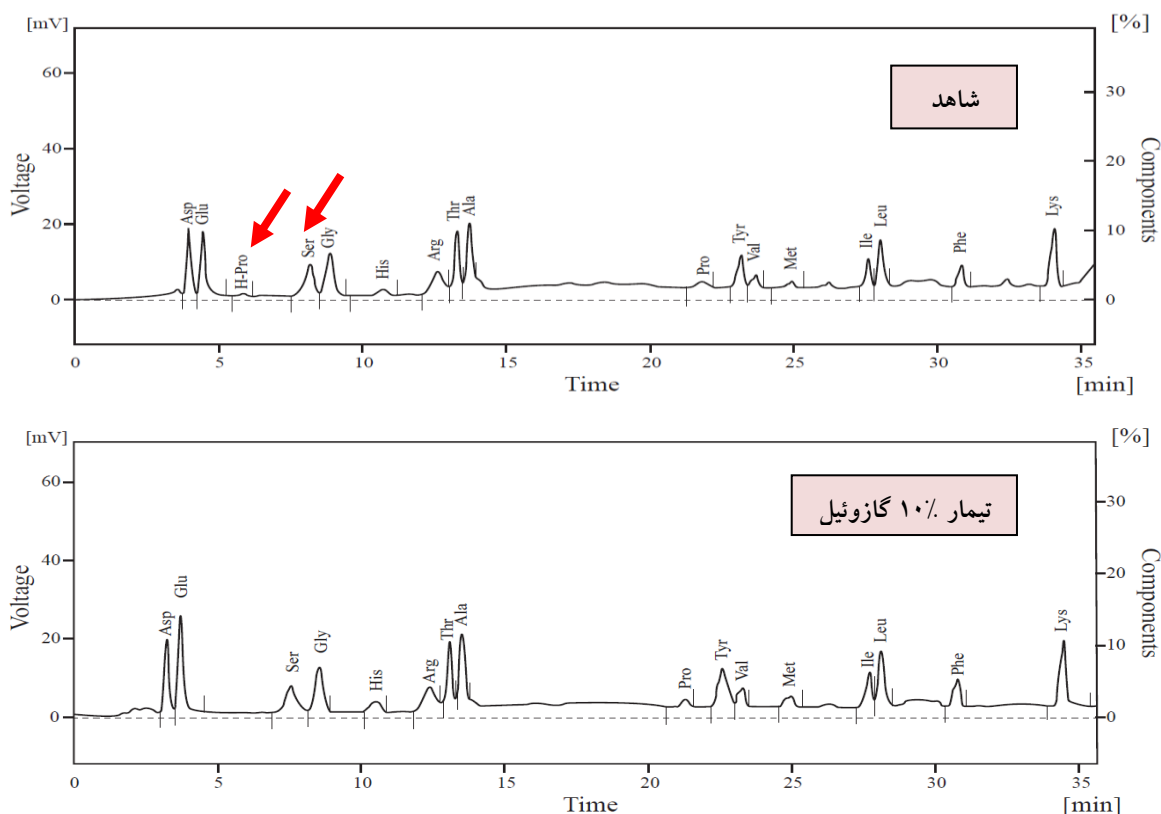


شکل ۴- سنجش پروتئین. حروف ناهمسان نشان اختلاف معنی دار ($P \leq 0.05$) را نشان می دهند.

Fig 4- Protein assay. The Latin lowercase letters show significant changes ($P \leq 0.05$).

خوراکی بسیار بالاست. اسیدهای آمینه هیدروفوب عبارتند از: والین، ایزولوسین، لوسین، متیونین، فنیل آلانین، تریپتوفان، سیستئین، آلانین، تیروزین، هیستیدین، ترئونین، سرین، پرولین، گلیسین، آرژنین، لیزین. اسیدهای آمینه هیدروفوب نقش مهمی در فعالیت های آنتی اکسیدانی بازی می کنند و به شکل قابل توجهی فعالیت آنتی اکسیدانی را افزایش می دهند (Sun et al., 2017). این یافته ها با نتایج حاصل از این پژوهش هم سو می باشد.

اسیدهای آمینه در سنتز پروتئین ها دخالت داشته و حتی به عنوان پیش ماده بیوسنتزی برخی ترکیبات دیگر به کار می روند. به علاوه در سلول از اسیدهای آمینه به عنوان ذخیره و منبع نیتروژن نیز استفاده میگردد (Rejeb et al., 2014). Sun و همکاران در سال ۲۰۱۷ با بررسی های خود بر روی ۱۳ گونه قارچ خوراکی وحشی در جنوب غربی چین شامل: *B. sinicus*, *B. speciosus*, *Boletus bicolor*, *Xerocomus*, *B. ornstipes*, *B. griseus*, *carpedis*, *Boletinus pinetorus*, *Sulillus placidus*, *Tricholomopsis*, *Tricholoma terreum*, *Termitomyces microcarpus*, *dividipileata* به این نتیجه رسیدند که میزان اسیدهای آمینه هیدروفوبیک در قارچ های



شکل ۵- کروماتوگرام اسیدهای آمینه. از شانزده اسید آمینه مورد بررسی تنها اسید آمینه هیدروکسی پرولین (H-Pro) در نمونه تیمار ۱۰٪ مشاهده نشد. اسید آمینه سرین نیز در این تیمار نسبت به نمونه شاهد کاهش نشان داد.

Fig 5- Amino acids chromatogram. Of the 17 amino acids studied, only hydroxyproline (H-Pro) was not observed in the 10% gas oil treatment. The amino acid serine (Ser) also decreased in this treatment compared to the control sample.

می شود (Szpak, 2011). هیدروکسی پرولین و پرولین ایمینو اسید هستند یعنی عامل آمین در ساختمان حلقه آن ها وارد شده است و به عبارتی فاقد عامل حقیقی می باشد، این در حالی است که تمامی اسیدهای آمینه موجود در پروتئین ها به فرم L-isomer هستند. هیدروکسی پرولین از هیدروکسیلاسیون پرولین بعد از ترجمه ایجاد می گردد. گلیکوپروتئین های غنی از هیدروکسی پرولین ترکیبات ساختمانی بسیار مهمی در دیواره سلول های گیاهی هستند که در پاسخ به آلودگی ها به عنوان یک مکانیسم دفاعی تجمع پیدا می کنند (Pearce et al., 2007). به دلیل حذف هیدروکسی پرولین از پروپیل اسیدهای آمینه تیمار گازوئیل این

در این مطالعه اسید آمینه هیدروکسی پرولین در تیمار گازوئیل بر خلاف نمونه شاهد گزارش نشد. هیدروکسی پرولین یک اسید آمینه non-proteinogenic است که به طور طبیعی کد نمی شود و یا در کد ژنتیکی ارگانیزم دیده نمی شود. این قبیل اسیدهای آمینه می توانند دارای نقش توکسیک و یا بعضاً دارویی بوده و گاهی مثلاً در باکتری ها به ساختمان دیواره وارد شده و در جانوران نقش نوروترنسمیتری ایفا نمایند. هیدروکسی پرولین نمی تواند به صورت آزاد در فرآیندهای متابولیسمی وارد شود. هیدروکسی پرولین یکی از اجزاء تشکیل دهنده پروتئین کلاژن است و در تست های بیوشیمیایی به عنوان شاخص تعیین مقدار کلاژن از آن استفاده

گزارشات با یافته های پژوهش حاضر همسو نمی باشد.

جدول ۲- سنجش کمی اسیدهای آمینه در نمونه شاهد و تیمار ۱۰٪ گازوئیل.

Table 2- Quantitative measurement of amino acids in the control sample and the 10% gas oil treatment

اسید آمینه	شاهد (g 100 g ⁻¹ DW)	تیمار ۱۰٪ گازوئیل (g 100 g ⁻¹ DW)
Asp	16.75±0.22	22.15*±0.05
Glu	19.18±0.24	33.22*±0.22
H-Pro	0.77*±0.00	-
Ser	12.69*±0.11	11.92±0.09
Gly	10.41±0.15	11.68*±0.08
His	5.76±0.08	6.87*±0.09
Arg	12.10±0.04	13.35*±0.13
Thr	7.17±0.02	8.69*±0.17
Ala	9.51±0.20	12.04*±0.04
Pro	4.57±0.25	13.69*±0.31
Tyr	11.16±0.02	14.71*±0.12
Val	4.43±0.05	6.40*±0.21
Met	3.06±0.02	3.86*±0.00
Ile	7.97±0.00	10.57*±0.29
Leu	12.16±0.34	18.83*±0.23
Phe	8.03±0.26	10.69*±0.18
Lys	13.40±0.86	19.11*±0.00

(*) تغییرات معنی دار را نشان می دهد

منابع

- 1) Adenipekun, C. and R, Lawal. 2012. Uses of mushrooms in bioremediation: A review. *Biotechnology and Molecular Biology Reviews*, 7: 62-8.
- 2) Adenipekun, C.O. and O.S, Isikhuemhen. 2008. Bioremediation of engine oil polluted soil by the tropical white rot fungus, *Lentinus squarrosulus* Mont.(Singer). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11: 1634-7.
- 3) Adenipekun, C.O., Ogunjobi, A.A. and O.A, Ogunseye. 2011. Management of polluted soils by a white-rot fungus, *Pleurotus pulmonarius*. *Assumption Univ J Technol*, 15: 57-61.
- 4) Agarwal, S. and V, Pandey. 2004. Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia*. *Biologia Plantarum*, 48: 555-60.
- 5) Al-Hawash, A.B., Zhang, X. and F, Ma. 2017. Principles of Fungi Capacity in Petroleum Hydrocarbons Degradation. *Journal advancement in medical and life science*, 3: 312-324.

نتیجه گیری کلی

قارچ های خوراکی به ویژه جنس *Pleurotus* sp. پتانسیل بالایی برای حذف انواع آلاینده ها از آب ها و خاک ها دارند. در این پژوهش که روی *P. florida* انجام شد مشخص گردید غلظت های بالای آلاینده گازوئیل سبب افزایش باردهی و تولید اسیدهای آمینه در این قارچ می گردد. به علاوه در حضور این آلاینده قارچ به جای تغذیه از فاز آبی محیط کشت تمایل بیشتری به گازوئیل نشان داده و الگوی مصرف آب با افزایش غلظت گازوئیل روند کاهشی نشان می دهد. لذا می توان این گونه را به عنوان یک کاندیدای مناسب جهت بهره گیری همزمان در پالایش زیستی آلاینده های نفتی و استفاده از زی توده حاصله در صنایع غذایی وابسته به هیدرولیز اسیدهای آمینه معرفی نمود.

2017. Mechanisms of Cd and Cr removal and tolerance by macrofungus *Pleurotus ostreatus* HAU-2. *Journal of Hazardous Materials*, 330: 1-8.
- 15) Liu, S.-H., Zeng, G.-M., Niu, Q.-Y., Liu, Y., Zhou, L., Jiang, L.-H., Tan, X.-f., Xu, P., Zhang, C. and M, Cheng. 2017. Bioremediation mechanisms of combined pollution of PAHs and heavy metals by bacteria and fungi: A mini review. *Bioresource technology*, 224:25-33.
 - 16) Menaga, D., Rahman, P.K., Rajakumar, S. and P, Ayyasamy. 2021. Antioxidant and Cytotoxic Activities of A Novel Isomeric Molecule (PF5) Obtained from Methanolic Extract of *Pleurotus florida* Mushroom. *Journal of Bioresources and Bioproducts*. 64: 123-145.
 - 17) Mohammadi-Sichani, M.M., Assadi, M.M., Farazmand, A., Kianirad, M., Ahadi, A. and H.H, Ghahderijani. 2017. Bioremediation of soil contaminated crude oil by Agaricomycetes. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 15: 8-15.
 - 18) Musieba, F., Okoth, S., Mibey, R.K., Wanjiku, S. and K, Moraa. 2013. Proximate composition, amino acids and vitamins profile of *Pleurotus citrinopileatus* singer: an indigenous mushroom in Kenya . *American Journal of Food Technology*, 8: 200-6.
 - 19) Pearce, G., Siems, W.F., Bhattacharya, R., Chen, Y.-C. and C.A, Ryan. 2007. Three hydroxyproline-rich glycopeptides derived from a single petunia polyprotein precursor activate defensin I, a pathogen defense response gene. *Journal of Biological Chemistry*, 282: 17777-84.
 - 6) Bach, F., Helm, C.V., Bellettini, M.B., Maciel, G.M. and C.W.I, Haminiuk. 2017. Edible mushrooms: a potential source of essential amino acids, glucans and minerals. *International Journal of Food Science & Technology*, 52: 2382-92.
 - 7) Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-54.
 - 8) Calvo, P., Nelson, L. and J.W, Kloepper. 2014. Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant and soil* 383: 3-41.
 - 9) Chatterjee, S., Sarma, M.K., Deb, U., Steinhäuser, G., Walther, C. and D.K, Gupta. 2017. Mushrooms: from nutrition to mycoremediation. *Environmental Science and Pollution Research*, 24: 19480-93.
 - 10) Dennis, R.L. 1970. A Middle Pennsylvanian basidiomycete mycelium with clamp connections. *Mycologia*, 62: 578-84.
 - 11) Elhusseiny, S.M., Amin, H.M. and R.I, Shebl. 2019. Modulation of laccase transcriptome during biodegradation of naphthalene by white rot fungus *Pleurotus ostreatus*. *International Microbiology*, 22: 217-25.
 - 12) Julian, A.V., Reyes, R.G. and F, Eguchi. 2018. Agro-Industrial Waste Conversion Into Medicinal Mushroom Cultivation.
 - 13) Kayode, R., Olakulehin, T., Adedeji, B., Ahmed, O., Aliyu, T. and A, Badmos. 2015. Evaluation of amino acid and fatty acid profiles of commercially cultivated oyster mushroom (*Pleurotus sajor-caju*) grown on gmelina wood waste. *Nigerian Food Journal*, 33: 18-21.
 - 14) Li, X., Wang, Y., Pan, Y., Yu, H., Zhang, X., Shen, Y., Jiao, S., Wu, K., La, G., Yuan, Y. and S, Zhang.

- edible mushrooms. *Molecules*, 22: 350-356.
- 28) Szpak, P. 2011. Fish bone chemistry and ultrastructure: implications for taphonomy and stable isotope analysis. *Journal of Archaeological Science*, 38: 3358-72.
- 29) Ulfig, K., Plaza, G., Worsztynowicz, A., Manko, T., Tien, A. and R, Brigmon. 2003. Keratinolytic Fungi as Indicators of Hydrocarbon Contamination and Bioremediation Progress in a Petroleum Refinery. *Polish Journal of Environmental Studies*, 12: 145-176.
- 30) Velioglu, Z. and R.Ö, Urek. 2015. Biosurfactant production by *Pleurotus ostreatus* in submerged and solid-state fermentation systems. *Turkish Journal of Biology*, 39: 160-6.
- 31) Venturella, G. and M.L, Gargano. 2017. Medicinal Properties of Mediterranean Oyster Mushrooms: Species of Genus *Pleurotus* (Higher Basidiomycetes). In: *Medicinal Plants and Fungi : Recent Advances in Research and Development*. Springer, 35: 49-58.
- 32) Zhang, Z., Rengel, Z. and K, Meney. 2010. Polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs) differentially influence growth of various emergent wetland species. *Journal of Hazardous Materials*, 182: 682-690.
- 20) Peretiemo-Clarke, B. and F, Achuba. 2007. Phytochemical effect of petroleum on peanut (*Arachis hypogea*) seedlings. *Plant Pathology*, 6: 179-82.
- 21) Rajasekaran, L.R., Claude, A.S. and D, Caldwell. 2002. Stand establishment in processing carrots—Effects of various temperature regimes on germination and the role of salicylates in promoting germination at low temperatures. *Canadian Journal of Plant Science*, 82: 443-50.
- 22) Rejeb, K.B., Abdelly, C. and A, Saviouré. 2014. How reactive oxygen species and proline face stress together. *Plant Physiology and Biochemistry* 80: 278-84.
- 23) Roshandel, F., Saadatmand, S., Iranbakhsh, A. and Z.O, Ardebili. 2021. Mycoremediation of oil contaminant by *Pleurotus florida* (P. Kumm) in liquid culture. *Fungal Biology*. In press.
- 24) Sanon, E., Ou, edraogo, J.C.W., Ilboudo, S., Guissou, M.K.L., Guissou, P.I. and P, Sankara. 2017. Phytochemical screening and amino acids analysis of mushrooms from Burkina Faso. *African Journal of Biotechnology*, 16: 1338-44.
- 25) Sathiya, M., Periyar S., Sasikalaveni, A., Murugesan, K. and P, Kalaichelvan. 2007. Decolorization of textile dyes and their effluents using white rot fungi. *African Journal of Biotechnology*, 6: 1-6.
- 26) Sharma, S.S. and K.-J, Dietz. 2006. The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. *Journal of experimental botany*. 57: 711-26.
- 27) Sun, L., Liu, Q., Bao, C. and J, Fan. 2017. Comparison of free total amino acid compositions and their functional classifications in 13 wild