الترقيم الدولي ٨٦٩٠ ـ ١٩٩١ ISSN 1991- 8690
Email : utjsci@utq.edu.iq website: http:// jsci.utq.edu.iq

تأثير المبيد الحشري نوكوز في بعض فطريات التربة

احسان فليح حسن الجوهري

كلية التربية – جامعة ذي قار– ذي قار – العراق

E- mail: aljowhary@yahoo.com

الخلاصة

اختبرت اربعة فطريات معزولة من المنطقة المحيطة بجذور نباتات الباقلاء في حقول محافظة القادسية لتمثل المقاومة المتباينة لسمية المبيد الحشري نوكوز بتراكيز 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 نوكوز (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 ، 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 . وقد أثبتت الدراسة ان هناك استجابات مختلفة لهذا المبيد في الوسط السائل من قبل الفطريات *A. niger* و *R.stolinifer* و *T. harzianum* ، في حين ان الوزن الجاف للغزل الفطري للفطر *F. solani* قد قل بوجود هذا المبيد ولجميع التراكيز. كما بينت النتائج قدرة الفطريات *A . niger* ، *R .stolinifer* و *T. harzianum* على تحويل هذا المبيد الى مركبات اخرى ، بينما لم يظهر الفطر *F. solani* قابلية على التحليل .

Effect of Insecticide Nogos in Some Soil Fungi

Ihsan F.H. Al- Jawhary

College of Education – University of Thi-Qar

Abstract

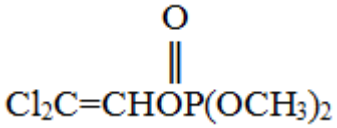
Four fungi , isolated from the rhizosphere of *Viccia faba* in the fields of AI-Qadisiya province , were tested for their variable resistance to toxic insecticide Nogos at the range of 0.1, 0.3 , 0.5 ppm concentration. The 0.5 ppm concentration represtents the initial concentration in the field soil. These fungi were *Aspergillus niger, Rhizopus stolinifer* (high tolerance), *Trichoderma harzianum* (moderate tolerance) , *Fusarium solani* (low tolerance) .

The inhibition percentage of *T. harzianum* reached 28.8% on solid media at 0.5ppm concentration, but the inhibition percentage reached 10.0% at 0.1, 0.3ppm concentration.
The inhibition percentage of *F. solani* was 45.5% at 0.5ppm concentration and 36.6%, 46.6% at 0.1 , 0.3ppm concentration respectively .
The results showed that *A .niger* , *R. stolinifer, T. harzianum* were able to convert Nogos to other compounds in laboratory, but *F. solani* have not the ability to convert this insecticide .
Keywords: fungi, insecticide, metabolites.

المقدمة

تتعرض البقوليات للاصابة بالعديد من الآفات الحشرية ، منها منْ الباقلاء الأسود ومنْ البقوليات والقفاز والثربس والحلم العادي ، وتعد دودة البقوليات (L.) *Lampids boeticus* من أهم الآفات الحشرية، حيث ينشأ الضرر من اصابة اليرقة للباقلاء واللوبيا والفاصوليا فتحفر في القرنات حيث تتغذى على البذور والبراعم الزهرية ، كما تعد خنفساء اللوبيا الجنوبية (Fabr.) *Callosobruchus maculates* من الافات الحشرية المهمة ، حيث تصيب هذه الخنافس حوالي عشرين نوعا من البقوليات و تتغذى يرقاتها على البذور في القرنات وهي تنتقل مع البذور فتصبح آفة مخزنية . كما تصاب الباقلاء بآفة حشرية اخرى هي خنفساء الباقلاء *Bruchus rufimanus* Boheman حيث تقوم يرقاتها بالتغذية على البذور في القرنات ثم تنتقل مع البذور المصابة فتصبح آفة مخزنية . وعليه يستخدم المبيد نوكوز بنجاح في القضاء على هذه الآفات في الحقول الزراعية او في المخازن (١) .

ونظرا لقلة الدراسات المتعلقة بالتاثيرات البيئية للمبيدات الحشرية في العراق بصورة عامة ، وللمبيد نوكوز في فطريات التربة بصورة خاصة ، ولما للفطريات من اهمية في التوازن البيئي ،تأتي هذه الدراسة ضمن هذا الاتجاه لغرض توضيح تاثير هذا المبيد 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 ويبين الشكل (١) التركيب الجزيئي للمبيد نوكوز .



شكل (١) التركيب الجزيئي للمبيد نوكوز

المواد وطرائق العمل

١– المواد الكيميائية والاوساط الزرعية :

المواد الكيميائية :

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

ب– تم الحصول على المبيد نوكوز (Nogos) بشكل مستحلب بنقاوة 98 % .

الاوساط الزرعية :

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

MgSO4.7H2O, 0.1 g, ZnSO4 .7H2O, 0.1 g, MnCl2 . 4H2O, 0.1 g, FeSO4. 7H2O, 0.1 g

تذاب المحتويات اعلاه في لتر ماء مقطر ويعقم بجهازالمؤصدة (Autoclave) على درجة حرارة 121مo وضغط 15 باوند / انج .

٢– 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 على درجة حرارة 121مo وضغط 15 باوند / انج .

العزلات :

تم الحصول على عزلات الفطر *Aspergillus niger* و *Rhizopus stolinifer* و *Trichoderma harzianum* و *Fusarium solani* من المنطقة المحيطة بجذور نباتات الباقلاء من حقول محافظة القادسية .

٢- طرائق العمل :

١- دراسة تاثير المبيد نوكوز في نمو الفطريات *A. niger* و*R. stolinifer* و*T. harzianum* و *F. solani* في الوسط الصلب .

حضر الوسط الغذائي Potato Dextrose Agar(PDA) وقسم الوسط الغذائي الى اربعة أقسام في دوارق مخروطية حجم 250 مل ، عقمت بجهاز المؤصدة (Autoclave) على درجة حرارة 121 مo وضغط 15 باوند / انج2 ولمدة 20 دقيقة ، وبعد أنخفاض درجة حرارة الوسط الى درجة منا سبة ، أضيف المبيد نوكوز الى الوسط الغذائي بحيث تم الحصول على التركيز 0.1 ، 0.3 ، 0.5 جزء في المليون ، فيما ترك الدورق الرابع بدون اضافة المبيد كمعاملة سيطرة . 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.niger* و *T.harzianum* و *F.solani* بوساطة ثاقب فلين معقم قطر 4 ملم الى وسط كل طبق . حضنت الاطباق على درجة حرارة (25) مo لمدة 6 أيام . نفذت هذه التجربة بثلاثة مكررات لكل معاملة ، حسبت معدلات نمو الفطريات يوميا بقياس قطر المستعمرة .

٢ – دراسة تأثير المبيد نوكوز على الفطر *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 مخروطية حجم 250 مل وبمعدل 50 مل لكل دورق . عقم الوسط الغذائي بجهاز المؤصدة على درجة حرارة 121 مo وضغط 15 باوند / انج2 ولمدة 20 وبعد انخفاض درجة حرارة الوسط الغذائي أضيف المبيد نوكوز لكل دورق بكمية محسوبة للحصول على التراكيز 0.1 ، 0.3 ، 0.5 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) مo لمدة 7 أيام . نفذت هذه التجربة بثلاث 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 مo لمدة نصف ساعة ثم وزن الغزل الفطري بواسطة ميزان حساس Type A200s(Sartorius analytic) England .

٣ – النتاجات الايضية للمبيد 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 نوكوزبكمية محسوبة للحصول على التركيز 0.5 جزء في المليون، كما تركت دوارق باضافة المبيد لوحده كمعاملة مقارنة ، وقد عقم المبيد قبل اضافته باستخدام الترشيح الغشائي membrane filtration حسب طريقة (2) حيث أستخدم هنا المبيد كمصدر وحيد للكاربون والفسفور والطاقة لقحت الدوارق باضافة جزء من مزارع فطرية بعمر 7 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) مo

ولمدة 7 أيام وكانت جميع الدوارق ترج ثلاث مرات يوميا ، وبعد انتهاء مدة 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 قنينة 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 قنينة ورجت بقوة لمدة 10 دقائق وذلك حسب طريقة (3) . بعدها استخدمت طبقة المذيب (الطبقة العلوية) وحولت الى قنينة زجاجية اخرى سعة 5 مل ذات سداد محكم وبعد ان دونت المعلومات عليها حفظت في المجمدة على درجة حرارة (– 18) مo لحين اجراء التحليل وقياس مستويات المبيد .

٤ – التحليل باستخدام مطياف الاشعة تحت الحمراء

Infrared Spectroscopy

تم تحليل العينات نفسها باستخدام جهاز (PYE Unicam SP 300) IR England .

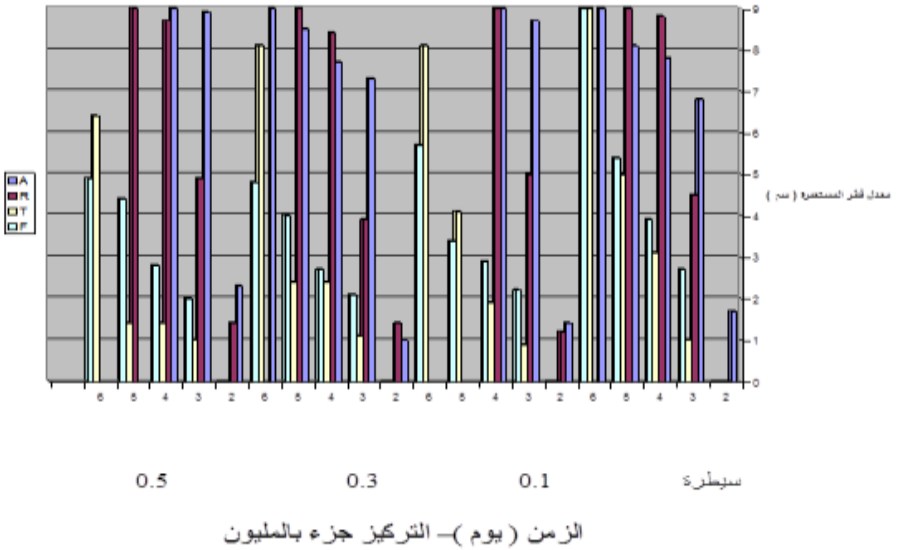
أما الجانب الرياضي فقد أستخدم في هذا البحث أختبار تصميم وتحليل التجارب لثلاثة واربعة عوامل (Expermintal disgine Anova 3,4 facters –) لاستخراج الفروق المعنوية وغير المعنوية لنمو الفطريات في الاوساط الصلبة والسائلة بوجود وعدم وجود المبيد (4) .

النتائج والمناقشة

ان النتائج المشارا ليها في الشكل (2) تشير الى ان هناك استجابات مختلفة للفطريات *A.niger* , *R.stolinifer* , *T.harzianum* , *F. solani* 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 .

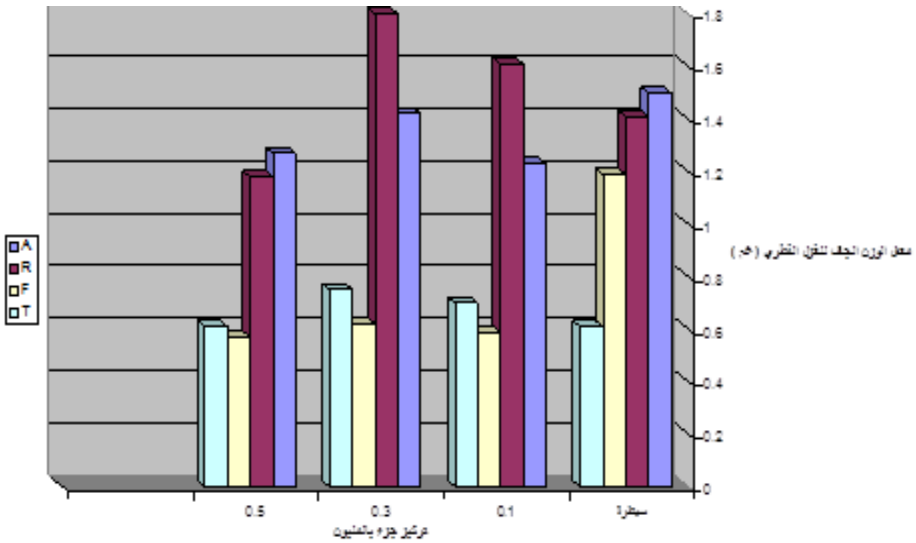
كما يلاحظ من الشكل (2) أن نسبة التثبيط للفطر *T. harzianum* بلغت 28.8 % عند التركيز 0.5 جزء في المليون ، في حين بلغت نسبة التثبيط 10.0 % عند التركيز 0.1 , 0.3 جزء في المليون ، كما يلاحظ في الشكل نفسه أن نسبة الثبيط للفطر *F. solani* بلغت 45.5 % عند التركيز0.5 جزء في المليون الذي هو التركيز المبدئي يوم 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 (جدول١) . أما في الوسط الغذائي المعدني السائل فتشير النتائج المعروضة في الشكل (٣) الى ان هناك استجابات مختلفة للفطريات *A.niger* , *F. solani* , *T. harzianum* , *R. stolinifer* بوجود المبيد نوكوز ، حيث قلل هذا المبيد الوزن الجاف للغزل الفطري *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 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 (٣) 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 ٢) . كما يبين الشكل (٤) 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 (٥) ، حيث يبين الشكل (٤) قيم أمتصاص واضحة لهذه الفطريات باستثناء الفطر *F. solani* حيث لم يظهر قدرة أوقابلية على التحليل ، من هذه النتيجة نستنتج ان للفطريات الثلاثة الاولى القابلية على أستغلال هذا المبيد مصدرا للكربون والفسفور والطاقة وهذا يعضده ما اكدته بعض البحوث حيث بين (٥) 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 (٦) ان الفطريات *Mucor plumbeus* و *Rhizopus arrizus* فعالة جدا في تحطيم المبيد (Dyfonate) Fonofos أما (٧) 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 (٨) ان الاحياء المجهرية في التربة بضمنها *Aspergillus*.sp حولت الالدرين (Aldrin) الى دايلدرين (Dialdrin) . كما بين (٩) عند دراستهما معدل تلاشي الكلوردين والهيبتاكلور باستخدام مزرعة من الفطر *A.niger* أن هذه المركبات يمكن أن يستغلها الفطر مصدرا للطاقة، في حين وجد (١٠) 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 (١١) أن الفطريات *A.niger* و*R.stolinifer* و *T. harzianum* انها استطاعت تحويل المبيد دايازينون الى مركبات اخرى بينما لم يظهر الفطر *F.solani* قابلية على التحليل . كما وجد الباحث (١٢) 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 3,4–dichloroaniline(DCA) مختبريا . وفي هذا الاتجاه اشار (١٣) الى ان مدة مكث أو بقاء المبيد Diazinon و Parathion 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 (photodegradation) .



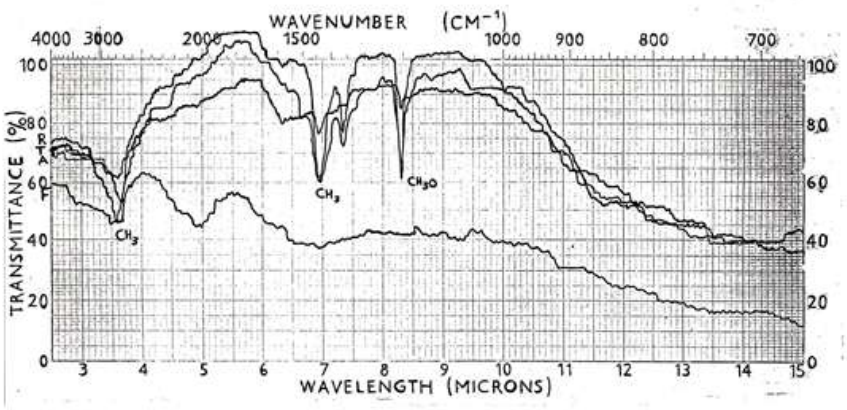
شكل (٢) تأثير المبيد نوكوز على الفطريات *Aspergillus niger* , *Trichoderma harzianum ,Rhizopus stolinifer ,solani* *Fusarium* في الوسط الصلب

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

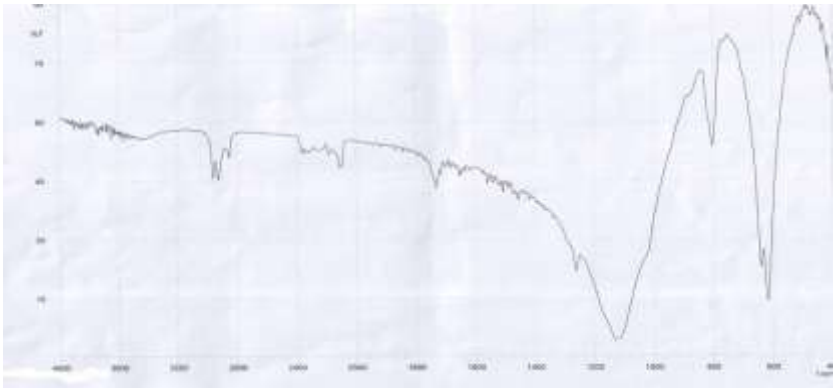


شكل (٣) تأثير المبيد نوكوز على الوزن الجاف للغزل الفطري للفطريات Aspergillus niger , Rhizopus stolinifer ,Trichoderma harzianum, Fusarium solani في الوسط السائل في اليوم السابع بعد المعاملة .

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



شكل (٤) 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 (٥) المبيد نوكوز القياسي باستخدام تقانة مطياف الاشعة تحت الحمراء .

جدول (١) 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	٤	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 (٢) 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 $P<0.05$

المصادر References

١-الجابري ، ابراهيم عد الرسول ، ١٩٨٧ . أسس مكافحة الآفات . جامعة الموصل .

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

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

٤- سالم ،كمال سلطان محمد ، ٢٠٠٤ . مبادىء علم الاحصاء ،الطبعة الاولى، الدار الجامعية : ٢٥٠- ٢٥٤

٥- الكسندر، مارتن . ١٩٨٢. مقدمة في ميكروبيولوجيا التربة. الطبعة الثانية . دار جون ايلي . نيويورك

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

7- Moustafa, I.Y. (and others) . 1972. Metabolism of organophosphor- ous insecticide XIV , Malathion break down by soil fungi. Z. Natureforsh.27(b). 1115-1116. (cited in Ann. Rev.E- ntomoI .22: 483- 513, 1977).

8- 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) .

9- 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) .

١٠- الجوهري ، احسان فليح ، ٢٠٠١. دراسة تأثير المبيد الحشري فنتراثايون (سومثيون) على بعض فطريات التربة في حقول محافظة القادسية. مجلة القادسية . المجلد ٦ ، العدد ١ .

١١- الجوهري ، احسان فليح ، ٢٠٠١. تأثير المبيد الحشري دايازينون على بعض فطريات التربة مختبريا. مجلة القادسية . المجلد ٦ ، العدد ١.

١٢- الجوهري ، احسان فليح ، ١٩٩٨ . دراسة عن مصير المبيد بروبانيل في حقل رز محافظة القادسية وتأثيره على بعض أحياء مجهرية الماء والتربة . رسالة دكتوراه كلية العلوم – الجامعة المستنصرية .

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