التأثير التطفيري للمبيدين الفطريين Rizolex و Topsin-M في كونيدات الفطر *Aspergillus amstelodami*

ميادة احمد الطائي ، ساهي جواد ضاحي

قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق

الملخص

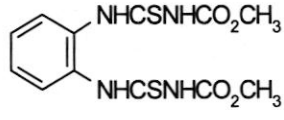
هدفت الدراسة للتحري عن قدرة المبيدين الفطريين Topsin-M و Rizolex على حث طفرات مقاومة للنظير القواعدي السام 8-azaadenine (*aza*) في كونيدات الفطر *Aspergillus amstelodami* .ولهذا الغرض فقد جرى اختبار قدرة ثلاث تراكيز من كل مبيد تحت قاتلة عند (0.5,0.3,0.1 مايكروغرام/مل) من المبيد Rizolex وعند (0.14,0.1,0.07 مايكروغرام /مل) من المبيد Topsin-M على حث الطفرات المقاومة. أستخدمت طريقتان لاختبار القدرة التطفيرية : طريقة المعاملة المسبقة و فيها تعامل الكونيدات لفترة محددة بمحلول المبيدات قبل أن تزرع على الوسط الأنتخابي (الحاوي على AZA) وطريقة التضمين في الطبق حيث يضاف المبيد والمادة الأنتخابية في وسط النمو .وعدت المستعمرات النامية على الوسط الأنتخابي طفراتمقاومة وجرت مقارنة تكراراتها مع تكراراتها التلقائية او مع تكراراتها من المطفر المعلوم UVC . وفي جميع الحالات لم يختلف تكرار الطافرات المقاومة المستحثة بالمبيد اختلافاً معنوياً عن تكراراتها التلقائية.

المقدمة

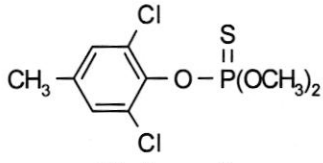
تلعب مبيدات الفطريات دورا هاما في مكافحة الآفات الزراعية وزيادة الانتاج ووفرته مما انعكس على رفاه الانسان الاقتصادي [2],[1]. ولكون غالبية المبيدات هي مواد كيمياوية تتميز بميزتين اساسيتين هما سهولة الاستعمال وسرعة التأثير على الآفة فقد انتشر استعمالها (المبيدات) انتشاراً كبيراً وغير محسوب في كثير من الاحيان مما ادى الى ترسبها وانتشارها الى كثير من مفاصل الحياة اليومية للانسان من خلال الغذاء او الماء او الهواء مما ادى الى ظهور العديد من التأثيرات السلبية على صحة الانسان سواء كانت حادة كالتشوهات والوفيات او تأثيرات مزمنة التي تظهر في أجيال لاحقة كالتأثيرات الوراثية [4],[3]. ومن المعروف ان المواد الكيمياوية عادة تحدث تغيرات أو تعديلات وراثية عند مستويات تعرض تحت سمية (Sub toxic) مما يسبب للكائن حدوث تغير في الصفات الوراثية وهذا ما يعرف بالتسمم الجيني (Genotoxic) فالمواد التي تمتلك هذه الخاصية تتميز بخواص كيمياوية وفيزياوية تمكنها من التفاعل مع الاحماض النووية [3] .

يعد الأختبار الذي طوره الباحث Ames في سبعينيات القرن الماضي الذي يعتمد على استخدام بكتريا *Salmonella* من اوسع الاختبارات انتشارا للتحري عن التأثيرات التطفيرية وبالتالي المسرطنة Carcinogensis للمواد الكيمياوية بصورة عامة [6],[5]. كما ان نظام الفطر *Aspergillus* بوصفه كائناً مجهرياً حقيقي النواة، يعد كذلك من الانظمة الواسعة الاستخدام لدراسة التأثيرات الوراثية للمواد الكيمياوية ليس من ناحية الطفرة النقطية كأختبار Ames فقط وانما لدراسة التأثيرات الوراثية الأخرى كالتشوهات الكروموسومية مما يجعله أقرب الى الأنسان من بكتريا السالمونيلا [7].

ان المبيدين الفطريين Topsin-M و Rizolex يستخدمان كمبيدات علاجية أو وقائية للنبات ضد انواع مختلفة من الاصابات الفطرية في النباتات إذ يستخدم Rizolex (Tolclofos Methyl) كمبيد غير جهازي للسيطرة على الاصابات الفطرية وخاصة فطر *Rhizoctonia* على انواع مختلفة من الخضراوات والمحاصيل الاقتصادية ونباتات الزينة ويعود إلى مجموعة (Aromatic Hydrocarbon (Chlorophenyl) [8]. أما المبيد Topsin-M (Thiophanate Methyl) فهو مبيد جهازي يعود لمجموعة (Benzimidazole) ويستخدم للسيطرة على الامراض الفطرية على الحبوب والمحاصيل الاقتصادية والفاكهة ونباتات الزينة اذ يستخدم كبديل للبينوميل (Benomyl) ويعد حديث الاستعمال مقارنة بالبينوميل إذ طرح للاستعمال في بداية السبعينات من القرن الماضي [9],[8]. ويوضح الشكل (1) الصيغة التركيبية للمبيدين الفطريين Topsin-M و Rizolex .



المبيد Topsin- M



المبيد Rizolex

الشكل 1: الصيغة التركيبية للمبيدين الفطريين Rizolex و Topsin-M عن: [8]

ويهدف البحث الحالي لاختبار بعض التراكيز تحت السامة من كلا المبيدين على قدرتهما على حث طفرات نقطية مقاومة للعقار السام 8-azaadenine في كونيدات الفطر الكيسي *Aspergillus amstelodami*.

طريقة العمل

كائن الاختبار:

استعملت في الدراسة الحالية السلالة A1 البيضاء الكونيدات (*wA1*) من الفطر *Aspergillus amstelodami* والمبين اصلها في [10] والتي زودنا بها مشكوراً Dr.C.E.Caten من قسم الوراثة في جامعة برمنگهام / انكلترا .

اوساط الزرع وظروف التنمية :

استعمل في الدراسة الوسطان الزرعيان ، الوسط الاساس Minimal medium (M) يضاف اليه مواد الاختبار المعينة .و وسط مستخلص الشعير–ملح الطعام Malt extract-Salt medium (MTS) المضاف اليه محلول الاضافة الكاملة (Complete supplement (C)) بتركيز 5% (حجم/حجم) للحصول على اكبر عدد من الكونيدات ، وللحصول على مستعمرات منفردة اضيف الى الوسط الغذائي (M) الملح ((Sodium deoxycholate (D) بتركيز نهائي قدره 400 مايكروغرام/مل من الوسط الزرعي وبذلك يرمز للوسط الناتج MD وكل الاوساط وظروف الزرع المتبعة هي تلك الموصوفة في **[10]**.

المحلول الخزين لنظير الادنين 8-Azaadenine:

حضر المحلول الخزين للنظير 8-azaadenine بنفس طر يقة تحضير المحلول الخزين للنظير 8-azaguanine الواردة في [11] وذلك باذابة 0.25 غرام من مسحوق 8-azaadenine المجهز من شركة (Fluka) السويسرية باقل كمية ممكنة من محلول هيدروكسيد الصوديوم NaOH (1N) ثم اكمل الحجم إلى 100 مل بالماء المقطر وعقم المحلول بالموصدة وحفظ بعد التعقيم بالثلاجة لحين الاستعمال.

مصدر الاشعاع:

استعمل مصباح UV مجهز من شركة Philip Harris الانكليزية وهو من نوع Scottish Science 189 NOP اذ يعطي معظم اشعته بطول موجي 253.7 نانوميتر حسب توصيف الشركة المصنعة للحصول على الاشعة فوق البنفسجية قصيرة الموجة (UVC).

المبيدات:

اولا: المبيد الفطري توبسين – م (Topsin-M):

استعمل المبيد الفطري Topsin-M المجهز بهيئة مسحوق قابل للبلل من شركة نيبون–سودا (Nippon-Soda) اليابانية والمتوفر في السوق المحلية ، والحاوي على المادة الفعالة (active ingredient) Thiophenate-methyl بتركيز 70% . حضر عالق خزين للمبيد بتركيز نهائي 70مايكروغرام مادة فعالة/مل، بإذابة 0.01 غرام من المبيد في 100 مل ماء مقطر معقم تحت ظروف معقمة وحفظ بدرجة 4°م مع مراعاة رج العالق رجا جيدا قبل استخدامه.

ثانياً: المبيد الفطري رايزولكس (Rizolex):

استعمل المبيد الفطري Rizolex المجهز بصورة مسحوق قابل للبلل من شركة (Sumitomo chemical Co.) اليابانية الحاوي على المادة الفعالة Tolclofos-methyl بتركيز 50% جرى تعليق 0.01 غرام من المبيد في 100 مل ماء مقطر معقم وفي ظروف معقمة للحصول على عالق خزين بتركيز 50 مايكروغرام/ مل وحفظ العالق في الثلاجة لحين الاستعمال.

تحديد التأثير التثبيطي للمبيدين على نمو السلالة A1 :

اعتمدت طريقة الوخز (Point inoculation) لتحديد شدة تثبيط المبيدين لنمو السلالة A1 وذلك بعمل ثلاث وخزات منها على الوسط الزرعي M بدون اضافة (السيطرة Control) كذلك وسط M مضافاً اليه تراكيز متسلسلة من المبيدين . حضنت اطباق الاختبار لمدة اربعة ايام عند حرارة 30 °م . بعد انتهاء فترة التحضين جرى قياس اقطار المستعمرات النامية على كل طبق من اطباق السيطرة ومعاملات المبيدات وسجلت اقطار المستعمرات المقاسة بالسنتيمتر وحسبت النسبة المئوية لتثبيط النمو القطري للمستعمرة وفقاً لمعادلة [12]:

$$\text{نسبة المئوية لتثبيط النمو القطر ي للمستعمرة} = \frac{\text{متوسط قطر المستعمرة بدون المبيد– متوسط قطر المستعمرة على وسط المبيد}}{\text{متوسط قطر المستعمرة بدون المبيد}} \times 100$$

تحضير العالق الكونيدي:

حضر العالق الكونيدي للسلالة A1 من مزرعة حديثة بعمر ثلاثة ايام منماة على الوسط CMTS و العالق الكونيدي غير المخفف الناتج (التخفيف 10^0) يمكن استعماله لاجراء سلسلة من التخافيف العشرية[10].

عزل الطافرات وحساب تكرارها:

استعمل نظام البحث عن الطافرات المقاومة للمادة السامة لعزل الطافرات المحتمل حثها بواسطة المبيدين وذلك بزرع الكونيدات المعاملة اوغير المعاملة بالمبيد على وسط حاوي على المادة السامة الأنتخابية التي تقتل الخلايا البرية غير الطافرة وتبقى الكونيدات التي طفرت إلى حالة المقاومة [13]. استعمل العقار (AZA) 8-azaadenine (وهو نظير سام للقاعدة الطبيعية الادنين Adenine في الDNA بتركيز نهائي 25 مايكروغرام/مل من الوسط الزرعي كمادة سامة لعزل الطافرات التلقائية والمستحثة بتراكيز المبيدين قيد الاختبار اذ وجدنا ان هذا التركيز من AZA يقتل تماماً السلالة البرية A1 .

دراسة التأثير التطفيري للمبيدات:

اعتمدت طريقتان لدراسة التأثير التطفيري للمبيدين وهما طريقة المعاملة المسبقة (Pretreatment method) اذ تجري اضافة المبيد بالتركيز المعين الى العالق الكونيدي لمدة ساعة قبل نشر 0.1 مل منه على كل طبق من الوسط MD الحاوي على AZA والخالي من المبيد. وطريقة التضمين بالطبق (Plate incorporation) اذ ينشر 0.1 مل من العالق مباشرة على كل طبق من الوسط MD الحاوي على المبيد بالتركيز المعين والحاوي في نفس الوقت على المادة الانتخابية AZA [14] وقد جرت دراسة ثلاثة تراكيز متصاعدة من كل مبيد اعتمادا على ما جاء في نتائج تحديد شدة القتل لكل منها. وجميع التراكيز المستعملة كانت من

ISSN:1813 – 1662

التراكيز تحت القاتلة (Sublethal)أي التي اختزلت النمو القطري الى 50% او اقل من نموه بدون المبيد.

السيطرة السالبة :

في كل معاملة كانت تجري عملية زرع من العالق غير المعامل على الوسط MD لوحده لحساب العدد الحي من الكونيدات وكذلك الزرع من العالق غير المعامل على الوسط الأنتخابي (MD + AZA) وذلك لتقدير تكرار الطافرات التلقائية الذي أتخذ أساساً لمقارنة تكرار الطافرات من معاملات المبيدين.

السيطرة الموجبة:

جرى تعريض كونيدات السلالة A1 ايضاً الى مطفر معلوم هو الاشعة فوق البنفسجية قصيرة الموجبة UVC والتي تكون مطفرة للخلايا الحية [15] وذلك للتأكد من ان السلالة المستخدمة (A1) قابلة للطفور بفعل المطفر المعلوم. وجرى التعريض كما جاء في [16].

التحليل الاحصائي:

تم اجراء التحليل الاحصائي للنتائج باستعمال اختبار (*t*) لأربع درجات حرية $t_{(2+2)}$. اذ جرت مقارنة متوسط تكرار الطافرات لكل معاملة لكل مبيد مع متوسط تكرارها التلقائي ومقارنة قيم $t_{(2+2)}$ المحسوبة مع قيمتها الجدولية عند نفس العدد من درجات الحرية لمعرفة مدى معنوية الفرق بينها[17].

النتائج والمناقشة

1- تحديد شدة تثبيط المبيدات للسلالة A1 من الفطر *Aspergillus amstelodami*:

جرى اختبار تراكيز متصاعدة من هذين المبيدين ابتداءً من الصفر (عينة السيطرة) وانتهاءً بتراكيزمختلفة حسب المبيد وبعد انتهاء فترة التحضين تم قياس قطر المستعمرات النامية بوجود التراكيز من المبيدين وحددت النسبة المئوية للتثبيط كما جاء في مواد البحث وطرائقه ويظهر الجدول (1) النسبة المئوية لتثبيط نمو السلالة A1 من الفطر بفعل المبيد Topsin-M فقد تراوحت نسبة التثبيط بفعل المبيد بين 19.13% للتركيز 0.07مايكروغرام /مل و 60.66% للتركيز 0.17 مايكروغرام /مل . أما نسبة التثبيط للمبيد الفطري Rizolex فقد كانت ما بين 13.07% و58.82% للتركيزين 0.1مايكروغرام /مل و 1.5مايكرغرام /مل على الترتيب (الجدول 2).

الجدول 1: أقطار المستعمرات للسلالة A1 من الفطر *A.amstelodami* النامية على وسط M الحاوي على تراكيز مختلفة من المبيد الفطري Topsin-M.

تركيز المبيد الفطري (µg/ml)	متوسط قطر المستعمرات (سم)	% للتثبيط
0.0	1.83	0
0.07	1.48	19.13
0.1	1.28	30.05
0.14	1.07	41.53
0.17	0.72	60.66

الجدول 2 : أقطار المستعمرات للسلالة A1 من الفطر *A.amstelodami* النامية على وسط M الحاوي على تراكيز مختلفة من المبيد الفطري Rizolex.

تركيز المبيد الفطري (µg/ml)	متوسط قطر المستعمرات (سم)	% للتثبيط
0.0	1.53	0
0.1	1.33	13.07
0.3	1.15	24.84
0.5	1.02	33.33
1.0	0.78	49.02
1.5	0.63	58.82

وبناءاً على نتائج التثبيط القطري للمستعمرات فقد جرى أختيار ثلاث تراكيز تحت قاتلة (sublethal) من كل مبيد لدراسة القدرة التطفيرية لكل مبيد في كونيدات السلالة A1 . وكانت هذه التراكيز هي 0.07 ، 0.1 ، 0.14 مايكروغرام/ مل من المبيد Topsin-M (الجدول1) و 0.1 ،0.3، 0.5 مايكروغرام/ مل من المبيد Rizolex (الجدول2).

2- القدرة التطفيرية للمبيدين الفطريين بطريقة المعاملة المسبقة : Pretreatment

جرت معاملة كونيدات الفطر *A.amstelodami* بالتراكيز التحت السامة الثلاثة من كل مبيد لمدة ساعة وهذه التراكيز هي للمبيد الفطري Topsin-M (0.07 و 0.1 و 0.14 مايكروغرام/ مل) وللمبيد الفطري Rizolex (0.1 و 0.3 و 0.5 مايكروغرام/مل) وبعد التحضين تم حساب اعداد الطافرات المقاومة للعقار AZA التلقائية والمستحثة بالمبيدات فضلاً عن المستحثة بأشعة UVC وتم تقدير حجم العشيرة المتوقعة وحساب تكرار الطافرات . كررت العملية ثلاث مرات ثم جرى حساب المتوسط و الخطأ القياسي (Standard error SE) لتكرار الطافرات المقاومة النامية على كل تركيز من المبيدين وكذلك للطافرات التلقائية والطافرات المستحثة بأشعة UVC لكل معاملة . ثم أستخدم اختبار *t* لمقارنة متوسط تكرار الطافرات من كل معاملة مع تكرارها التلقائي .ولم تجر مقارنة لمتوسط تكرار الطافرات من كل معاملة بتكرارها من معاملة الأشعة فوق البنفسجية أذ كان الفرق شاسعاً جداً . وهذه المعاملة ادخلت بالأساس كسيطرة موجبة لتأكيد أن السلالة A1 هي سلالة سليمة وتستجيب للمطفرات المعلومة مثل أشعة UVC. فتبين عدم وجود فروق معنوية ،أذ كانت قيمة *t* الجدولية عند مستوى احتمالية 5% ولأربع درجات من درجات الحرية هي 2.132 اكبر من قيم t المحسوبة المبينة في الجدولين(3) و(4) ،أي ان المبيدين الفطريين وعند التراكيز المدروسة في هذه التجربة لم تعمل على حث الطفور في كونيدات الفطر *A.amstelodami* وهذا قد يعود الى ان مدة تعريض كونيدات الفطر للمبيدات قصيرة وغير كافية لحدوث مثل هذا العطب الوراثي.كما ان مرحلة نمو الخلايا تؤثر بشكل كبير على الفعالية التطفيرية لكثير من المطفرات وخاصة تلك التي يتطلب عملها تأيضاً داخل الخلايا،أي ان الخلايا المنقسمة بشكل فعال تكون اكثر حساسية لتلك المطفرات [18].

الجدول3 : تكرار الطافرات ($\times 10^{-6}$) المقاومة للعقار 8-azaadenine بين كونيدات السلالة A1 للفطر *A.amstelodami* المعاملة بتراكيز مختلفة للمبيد الفطري Topsin-M بطريقة المعاملة المسبقة مقارنة بتكرارها التلقائي.

تركيز المبيد الفطري (µg/ml)	المكررات			(المتوسط ± الخطأ القياسي)$\times 10^{-6}$	قيمة $t_{(4)}$• المحسوبة
	R_1	R_2	R_3		
0.0	2.64	0.36	0.15	0.79 ± 1.05	
0.07	1.94	0.0	0.22	0.61 ± 0.72	0.326
0.1	2.95	0.62	0.12	0.87 ± 1.23	0.152
0.14	3.83	0.0	0.21	1.24 ± 1.35	0.203
UVC	248.31	784.1	677.27	163.73 ± 569.89	

• القيم في هذا العمود تبين قيم t المحسوبة لاربع درجات من درجات الحرية التي تقارن متوسط كل معاملة بمتوسط المعاملة بدون المبيد. قيمة $t_{(4)}$ الجدولية عند مستوى احتمالية 5% هي 2.132.

الجدول 4 : تكرار الطافرات ($\times 10^{-6}$) المقاومة للعقار 8-azaadenine بين كونيدات السلالة A1 للفطر *A.amstelodami* المعاملة بتراكيز مختلفة من المبيد الفطري Rizolex بطريقة المعاملة المسبقة مقارنة بتكرارها التلقائي.

تركيز المبيد الفطري (µg/ml)	المكررات			(المتوسط ± الخطأ القياسي) $\times 10^{-6}$	قيمة $t_{(4)}$• المحسوبة
	R_1	R_2	R_3		
0.0	0.55	1.40	0.77	0.26 ± 0.91	
0.1	0.87	1.57	1.83	0.29 ± 1.42	1.329
0.3	0.45	3.43	2.92	0.92 ± 2.27	1.424
0.5	0.41	3.96	0.78	1.13 ± 1.72	0.701
UVC	248.31	784.1	677.27	163.73 ± 569.89	

• الرمز كما موضح في الجدول (3).

3- القدرة التطفيرية للمبيدات بطريقة التضمين بالطبق Plate incorporation:

اجريت في هذه الطريقة اضافة تراكيز المبيدين قيد الاختبار الى الوسط الزرعي الحاوي على المادة الانتقائية AZA. وبعد انتهاء فترة التحضين جرى تقدير حجم العشيرة المتوقعة وتكرار الطافرات بعدها جرى تحليل النتائج احصائيا باعتماد اختبار *t* عند مستوى احتمالية (5%) وتبين عدم وجود فروق معنوية عند مستوى الأحتمالية هذا اذ كانت قيمة t الجدولية لأربع درجات حرية اكبر من قيم *t* المحسوبة وكما مبين في الجداول (5) و(6) .

الجدول 5 : تكرار الطافرات ($\times 10^{-6}$) المقاومة للعقار 8-azaadenine بين كونيدات السلالة A1 للفطر *A.amstelodami* المعاملة بتراكيز مختلفة للمبيد الفطري Topsin-M بطريقة التضمين بالطبق مقارنة بتكرارها التلقائي.

تركيز المبيد الفطري (µg/ml)	المكررات			(المتوسط ± الخطأ القياسي) $\times 10^{-6}$	قيمة $t_{(4)}$• المحسوبة
	R_1	R_2	R_3		
0.0	0.99	2.00	0.99	0.34 ± 1.33	
0.07	0.49	1.27	0.87	0.23 ± 0.88	1.11
0.1	0.74	0.42	1.18	0.22 ± 0.78	1.22
0.14	1.60	0.21	0.25	0.46 ± 0.69	1.989
UVC	269.76	97.27	152.67	50.85 ± 173.23	

• الرمز كما موضح في الجدول (3).

الجدول 6 : تكرار الطافرات ($\times 10^{-6}$) المقاومة للعقار 8-azaadenine بين كونيدات السلالة A1 للفطر *A.amstelodami* المعاملة بتراكيز مختلفة من المبيد الفطري Rizolex بطريقة التضمين بالطبق مقارنة بتكرارها التلقائي.

تركيز المبيد الفطري (µg/ml)	المكررات			($\times 10^{-6}$) (المتوسط ± الخطأ القياسي)	قيمة $t_{(4)}$• المحسوبة
	R_1	R_2	R_3		
0.0	2.00	0.99	0.74	0.39 ± 1.24	
0.1	2.95	1.86	1.27	0.49 ± 2.02	1.248
0.3	1.43	0.74	1.06	0.20 ± 1.08	0.369
0.5	0.68	1.24	0.74	0.18 ± 0.89	0.826
UVC	269.76	97.27	152.67	50.85 ± 173.23	

• الرمز كما موضح في الجدول (3).

مرة اخرى لم تظهر فروقات معنوية بين تكرار الطافرات المقاومة المستحثة بالتراكيز المختلفة من المبيدين حيث كانت الفروقات غير معنوية كما يظهر من نتائج اختبارات t_4 المبينة في الجدولين 5 و6 .

ومن نتائج التطفير السابقة يتبين ان المبيدين قيد الدراسة ولجميع التراكيز المستعملة غير مطفرة للسلالة A1 من الفطر *A.amstelodami* بطريقتي التطفير المعتمدتين ضمن الظروف التجريبية المتبعة ضمن نظام الكشف المعتمد .ولربما تكون لها تأثيرات وراثية اخرى عدا عن الطفرة الجينية Genic mutation [19].

ففي حالة المبيد الفطري Topsin-M (Thiophanate-methyl) يشير تقرير هيئة حماية البيئة الامريكية [20] إلى عدم توقع حدوث خطورة للمجتمع عموما وحديثي الولادة والاطفال من مجموع التعرض لبقايا مبيد Thiophenate methyl، كذلك تم الحصول على نتائج سالبة من انظمة اختبار داخل الكائن الحي *in vivo* وفي الزجاج *in vitro* خصصت لتقييم الفعاليات التطفيرية Mutagenic والمشوهة للأجنة Teratogenic لهذا المبيد الفطري في القوارض والخلايا حقيقية وبدائية النواة [22],[21].

أما ما يخص المبيد الفطري Rizolex فقد أظهرت النتائج عدم حث الطفور بفعل هذا المبيد في نظام الاختبار المعتمد في الدراسة وتتفق هذه النتائج مع نتائج العديد من الباحثين حول دور هذا المبيد في احداث الطفور بإستعمال انظمة اختبار مختلفة. إذ تشير نتائج تجارب [23] إلى عدم حدوث الطفور بفعل هذا المبيد الفطري بإستعمال بكتريا *Salmonella typhimurium* ككائن اختبار. وقد اعطى هذا المبيد أيضاً نتائج سالبة بإستعمال نظام الطفرة السائدة المميتة(Dominant lethal mutation) في ذكور الجرذان المجرعة بتراكيز مختلفة من المبيد [24].

المصادر

[1] Hrelia, P.; Fimognari, C.; Maffei, F.; Vigagni, F.; Mesirca, R.; Pozzetti, L.; Paolini, M. and Cantelli-Forti, G. (1996). The genetic and non-genetic toxicity of fungicide Vincolozolin. *Mutagenesis, 11*, 445-453.

[2] ابو بكر، صدر الدين نور الدين (2003). الآفات والامراض النباتية، الطبعة الاولى، مطبعة الزراعة، اربيل.

[3] Brusick, D. (1980). *Principles of Genetic Toxicology*. Plenum Press, New York.

[4] Vanderbroght, J.; Tiktak, A.; Boesten, J.J. and Vereecken, H. (2011). Effect of pesticide fate parameters and their uncertainty on the selection of "worst-case" scenarios of pesticide leaching to ground water. *Pest Manage. Sci., 67*, 294-306.

[5] Ames, B.N.; McCann, J. and Yamasaki, E. (1975). Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella*-mammalian microsome mutagenicity test. *Mutat. Res.*, 31,347-363.

[6] Prescott, L.M.; Harley, J.P. and Klein, D.A. (2005). *Microbiology*, 6th. Ed., McGraw-Hill, New York.

[7] Scott, B.R. and Kafer ,E. (1982). *Aspergillus nidulans* :An organism for detecting a range of genetic damage. In: A. Hollaender and F.J. de Serres (eds.). *Chemical Mutagens* , Vol. 7,pp 447-478, Plenum Press, NewYork.

[8] Tomlin, C.D.S. (2001). *The e-Pesticide Manual*. British crop protection council (BCPC).

[9] Wilson, G.W.T. and Williamson, M.M. (2008). Topsin-M; the new benomyl for mycorrhizal-suppression experiments. *Mycologia, 100*, 548-554.

[10] Caten, C.E. (1979). Genetical determination of conidial colour in *Aspergillus heterocaryoticus* and relationship of this species to *Aspergillus amstelodami*. *Trans. Brit. Myco. Soci., 73*, 47-65.

[11] Hoffmann, G.R. and Malling, H.V. (1974). Mutants of *Neurospora crassa* resistant to 8-azaguanine. *J. Gen. Microbiol., 83*, 319-326.

[12] Van Tuyl, J.M. (1977). Genetics of fungal resistance of systemic fungicides. Ph.D. Thesis, Agricultural University, Wageningen, the Netherlands.

[13] Fincham, J.R.; Day, P.R. and Radford, A. (1979). *Fungal Genetics*. Blackwell, Oxford.

[14] Baburdi, N. and Politi, M.G. (1989). Different action of MMS and EMS in UV sensitive strain of *Aspergillus nidulans*. *Mutat. Res., 217*, 211-217.

[15] Auerbach, C. (1976). *Mutation Research, Problems, Results and Perspectives*. Chapman and Hall Ltd. London.

emergency exemptions. *Federal Register, 70*, 14551-14556.
[21] Makita, T. Hashimoto, Y.; Noguchi, T. (1973). Mutagenic, cytogenetic and teratogenic studies on thiophanate-methyl. *Toxicol. Appl. Pharmacol., 24*, 206-215.
[22] Moriya, M.; Ohta, T.; Watanabe, K.; Miyazawa, T.; Kato, K. and Shirasu, Y. (1983). Further mutagenicity studies on pesticides in bacterial reversion assay systems. *Mutat. Res., 116*, 185-216.
[23] Moriya, M.; Ohta, T. and Shirasu, Y. (1981). S-3349, Microbial mutagenicity study. Sumitomo Chemical Co., Ltd. Japan.
[24] Brusick, D.J. (1981). Mutagenicity evolution of s-3349 T.G. Lot No.4, rat dominat lethal assay, sumitomo chemical Co., Ltd. Osaka, Japan.

[16] الجاف ، بهروز محمود (1990) . دراسة وراثية لمقاومة بعض مضادات المايتوز في الفطر *Aspergillus amstelodami* ، رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، جامعة الموصل .
[17] Clark, G.M. (1969). *Statistics and Experimental Design*. Edward Arnold Ltd., London.
[18] Sermonti, G. (1969). *Genetics of Antibiotic-Producing Microorganisms*. John Wiley and Sons Ltd., London.
[19] Venitt, S. and Parry, J.M. (1984). *Mutagenicity Testing: A Practical Approach*. IRL press limited, Oxford, England.
[20] Environmental Protection Agency (2005). Thiophanate - methyl; Pesticide tolerances for

The Mutagenicity of The Fungicides Topsin-M and Rizolex in Conidia of The Fungus *Aspergillus amstelodami*

Mayada A. Al-Taii , Sahi J. Dhahi
Department of Biology , College of Science , Mosul University , Mosul , Iraq

Abstract
The study was aimed to investigating the ability of tow fungicides Topsin-M and Rizolex to induce mutations resistant to the toxic base analogue 8-aza adenine (*aza*) on conidia of the fungus *Aspergillus amstelodami* .Three sublethal concentrations from each Rizolex (0.1, 0.3, 0.5µg/ml) and Topsin-M (0.07, 0.1, 0.14µg/ml) were tested for their ability to induce the AZA mutants. All these concentrations were sublethal. Two processing were used to test the mutagenabilty , the first was pretreatment, where in its were treated the conidia with the fungicide for a fixed time before plating on selective media containing agent (8-azaadenine) ; and plate incorporation where the fungicide and the selective agent were incorporated together in the growth plate .In both processing, the colonies were growing on the selective medium considered resistant and their frequency was compared with the spontaneous frequency and with the frequency induced by the positive mutagen UVC. In all experiments the frequency of the fungicide-induced resistant mutants did not differ significantly from their spontaneous ones.