

Effect of insecticide Nogos on some soil fungi تأثير المبيد الحشري نوكوز في بعض فطريات التربة

احسان فليح حسن الجوهرى

كلية التربية – جامعة ذي قار- ذي قار – العراق

keywords : fungi , insecticide , metabolites

E- mail : aljowhary@yahoo.com

الخلاصة

اختبرت اربع فطريات معزولة من حول جذور نباتات الباقلاء في حقول محافظة القادسية لتمثل المقاومة المتباينة لسمية المبيد الحشري نوكوز بتركيزات 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 stolonifer* (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 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 . وقد أثبتت الدراسة ان هناك استجابات مختلفة لهذا المبيد في الوسط السائل من قبل الفطريات *A. niger* و *R.stolonifer* 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. stolonifer* و *T. harzianum* على تحويل هذا المبيد الى مركبات اخرى ، بينما لم يظهر الفطر *F. solani* قابلية على التحليل .

Abstract

Four fungi , isolated from the rizosphere of *Vicia faba* in the fields of Al-Qadisiya district , were selected for their variable resistance to toxic insecticide Vapona (Nogos) at the range of 0.1, 0.3 , 0.5 ppm concentration and the 0.5 ppm concentration represented to the initial concentration in the field soil . These fungi were *Aspergillus niger* , *Rhizopus stolonifer* (high tolerance) , *Trichoderma harzianum* (moderate tolerance) , *Fusarium solani* (low tolerance) .

The inhibition percent of *T. harzianum* reached (28.8%) .with Vapona (Nogos) on solid media in 0.5ppm concentration , but the inhibition percent reached(10.0%) in 0.1, 0.3ppm concentration.

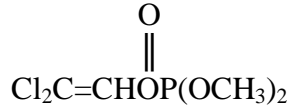
The inhibition percent of *F. solani* reached(45.5%) in 0.5ppm concentration and(36.6%),(46.6%) in 0.1 , 0.3ppm concentration.

The results showed that *A. niger* ,*R.stolonifer* , *T. harzianum* were able to convert Vapona(Nogos) to other compounds in laboratory, but *F. solani* did not convert this insecticide .

المقدمة

تتعرض البقوليات للاصابة بالعديد من الآفات الحشرية ، منها من الباقلاء الأسود ومن البقوليات والقفاز والتربس والحلم العادي ، وتعد دودة البقوليات (*L. Lampids boeticus*) من أهم الآفات الحشرية، حيث ينشأ الضرر من اصابة البريقة للباقلاء واللوبيبا والفاصوليا فتحفر في القرنات حيث تتغذى على البذور والبراعم الزهرية ، كما تعد خنفساء اللوبيبا الجنوبية *Callosobruchus maculates*(Fabr.) من الآفات الحشرية المهمة ، حيث تصيب هذه الخنافس حوالي عشرين نوعا من البقوليات ، حيث تتغذى يرقاتها على البذور في القرنات وهي تنتقل مع البذور فتصبح آفة مخزنية . كما تصاب الباقلاء بأفة 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(1) . ونظرا لقلة الدراسات المتعلقة بالتأثيرات البيئية للمبيدات الحشرية في العراق بصورة عامة ، ولمبيد نوكوز في فطريات التربة بصورة خاصة ، ولما للفطريات من اهمية في التوازن البيئي ، تأتي هذه الدراسة ضمن هذا الاتجاه لغرض توضيح تأثير هذا المبيد في هذه الفطريات وانعكاس ذلك على النظام البيئي . حيث ان أي مبيد كيميائي لاينحصر تأثيره 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 كيميائي والكشف والتحري عن تأثيراته الجانبية يضعنا في الجانب الأمين عند استخدامه . ويبين الشكل (1) التركيب الجزيئي للمبيد نوكوز .



شكل (1) التركيب الجزيئي للمبيد نوكوز .

المواد وطرائق العمل

1- المواد الكيميائية والايوساط الزراعية :

المواد الكيميائية :

أ- ان جميع المواد الكيميائية المستخدمة في هذه الدراسة من انتاج شركة BDH و Merch .
ب- المبيد نوكوز (Nogos) تم الحصول على المبيد بشكل مستحلب بنقاوة 98 % .

الايوساط الزراعية :

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

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.1 g , $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.1 g , $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0.1 g , $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.1 g

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

2- وسط البطاطا - دكستروز - أجار (PDA) Potato - Dextrose - Agar 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 stolonifer* و *Trichoderma harzianum* و *Fusarium solani* من حول جذور نباتات الباقلاء في حقول محافظة القادسية .

طرائق العمل :

1- دراسة تأثير المبيد نوكوز على نمو الفطريات *A.niger* و *R.stolonifer* و *T.Harzianum* و *F.solani* في الوسط الصلب .
حضر وسط غذائي (PDA) Potato - Dextrose - Agar وقسم الوسط الغذائي الى اربعة أقسام في دوارق مخروطية حجم 250 مل ، عقمت بجهاز المؤصدة (Autoclave) على درجة حرارة 121 م° وضغط 15 باوند / انج المربع ولمدة 20 دقيقة ، وبعد انخفاض درجة حرارة الوسط الى درجة مناسبة ، أضيف المبيد نوكوز الى الوسط الغذائي بتركيزات 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 . لقتح الاطباق بلقاح الفطريات وذلك بنقل قرص من المزارع الفطرية بعمر 7 أيام للفطريات *A.niger* و *R.niger* و *T.harzianum* و *F.solani* بواسطة ثاقب فلين معقم قطر 4 ملم الى وسط كل طبق . حضنت الاطباق على درجة حرارة (25) م° لمدة 6 أيام . نفذت هذه التجربة بثلاث مكررات لكل معاملة ، حسبت معدلات نمو الفطريات يوميا بقياس قطر المستعمرة .

2- دراسة تأثير المبيد نوكوز على الفطر *A.niger* و *R.stolonifer* 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 ، وبعد انخفاض درجة حرارة الوسط الغذائي أضيف المبيد نوكوز لكل دورق بالتركيزات 0.1 ، 0.3 ، 0.5 جزء في المليون ، فيما تركت دوارق من دون اضافة المبيد للمقارنة . لقتح الدوارق بنقل قرص قطره 4 ملم من المزارع الفطرية بعمر 7 أيام للفطريات *A.niger* و *R.stolonifer* و *T.harzianum* و *F.solani* بواسطة ثاقب فلين معقم قطر 4 ملم . حضنت الدوارق على درجة حرارة (25) م° 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 م° لمدة نصف ساعة ثم وزن الغزل الفطري بواسطة ميزان حساس (Sartorius analytic) Type A200s England .

3- النتائج الايضية للمبيد نوكوز من قبل الفطريات *A.niger* و *R.stolonifer* 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 نوكوز بالتركيز 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 للكربون والفسفور والطاقة لقتح

الدوارق بإضافة 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) م° 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 قنينة زجاجية ذات سداد محكم ومعقمة سعة 5 مل . تم قياس المتبقي من المبيد بإضافة 2 مل من محلول الاستخلاص الذي يحضر بمزج الهكسان والكوروفورم 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) م° لحين اجراء التحليل وقياس مستويات المبيد .

4 – التحليل باستخدام مطياف الأشعة تحت الحمراء Infrared Spectroscopy

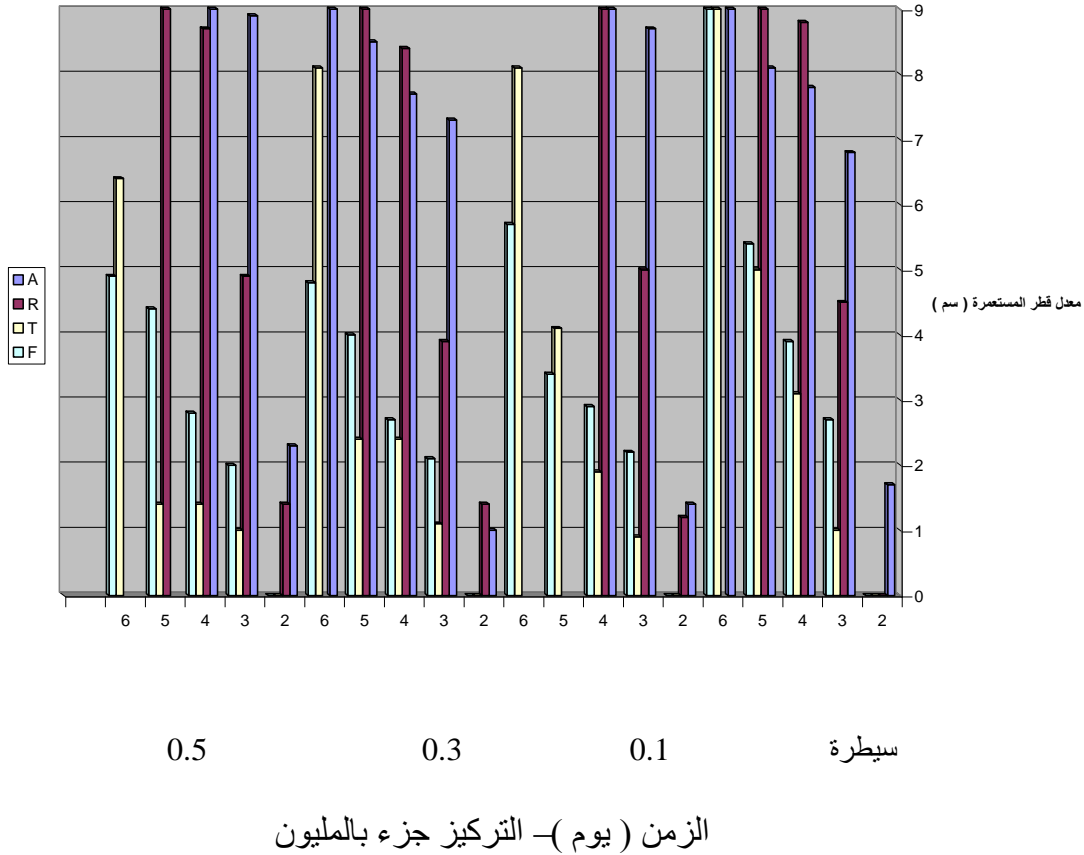
تم تحليل العينات نفسها باستخدام جهاز (PYE Unicam SP 300) IR England . أما الجانب الرياضي فقد استخدم في هذا البحث اختبار تصميم وتحليل التجارب لثلاث واربع عوامل (Expermintal disgine - Anova 3,4 factors) لاستخراج الفروق المعنوية وغير المعنوية لنمو الفطريات في الاوساط الصلبة والسائلة بوجود وعدم وجود المبيد (4) .

النتائج والمناقشة

ان النتائج المشارا ليها في الشكل (2) تشير الى ان هناك استجابات مختلفة للفطريات *R.stolinifer* , *A.niger* , *T.harzianum* , *F. solani* مع المبيد نوكوز حيث لم يؤثر هذا المبيد على نمو الفطر *R. stolinifer* , *A.niger* 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 *F. solani* , *T. harzianum* كانت أقصى زيادة للنمو لها عند اليوم السادس في معاملة السيطرة .

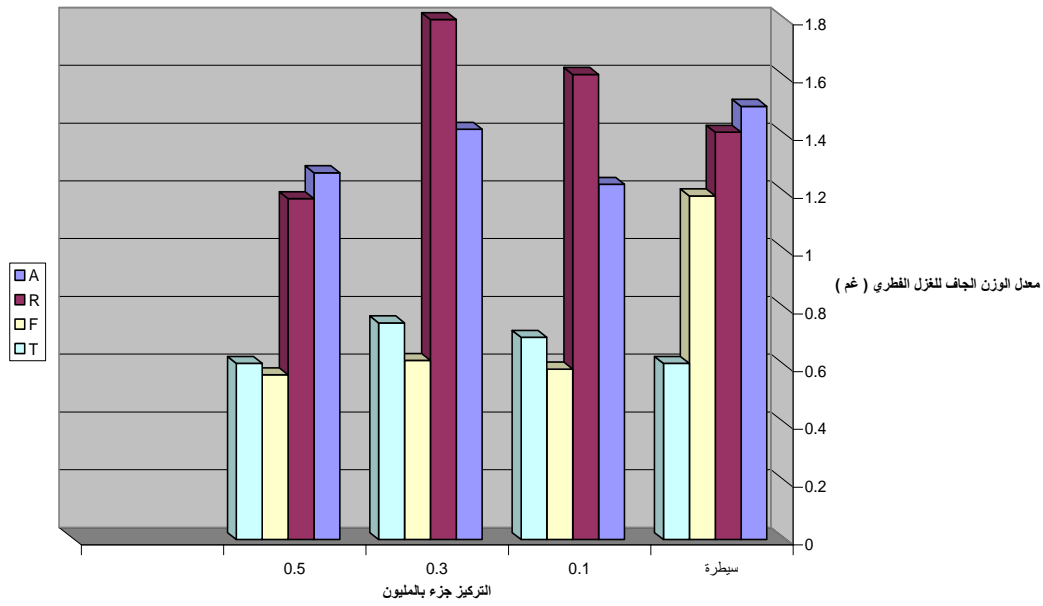
كما يلاحظ من الشكل (2) أن نسبة التثبيط للفطر *T. harzianum* بلغت 28.8 % عند التركيز 0.5 جزء في المليون ، في حين بلغت نسبة التثبيط 10.0 % عند التركيز 0.1 , 0.3 جزء في المليون ، كما يلاحظ في الشكل نفسه أن نسبة التثبيط للفطر *F. solani* بلغت 45.5 % عند التركيز 0.5 جزء في المليون الذي هو التركيز المبدئي 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 (جدول 1) . أما في الوسط الغذائي المعدني السائل فتشير النتائج المعروضة في الشكل (3) 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 *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 (الأجار) ، 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 يتأثر الوزن الجاف له عند التركيز المبدئي يوم الرش 0.5 جزء في المليون حيث بقي الوزن كما هو عليه وهذا ربما يرجع الى قابلية اكبر لهذا الفطر على أستغلال المبيد نوكوز كمصدر كاربون وفسفور وطاقة . كما يلاحظ من الشكل (3) 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 2) . كما يبين الشكل (4) 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 (5) ، حيث يبين الشكل (4) 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 (5) ان المرحلة الاولى من مراحل تمثيل المركبات العطرية احداث تحويلات 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 (6) ان الفطريات *Mucor plumbeus* و *Rhizopus arrizus* فعالة جدا في تحطيم المبيد (Dyfonate) Fonofos أما (7) 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 (8) ان الاحياء المجهرية في التربة بضمنها *Aspergillus.sp* حولت الالدرين (Aldrin) الى دايلدرين (Dieldrin) . كما بين (9) عند دراستهما معدل تلاشي الكلوردين والهيبثاكلور باستخدام مزرعة من الفطر *A.niger* أن هذه المركبات يمكن أن يستغلها الفطر مصدرا للطاقة، في حين وجد (10) عند دراسته معدل تلاشي المبيد فنتراثايون (Fenitration) باستخدام مزرعة من الفطر *A. niger* و *T.lignorum* ، أن هذا المبيد قد تحول الى مركبات اخرى نتيجة استغلاله من قبل هذين الفطرين مصدرا للكربون الطاقة . كما وجد الباحث (11) 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 (12) أن الفطريات *A.niger* و *R. stolinifer* و *T.lignorum* و *Penicillium sp*

والفطر المائي *Achlya prolifer* أستطاعت ان تحول المبيد بروبانيل Propanil الى المركب (DCA)3,4-dichloroaniline مختبريا . وفي هذا الاتجاه اشار (13) الى ان مدة مكث أو بقاء المبيد Parathion و Diazinon تكون اطول تحت الظروف المختبرية ، بينما يكون معدل تلاشي هذين المبيدين كبير تحت الظروف الحقلية وقد أعطى تفسيراً لذلك وهو أن المبيد في الحقل يكون عرضة للتبخر (evaporation) والغسل (leaching) والتحلل الضوئي (photodegradation) .



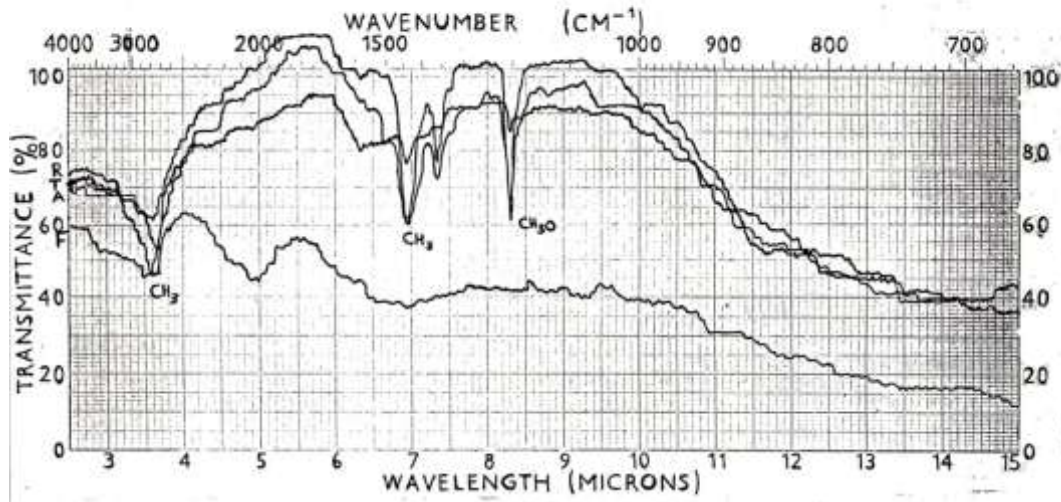
شكل (2) تأثير المبيد نوكوز على الفطريات *Rhizopus stolinifer* , *Aspergillus niger* , *Fusarium solani* , *Trichoderma harzianum* , في الوسط الصلب .

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

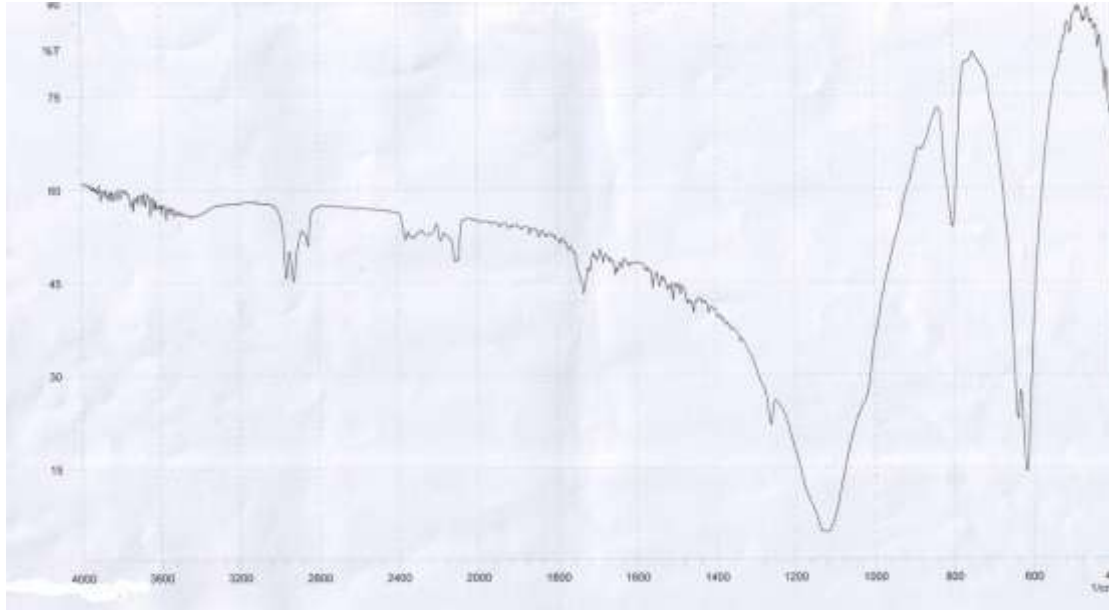


شكل (3) تأثير المبيد نوكونز على الوزن الجاف للفطريات *Trichoderma harzianum*, *Rhizopus*, *Aspergillus niger* في الوسط السائل في اليوم السابع بعد المعاملة .
Fusarium solani, *stolinifer*

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



شكل (4) تحولات المبيد نوكونز بواسطة الفطريات *A.niger* و *R.stolinifer* و *T.harzianum* و *F.solani* في الوسط الزراعي السائل باستخدام تقانة مطياف الأشعة تحت الحمراء (IR) .



شكل (5) المبيد نوكونز القياسي باستخدام تقانة مطياف الأشعة تحت الحمراء .

جدول (1) تحليل التباين لمقارنة نمو الفطريات في الوسط الصلب في تراكيز مختلفة من المبيد نوكونز 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 (2) 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 نوكونز .

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

- 1- الجابري ، ابراهيم عد الرسول ، 1987 . 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- phytopathol. 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 .
- 4- سالم ، كمال سلطان محمد . 2004 . مبادئ علم الاحصاء ، الطبعة الاولى ، الدار الجامعية : 254 -250 .
- 5- الكسندر، مارتن . 1982 . مقدمة في ميكروبيولوجيا التربة . الطبعة الثانية . دار جون وايلي نيويورك .
- 6-Flashinski , S.J., and Lictensteinin , E.P.1974. Metabolism of Dyfonate by soil fungi . Candian.J.Microbiology. 20: 399- 411.
- 7- Moustafa , I.Y . (and others) . 1972 . Metabolism of organophosphou-Rs insecticide XIV , Malathion break down by soil fungi. Z. Natureforsh . 27(b) . 1115-1116 . (cited in Ann. Rev.E-ntomol .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 chlordan 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) .
- 10- الجوهرى ، احسان فليح . 2001 . دراسة تأثير المبيد الحشري فنتراثايون (سومثيون) على بعض فطريات التربة في حقول محافظة القادسية . مجلة القادسية . المجلد 6 ، العدد 1 .
- 11- الجوهرى، احسان فليح. 2001. تأثير المبيد الحشري دايازينون على بعض فطريات التربة مختبريا. مجلة القادسية. المجلد 6، العدد 1.
- 12- الجوهرى ، احسان فليح . 1998 . 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 .