

تأثير المبيد الحشري ديازينون على البكتريا

*Pseudomonas aeruginosa*

*Vicia faba*

إحسان فليح حسن الجوهري

كلية العلوم - - -

Key word : Insecticide , Bacteria , Metabolites

شملت الدراسة تقدير تأثير المبيد الحشري ديازينون على بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* جذور نبات الباقلاء في حقول محافظة القادسية بتركيزات (0.2 0.4 0.6) جزء في المليون حيث يمثل التركيز (0.6) جزء في المليون التركيز المبدئي يوم الرش . بينت النتائج ان أعداد البكتريا الحية وصلت في معاملة السيطرة الى  $(5.8 \times 10^7)$  ( . . ) / المبيد ديازينون عند التركيز (0.2) جزء في المليون .  $(3.3 \times 10^7)$  ( . . ) التركيز (0.4 0.6) جزء في المليون .  $(3.7 \times 10^8)$  (  $1.1 \times 10^8$  ) ( . . ) التركيز (0.4 0.6) جزء في المليون . كما بينت النتائج قدرة هذه البكتريا على تحويل هذا المبيد مختبريا الى

الحشرة حوالي عشرين نوعا من البقوليات ، حيث تتغذى يرقاتها على البذور في القرينات وهي

مع البذور فتصبح آفة مخزنية . الباقلاء بآفة حشرية اخرى هي خنفساء الباقلاء

*Bruchus rufimanus* Boheman حيث تقوم يرقاتها بالتغذية على البذور في القرينات ثم تنقل البذور المصابة فتصبح آفة مخزنية ، كما يصاب الباذنجان بيرقات الدودة

*Phthorimaea operculella* Zeller وعليه يستخدم المبيد ديازينون بنجاح في القضاء على هذه الآفات في الحقول الزراعية او في المخازن ( 1 ) .

تتعرض البقوليات للاصابة بالعديد من الآفات الحشرية ، منها من الباقلاء الاسود ومن البقوليات

البقوليات (*Lampids boeticus* (L.)

اهم الآفات الحشرية ، حيث ينشأ الضرر من اصابة اليرقة للباقلاء واللوبيا والفاصوليا ف

القرينات حيث تتغذى على البذور والبراعم الزهرية ، كما تعد خنفساء اللوبيا الجنوبية

*Callosobruchus maculatus* (Fabr.)

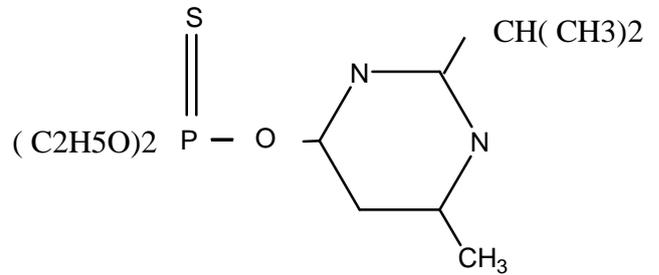
الآفات الحشرية المهمة ، حيث تصيب هذه

Created with

 nitroPDF professional

download the free trial online at [nitropdf.com/professional](http://nitropdf.com/professional)

ونظرا لقلّة الدراسات المتعلقة بالتأثيرات البيئية للمبيدات الحشرية في العراق بصورة عامة ، ولمبيد الـ ديازنون في بكتريا التربة للبكتريا من اهمية في التوازن البيئي ، تأتي هذه الدراسة ضمن هذا الاتجاه لغرض توضيح تأثير هذا المبيد في هذه البكتريا وانعكاس ذلك على البيئي حيث ان أي مبيد كميأوي لاينحصر تأثيره على الكائنات الحية الواقعة ضمن دائرة تأثيره أو مايسد ( Target organism ) بل يتعداه الى كائنات حية أخرى لذا فإن تقييم البيولوجية لأي مبيد كميأوي والكشف والتحري عن تأثيراته الجانبية يضعنا في الجانب الأمين عند استخدامه . ويبين الشكل ( 1 ) التركيب الجزيئي للمبيد ديازينون



1- المواد الكيميائية والايوساط الزراعية :

المواد الكيميائية :

– ان جميع المواد الكيميائية المستخدمة في هذه . Merch BDH

- المبيد ديازينون ( Diazinon ) عليه بشكل مستحلب بنقاوة ( 98% ) المحلية .

الايوساط الزراعية :

1- ( mineral ) (Liquid salts medium

البكتريا ( Focht and Alexander , 1970 ) ويتكون من :

$K_2HPO_4$  , 1.0 g ,  $KH_2PO_4$  , 1.0 g ,  
 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  , 0.41 g ,  $CaCO_3$  , 0.02g ,  
 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  , 0.05 g ,

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

المبيد ديازينون

2- ( Nutrient ) ( agar ) ويحضر باذابة ( 28 )

( 1 ) التركيب الجزيئي للمبيد ديازينون

يمزج جيدا لضمان اذابة كل المسحوق بعدها يتم تسخينه لدرجة الغليان ثم يوضع في المعقم لمدة 15 دقيقة وعلى درجة 121 ° 15

Created with

 nitroPDF professional

download the free trial online at [nitropdf.com/professional](http://nitropdf.com/professional)

48 ° 37

حضنت الانابيب

الحرارة ذاتها لمدة ( 8 – 12 )  
، بعدها نقل هذا اللقاح

<sup>3</sup> (250) <sup>3</sup> (100)

° 35 ( 18 - 12 )

تتكاثر الخلايا وتصل الى منتصف او نهاية

<sup>3</sup> 50

من المزرعة البكتيرية ونقل بطريقة معقمه الى

دوارق حجمية سعة 250 <sup>3</sup> ثم اضيف اليها

المبيد ديازينون بتركيز ( 0.2 0.4 0.6 )

المليون وتم تحضير

هذا التركيز باستخدام قانون التخفيف

$1 \times 2 = 2 \times 1$

المبيد للمقارنة . ثم اعيد الحضان وبالطريقة

ذاتها ، بعد ذلك عملت تخافيف بطرية

serial dilution باستعمال الانابيب

الحاوية على (9) <sup>3</sup>

له (1% ) بيتون ، ثم زرع مليلتر

من كل تخفيف وبطريقة Pour plate count

حسب العدد المايكروبي لكل تخفيف بعد

24 ° 35 .

نفذت هذه التجربة بثلاث مكررات لكل تخفيف .

2 - دراسة النواتج الايضية للمبيد الحشري

ديازينون من قبل بكتريا P. aeruginosa :

3- وسط أكار السترمبايد ( Cetrmide agar )

( ويحضر باذابة ( 45.3 )

في لتر من الماء المقطر وبنفس طريقة تحضير

.

:

تم الحصول على عزلات بكتريا

*Pseudomonas aeruginosa*

نبات الباقلاء في حقول محافظة القادسية حيث

تم تحضير العزلات بزراعة العينات المأخوذة

السترمبايد والذي

يستعمل لتنمية وتمييز بكتريا

*Pseudomonas aeruginosa* ( 2 ) حيث

تتميز المستعمرات المتكونة بشكلها الصغير

وخشونتها ورائحتها التي تشبه رائحة العنب ( 3 )

.

:

1- دراسة تأثير المبيد الحشري يازينون على نمو

البكتريا *P.aeruginosa*

:

حضر وسط معدني خاص بنمو البكتريا )

2 ( Mineral salts medium )

<sup>3</sup> من هذا الوسط في انابيب اختبار معقمة

One loop full )

( بكتريا *P.aeruginosa* )

( Nutrient – agar )



الطبقة العلوية ) قنينة زجاجية اخرى

5 3

ومات عليها حفظت بالمجمدة

( - 18 ° ) لحين اجراء التحليل وقياس مستويات

المبيد .

3 – التحليل باستخدام مطياف الاشعة تحت

: Infrared spectroscopy

تم تحليل العينات ذاتها باستخدام جهاز

( PYE Unicam SP300 ) England IR

تصميم وتحليل التجارب لثلاث عوامل

Experimental Disgine – ANOVA 3

( factors )

المعنوية وغير المعنوية لنمو البكتريا في الوسط

د المبيد

ديازينون ( 6 ) .

ان النتائج المبينة في الشكل ( 2 ) تشير الى ان

لوعار تيم اعداد البكتريا الحية في المل الواحد

من الوسط المعدني السائل المضاف اليه المبيد

ديازينون قد تناقص الى (  $10^7 \times 3.3$  )

)

( Mineral salts medium ) خاص لتنمية

البكتريا ، وزع الوسط الغذائي في دوارق

مخروطية حجم 250 3 لكل دورق ، حيث

بجهاز المعقم عند درجة حرارة 121 °

15 / 20 دقيقة ، وبعد انخفاض

درجة حرارة الوسط الى درجة مناسبة ، أضيف

المبيد ديازينون بالتركيز (0.6) جزء في المليون .

أستخدم في هذه التجربة المبيد ديازينون كمصدر

وحيد للكربون والفسفور والطاقة .

الدوارق بنقل جزء من مستعمرة بكتيرية تعود لنوع

) 48

( loop ) المعقم ، كما تركت دوارق بدون تلقح أي

المبيد لوحده فقط ، وقد عقم المبيد قبل أضافته

الترشيح الغشائي Membrane

filtration حسب طريقة ( 4 ) . حضنت جميع

( 28 ) °

48 . انتهاء مدة ال 24

ترشيح محتويات الدوارق كلا على

الترشيح 0.45μ

3 250

1 3 معاملة ووضع في قنينة زجاجية ذات

5 3 . تم قياس

المبيد باضافة 2 3

الذي يحضر بمزج الهكسان والكلوفورم

(1:2) لكل قنينة ورجت بقوة 10

حسب طريقة (5) . بعدها استخدمت طبقة المذيب )

Created with

وهذا ما أكدته بعض البحوث في هذا الاتجاه حيث وجد ان بعض ضروب بكتريا Pseudomonas لها القدرة على استغلال بعض المبيدات الحشرية الفسفورية كمصدر وحيد للكربون والفسفور والطاقة مختبريا مثل مبيد (8) Disyston (9) Malathion (10) Parathion (11) Diazinon (12) Orthene Dasanit Aspon Azordin (Methyl Dylox Dimethoate Trithion parathion (13) (Vapona) Nogos (14) . (15) Parathion ان المبيد الحشري مركبات اخرى نتيجة لنشاط انزيمات التحلل المائي من مزارع بكتيرية غير نقية،

ته ان هذه الانزيمات لها القدرة ان تحول ثمانية مبيدات اخرى . وفي هذا الاتجاه (14) بان الانزيم المنقى من بكتريا Pseudomonas نامية في وسط حاوي على Isopropyl-N-(3-chlorophenyl)carbamates تحلل مائيا العديد من المجاميع المشابهة phenyl carbamates بالاضافة الى اثنين من مبيدات الادغال acylanilide . (12) بان الانزيم المنقى من مزارع بكتريا Pseudomonas أستطاع ان يحلل مائيا المبيدات الحاوية على الفسفور عن طريق هدم (aryl p-o) . كما بين (15) من مراحل تمثيل المركبات العطرية تحويرات او ازالة المجموعات المتصلة على حلقة البنزين حيث يحدث اولا اقصار طول الاليفاتية وينتج عنها مركبات ينقصها ذرة واحدة او ذرتين من ا (16)

( . . ) عند التركيز (0.2) جزء في المليون بالمقارنة بمعاملة السيطرة ، حيث اعداد البكتريا الحية (  $10^7 \times 5.8$  ) ( . . ) / (  $10^8 \times 1.1$  ) ( . . ) / التركيزين 0.4 0.6 جزء في المليون . وقد بينت الطرق الاحصائية عدم وجود فروق معنوية بين البكتريا وتراكيز المبيد المختلفة جدول (1) الزيادة في اعداد البكتريا الحية عند التركيزين (0.4 0.6) المليون يشبر الى ان المبيد ديازينون كان كمحفز لهذه البكتريا ، أي أن البكتريا هنا استخدمت المبيد مصدرا للكربون والفسفور والطاقة ، لاسيما أن

السائل لهذه البكتريا كانت خالية من المصدر وفي هذا الاتجاه (7) 29 ضرب من بكتريا P.aeruginosa لها القدرة على استغلال ما بين 76 82

(146) المختبرة حيث تعتمد هذه البكتريا على نظام الاكسدة فهذه البكتريا تحتوي على انزيم (amidase) المواد العضوية . يبين الشكل (3) تحولات المبيد ديازينون البكتريا P.aeruginosa الوسط الزراعي السائل وباستخدام مطياف الاشعة (IR) يلاحظ من الشكل تغير واضح في تركيب المبيد مقارنة مع المادة القياسية (4) . من هذه النتيجة يتضح ان لهذه البكتريا القدرة على تحويل هذا المبيد واستغلاله

المبيدين كبير تحت الظروف الحقلية وقد أ  
تفسيرا لذلك وهو أن المبيد في الحقل يكون عرضة  
( leaching ) ( evaporation )  
( photodegradation ) .

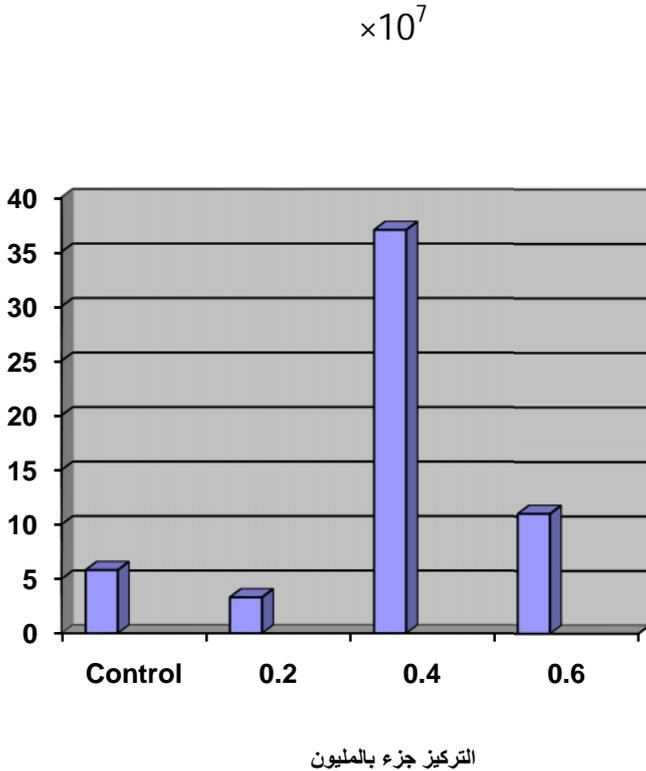
التحلل الميكروبي Microbial

Diazinon ( degradation) للمبيد

parathion عرفت من قبل العديد

من الباحثين منهم ( 22 23 24 25 26 27

28 29 30 31 32 33 ) .



التركيز جزء بالمليون

ان بكتريا Bacillus subtilis  
من الماء الملوث تختزل البارثيون ( Parathion )  
الى مركب بارثيون امين ( Amino parathion )  
( 16 )

البكتريا B.subtilis تقلل فعالية المبيد سومثيون ( Fenitrothion ) في الوسط الغذائي حيث يتم تحطيم ( 93 % ) الكمية المضافة ( 20 ) في المليون ) بعد اربعة أيام فقط .

( 17 ) من ان البكتريا

B.subtilis تسبب تلاشي المبيد سومثيون في

( 18 ) فقد عزلوا عددا كبيرا

ن الاحياء المجهرية في التربة والتي لها القدرة على

تحطيم المبيد DDT ومنها ثلاثة أنواع تعود للجنس

Bacillus Micrococcus حيث

تحول جميعها المبيد DDT

بتحطيم الاندرين ( 19 )

( ان بعض الانواع البكتيرية التي تعود

Pseudomonas يمكن ان تحلل مائيا المبيد

باراثيون مائيا في التربة المشبعة بالمبيد .

( 20 ) الى ان بكتريا P.aeruginosa

Klebsiella sp أستطاعت ان تحول المبيد

بروبانيل الى ( 3,4-DCA

dichloroaniline) مختبريا ، وفي هذا الاتجاه

( 21 ) مكث ابقاء المبيد

Parathion Diazinon

الظروف المختبرية ، بينما يكون معدل تلاشي هذين

من المعاملة بتراكيز مختلفة من  
المبيد يازينون .

F (tab)	F(cal)	MS	df	SS	Source of variation
4.06618	0.846152	7.34E + 16	3	2.2E + 17	Between Groups
		8.68E + 16	8	6.94E + 17	Within Groups
			11	9.15E + 17	Total

Significant 0.05

### المصادر العربية والاجنبية

1 - الجابري ، ابراهيم عبد الرسول ، (1987) .

2- Ronald , M.A.2004 . Hand book of  
microbiology media 3<sup>rd</sup> ed .CRC Press, U.S.A. 329

3- Glean Sornger , J.Karen , W.Posl . ( 2005) .  
and Veterinary microbiology , bacterial  
fungal agent of animal disease . Elsevier Sanders  
. Printed in Philadelphia , U.S.A . 254-264 .

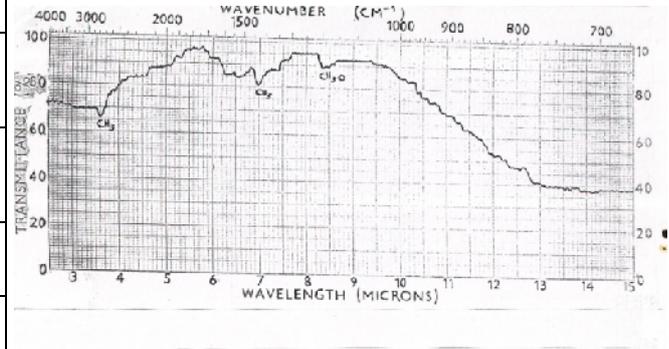
4-Wright , S.J.L ; Stainthorpe , A.F. and Down ,  
J.D.( 1977) . Interactions of the

herbicide propanil and metabolite 3,4-  
dichloroaniline with blue -

green algae . Acta-phytopathol . Hung., 12 , 51-60

( 2 ) تأثير المبيد ديازينون في لوغارتيم أعداد البكتريا الحية / 3 )

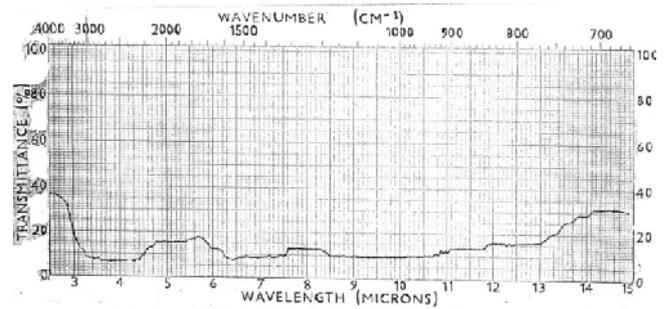
(18-12)



(3) تحولات المبيد ديازينون بواسطة البكتريا

aeruginosa

باستخدام تقانة مطياف الأشعة تحت الحمراء .



( 4 ) المبيد ديازينون القياسي باستخدام تقانة

مطياف الأشعة تحت الحمراء .

( 1 ) تحليل التباين لمقارنة أعداد البكتريا

18 -12 Pseudomonas aeruginosa

Created with

**nitroPDF** professional

download the free trial online at [nitropdf.com/professional](http://nitropdf.com/professional)

- synergistic microbial action . Nature ( London) ,  
217: 1183-1184.
- 12- Rosenberg , A ., and Alexander , M . (1979) .  
Microbial cleavage of various  
Organophosphorus insecticides . APPI . Environ  
. Microbiol. 37.5:  
886- 891 .
- 13- Munnecke , D .M.( 1976) . Enzymatic  
hydrolysis of organophosphate  
insecticide , a possible pesticide disposal method .  
APPI .  
Environ . Microbiol . 32: 7- 13 .
- 14- Kearney , P .C ., and Kaufman , D .D.(1965)  
Enzyme from soil  
bacterium hydrolyzes phenylcarbamate  
herbicide.Science.147:  
740-741 .
- (1982) . -15  
مقدمة في ميكروبيولوجيا  
الطبعة الثانية . دار جون وايلي .  
نيويورك .
- 16- Yasuno , M .( and others ) .( 1965) . Inactivated  
of some organophosphours  
insecticide by bacteria in polluted water . Jap  
.J.Exp.Med . 35:  
Soil algal flora . Res . Rev . 72 : 1- 32 .
- 5- McCann ,A . E . and Cullimore , D.R.( 1979) .  
Influence of pesticides on the soil algal flora .  
Res . Rew . 72: 1-32 .  
( 2004 ) . -6  
الدار الجامعية :  
.254 -250
- 7- Patricia , H .C.( 1972) . Bichemical diversity in  
Pseudomondas . J.of General  
Microbiology . 73: 1-XXXXV .
- 8- Bhaskaran , R .; Kandasamy , D.; Oblisami , G.  
and Subramaniam, T.R.  
1973) . Utilization of disyston as carbon and  
( phosphorus sources  
by soil microflora . Curr. Sci, 42 : 835- 836 .
- 9- Bourquin , A . W . (1977) . Degradation of  
malathion by salt march  
Microorganisms . APPI . Environ . Microbiol . 33 :  
356 – 362 .
- 10-Daughton , C .G. , and Hsieh , D.P.H.( 1977) .  
Parathion utilization by  
bacterial symbionts in a chemostat . APPI . Environ  
. Microbiol .  
34 : 175- 184 .
- 11- Gunner , H.B .,and Zuckerman , B.M.( 1968) .  
Degradation of " diazinon" by

- Environ . Microbiol . 37: 36- 41 .
- 22- Partach , E .(1974) . Diazinon . I I . Residues in plants , soil and water . Residue Rev . 51: 37- 68 .
- 23- Getzin , L.W. (1967) . Metabolism of diazinon and zinophos in soils .J .Econ , Entomol . 60: 505 – 508 .
- 24- 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 . 25 : 249- 264 .
- 25- Munnecke , P .M ., and Hsieh , D .P .( 1976) . Pathways of microbial metabolisms of parathion . APPI . Environ .Microbiol .31 : 63- 69 .
- 26- 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 .
- 27- Sethunathan , N . and Pathak , M.D. (1973) . Microbial degradation of 545- 536 . ( cited in pesticide Microbiology by Hill, I.R. and Wright , S.J.L. 1978) .
- 17- Miyamoto , J.( and others).( 1966). Metabolism of organophosphours insecticides by Bacillus subtilis with special emphasis on sumathion . Jap .J.Exp.Med. 36: 211- 225 .( cited in Ann. Rev- Entomol.22: 483- 513 .1977) .
- 18- Patil , K.C. ( and others ) .( 1970) . Degradation of Andrin , Aldrin and DDT by soil microorganisms . APPI .Microbiol. 19 : 879- 881 .
- 19- Siddaramappa , R . ( and others ) .( 1973). Degradation of parathion by bacteria isolated from flooded soil . APPI .Microbiol. 26: 446- 449 .
- 20- الجوهري ، احسان فليح . (1998) . دراسة عن مصير المبيد بروبانيل في حقل رز محافظة القادسية وتأثيره على بعض احياء مجهرية الماء والترربة . رسالة دكتوراه ، كلية العلوم – المستنصرية .
- 21- Hsu , T.S., and Bartha , R.( 1979) . Mineralization of organophosphate .APPI .

of improved hydrolysis of organophosphate nerve agent . APPI .

Environ. Microbiol . 68 : 2026- 30 .

32- Chen- Goodspeed , M . ; Sogorb , M . A . ; Wu , F .Y . and Raushel , F .M .(2001.) Structural determinates of substrate and stereochemical

specificity of organophosphotriesterase . Biochemistry . 40 :

1325- 31

33- Eelu, A . ; Huimin , Z . and Jeffrey , P .O .( 2005) . Recent advances in the

bioremediation of persistent organic pollutants via biomolecular

engineering . Enzyme and Microbial technology . 37 : 487- 496 .

Insecticides in flooded soil and in anaerobic cultures . Residue

Rev . 47 : 143- 165 .

28- Sethunathan , N . , and Pathak , M .D .( 1971) . Development of adiazinon-

degrading bacterium in paddy water after repeated applications

of diazinon . Can . J . microbiol . 17 : 699- 702 .

29- Racke , K.D .( 1992) . Degradation of organophosphorus insecticides in

environmental matrices , in organophosphates , chemistry , Fate ,

and effects . Academic press . New York . pp. 47- 73 .

30- Dumas , D.P .; Caldwell , S.R . ; Wild , J . R . and Raushel , F . M .( 1989) .

Purification properties of the phosphotriesterase from

*Pseudomonas diminuta* . J. Biol . Chem. 264: 19659- 65 .

31- Cho , C.M . ; Mulchandani , A . and Chen , W .( 2002) . Bacterial cell surface

display of organophosphorus hydrolase for selective screening

# Effect of insecticide Diazinon on *Pseudomonas aeruginosa* isolated from the roots of *Vicia faba* plants

Ihsan . F . H . AL- Jawhary

University of Thi- Qar , College of Science

## Abstract

This study included the determination of the effect of the insecticide 'Diazinon' on *Pseudomonas aeruginosa* isolated from the roots of *Vicia faba* in the fields of AL-Qadisiya district at the range of (0.2 , 0.4 and 0.6) ppm concentration where the( 0.6) ppm concentration represented to the initial concentration in the field soil .

The results were showed that the numbers of *P.aeruginosa* reached to(  $5.8 \times 10^7$ ) in the control treatment , but the numbers decreased to(  $3.3 \times 10^7$ ) with Diazinon in the treatment ( 0.2) ppm and the numbers increased to(  $3.7 \times 10^8$  and  $1.1 \times 10^8$ ) in( 0.4 and 0.6 ppm) . The results were showed that *P.aeruginosa* capable to convert this insecticide to other Compounds in the laboratory .