دراسة مقارنة لتقدير مدى تأثير المبيد الحشري ديازينون ونوكوز على بعض فطريات التربة مختبريا

إحسان فليح حسن الجوهري
مركز ابحاث الاهوار / جامعة ذي قار

الخلاصة
اختبرت اربعة فطريات معزولة من حول جذور نباتات الباقلاء في حقول محافظة القادسية لتمثل المقاومة المتباينة لسمية المبيد الحشري ديازينون بتركيز 0.2 ، 0.4 ، 0.6 جزء في المليون حيث يمثل التركيز 0.6 التركيز المبدئي يوم الرش ، والمبيد نوكوز بتركيز 0.1 ، 0.3 ، 0.5 جزء في المليون حيث يمثل التركيز 0.5 جزء في المليون التركيز المبدئي يوم الرش .
وهذه الفطريات هي *Aspergillus niger* و *Rhizopus stolinifer* (عالية المقاومة) ، *Trichoderma harzianum* (متوسط المقاومة) ، *Fusarium solani* (ضعيف المقاومة) .
بلغت نسبة التثبيط للفطر *T.harzianum* بوجود المبيد دايازينون (18.8 %) و (16.6 %) على الوسط الصلب عند التركيز 0.2 و 0.4 جزء في المليون على التوالي ، أما نسبة التثبيط للفطر *F.solani* فكانت (22.2 %) و (11.1%) عند التركيز 0.4 و 0.6 جزء في المليون على التوالي ، اما بوجود المبيد نوكوز فقد بلغت نسبة التثبيط للفطر *T . harzianum* (28.8 %) عند التركيز 0.5 جزء في المليون على الوسط الصلب ، في حين بلغت نسبة التثبيط (10.0%) عند التركيز 0.1 و 0.3 جزء في المليون على التوالي ، بينما بلغت نسبة التثبيط للفطر*F . solani* (45.5 %) عند التركيز 0.5 جزء في المليون و (36.6 %) و (46.6 %) عند التركيز 0.1 و 0.3 جزء في المليون على التوالي .
كما بينت النتائج قدرة الفطريات *A . niger* ، *R .stolinifer* و *T. harzianum* على تحويل هذه المبيدات الى مركبات اخرى ، بينما لم يظهر الفطر *F. solani* قابلية على التحليل .

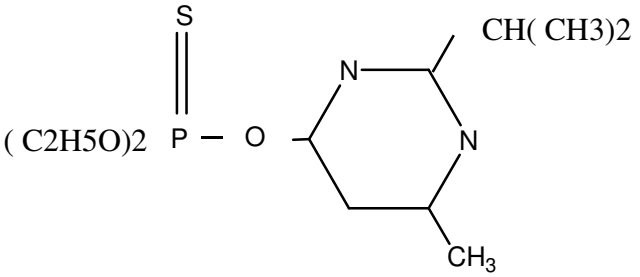
الكلمات المفتاحية : المبيدات الحشرية ، الديازينون ، نوكوز ، فطريات التربة

المقدمة

تعد التربة المستودع الرئيس للعديد من الملوثات البيئية ومنها المبيدات سواء كانت مبيدات حشرية او ادغال ، حيث ان هذه المبيدات شأنها شأن أي مادة كيمياوية أخرى قد يكون لها بعض التأثيرات الجانبية غير المرغوب فيها في البيئة وحيث ان هذه المبيدات تأخذ طريقها الى التربة سواء عن طريق المعاملة المباشرة بعد أو قبل الانبات أو نتيجة سقوط جزء من المبيد أثناء معاملة الاجزاء الخضرية لذا فأن العلاقة بين هذه المبيدات واحياء التربة الدقيقة (بكتريا وفطريات) أعيرت شيئا من الاهتمام فمنذ وقت ليس بالقريب ذكرSmith واخرون (1945) . أن بعض مبيدات الادغال اللاعضوية مثل sodium ammonium thiocynate ، arsenate ، sodium borate و sodium chlorate وغيرها لها تأثيرات مثبطة لبعض الكائنات الحية الدقيقة في التربة مما يؤثر على خصوبتها . بينت التجارب المختبرية امكانية بعض الفطريات المضافة الى الترب الملوثة في تحليل أو تأييض أو ربط العديد من الملوثات الباقية في التربة الى بعض مكونات التربة حيث تنخفض سميتها أو تكون أقل سمية ، من المعروف أن الترب المختلفة تختلف في تركيبها الفيزيائي (المسامية واقطار القنوات الغازية) والكيميائي (المواد السامة أوالمثبطة للفطر وفرة أو شحة المواد الغذائية والرطوبة) والاحيائي (وجود الاحياء الدقيقة المنافسة أو المضادة) ، هذه العوامل تكون مؤثرة بشكل مؤكد على فعالية الفطر وقدرته على تحليل المواد الملوثة (شريف ، 2012) ، كما أن المواد العضوية المتبقية في التربة يمكن أن تكون مدمصة أو مرتبطة بمكونات التربة المختلفة ، كما أن الفطريات المستخدمة هي في الغالب فطريات التعفن الابيض وأن اضافتها الى التربة قد تجعلها في ظروف فيزيائية وكيميائية واحيائية غير ملائمة لنموها ونشاطها

التحليلي علما ان بعض الفطريات الاخرى مثل *Penicillium sp.* ، *Cunninghamella sp.* ، *Aspergillus niger* لها نشاطات محللة لمثل هذه المواد (Singleton, 2001) . وفي هذا الاتجاه تمكن Tigini واخرون (2009) من عزل الفطريات *Fusarium solani* و *Penicillium chrysogenum* و *P. Digitatum* و *Scedosporium apiospermum* في تربة ملوثة بالمركبات السامة polychlorinated Biphenyl (PCB) وقد استطاعت هذه الفطريات من النمو على وسط يحتوي PCB (200 ملغم / لتر) أو مزيج من المركبين .

ونظرا لقلة الدراسات المتعلقة بالتاثيرات البيئية للمبيدات الحشرية في العراق بصورة عامة ، ولمبيد دايازينون و نوكوز في فطريات التربة بصورة خاصة ، ولما للفطريات من اهمية في التوازن البيئي ،تأتي هذه الدراسة ضمن هذا الاتجاه لغرض توضيح تاثير هذه المبيدات في هذه الفطريات وانعكاس ذلك على النظام البيئي . حيث ان أي مبيد كيمياوي لاينحصر تاثيره على الكائنات الحية الواقعة ضمن دائرة تأثيره أو ما يسمى (Target organisms) بل يتعداه الى كائنات حية اخرى لذا فان تقييم الخصائص البيولوجية لأي مبيد كيمياوي والكشف والتحري عن تاثيراته الجانبية يضعنا في الجانب الأمين عند استخدامه ، حيث يعتبر المبيد دا يازينون من المبيدات ذات فترة البقاء الواطئة في البيئة وهو يعتبر شديد السمية للحيوانات والانسان وأن هذه السمية تزداد بتحلل هذا المبيد الى نواتج أخرى (Mirjana et.al., 2010) ، كما يؤثر هذا المبيد على العمليات الحيوية من خلال تأثيره على الانزيمات الضرورية مثل انزيم ATPase (Vasic et.al ., 2008) . ويبين الشكل (1) التركيب الجزيئي للمبيد دايازينون و نوكوز .



المبيد دايازينون

المبيد نوكوز

شكل (1) التركيب الجزيئي للمبيد دايازينون و نوكوز .

المواد وطرائق العمل

1- المواد الكيميائية والاوساط الزرعية :

المواد الكيميائية :

أ- ان جميع المواد الكيميائية المستخدمة في هذه الدراسة من انتاج شركة BDH و Merch .

ب- المبيد دايازينون(Diazinon) و نوكوز (Nogos) تم الحصول عليهما بشكل مستحلب بنقاوة 98 %.

الأوساط الزرعية :

1- الوسط الغذائي السائل (Trace salts solution) والمستخدم لنمو الفطريات (Shirling and Gott , 1966) ويتكون من :

$MgSO_4.7H_2O$, 0.1 g , $ZnSO_4 .7H_2O$, 0.1 g , $MnCl_2 . 4H_2O$, 0.1 g , $FeSO_4.7H_2O$, 0.1 g

تذاب المحتويات اعلاه في لتر ماء مقطر ويعقم بجهاز المؤصدة (Autoclave) .

2- وسط البطاطا – دكستروز – أجار Potato – Dextrose – Agar (PDA) ويتكون من : 200 g بطاطا و 20 g دكستروز و 20 g أجار وتذاب المحتويات في لتر ماء مقطر ويعقم بجهاز المؤصدة .

العزلات :
تم الحصول على عزلات الفطر *Aspergillus niger* و *Rhizopus stolinifer* و*Trichoderma harzianum* و *Fusarium solani* من حول جذور نباتات الباقلاء في حقول محافظة القادسية باستخدام طريقة التخفيف (Serial dilution) .

طرائق العمل :
1- دراسة تاثير المبيد ديازينون و نوكوز على نمو الفطريات *A. niger* و *R. stolinifer* و *T. harzianum* و *F. solani* في الوسط الصلب .

حضر وسط غذائي Potato – Dextrose – Agar(PDA) وقسم الوسط الغذائي الى اربعة أقسام في دوارق زجاجية مخروطية حجم 250 مل ، عقمت بجهاز المؤصدة (Autoclave) على درجة حرارة 121 م^{o} وضغط 15 باوند / انج المربع ولمدة 20 دقيقة ، وبعد أنخفاض درجة حرارة الوسط الى درجة 45م ^{o} ، أضيف المبيد ديازينون الى الوسط بتركيز 0.2 و0.4 و 0.6جزء في المليون ، فيما ترك الدورق الرابع بدون اضافة المبيد كمعاملة سيطرة . وقد أتبعت نفس هذه الطريقة مع المبيد بتركيز 0.1 ، 0.3، 0.5 جزء في المليون .
صب الوسط الغذائي في اطباق زجاجية معقمة قطر 9 سم . لقحت الاطباق بلقاح الفطريات وذلك بنقل قرص من المزارع الفطرية بعمر 7 أيام للفطريات *A.niger* و *R.stolinifer* و *T.harzianum* و *F.solani* بوساطة ثاقب فلين معقم قطر 4 ملم الى وسط كل طبق . حضنت الاطباق على درجة حرارة (25) م^{o} لمدة 7 أيام . نفذت هذه التجربة بثلاث مكررات لكل معاملة ، حسبت معدلات نمو الفطريات يوميا بقياس قطر المستعمرة .
2 – دراسة تأثير المبيد ديازينون و نوكوز على الفطريات *A.niger* و *R.stolinifer* و *T. harzianum* و *F. solani* في الوسط السائل.
حضر وسط غذائي سائل (Trace salts solution) ،وزع الوسط الغذائي في دوارق زجاجية مخروطية حجم 250 مل وبمعدل 50 مل لكل دورق . عقم الوسط الغذائي بجهاز المؤصدة ، وبعد انخفاض درجة حرارة الوسط الغذائي أضيف المبيد ديازينون الى الوسط الغذائي المعقم المبرد لكل دورق بالتراكيز 0.2 ، 0.4 ، 0.6 جزء في المليون ، فيما تركت دوارق من دون اضافة المبيد للمقارنة . لقحت الدوارق بنقل قرص قطره 4 ملم من المزارع الفطرية بعمر 7 أيام للفطريات *A.niger* و *R.stolinifer* و *T. harzianum* و *F. solani* بواسطة ثاقب فلين معقم قطر 4 ملم . حضنت الدوارق على درجة حرارة (25) م^{o} لمدة 7 أيام . نفذت هذه التجربة بثلاثة مكررات لكل معاملة . بعد 7 أيام من التحضين ، تم الحصول على الغزل الفطري بواسطة الترشيح على ورق الترشيح ثم جفف في فرن درجة حرارته 50 م^{o} لمدة نصف ساعة ثم وزن الغزل الفطري بواسطة ميزان حساس Type A200s(Sartorius analytic) England ، أتبعت نفس الخطوات اعلاه مع المبيد نوكوز ولكن بتركيز 0.1 و 0.3 و 0.5 جزء في المليون .
3 – النتاجات الايضية للمبيد ديازينون و نوكوز من قبل الفطريات *A.niger* و *R.stolinifer* و*T.harzianum* و *F.solani* :
حضر وسط غذائي سائل (Trace salts solution) ،وزع الوسط الغذائي في دوارق مخروطية حجم 250 مل وبمعدل 50 مل لكل دورق . عقم الوسط الغذائي بجهاز المؤصدة ، وبعد انخفاض درجة حرارة الوسط الغذائي أضيف المبيد ديازينون بالتركيز 0.6 جزء في المليون، كما تركت دوارق باضافة المبيد لوحده بدون تلقيح بالفطريات كمعاملة سيطرة ، وقد عقم المبيد قبل اضافته باستخدام الترشيح الغشائي membrane filtration حسب طريقة (Wright et.al,1977) حيث أستخدم هنا المبيد كمصدر وحيد للكاربون والفسفور والطاقة ، لقحت الدوارق باضافة جزء من مزارع فطرية بعمر7 أيام للفطريات *A.niger* و *R.stolinifer* و*T. harzianum* و *F.solani* بواسطة ثاقب فلين معقم قطر 4 ملم . حضنت جميع الدوارق في حاضنة درجة حرارتها (25) م^{o} ولمدة 7 أيام وكانت جميع الدوارق ترج ثلاث مرات يوميا ، وبعد انتهاء فترة التحضين تم ترشيح محتويات الدوارق كلا على حده باستخدام الترشيح الغشائي قطر الثقوب 0.45µ واستقبل الراشح في دورق

سعة 250 مل ، بعد ذلك سحب 1 مل من كل معاملة ووضع في حافظة زجاجية ذات سداد محكم ومعقمة سعة 5 مل . تم قياس المتبقي من المبيد باضافة 2 مل من محلول الاستخلاص الذي يحضر بمزج الهكسان والكلوروفورم بنسبة 2 : 1 لكل حافظة ورجت بقوة لمدة 10 دقائق وذلك حسب طريقة (McCann and Cullimore ,1979) . بعدها استخدمت طبقة المذيب (الطبقة العلوية) وحولت الى حافظة زجاجية اخرى سعة 5 مل ذات سداد محكم وبعد ان دونت المعلومات عليها حفظت في المجمدة على درجة حرارة (- 18) م^{o} لحين اجراء التحليل وقياس مستويات المبيد . وقد أتبعت الطريقة نفسها مع المبيد نوكوز بالتركيز 0.6 جزء في المليون .

4 – التحليل باستخدام مطياف الاشعة تحت الحمراء Infrared Spectroscopy تم تحليل العينات نفسها باستخدام جهاز (PYE Unicam SP 300) IR England .

أما الجانب الرياضي فقد أستخدم في هذا البحث أختبار تصميم وتحليل التجارب لثلاث واربع عوامل (Expermintal disgine – 3,4 facters Anova) لاستخراج الفروق المعنوية وغير المعنوية لنمو الفطريات في الاوساط الصلبة والسائلة بوجود وعدم وجود المبيد (سالم ،2004)

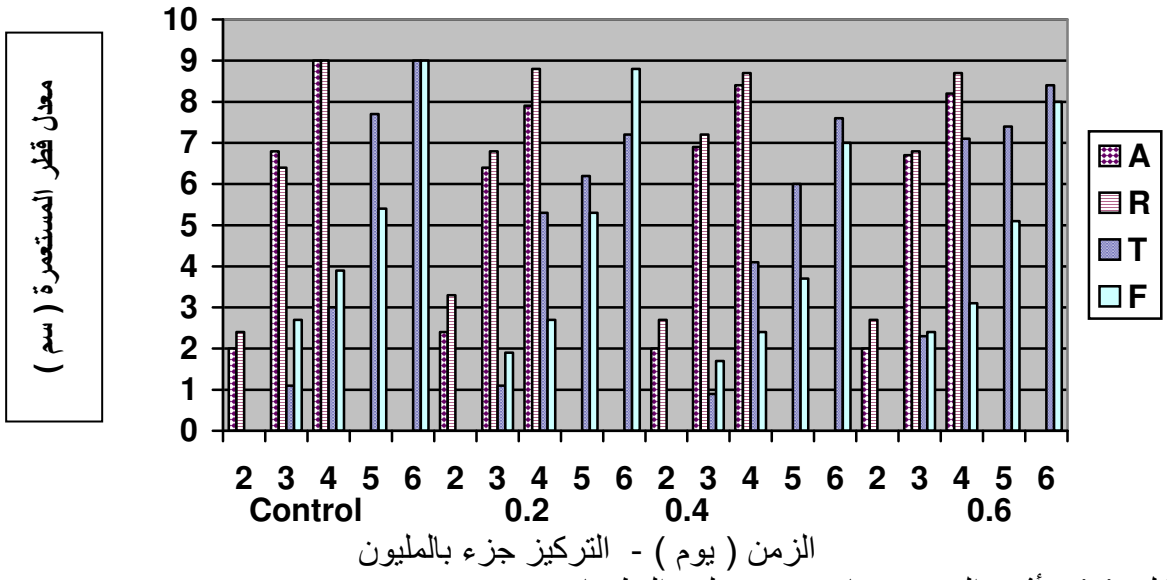
النتائج والمناقشة

ان النتائج المشار اليها في الشكل (2) تشير الى ان هناك استجابات مختلفة للفطريات *A.niger* ، *R.stolinifer* ، *T.harzianum* ، *F. solani* مع المبيد ديازينون حيث لم يؤثر هذا المبيد على نمو الفطر *A.niger* ، *R. stolinifer* حيث وصلت اقصى زيادة للنمو لهما عند اليوم الرابع بعد المعاملة ، في حين أن الفطر *T. harzianum* ، *F. solani* كانت أقصى زيادة للنمو لها عند اليوم السادس في معاملة السيطرة . كما يلاحظ من الشكل (2) ان نسبة التثبيط للفطر *T. harzianum* بلغت 18.8 % و 16.6% عند التركيز 0.2 و 0.4 جزء في المليون على التوالي وقد بينت الطرائق الاحصائية وجود فروق معنوية بين تراكيز المبيد جدول (1) ، كما وجدت فروق معنوية كبيرة بين الفطريات قيد الدراسة وتراكيز المبيد ومع الفترة الزمنية .اما النتائج المعروضة في الشكل (3) فتشير الى ان هناك استجابات مختلفة لهذه الفطريات مع المبيد نوكوز حيث لم يؤثر هذا المبيد على نمو الفطر *A.niger* ، *R.stolinifer* حيث وصلت اقصى زيادة للنمو لهما عند اليوم الرابع بعد المعاملة وهذا يدل على ان لهذين الفطرين قابلية اكبر على استخدام هذا المبيد كمادة غذائية أي كمصدر كاربون وفسفور وطاقة داعمة للنمو ، في حين أن الفطر *T. harzianum* ، *F. solani* كانت أقصى زيادة للنمو لها عند اليوم السادس في معاملة السيطرة .

كما يلاحظ من الشكل (3) أن نسبة التثبيط للفطر *T. harzianum* بلغت 28.8 % عند التركيز 0.5 جزء في المليون ، في حين بلغت نسبة التثبيط 10.0 % عند التركيز 0.1 ، 0.3 جزء في المليون ، كما يلاحظ في الشكل نفسه أن نسبة الثبيط للفطر *F. solani* بلغت 45.5 % عند التركيز0.5 جزء في المليون الذي هو التركيز المبدئي يوم الرش ، في حين بلغت نسبة التثبيط لهذا الفطر 36.6 % ، 46.6 % عند التركيز 0.1 ، 0.3 جزء في المليون على التوالي ، وقد بينت الطرائق الاحصائية وجود فروق معنوية كبيرة بين تراكيز المبيد ، كذلك وجدت فروق معنوية طفيفة بين الفطريات قيد الدراسة وتراكيز المبيد ، في حين وجدت فروق معنوية كبيرة جدا بين هذه الفطريات وتراكيز المبيد مع الفترة الزمنية (جدول2) . أما في الوسط الغذائي المعدني السائل فتشير النتائج في الشكل (4) الى ان هناك استجابات مختلفة للفطريات *A.niger*، *R. stolinifer* ، *T. harzianum* ، *F. solani* بوجود المبيد ديازينون ، حيث قلل هذا المبيد الوزن الجاف للغزل الفطري *A. niger* بمقدار 0.14 و 0.22 غم في التركيز 0.2 و0.4 جزء في المليون على التوالي عند المقارنة بمعاملة السيطرة ، في حين ازداد الوزن الجاف للغزل الفطري لهذا الفطر بمقدار 0.07 غم عند التركيز 0.6 جزء في المليون عند المقارنة بمعاملة السيطرة. كما تشير النتائج في الشكل (4) الى ان المبيد ديازينون قد حفز على زيادة الوزن الجاف للغزل الفطري للفطريات *A.niger*، *R. stolinifer* ، *T. harzianum*

بشكل واضح عند المقارنة بمعاملة السيطرة ، اما الفطر *F. solani* فقد قل الوزن الجاف له بوجود المبيد ديازينون ولجميع التراكيز ، وقد بينت الطرائق الاحصائية عدم وجود فروق معنوية بين هذه الفطريات وتراكيز المبيد جدول (3) ان ازدياد الوزن الجاف للغزل الفطري للفطريات *A.niger*، *R. stolinifer* ، *T. harzianum* بوجود المبيد ديازينون ربما يشير الى قدرة هذه الفطريات على استغلال المبيد مادة غذائية لاسيما ان مكونات الوسط السائل لهذه الفطريات كانت خالية من المصدر الكربوني والفسفور ، حيث كان المبيد ديازينون كمحفز لهذه الفطريات نتيجة التماس المباشر بين المبيد وهذه الفطريات وفي هذا الاتجاه اشار (Millikanm and Fields,1974) الى ان المبيد Simazinو Ametrol حفزت نمو الفطر *Pythium sp.* على بيئة nutrient solution . تشير النتائج المعروضة في الشكل (5) الى ان هناك استجابات مختلفة للفطريات *A.niger*، *R. stolinifer* ، *T. harzianum*، *F. solani* بوجود المبيد نوكوز، حيث قلل هذا المبيد الوزن الجاف للغزل الفطري للفطر *A.niger* ولجميع التراكيز ، وهذا يرجع الى نتيجة التماس المباشر بين المبيد وهذا الفطر فيكون تأثير المبيد هنا اكبر بالمقارنة بالوسط الصلب حيث يلتصق المبيد بمكونات هذا الوسط (الآجار) ،أما الوزن الجاف للغزل الفطري للفطر*R.stolinifer* فقد ازداد بوجود المبيد نوكوز وبالتركيز 0.1 ، 0.3 جزء في المليون وهذا ربما يرجع الى تطبع الفطر للمبيد خلال الفترة الزمنية حيث ان التركيز 0.5 جزء في المليون هو التركيز المبدئي يوم الرش ، أما الفطر *T. harzianum* فقد ازداد الوزن الجاف للغزل الفطري له بوجود المبيد عند التركيز 0.1 ، 0.3 جزء في المليون على التوالي ، في حين لم يتاثر الوزن الجاف له عند التركيزالمبدئي يوم الرش الذي هو 0.5 جزء في المليون حيث بقى الوزن كما هو عليه وهذا ربما يرجع الى قابلية اكبر لهذا الفطر على أستغلال المبيد نوكوز كمصدر كاربون وفسفور وطاقة . كما يلاحظ من الشكل (5) أن الوزن الجاف للغزل الفطري للفطر *F. solani* قد قل بوجود المبيد نوكوز ولجميع التراكيز وقد بينت الطرائق الاحصائية وجود فروق معنوية بين الفطريات تحت الدراسة والمبيد نوكوز (جدول 4) وعند مقارنة الوزن الجاف للغزل الفطري للفطريات *A.niger*، *R. stolinifer* ، *T. harzianum* بوجود المبيد دايازينون و نوكوزفانه لم تبين الطرائق الاحصائية وجود فروق معنوية جدول (5)، في حين بينت الطرائق الاحصائية وجود فروق معنوية طفيفة بين تراكيز المبيدين ، وكذلك وجدت فروق معنوية طفيفة بين الفطريات قيد الدراسة وتراكيز المبيدن ، بينما وجدت فروق معنوية كبيرة جدا بين هذه الفطريات وتراكيز المبيدين مع الفترة الزمنية جدول (6) ، كما يبين الشكل (6) تحولات المبيد ديازينون بواسطة الفطريات *A.niger*، *R. stolinifer* ، *T. harzianum* ، *F. solani* في الوسط الزرعي السائل وباستخدام مطياف *الاشعة* تحت الحمراء (IR) ، يلاحظ من الشكل تغير واضح قي تركيب المبيد مقارنة مع المادة القياسية (Standard) ، شكل (7) ، حيث يبين الشكل (6) قيم امتصاص واضحة لهذه الفطريات باستثناء الفطر *F.solani* حيث لم يظهرقدرة أو قابلية على التحليل ، من هذه النتجة نستنتج ان للفطريات الثلاثة الاولى القابلية على استغلال هذا المبيد مصدرا للكربون والفسفور والطاقة مما سببت هذه الفطريات تغيرا في تركيب المبيد في الوسط الزرعي السائل . كما يبين الشكل (8) قدرة الفطريات *A.niger* ، *R. stolinifer* ، *T. harzianum* على تحويل المبيد نوكوز الى مركبات أخرى وذلك من خلال ملاحظة التغير في طيف المبيد القياسي شكل (9) ، حيث يبين الشكل قيم امتصاص واضحة لهذه الفطريات باستثناء الفطر *F.*solani حيث لم يظهر قدرة أوقابلية على التحليل من هذه النتيجة نستنتج ان للفطريات الثلاثة الاولى القابلية على استغلال هذا المبيد مصدرا للكاربون والفسفور والطاقة وهذا ما اكدته بعض البحوث حيث بين (الكسندر ،1982) ان المرحلة الاولى من مراحل تمثيل المركبات العطرية احداث تحويرات أو ازالة المجموعات المتصلة على حلقة البنزين حيث يحدث اولا أقصار طول السلسلة الاليفاتية وينتج عنها مركبات ينقصها ذرة واحدة أو ذرتين من الكربون ، كما وجد (Flashinski and Lictenstenin ,1974) ان الفطريات *Mucor plumbeus* و *Rhizopus arrizus* فعالة جدا في تحطيم

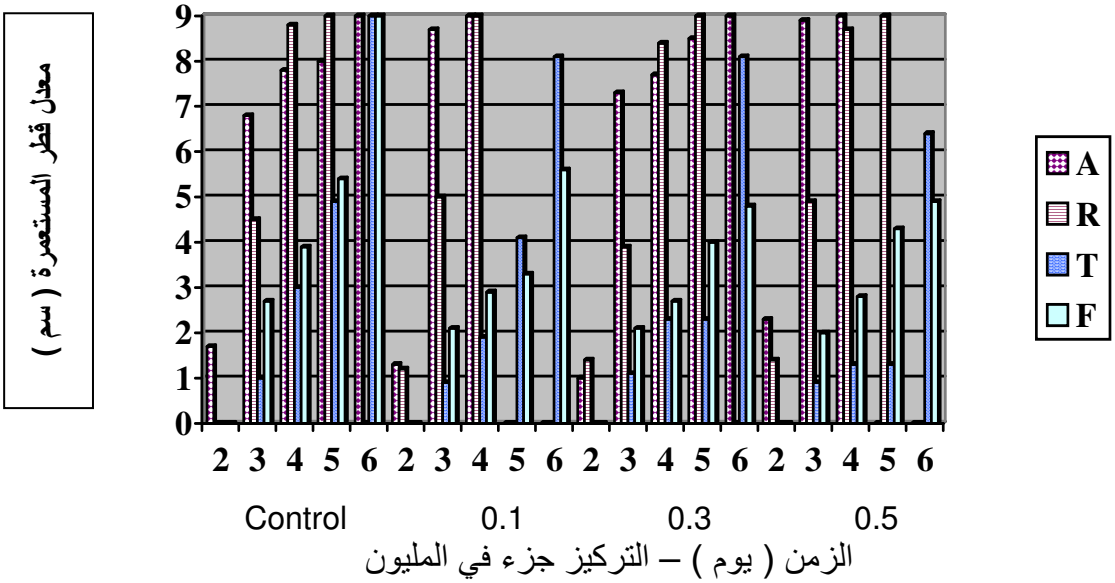
المبيد Fonofos (Dyfonate) أما (Moustafa et.al.,1972) وجماعته فأشاروا الى أن الفطر *A.niger* يحول الملاثيون (Malathion) الى ملاكسون (Malaxon) وملاثيون احادي الحامض (Malathion mono acid) وثنائي الحامض (Malathion Di acid) . كما ذكر (Tu et.al.,1968) ان الاحياء المجهرية في التربة بضمنها *Aspergillus.sp* حولت الالدرين (Aldrin) الى دايلدرين (Dialdrin) . كما بين (Lyengar and Rao ., 1973) عند دراستهما معدل تلاشي الكلوردين والهيبتاكلور باستخدام مزرعة من الفطر *A.niger* أن هذه المركبات يمكن أن يستغلها الفطر مصدرا للطاقة، في حين وجد (الجوهري ، 2001) عند دراسته معدل تلاشي المبيد فنتراثايون (Fenitrathion)باستخدام مزرعة من الفطر*A .niger* و *T.lignorum* ، أن هذا المبيد قد تحول الى مركبات اخرى نتيجة استغلاله من قبل هذين الفطرين مصدرا للكاربون الطاقة . كما وجد الباحث (الجوهري ،2001) أن الفطريات *A.niger* و*R.stolinifer* و *T. harzianum* انها استطاعت تحويل المبيد ديازينون الى مركبات اخرى ، بينما لم يظهر الفطر *F.solani* قابلية على التحليل كما وجد (الجوهري ، 1998) أن الفطريات *A.niger* و *R. stolinifer* و *T.lignorum* و *Penicillium sp* والفطر المائي *Achlya prolifera* أستطاعت ان تحول المبيد بروبانيل Propanil الى المركب (DCA)3,4-dichloroaniline مختبريا . وفي هذا الاتجاه اشار (Hsu and Bartha , 1979) الى ان مدة بقاء المبيد Diazinon وParathion تكون اطول تحت الظروف المختبرية ، بينما يكون معدل تلاشي هذين المبيدين كبير تحت الظروف الحقلية وقد أعطى تفسيرا لذلك وهو أن المبيد في الحقل يكون عرضة للتبخر (evaporation) والغسل (leaching) والتحلل الضوئي (photo degradation) . كما ان خطوات التحلل الميكروبي (Microbial degradation) للمبيد Diazinon عرفت من قبل العديد من الباحثين منهم (Partach , 1974، Gunner et.al.,1966 ،Getzin,1967 ، Munnecke and Hsieh,1976 ، Rajaram and Sethunathan,1975، Sethunathan and Pathak,1973، Sethunathan and Pathak,1971، Racke,1992 ،Dumas et.al.,1989، Chen-Goodspeed ، Cho et.al.,2002 . (Eelu et.al.,2005،et.al.,2001



شكل (2) تأثير المبيد ديازينون على الفطريات *Aspergillus niger* ، *Trichoderma harzianum ,Rhizopus stolinifer*، *Fusarium solani* في الوسط الصلب .

A : *Aspergillus niger* , R: *Rhizopus stolinifer*

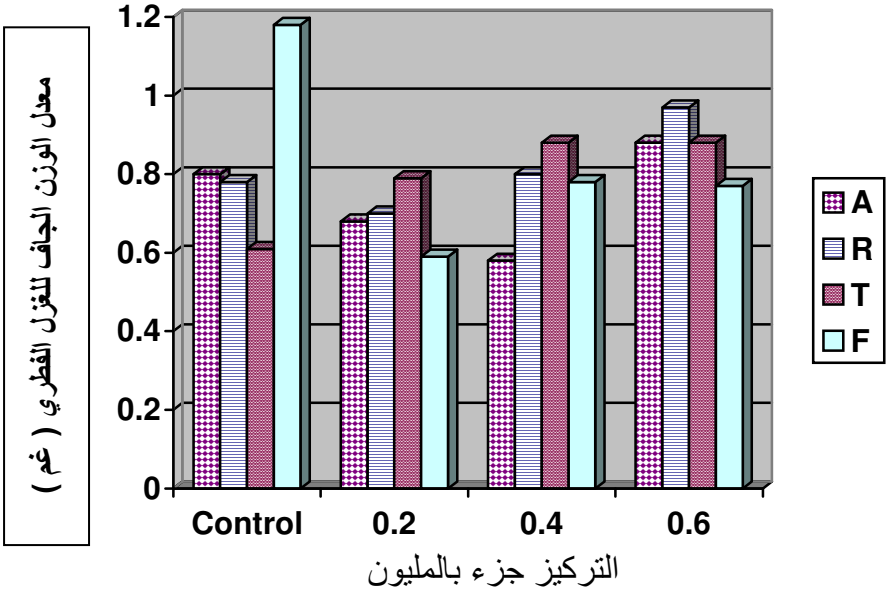
T : *Trichoderma harzianum* , F : *Fusarium solani*



شكل (3) تأثير المبيد نوكوز على الفطريات *Aspergillus niger* ، *Trichoderma harzianum* ،*Rhizopus stolinifer* ،*Fusarium solani* في الوسط الصلب .

A : *Aspergillus niger* , R: *Rhizopus stolinifer*

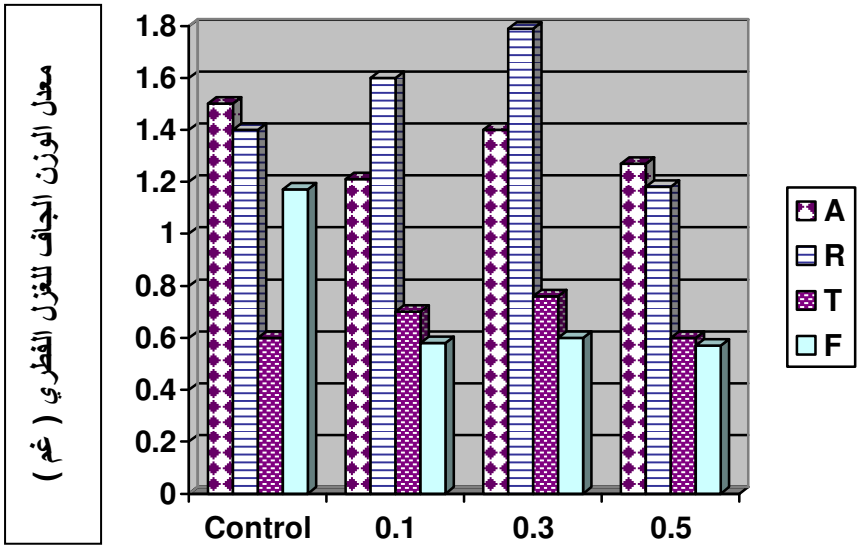
T : *Trichoderma harzianum* , F : *Fusarium solani*



شكل (4) تأثير المبيد ديازينون على الوزن الجاف للفطريات *Aspergillus niger* ، *Rhizopus stolinifer* ،*Trichoderma harzianum* ،*Fusarium solani* في الوسط السائل في اليوم السابع بعد المعاملة .

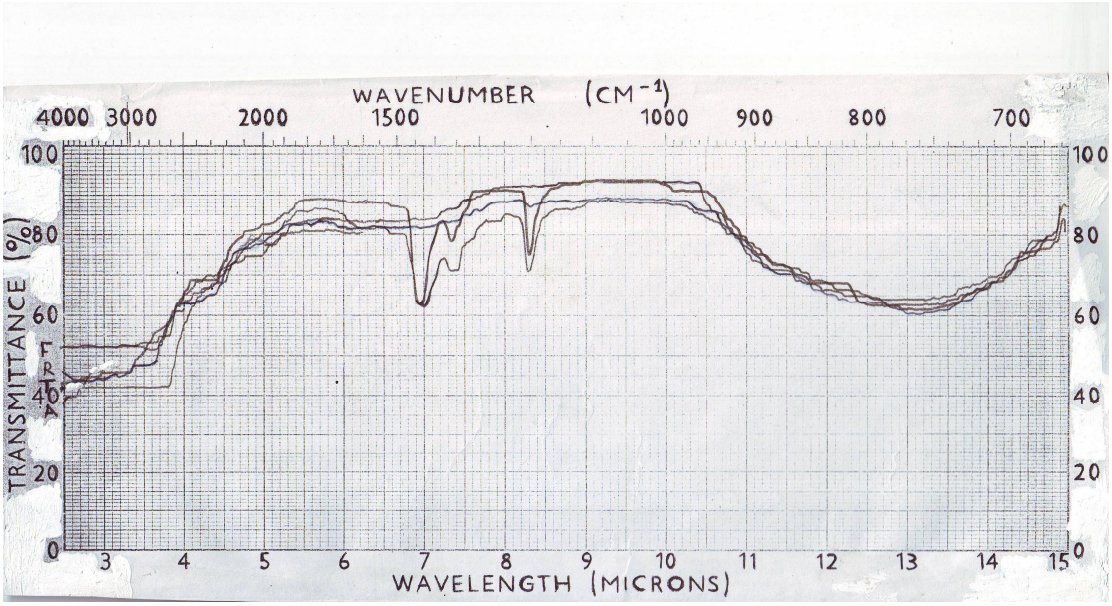
A : *Aspergillus niger* , R: *Rhizopus stolinifer*

T : *Trichoderma harzianum* , F : *Fusarium solani*

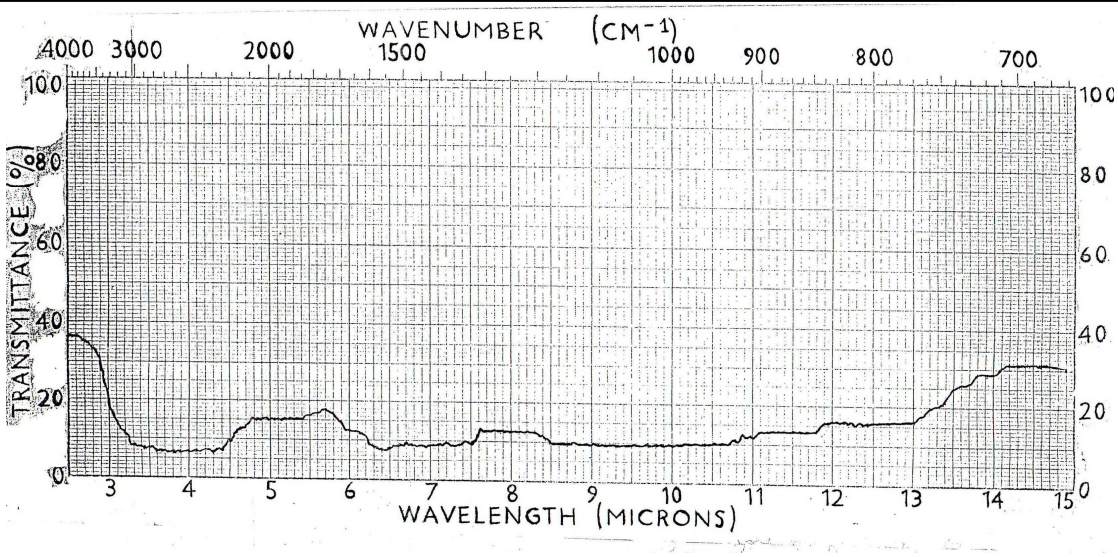


شكل (5) تأثير المبيد نوكوز على الوزن الجاف للفطريات *Aspergillus niger* ، *Rhizopus stolinifer* ,*Trichoderma harzianum* ، *Fusarium solani* في الوسط السائل في اليوم السابع بعد المعاملة .

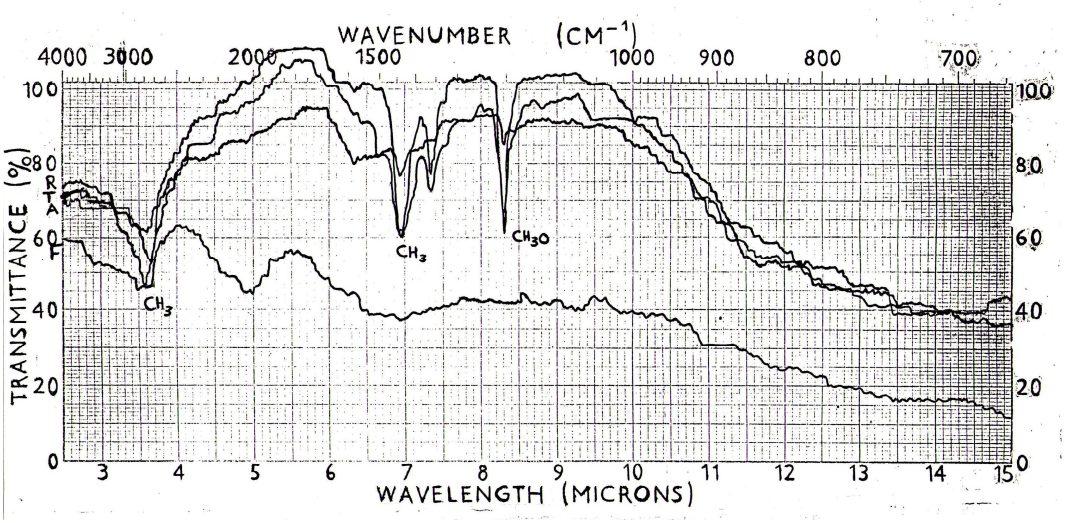
A : *Aspergillus niger* , R: *Rhizopus stolinifer*
T : *Trichoderma harzianum* , F : *Fusarium solani*



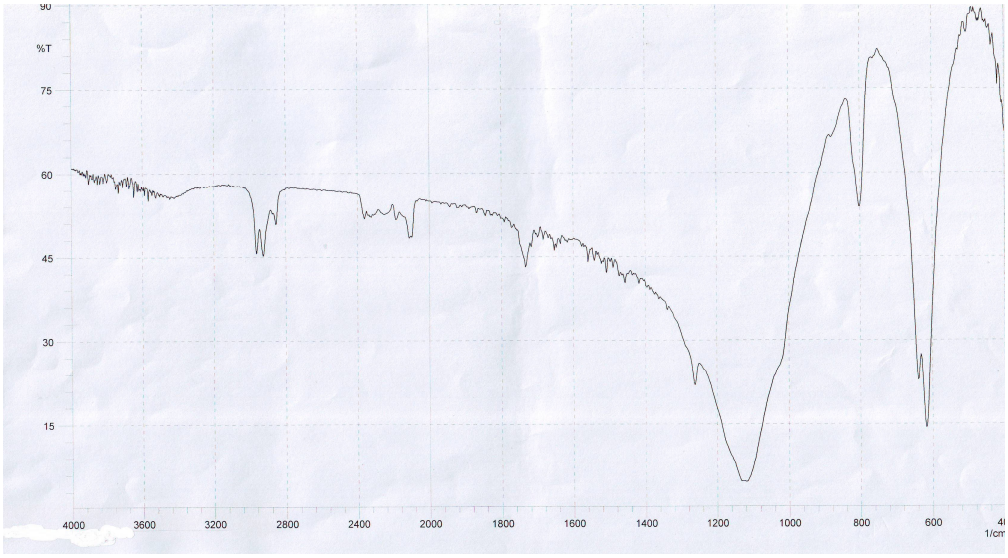
شكل (6) تحولات المبيد ديازينون بواسطة الفطريات *A.niger* و*R.stolinifer* و *T.harzianum* و *F.solani* في الوسط الزرعي السائل باستخدام تقانة مطياف الاشعة تحت الحمراء (IR) .



شكل (7) المبيد ديازينون القياسي باستخدام تقانة مطياف الاشعة تحت الحمراء .



شكل (8) تحولات المبيد نوكوز بواسطة الفطريات *A.niger* و*R.stolinifer* و *T.harzianum* و *F.solani* في الوسط الزرعي السائل باستخدام تقانة مطياف الاشعة تحت الحمراء (IR) .



شكل (9) المبيد نوكوز القياسي باستخدام تقانة مطياف الاشعة تحت الحمراء .

جدول (1) تحليل التباين لمقارنة نمو الفطريات في الوسط الصلب في تراكيز مختلفة من المبيد ديازينون مع الفترة الزمنية .

S.O.V	df	S.S	M.S.E	F(cal)	F(tab)
A	3	309.7568	103.2523	4.006824	5.41
B	3	980.6934	326.8978	7.415851**	<= 3.71
C	4	77.29297	19.32324	1.387385	6.39
AB	9	306.333	34.03703	2.800983	<=2.36
AC	12	46.60669	3.883891	0.3196141	~1.91
BC	12	266.3489	22.19574	1.826537	<= 2.21
ABC	36	437.4653	12.15181	13.70434***	<= 2.4
Error	160	141.874	0.8867127		
Total	239	2566.371			

Significant $p < 0.05$

جدول (2) تحليل التباين لمقارنة نمو الفطريات في الوسط الصلب في تراكيزمختلفة من المبيد نوكوز مع الفترة الزمنية .

S.O.V	d.f	S.S	M.S.E	F (cal)	F (tab)
A	3	324.6047	108.2016	3.231732	4.76
B	3	1071.703	357.2344	6.452206**	3.49
C	4	90.89771	22.72443	1.246912	5.19
AB	9	368.4065	40.93406	3.640055*	<=2.36
AC	12	45.50854	3.792379	0.3372368	~1.91
BC	12	308.1316	25.67763	2.28338	<=2.21
ABC	36	404.8362	11.24545	14.13061***	<=2.4
Error	160	127.3315	0.7958221		
Total	239	2741.42			

Significant $P<0.05$

جدول (3) تحليل التباين لمقارنة الوزن الجاف للغزل الفطري للفطريات *A.niger* و *R.stolinifer* و*T. harzianum* و*F. solani* في اليوم السابع بعد المعاملة بتراكيز مختلفة من المبيد ديازينون .

S.O.V	df	S.S	M.S.E	F (cal)	F (tab)
A	3	0.054756	0.018252	0.102521	3.86
B	3	0.25649	0.085497	0.480228	3.86
AB	9	0.702385	0.078043	0.438361	2.19
Error	32	5.697067	0.178033		
Total	47	6.710698			

Significant $p < 0.05$

جدول (4) تحليل التباين لمقارنة الوزن الجاف للغزل الفطري للفطريات *A.niger* و *R.stolinifer* و*T. harzianum* و*F. solani* في اليوم السابع بعد المعاملة بتراكيز مختلفة من المبيد نوكوز .

S.O.V	d.f	S.S	M.S.E	F(cal)	F(tab)
A	3	6.613906	2.204635	8.605414**	3.86
B	3	0.546206	0.182069	0.710674	3.86
AB	9	1.122552	0.124728	0.486854	2.19
Error	32	8.198133	0.256192		
Total	47	16.4808			

Significant $P<0.05$

جدول (5) تحليل التباين لمقارنة الوزن الجاف للغزل الفطري للفطريات *A.niger* و *R.stolinifer* و*T. harzianum* و*F. Solani* في الوسط الزرعي السائل في اليوم السابع بعد المعاملة بتراكيز مختلفة من المبيد ديازينون و نوكوز .

S.O.V	df	S.S	M.S.E	F(cal)	F (tab)
A	3	8.314407	2.771469	62.4555	216
B	3	0.1813965	0.0604655	0.2541773	19.2
C	1	0.2730713	0.2730713	0.9793684	10.1
AB	9	0.4219666	4.6885E- 02	0.5190315	3.18
AC	3	0.2634659	8.7822E- 02	0.9722129	3.68
BC	3	0.8440018	0.2813339	3.114443	3.68
ABC	9	0.1829883	9.03320E- 02	0.4160609	<= 2.59
Error	64	13.8952	0.2171125		
Total	95	25.0065			

Significant $p < 0.05$

جدول (6) تحليل التباين لمقرنة نمو الفطريات في الوسط الصلب في تراكيز مختلفة من المبيد ديازينون و نوكوز مع الفترة الزمنية .

S.O.V	df	S.S	M.S.E	F (cal)	F(tab)
A	1	22.3628	22.3628	6.099935	161
B	3	629.5908	209.8636	4.245127	216
C	3	2024.78	674.9266	6.683182*	5.41
D	4	166.8838	41.72095	1.380175	9.12
AB	3	4.770996	1.590332	0.2789071	4.35
AC	3	27.61621	9.205403	1.407855	4.35
AD	4	1.307129	0.3267822	0.2904066	225
BC	9	617.7593	68.63992	2.577096	3.29
BD	12	81.10156	6.758463	0.3184761	244
CD	12	553.4292	46.1191	2.090825	8.74
ABC	9	56.97998	6.331109	4.092874*	<= 2.59
ABD	12	11.01318	0.9177653	0.593308	<= 2.48
ACD	12	21.05225	1.754354	1.134138	<= 2.48
BCD	36	786.6128	21.85036	14.12561***	<= 2.21
ABCD	36	269.2119	0.8412873	1.838684	<= 2.4
Error	320				
Total	479	5330.159			

Significant $p < 0.05$

المصادر

الجوهري ، احسان فليح (2001) . دراسة تأثير المبيد الحشري فنتراثايون (سومثيون) على بعض فطريات التربة في حقول محافظة القادسية . مجلة القادسية للعلوم الصرفة . المجلد 6 ، العدد 1.

الجوهري ، إحسان فليح (2001) . تأثير المبيد الحشري دايازينون على بعض فطريات التربة مختبريا . مجلة القادسية للعلوم الصرفة . المجلد 6 ، العدد 1.

الجوهري ، إحسان فليح (1998) . دراسة عن مصير المبيد بروبانيل في حقل رز محافظة القادسية وتأثيره على بعض أحياء مجهرية الماء والتربة . أطروحة دكتوراه كلية العلوم – الجامعة المستنصرية .

الكسندر، مارتن (1998) . مقدمة في ميكروبيولوجيا التربة . الطبعة الثانية . دار جون وايلي . نيويورك .

سالم ،كمال سلطان محمد (2004) . مبادىء علم الاحصاء ،الطبعة الاولى، الدار الجامعية 250- 254.

شريف ، محمد فياض (2012) . بيئة الفطريات . سلسلة اساسيات الفطريات .الطبعة الاولى ، بيروت . لبنان . 539- 541 .

Chen- Goodspeed, M. , Sogorb, M.A ., Wu, F.Y. and Raushel , F.M. (2001) . Structural determinates of substrate and sterochemical of organophostriesterase . Biochemistry . 40: 1325- 1331

Cho, C.M. ; Mulchandani , A. and Chen , W .(2002) Bacterial cell Surface display of organophosphorus hydrolase for selective screening of improved hydrolysis of organo- phosphate nerve agent . APPI.Environ . MicrobioI . 68: 2026- 2030 .

Dumas , D.P.; Caldwell , S.R. ; Wild , J. R . and Raushel , F. M . (1989) Purification properties of the phosphotriesteras from Pseudomonas diminuta . J. BioI . Chem. 264: 19659- 19665.

Eelu, A .; Huimin , Z . and Jeffrey , P .O . (2005) Recent advances in the bioremediation of persistent organic pollutants via bimolecular engineering.

Moustafa , I.Y . (and others) . (1972) . Metabolism of organo-phosphou Rs insecticide XIV , Malathion break down by soil fungi .Z Naturefrosh .27(b). 1115- 1116 . (Cited in Ann. Rev. EntomoI. 22: 483- 513, 1977) .

Munnecke , P .M ., and Hsieh , D .P . (1976) . Pathways of microbial metabolisms of parathion . APPI . Environ .MicrobioI .31 : 63-69.

Partach , E .(1974) . Diazinon . I I . Residues in plants , soil and water . Residue Rev . 51: 37-68 .

Racke , K.D. (1992) . Degradation of organophosphorus insecticides in environmental matrices , in organophosphates , chemistry , Fate and effects. Academic press. New York . pp. 47- 73 .

Rajaram , K .P . and Sethunathan , N. (1975) . Effect of organic sources on the degradation of parathion in flooded alluvial soil . Soil Sci .119: 296- 300 .

Sethunathan, N., and Pathak,M.D. (1971) Devolopment of adizinon degrading bacterium in paddy water after repeated applications of diazinon . Can . J . microbioI . 17 : 699- 702 .

Sethunathan ,N., and Pathak, M.D.(1973).Microbial degradation of Insecticides in flooded soil and in anaerobic cultures . Residue Rev . 47 : 143- 165 .

Smith, N.R.; Dawson, V.T. and Wenzel ,M.E.(1945).The effect of cert- ain herbicides on soil Microorganisms proc.Soil Sci .Soc.Am.10. 101-197.(C.F.) Enzyme and Microbial Technology . 37 : 487- 496 .

Flashinski , S.J., and Lictenstenin , E.P.(1974). Metabolism of Dyfonate by soil fungi . Candian.J. Microbiology. 20: 399- 411 .

Getzin , L .W. (1967) . Metabolism of diazinon and zinophos in soils. J.Econ , EntomoI .60: 505 – 508 .

Gunner , H .B .(and others) . (1966) . The distribution and persistence of Diazinon applied to plant and soil and its influence on rizosphere and soil microflora . Plant Soil . 249-264 .

Hsu , T.S. and Bartha , R . (1979) . Mineralization of organophosph - ates . APPI. Environ . MicrobioI . 37 : 36-41.

Lyengar , L., and Rao , A.V.S.P. (1973) . Metabolism of chlordane and Heptachlor by *Aspergillus niger* . J . Gen .APPI.MicrobioI. 19 : 321- 324 . (cited in pesticide microbiology by Hill , I.R. and Wright , S.J.L .1978) .

McCann , A.E . and Cullimore , D.R. (1979). Influence of pesticides on the soil algal flora . Res . Rev . 72: 1-32 .

Millikanm , D. F. and Fields , M.L. (1974) . Influence of some representative herbicides chemicals upon the growth of some soil fungi . Phytopathology . 54 : 910 (Abstr).

Mirjana , C.(and others) . (2010). Toxic effects od diazinon and its Photo degradation products. Toxicology letters: (193). 9-18.

Audus, L.J. Herbicides , Physiology, Biochemistry, Ecology, 2nd edition, V.2.New York: Academic press.

Tigini, V., Prigioni , V. ;Di Toro, S.; Fava,F. and Varese , G.C. (2009) . Isolation and characterization of polycloronated biphe-nyl (PCB) degrading fungi rom a historically contaminated soil . Microbial Cell Factories, 8:5 .

Tu, C.M. (and others) . (1968). Soil microbial degradation of Aldrin. Life Sci .7: 311- 322 . (cited in pesticide microbiology by Hill , I .R. and Wright .S.J.L. 1987).

Vasic,M.V.(and others). (2008). ATPases as the target enzyme for Organic and inorganic compounds . Sensors(8).8321-8360.

Wright ,S.J.L. Stainthorpe , A.F. and Downs , J.D.(1977). Interactions the herbicide propanil and metabolite 3,4-dichloroaniline with blue –green algae. Acta- phytopathoI. Hunge , 12 , 51-60

A Comparative Study to Measure the Insecticides Diazinon and Vapona (Nogos) on Some Soil Fungi in Vitro

Ihsan Flaih Hassan
Marshes Research Center – University of Thi- Qar

Abstract

Four fungi ,have been isolated from the rhizosphere of *Viccia faba* in the AL-Qadisiya District fields , were selected for their variable resistance to toxic insecticide Diazinon at the range of (0.2 , 0.4 and 0.6)ppm concentration where the (0.6) ppm concentration represents to the initial concentration in the field soil . Another Nogos insecticide have been Studied at the range of (0.1, 0.3 and 0.5) ppm concentration where the (0.5) ppm concentration represents the initial concentration in the field soil . These fungi were *Aspergillus niger* , *Rhizopus stolinifer* (high tolerance) , *Trichoderma harzianum* (moderate tolerance) , *Fusarium solani* (Low tolerance) .

The inhibition percent age of *T. harzianum* reaches to (18.8%) , (16.6%) with Diazinon on solid media in (0.2 and 0.4) ppm concentration , but the inhibition percent age of *Fusarium solani* reaches to (22.2 %) , (11.1%) In (0.4 and 0.6) ppm concentration .

The inhibition percent of *T.harzianum* reaches to (28.8%) with insecticide Vapona (Nogos) on solid media in (0.5) ppm concentration , but the the inhibition percent age of *F.solani* reaches to (45.5%) in (0.5) ppm concentration and (36.6%), (46.6 %) in (0.1 and 0.3) ppm concentration . The results have shown that *A.niger* , *R. stolinifer* and *T. harzianum* are able to convert these insecticide to other compounds in laboratory , but *F. solani* dose not convert these insecticides .

Key words : Insecticides , Diazinon , Nogos , Fungi of Soil