مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (40) العدد (5) 2018
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (40) No. (5) 2018

دراسة إمكانية التحطيم الحيوي لأنواع من المبيدات الكيميائية باستخدام بعض أنواع فطور التربة مخبرياً

د. سومر شعبان*

(تاريخ الإيداع 27 / 5 / 2018. قبل للنشر في 17 / 9 / 2018)

□ ملخّص □

أجري هذا البحث بعزل بعض أنواع فطور التربة من ترب معاملة بمبيدات زراعية مختلفة، إذ تم عزل الفطور التالية: *Aspergillus niger* (العزلتان A1، A2)، *Fusarium oxysporum* (العزلة F)، *Trichoderma harzianum* (العزلة T)، كذلك تم الحصول على الفطور التالية: *F. solani* (العزلة F7) و*T. viride* (العزلة T.v) من مختبر الدراسات العليا في كلية العلوم– جامعة تشرين، إذ كان تم عزلهما في بحثٍ سابق.

اختبرت قدرة الفطور السابقة على التحطيم الحيوي لمجموعة من المبيدات وهي المبيد الحشري Dolan، والمبيد الحشري Plantocide، والمبيد النيماتودي Vydate، والمبيد الفطري Bayfidan من خلال اختبار تأثير ضعف الجرعة الموصى بها من المبيدات في الكتلة الحيوية للفطور المدروسة على وسط زراعي سائل PDB، بالإضافة إلى تحليل نواتج استقلاب المبيدات بواسطة مقياس الطيف الضوئي وقياس درجة pH الوسط.

بينت النتائج أن أعلى كتلة فطرية على الأوساط السائلة المسممة بضعف الجرعة من المبيدات المدروسة كانت لعزلتي الفطر *A. niger* مع كل من المبيد النيماتودي والمبيد الحشري Dolan بدون فروق معنوية بينهما، إذ بلغت الكتلة الحيوية الفطرية للعزلة A1 (15.2 و14.9 غ)، على التوالي. بينما بلغت الكتلة الحيوية الفطرية للعزلة A2 (14.6 و14.8 غ)، على التوالي، مقارنةً مع الشاهد الذي بلغ للعزلتين المذكورتين (15.9 و15.2 غ)على التوالي. في حين كانت الكتلة الفطرية 0 غ و1.1 غ للعزلة F7 مع المبيدين السابقين على التوالي، مقارنةً مع الشاهد الذي بلغ (14.9 غ).

كانت أعلى كتلة فطرية مع المبيد الفطري Bayfidan للعزلتين A1 وA2، وبلغت على التوالي (10.2 و9.3 غ)، تلاها بفرق معنوي كتلة كل من العزلتين T وF بقيم (5.6 و 4.2 غ)، على التوالي.

أظهرت نتائج التحليل بجهاز مقياس الطيف الضوئي قدرة جميع الفطور المدروسة على تحليل المادة الفعالة ولجميع المبيدات المستخدمة، فقد كانت أعلى نسبة لتحلل المبيد النيماتودي مع العزلة A2 وبلغت (81.62 %)، وأقلها مع العزلة F7 وT.v وبلغت على التوالي (30.3 و32.24 %). أما بالنسبة للمبيد الفطري فقد كانت أعلى نسبة تحلل مع العزلة A1 وبلغت (70.2 %)، وأقلها مع العزلة F7 وبلغت (20.2 %).

ومن جهةٍ أخرى بينت النتائج تأثير الفطور المدروسة في pH الوسط المسمّم بضعف الجرعة وجعله يتجه باتجاه الحامضية. وبنتيجة هذه الدراسة أظهرت الفطور المحلية المختبرة قدرةً واضحةً على التحطيم الحيوي للمبيدات الكيميائية المدروسة، الأمر الذي يدفع إلى المزيد من الدراسات والأبحاث في مجال التخلص من الملوثات حيوياً.

الكلمات المفتاحية: التحطيم الحيوي، فطور التربة، مبيدات الآفات، الكتلة الفطرية، مقياس الطيف الضوئي.

* دكتوراه – قسم علم النبات – كلية العلوم – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (40) العدد (5) 2018
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (40) No. (5) 2018

A laboratory study of the possibility of biodegradation of some chemical pesticides using some species of soil- fungi

Dr. Somar Shaban*

(Received 27 / 5 / 2018. Accepted 17 / 9 /2018)

□ ABSTRACT □

The research was performed by isolating some species of soil- fungi from agricultural soils handling with different pesticides and fungicides. Where the following fungi were isolated: *Aspergillus niger* (The isolates A1 and A2), *Fusarium oxysporum* (The isolate F), *Trichoderma harzianum* (The isolate T). Also *F. solani* (The isolate F7) and *T. viride* (The isolate T.v) were used, whereas they were taken from high studies laboratory- Science Faculty- Tishreen University at a previous search.

The research was conducted to assay the ability of the previous fungi to degradation a number of pesticides, the insecticide "Dolan", the insecticide "Plantocide", the nematicide "Vydate" and the fungicide "Bayfidan", through the effect of double dose of each pesticides in the biomass of the studied fungi on PDB medium. In addition to analysis the results residues of pesticides using Spectrophotometer, and evaluation the pH values.

Results showed that the highest fungi mass on the poison medium was to the *Aspergillus niger* isolates with the nematicide and insecticide Dolan without significant differences between them. The fungi mass of A1 attained (15.2 and 14.9 g), respectively, and (14.6 and 14.8 g), respectively for the isolate A2, compared to the control treatment witch attained (15.9 and 15.2 g) for the two isolates. Where it was (0 and 1.1 g) for F7, respectively compared to (14.9 g) for the control treatment.

The highest fungi mass with the used fungicide (Bayfidan) was to the isolates A1 and A2, which attained (10.2 and 9.3 g), respectively, followed significantly each of T and F with values reached to (5.6 and 4.2 g), respectively.

Results of spectrophotometer showed the ability of all studied fungi to degradation the active material of all studied pesticides. The highest rate of degradation the nematicide was with A2 and attained (81.62 %), where the lowest was with F7 and T.v by (30.3 and 32.24 %), respectively. Whereas to the fungicide, the highest degradation rate was with A1 (70.2%), and the lowest was with F7 (20.2 %).

On other hand, results showed the effect of studied fungi in pH the poison medium, and make it turn to be acidic. As a result of this study, the ability of the local fungi we used to biodegrade the used pesticides appeared definite, the thing drives us to perform more researches in biodegradation of pollutions.

Key Words: Biodegradation, Soil- Fungi, Pesticides, Fungi Mass and Spectrophotometer.

Doctor – Botany Department – Science Faculty – Tishreen University – Lattakia- Syria

مقدمة:

لوحظ مؤخراً توجه عالمي نحو استخدام الكائنات الحية في التخلص من الملوثات البيئية، نظراً لتفاقم خطر الملوثات بأنواعها، والحاجة إلى إتباع أساليب آمنة بيئياً، ومن هنا أتى مصطلح التحطيم الحيوي Biodegradation الذي يُعرّف بأنه طريقة طبيعية لإعادة تدوير النفايات والملوثات، وتحطيم المواد العضوية وتحويلها إلى مواد غذائية يمكن استخدامها من قبل كائنات حية أخرى (Richard, 2002). ويعرف كذلك باسم Bioremediation وفقاً لـ Pointing (2001). والمعالجة الحيوية تتم باستخدام كائنات حية مختلفة من فطور وجراثيم ونباتات زهرية وغيرها. ومن أهم أنواع التحطيم الحيوي هو التحطيم باستخدام الفطور أو ما يسمى بالمعالجة الحيوية الفطرية Mycoremediation، وتعني عملية استخدام الفطور في التخلص من المواد السامة وتحليل الملوثات في البيئة. حيث أن لدى بعض الفطور القدرة على امتصاص وتركيز المعادن الثقيلة داخل ميسيليوم الفطر، بالإضافة إلى إفراز أحماض وإنزيمات خارج الخلايا المكونة لها فتعمل على تحطيم العديد من المركبات مثل اللغنين (الخشبين) والسيللوز وغيرها (Fogarty and Tuovinen, 1999; Schoefs *et al.*, 2004). وقد ثبت بأن الإنزيمات المحطمة للغنين (الخشبين) تقوم بجزء على الأقل من عملية التحطيم الحيوي لمتبقيات المبيدات في التربة (Bending *et al.*, 2002; Nerud *et al.*, 2003). كما تقوم الفطور بتحويل الملوثات العضوية بشكل كامل تقريباً إلى ثاني أكسيد الكربون (Gan and Koskinen, 1998).

تُعد عملية التحليل من أهم الوظائف التي يقوم بها الفطر في البيئة، والمسؤول عن هذه العملية هي الخيوط الفطرية، وتتوقف درجة التحطم على تركيب المواد، فبالنسبة للأحماض الدهنية يحدث التحطم الحيوي بعد 1− 2 ساعة، بينما مركبات ألكيل سلفونات البنزين الخطية linear alkyl benzene sulfonate يحدث التحطم بعد 1− 2 يوم، ومركبات ألكيل سلفونات البنزين المتفرعة branched- chain alkyl benzene sulfonate يحدث خلال شهور عديدة. عموماً يترتب على التحطم الأولي Primary Degradation فقد النشاط السطحي للمركبات، أما التحطم النهائي Ultimate Degradation ينتج عنه ثاني أكسيد الكربون. ومن أهم تطبيقات التحليل الحيوي الفطري هو تحطيم متبقيات المبيدات الكيميائية المختلفة (Bumpus *et al.*, 1992; Kearney, 1998). نشأ عن الاستخدام المفرط وغير المدروس للمبيدات الكيميائية تلوثاً للبيئة المائية والتربة والهواء نتيجة تجمع المواد السامة داخل السلاسل الغذائية المختلفة ما أدى إلى إلحاق الضرر بالكائنات الحية في المناطق الملوثة في جميع أنحاء العالم (الحمصي وزيدان، 2016). فالمبيدات والمركبات الكيميائية تمر بمسارات عديدة بعد استعمالها؛ إذ يتطاير جزء منها ويتبخر جزء آخر بفعل أشعة الشمس، وينتقل إلى طبقات الجو مما يؤدي إلى تلوث الهواء، ثم نزول الملوثات مع الأمطار إلى التربة، حيث تترسب فيها أو تتعرض للغسل بمياه السقي، ثم ينتهي الأمر بها إلى مصادر المياه المختلفة (Lind, 1994).

وعلى سبيل المثال تم رصد المبيدات الفوسفورية العضوية في جميع النظم البيئية البرية والمائية، وفي الهواء والطعام أيضاً (Konstantinon *et al.*, 2006; Darko and Akoto, 2008).

ونتيجةً لتفاقم أضرار المبيدات ومتبقياتها Pesticides residue ظهرت حاجة ملحة لتطوير طرائق آمنة بيئياً وفعالة واقتصادية لتحليل المبيدات. خصوصاً وأن الآليات المتبعة لتحليل المبيدات تشكل خطورة على البيئة بدورها بما فيها الطريقة الكيميائية، وطريقة الحرق والتحويل إلى رماد incineration والتي تعد الانبعاثات الناتجة عنها خطرة على البيئة (Kearney, 1998; Zhang and Chiao, 2002). لذلك كان التوجه نحو استخدام المعالجة الحيوية ولاسيّما

باستخدام الفطور والبكتريا، وأثبت عبد الرضا وآخرون (2013) دور البكتريا *Pseudomonas aeruginosa* في التحطيم الحيوي لبقايا العديد من المبيدات الحشرية. وتتالى ظهور الدراسات لاختبار قدرة أنواع عديدة من الفطور على تحليل مبيدات الآفات المختلفة، ومنها دراسة Bumpus وآخرون (1992) لتحطيم المبيدات الحشرية الفوسفورية العضوية والتي استُخدِمَ فيها الفطر *Phanerochaete chrysosporium*، ودراسة Magan (2005) التي استُخدِم فيها أنواعاً من فطور العفن الأبيض البازيدية (الدعامية) White Rot Fungi وهي *Trametes versicolor*، *T. socotrana*، *Pleurotus ostreatus*، *P. sajor-caju*، *P. cystidiosus*، *Phanerochaete chrysosporium* و*Polystictus sanguineus*، ودراسة علوان وسكر (2010) التي استُخدِمَ فيها العديد من أنواع الفطور وهي *Alternaria alternata*، *Aspergillus niger*، *A. parasiticus*، *Chaetomium elatium*، *Ch. globosum*، *Phoma* sp.، *Pythomyces* sp.، *Fusarium* sp.، *Trichoderma harzianum*، *Penicillium oxalicum* و*Emericilla nidulans* والتي بينت قدرة الفطور المدروسة على تحطيم جزيئات المبيدات المستخدمة. وتشير معظم هذه الدراسات إلى أنه يجب استخدام الفطر المناسب للمركب المناسب، وهذا يستدعي تكثيف الأبحاث المتعلقة بهذا الموضوع، وأتى هذا البحث لمحاولة الوصول إلى عزلة فطرية قادرة على تحطيم وتحليل المركبات الكيميائية بفعالية عالية.

أهمية البحث وأهدافه:

تأتي أهمية هذا البحث من خطورة المبيدات الكيميائية على البيئة وتفاقم أضرارها، والحاجة الماسة لتحليل متبقياتها بشكل آمن بيئياً واقتصادي وفعال. ومن أهمية العمل على استخدام عوامل البيئة الحية المتوفرة محلياً في التخلص من الملوثات المختلفة.

هدف البحث إلى: عزل عدد من فطور التربة، ودراسة قدرتها على التحطيم الحيوي لمبيدات كيميائية مختلفة من خلال:

- اختبار تأثير ضعف الجرعة الموصى بها من المبيدات في الكتلة الحيوية للفطور المدروسة.
- دراسة قدرة هذه الفطور على تحليل جزيئات المبيدات في الوسط.
- دراسة تأثير الفطور المختبرة في pH الوسط المستخدم.

طرائق البحث ومواده

1.العزلات الفطرية:

جُمعَت عينات تربة من أراضي معاملة بمبيدات كيميائية مختلفة من أيلول 2015 وحتى حزيران 2016. وضعت العينات في أكياس بولي إيتيلين شفاف وأخذت إلى المختبر. تم العزل بطريقة النثر على مستنبت PDA (Potato Dextrose Agar)، والتحضين عند درجات حرارة 25 ± 2 °س، ثم تنقية الفطور الناتجة وتصنيفها وفق عددٍ من المفاتيح التصنيفية (Rifai, 1969; Arx, 1970; Barnett and Hunter, 1972; Gerlach and Nirenberg, 1982; Walter *et al.*, 2006; Saman, 2007).

تم الحصول على العزلات التالية: العزلتان A1 وA2 من النوع *Aspergillus niger*، العزلة F من النوع الفطري *Fusarium oxysporum*، العزلة T من الفطر *Trichoderma harzianum*. كما استخدمت العزلة F7 من الفطر *F. solani* والعزلة T.v من الفطر *T. viride* اللتان تم الحصول عليهما من مختبر الدراسات العليا في كلية

العلوم– جامعة تشرين في بحثٍ سابق، وذلك لأنه تم عزلهما من ترب غير معاملة بأي نوع من المبيدات الكيميائية، وتم تصنيفهما وحفظهما وتجديدهما بشكل دوري على مستنبت PDA (شعبان، 2016) (الجدول 1).

زرعت كل عزلة من الفطور السابقة على مستنبت PDA في أطباق بتري وحضنت عند الدرجة 25 ± 2 °س حتى يكتمل النمو الفطري ثم وضعت في البراد عند درجة حرارة 4 °س لحين الاستخدام.

الجدول (1): العزلات الفطرية المستخدمة في البحث

العزلة	مكان العزل	تاريخ العزل	المبيدات المستَخدمة في الترب التي تم العزل منها
A1	كلماخو/ الفاخورة	نيسان / 2016	معامَلة بمبيدات حشرية وفطرية ومبيدات نيماتودا
A2	العسيلة/ جبلة	أيار / 2016	معامَلة بمبيدات حشرية وفطرية ومبيدات أعشاب
F	العسيلة/ جبلة	أيار / 2016	معامَلة بمبيدات أعشاب ومبيدات حشرية
T	عين العروس/ القرداحة	أيار/ 2016	معامَلة بمبيدات حشرية وفطرية
F7	غيو/ الفاخورة	آذار/ 2013	غير معامَلة بأي نوع من المبيدات
T.v	غيو/ الفاخورة	آذار/ 2013	غير معامَلة بأي نوع من المبيدات

2.المبيدات المستخدمة:

استخدم في هذه الدراسة المبيدان الحشريان Dolan (D)، وPlantocide (P)، والمبيد النيماتودي Vydate (N)، والمبيد الفطري Bayfidan (B) (الجدول 2).

الجدول (2): المواد الفعالة ونسبتها والمجموعة التي تتبع لها المبيدات المستخدمة في البحث والجرعة الموصى بها

الاسم التجاري	شكل المستحضر التجاري للمبيد	اسم المادة الفعالة ونسبتها	مجال الاستخدام	الجرعة الموصى بها	المجموعة التي يتبع لها المبيد
دولان	EC*	Chlorpyrifos 45%	مبيد حشري عام غير جهازي	100 سم^3/ 1ل	الفوسفورية العضوية (مركبات الثيوفوسفات)
بلانتوسيد	EC	Deltamethrin 5%	مبيد حشرات عام	250 سم^3 لكل 1 ل	البيرثرويئيدات (البيرثرينات الصنعية)
فايديت	سائل ذواب في الماء	Oxamyle 42%	مبيد نيماتودي حشري	50 سم^3 لكل 20 ل ماء	الكرباماتية
بايفيدان	Ec	تريأديميتول 250 غ/ل	مبيد فطري جهازي	600– 800 ل/ هكتار	الأزول

* EC: Emulsifeable Concentrate مركز قابل للاستحلاب.

3.اختبار تأثير ضعف الجرعة الموصى بها من المبيدات المستخدمة في الكتلة الحيوية للفطور المدروسة على مستنبت PDB سائل:

حُضّرت محاليل المبيدات ضمن وحدة العزل (ساحبة غازات) بدءاً من المستحضر التجاري لكل مبيد للوصول إلى التراكيز المطلوبة (وهي ضعف الجرعة الموصى بها من كل مبيد). حضر المستنبت السائل Potato Dextrose Broth (PDB)، وأضيف له ضعف الجرعة الموصى بها من كل مبيد على حده، بواسطة إبرة سيرنغ. لقحت الدوارق بعد ذلك بقرص (قطر 4 ملم) من كل فطر من الفطور المدروسة على حده، وذلك بأخذ قطعة من حافة

مستعمرة مكتملة النمو لكل فطر. نُفّذت التجربة بإجراء معاملة لكل فطر من الفطور المدروسة مع كل من المبيدات المستخدمة على حده، بالإضافة لمعاملات الشاهد بدون مبيد. وذلك بواقع 5 مكررات لكل معاملة.

حُضّنت الدوارق عند درجة حرارة 25 ± 2 °س لمدة 45 يوماً لقياس تأثير هذه الجرعات من المبيدات في الكتلة الحيوية الفطرية. بعد انقضاء مدة التحضين، استخرجت الكتلة الحيوية الفطرية من الدوارق بواسطة ملقط معقم ووضعت على ورق نشاف للتخلص من الماء الحر، ثم أخذ وزن الكتلة الفطرية بميزان حساس ذو أربع مراتب عشرية (علوان وسكر، 2010).

4.تحليل نواتج استقلاب المبيدات المستخدمة بواسطة مقياس الطيف الضوئي:

بعد قياس الكتلة الحيوية للفطور المدروسة، رُشِّحَت الأوساط المضاف إليها ضعف الجرعة من المبيدات بواسطة ورق ترشيح للتأكد من عدم بقاء أي قطع من ميسليوم الفطر في الوسط. ثم أخذت عينات من كل معاملة بمقدار 50 مل، وضعت في عبوات بلاستيكية معقمة. تم قياس مقدار تحلل المبيدات على أساس التحلل في المادة الفعالة بواسطة جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer.

تعتمد هذه الطريقة على خاصية المركب لامتصاص الضوء في مجال الموجات فوق البنفسجية أو تحت الحمراء، إذ أن هناك تناسباً طردياً بين كمية الضوء الممتصة وتركيز المبيد، ويمكن من خلال رسم منحنٍ قياسي بين امتصاصية الضوء وتركيز المبيد استخراج قيمة التركيز المقابلة للقراءة التي تعطيها العينة المجهولة. بعدها قورنت القراءات مع مبيدات محضرة في نفس وقت القياس وعينات لوسط سائل يحتوي المبيد بضعف الجرعة بدون فطر لمعرفة مقدار المبيد المتحلل ذاتياً (العادل، 2006).

5.قياس درجة pH:

تم قياس الرقم الهيدروجيني pH باستخدام جهاز pH-meter. أخذ قياس pH للعينات حسب المعاملات وللأوساط المضاف إليها ضعف الجرعة من كل مبيد على حده محضرة حديثاً لمعرفة التغير في درجة الحموضة (عباس، 2010). وحضرت معاملتين للشاهد، إحداها الوسط PDB مع كل من الفطور المختبرة على حده، بدون مبيد. والأخرى الوسط PDB مع كل من المبيدات المدروسة على حده، بدون فطر.

6. الدراسة الإحصائية:

أجريت الدراسة الإحصائية باستخدام البرنامج CoStat باستخدام اختبار التباين One Way ANOVA لحساب الفروق المعنوية بين المعاملات، عند أقل فرق معنوي LSD واحتمال 5%.

النتائج والمناقشة:

1. اختبار تأثير ضعف الجرعة الموصى بها من المبيدات المستخدمة في الكتلة الحيوية للفطور المدروسة على مستنبت PDB سائل:

بينت النتائج أن العزلات الفطرية A1، A2، F وT نمت بشكل جيد على المستنبت الغذائي السائل بوجود ضعف الجرعة الموصى بها من المبيدات. بينما لم تستطع العزلات F7 وT.v النمو بشكل جيد على المستنبت المسمّم بالمبيدات. ويظهر الجدول (3) أن أعلى كتلة حيوية فطرية كانت للفطر *A. niger* بعزلتيه A1 وA2 مع المبيد النيماتودي N، عند قيم بلغت (15.2 و14.6 غ)، على التوالي. ولم توجد فروق معنوية بالنسبة لهاتين العزلتين في قيم الكتل الحيوية بين المبيدات المختلفة والشاهد. فسجلت العزلة A1 مع المبيدات D وP وB وN على التوالي (14.9

و13.1 و10.2 و15.2غ) مقارنةً مع (15.9 غ) للشاهد. بينما سجلت العزلة A2 مع المبيدات السابقة على التوالي (14.8 و13.4 و9.3 و14.6غ)، مقارنةً مع (15.2 غ) للشاهد (الجدول 3).

بينما وجدت فروق معنوية عن الشاهد للعزلتين F وT مع المبيد B وبلغت القيم (4.2 و5.6 غ)، على التوالي مقارنةً مع (14.3 و14.8 غ)، على التوالي لشاهد كل منهما. أما للعزلتين F7 وT.v فقد وجدت فروق معنوية لكل المبيدات المستخدمة على الشاهد، وبلغت القيم للعزلة F7 (1.1 و2.5 و0 و0.1 غ) عند استخدام المبيدات D وP وN وB على التوالي، مقارنةً مع 14.9غ للشاهد. وبلغت القيم بالنسبة للعزلة T.v (4.3 و4.2 و4.3 و3.2 غ) على التوالي مقارنةً مع 14.5 غ للشاهد (الجدول 3).

اتفقت هذه النتائج مع العديد من الدراسات منها دراسة علوان وسكر (2010) التي تبين فيها قدرة عدد من الفطور ومنها ما هو مستخدم في الدراسة الحالية مثل النوع *Aspergillus niger* والنوع *Fusarium* sp. والنوع الفطري *Trichoderma harzianum* على النمو في أوساط مسممة بتراكيز مختلفة من المبيدات الكيميائية. كما أشار باحثون إلى قدرة الفطر *Trichoderma harzianum* و*Aspergillus niger* على تحويل المبيد ديازينون ومبيد الأعشاب 2,4- D إلى مركبات أخرى والنمو في أوساط حاوية على أنواع مختلفة من المبيدات الحشرية (الجوهري، 2001).

ويُعَد تأثير ضعف الجرعة من المبيدات في الكتلة الحيوية للفطور المختبرة مؤشراً هاماً لإمكانية استخدام الفطر في عملية التحطيم الحيوي للمبيدات، فكلما زادت الكتلة الحيوية النامية للفطر دلّ ذلك على أنه يتحمل درجات أعلى من الملوثات، وكلما زادت الكتلة الحيوية الفطرية ومساحتها السطحية أعطت مؤشراً على زيادة التلامس بين جزيئات المبيد وخلايا الفطر مما يُسرّع من عملية سحب المركبات إلى داخل الفطر لتحليلها كما يعني زيادة الإنزيمات التي يفرزها الفطر إلى خارج الخلايا مما يرفع مستوى التكسير الحيوي، وهذا يتفق مع العديد من الدراسات التي لوحظ فيها ارتباط ايجابي بين زيادة النمو الفطري والتكسير الحيوي لمركبات هيدروكربونية (Okerentugba and Ezeronye, 2003; Johnsen *et al*., 2005).

الجدول (3): متوسط الكتلة الحيوية الفطرية (غ) للعزلات الفطرية المختبرة تحت تأثير ضعف الجرعة الموصى بها من المبيدات المستخدمة مقارنةً مع الشاهد

العزلات الفطرية	متوسط الكتلة الحيوية الفطرية (غ) ± SD					LSD 5%
	D	P	N	B	الشاهد control	
A1	1.2 ± 14.9Aa	1.15 ± 13.1Aa	1.07 ± 15.2Aa	0.75 ± 10.2Aa	1.25 ± 15.9Aa	6.11
A2	1.05 ± 14.8Aa	0.09 ± 13.4Aa	1.3 ± 14.6Aa	1.05 ± 9.3Aa	2.05 ± 15.2Aa	7.509
F	1.07 ± 9.4ABabc	± 8.07Bab 1.11	1.12 ± 10.4Aa	0.25 ± 4.2Bbc	1.06 ± 14.3Aa	5.3
T	2.04 ± 11.2ABab	± 11.3ABa 1.32	1.15 ± 12.3Aa	1.23 ± 5.6Bab	0.85 ± 14.8Aa	6.04
F7	0.06 ± 1.1Bc	0.1 ± 2.5Bb	0 ± 0Bb	0.01 ± 0.1Bc	0.56 ± 14.9Aa	8.33
T.v	0.2 ± 4.3Bbc	0.33 ± 4.2Bb	1.1 ± 4.3Bb	0.12 ± 3.2Bbc	1.06 ± 14.5Aa	9.27
LSD 5%	9.307	6.25	5.3	5.35	10.2	

*: الأحرف الكبيرة المختلفة ضمن السطر الواحد تدل على وجود اختلاف معنوي لكل فطر مع المبيدات المختلفة مقارنة بالشاهد بدون مبيد، الأحرف الصغيرة المختلفة ضمن العمود الواحد تدل على وجود اختلاف معنوي لكل مبيد مع العزلات الفطرية المختلفة.

2. تحليل نواتج استقلاب المبيدات المستخدمة بواسطة مقياس الطيف الضوئي:

بينت نتائج تحليل الطيف الضوئي أن جميع الفطور المدروسة امتلكت المقدرة على تحليل المادة الفعالة لجميع المبيدات المستخدمة مقارنةً مع الشاهد (التحلل الذاتي للمبيدات) وبفرق معنوي واضح عنه (الجدول 4).

وكان الفطر *Aspergillus niger* بعزلتيه هو الأقدر على التحطيم الحيوي للمبيدات بفرق معنوي واضح عن الفطور الأخرى المدروسة، تلاها الفطر *Fusarium oxysporum* والفطر *Trichoderma harzianum*. بينما كان واضحاً أن الفطور التي لم تعزل من ترب معاملة المبيدات كانت أقل قدرة على تحليل وتحطيم المبيدات، وهما العزلة F7 من النوع *F. solani*، والعزلة T.v من النوع *T. viride*.

أظهر الجدول (4) أنه بالنسبة للمبيد الحشري دولان Dolan (D) كانت نسبة التحلل أعلى مع العزلة A1 وبلغت (80.07%)، بدون فرق معنوي عن العزلة A2 والتي بلغت (76.5%). تلاها بفارق معنوي العزلتان F و T وبدون فرق معنوي فيما بينهما وبلغت النسب المئوية لتحلل المادة الفعالة للمبيد (60.2 و66.3 %)، على التوالي. وكانت العزلتان F7 وT.v هما الأقل قدرة على التحليل بفرق معنوي عن بقية العزلات وبدون فرق معنوي فيما بينهما، وبلغت قيم التحلل على التوالي (40.5 و38.7 %). وبلغ قيم التحلل الذاتي في الشاهد (2.3%).

وبالنسبة للمبيد الحشري بلانتوسيد (P)، كانت أعلى نسبة تحلل مع العزلتان A2 وA1 بدون فرق معنوي بينهما، وبلغت القيم (79.25 و77.64 %)، تلاها بفرق معنوي العزلة F (70.94 %)، ثم العزلة T (51.2%). وكان الأقل معنوياً (عن بقية العزلات) العزلتان F7 وT.v ولكن بدون فرق معنوي فيما بينهما وبقيم بلغت (34.77 و30.6 %). بينما بلغ التحلل الذاتي للشاهد (1.16%) (الجدول 4).

كذلك كانت أعلى نسب تحلل للمبيد النيماتودي (N) مع العزلتان A2 وA1 بدون فرق معنوي فيما بينهما وبقيم بلغت (81.62 و76.55 %). وأقلها مع العزلتان F7 وT.v بقيم بلغت (30.3 و32.24 %) (الجدول 4).

وبشكل مشابه كانت أعلى نسب تحلل المبيد الفطري (B) مع العزلات A1 وA2 وF بدون فروق معنوية فيما بينها وبقيم بلغت (70.2 و70.1 و68.34 %)، على التوالي. ثم العزلة T والعزلة T.v بدون فرق معنوي فيما بينهما وقيم بلغت (50.09 و44.8 %)، وكانت العزلة F7 هي الأقل قدرة على تحليل المبيد الفطري B بقيمة تحلل بلغت (20.2 %) (الجدول 4). وتجدر الإشارة إلى أن قدرة العزلتين T.v وF7 على تحطيم المبيدات المدروسة على الرغم من ضعف النمو الفطري أو انعدامه في بعض الأحيان قد ترجع إلى أن هذه الفطور قامت بإفراز إنزيماتها خارج الخلوية إلى الوسط الحاوي على المبيد مما أدى إلى تحليل جزء من المادة الفعالة لهذه المبيدات بفعل تلك الإنزيمات إضافةً إلى كمية المبيد المتحللة ذاتياً (ديوان، 2008).

وتعود قدرة الفطور على التحطيم الحيوي للمبيدات وفق العديد من الدراسات إلى قدرتها على إنتاج العديد من الإنزيمات، ولاسيما خارج خلوية التي يستخدمها في تكسير المواد العضوية، ومنها المركبات الهيدروكربونية، ومن هذه الإنزيمات Peroxidases، بالإضافة إلى استخدامها الإنزيمات داخل الخلوية في عمليات التحليل ومنها إنزيمات Cytochrome P-450. وثبت مؤخراً أن إنتاج مثل هذه الإنزيمات يجعل الفطر يتحمل درجات عالية من التلوث، ويساعدها على تحليل جزء كبير من هذه الملوثات تحليل كامل، أو تحويلها إلى أشكال أخرى أقل سمية وتلوثاً (Bennet *et al.*, 2002; Annibale *et al.*, 2006; Gardina *et al.*, 2007). وتختلف قابلية المبيدات فيما بينها للتحطم الحيوي بدرجة كبيرة بسبب الاختلاف في البنية الجزيئية والخصائص الكيميائية والفيزيائية لها (Wallnofer

and Engelhardt, 1989). كما تختلف من فطر لآخر إذ أن بعض الفطور تستخدم أكثر من نظام إنزيمي واحد بالتالي تزداد قدرتها على تكسير المركبات بينما تستخدم فطور أخرى نظام إنزيمي واحد (Magan, 2005).

وقد بينت نتائج هذه الدراسة قدرة فطور *A. niger* و*F. oxysporum* و*F. solani* و*T. harzianum* و*T. viride* على تحليل المبيدات المدروسة، وتوافقت هذه النتيجة مع العديد من الدراسات، فأشار Embar (2006) إلى قدرة كل من الفيوزاريوم والأسبرجللس على تحليل المواد الفعالة في المبيدات. كذلك أثبت He وآخرون (2006) قدرة أنواع الجنس فيوزاريوم على إنتاج الإنزيمات المحطمة للمبيدات. كما أثبت Sack وآخرون (1997) قدرة العديد من الفطور على أيض المركبات الأروماتية المتعددة الحلقات.

الجدول (4): النسبة المئوية لتحطم المبيدات المدروسة حيوياً تحت تأثير الفطور المختبرة بطريقة تحليل الطيف الضوئي

العزلات الفطرية	متوسط النسبة المئوية لتحلل المبيد ± SD				LSD 5%
	D	P	N	B	
A1	2.05 ± 80.07Aa*	3.4 ± 77.64Aa	2.12 ± Aa76.55	4.05 ± 70.2Ba	4.23
A2	5.12 ± 76.5Aa	1.32 ± 79.25Aa	3.42 ± 81.62Aa	2.72 ± 70.1Ba	5.145
F	1.1 ± 60.2Bb	2.21 ± 70.94Ab	4.22 ± 66.25Ab	7.1 ± 68.34Aa	5.09
T	0.5 ± 66.3Ab	3.16 ± 51.2Bc	6.42 ± 45.61Cc	2.25 ± 50.09Bb	3.36
F7	2.04 ± 40.5Ac	1.24 ± 34.77ABd	2.45 ± Bd30.3	3.07 ± Cc20.2	6.11
T.v	0.25 ± 38.7Bc	0.95 ± 30.6Cd	5.67 ± 32.24Cd	2.55 ± 44.8Ab	5.42
الشاهد control	0.22 ± 2.3Ad	0.08 ± Ae1.16	0.1 ± 1.55Ae	0.13 ± 3.14Ad	2.25
LSD 5%	8.61	5.608	7.22	6.32	

*: الأحرف الكبيرة المختلفة ضمن السطر الواحد تدل على وجود اختلاف معنوي لكل فطر مع المبيدات المختلفة مقارنة بالشاهد بدون مبيد، الأحرف الصغيرة المختلفة ضمن العمود الواحد تدل على وجود اختلاف معنوي لكل مبيد مع العزلات الفطرية المختلفة مقارنة مع الشاهد بدون فطر.

3. قياس درجة pH:

بينت النتائج أن جميع الفطور المختبرة كانت قادرة على التأثير في درجة pH الوسط المسمم بالمبيدات وجعله يميل إلى الحامضية مقارنةً مع الأوساط المسممة بالمبيدات الخالية من الفطور (الجدول 5).

فأظهرت النتائج أن أدنى قيم لدرجة الحموضة كانت مع العزلة A1 والتي بلغت (4.54، 5.11، 4.25 و4.33) في الأوساط المسممة بالمبيدات D، P، N وB، على التوالي، مقارنةً بالشاهد الحاوي على الفطر بدون مبيد والذي بلغ (6.52) (الجدول 5). ويُفسّر انخفاض قيمة الرقم الهيدروجيني عن الشاهد الحاوي على الفطر فقط بأن الوسط الملائم لنمو الفطريات عموماً هو المعتدل والمائل للحموضة قليلاً، وهذا ما كان محققاً في الشاهد (Hanson, 2008)، بينما تبين في المعاملات الحاوية على الفطر والمبيد أن نواتج تحطم المبيد من قبل الفطر تؤثر في درجة حموضة الوسط.

بالنسبة للمبيد الفطري B ظهر الميل واضحاً تجاه الحموضة مع الفطور المختبرة فبلغت قيم pH على التوالي (4.33، 5.36، 5.67، 5.62، 6.23 و5.28)، مع العزلات A1، A2، F، T، F7 وT.v مقارنةً مع الشاهد بدون فطر والذي بلغ (6.27) (الجدول 5).

أما بالنسبة للمبيدين الحشريين D و P فقد كانت القيم على التوالي (4.54، 6.11، 6.04، 5.14، 6.03 و5.58)، و(5.11، 5.50، 6.11، 4.75، 6.85 و6.25) مع الفطور المختبرة على التوالي، مقارنةً بالشاهد بدون فطر والذي بلغ للمبيدين D و P (7.84 و7.11)، على التوالي (الجدول 5).

أظهر الجدول (5) عدم وجود فروق معنوية في قيم pH بالنسبة للشاهد بدون فطر. كذلك الأمر بالنسبة لشاهد الفطر بدون مبيد، لم توجد فروق معنوية بين العزلات A1 وA2 وF وF7 وT.v، بينما وجد فرق معنوي بين هذه العزلات والعزلة T. في حين وجدت فروق معنوية بين المعاملات بالنسبة للمبيدات المختلفة مع كل فطر، وبالنسبة للعزلات الفطرية مع كل مبيد، وتفسر هذه الفروق بحسب نوع الفطر وباختلاف المبيد والمجموعة الكيميائية التي ينتمي لها.

توافقت النتائج مع دراسة علوان وسكر (2010) ، والتي بلغت أدنى قيمة فيها لدرجة الحموضة (3.10 و3.30) عند إضافة كل من الفطرين *Aspergillus niger* و*Emericilla nidulans* إلى الوسط المسمم بضعف الجرعة الموصى بها من المبيد الحشري الفوسفوري العضوي (ديفي كوز 50%). وأعلى قيمة كانت للمبيد الفطري (بلتانول) مع كل من الفطور *A. parasiticus* و*Alternaria alternate* والتي بلغت (7.80 و7.90)، على التوالي. بينما وقعت معظم القيم بين 4.5 و6.5.

يظهر من نتائج قيم درجة pH أن الفطور المستخدمة قامت عموماً بجعل الوسط حامضي أو يميل إليه، ويتم ذلك بإفراز العديد من الأحماض العضوية وخاصةً حمض الكلوكونيك والبيروفيك والستريك وغيرها، ويرجع هذا السلوك الفطري بجعل الوسط حامضياً لمحاولة الفطر رفع قدرته على التكسير الحيوي بالاستفادة القصوى من المعادن، فأيونات بعض المعادن تكون بصورة معقدات غير ذائبة لا يستفيد منها الفطر عند درجات pH عالية، بينما تظهر بصورتها الحرة عند درجات pH منخفضة، مثل أيونات المغنزيوم والفوسفات والكالسيوم والزنك والحديد، كما تؤثر درجات pH على نفاذية غشاء الخلية فيصبح الغشاء عند الدرجات المنخفضة مشبعاً بأيونات الهيدروجين التي تحد من مرور بعض الكاتيونات السامة وتزيد من تحمل الفطر للملوثات (Lilly and Barnett, 1997).

الجدول (5): تأثير الفطور المختبرة في قيم درجة حموضة pH الأوساط المسممة بضعف الجرعة الموصى بها من المبيدات المدروسة مقارنةً مع الشاهد

العزلات الفطرية	متوسط درجة pH ± SD					LSD 5%
	D	P	N	B	الشاهد بدون مبيد	
A1	0.09 ± 4.54BCd*	1.02 ± 5.11Be	0.11 ± 4.25Cd	0.17 ± 4.33Cc	0.06 ± 6.52Aa	0.66
A2	1.04 ± Ab6.11	0.1 ± 5.50Bd	0.2 ± 6.23Ab	0.03 ± 5.36Bbc	0.11 ± 6.25Aa	0.19
F	1.2 ± Abc6.04	0.5 ± 6.11Ac	0.07 ± 5.33Bc	0.31 ± 5.67Bab	1.03 ± Aa6.05	0.35
T	0.11 ± 5.14BCcd	0.6 ± 4.75Cf	0.51 ± 6.08Ab	0.36 ± 5.62ABab	± 5.75ABb 0.44	0.71
F7	1.1 ± 6.03ABbc	1.02 ± 6.85Ab	0.05 ± Bc5.5	0.11 ± ABa6.23	± 6.40ABa 0.13	1.06
T.v	0.06 ± 5.58Cc	± 6.25ABc 0.17	1.08 ± Ab6.41	0.12 ± 5.28Dbc	0.26 ± Ba6.08	0.25
الشاهد بدون فطر	0.1 ± 7.84Aa	0.05 ± 7.11Aa	0.15 ± 7.20Aa	0.63 ± 6.57Aa	0.12 ± 7.01Aa	1.55
LSD 5%	1.03	0.16	0.4	1.12	1.25	

***: الأحرف الكبيرة المختلفة ضمن السطر الواحد تدل على وجود اختلاف معنوي لكل فطر مع المبيدات المختلفة مقارنة بالشاهد بدون مبيد، الأحرف الصغيرة المختلفة ضمن العمود الواحد تدل على وجود اختلاف معنوي لكل مبيد مع العزلات الفطرية المختلفة مقارنة مع الشاهد بدون فطر.**

يظهر مما سبق قدرة الفطور المختبرة (*Aspergillus niger*، *Fusarium oxysporum*، *Trichoderma harzianum*، *F. solani* و*T.* viride) على التحطيم الحيوي للمبيدات الكيميائية المختلفة، وتفوقت في ذلك الفطور المعزولة من ترب معاملة بمبيدات كيميائية بشكل ملحوظ إذ أن هذه الفطور بسبب تواجدها وتأقلمها في بيئة معاملة بالمبيدات الكيماوية طوّرَت مع الزمن آليات للحد من تأثير هذه الملوثات عليها وإفراز إنزيمات متعددة لتحليل جزيئات هذه المبيدات. وقد أكدت عباس (2010) قدرة كل من الفطرين *Aspergillus flavus* و*Fusarium oxysporum* على تحطيم المبيد النيماتودي Vydate المستخدم أيضاً في هذا البحث، وتحويله إلى مركبات أخرى، كما بينت عدم تأثر النمو الفطري وتشكل الأبواغ لكلا الفطرين عند النمو في وسط مسمم بالمبيد المذكور. كذلك بيَّن سرحان وجاسم (2003) قدرة الفطر *F. oxysporum* على التحليل الحيوي لمبيد الأدغال 2,4- D. ومعظم الدراسات التي تمت في هذا المجال أجريت على فطور العفن الأبيض، ومنها دراسة Magan (2005) التي أثبت فيها قدرة كل من فطور العفن الأبيض التالية *Trametes versicolor* و*Pleurotus ostreatus* و*Phanerochaete chrysosporium* على تحطيم اللغنين (الخشبين) وإنتاج أنزيمات خارج الخلية أهمها Laccase أدت بالنتيجة إلى تحطيم كامل لمبيدات الدلدرين dieldrin وتريفلورالين trifluralin. وكان Sasek (2003) قد أشار إلى دور هذه الفطور في التحطيم الحيوي للمبيدات الكيميائية. كذلك أثبت Bumpus وآخرون (1992) قدرة الفطر *Phanerochaete chrysosporium* على تحطيم مبيدات الكلوربيرفوس chlorpyrifos، والفونوفوس fonofos، والتربوفوس terbufos حيوياً وهي من المبيدات الفوسفورية العضوية. بالإضافة إلى دراسات عديدة أخرى منها Bumpus وآخرون (1985)، وArjmand وآخرون (1985).

وتعد الدراسة الحالية نواة لدراسات لاحقة للتوصل إلى الاستفادة الفعلية والتطبيق العملي في استخدام العزلات المحلية من الفطور في تحطيم المبيدات ومتبقياتها حيوياً.

الاستنتاجات والتوصيات:

الاستنتاجات:

– استطاعت جميع أنواع الفطور المختبرة (*Aspergillus niger*، *Fusarium oxysporum*، *F. solani*، *Trichoderma harzianum* و*T. viride*) النمو بوجود ضعف الجرعة الموصى بها من المبيدات المستخدمة (دولان، بلانتوسيد، فايديت وبايفيدان) في المستنبت الغذائي (PDB).

– أبدت جميع الفطور المدروسة قدرة على القيام بالتحطيم الحيوي للمبيدات المستخدمة.

– أظهرت الفطور المعزولة من ترب معاملة بالمبيدات قدرةً أعلى على التحطيم الحيوي بشكل معنوي مقارنةً مع الفطور التي عزلت من ترب غير معاملة بالمبيدات الكيميائية.

– أثرت الفطور المختبرة في pH الوسط المسمم بالمبيدات وجعلته يتجه نحو الحامضية من خلال المواد الناتجة عن تحطم المبيد والإنزيمات التي تفرزها أثناء عملية التحطيم.

التوصيات:

– متابعة التجارب على الفطور المختبرة ولاسيما العزلتان A1 وA2 من النوع *Aspergillus niger* باستخدام معايير أخرى لتقييم كفاءتهما وذلك للاستفادة من الفطور المحلية في التخفيف من التلوث البيئي.

– إجراء تجارب نصف حقلية وحقلية لمعرفة إمكانية التوصية الفعلية لهذه الفطور في التحطيم الحيوي للمبيدات.

– اختبار فعالية هذه الفطور في التحطيم الحيوي لأنواع أخرى من مبيدات الآفات المنتمية لمجموعات كيميائية مختلفة، خصوصاً المستخدمة بكثرة في بيئتنا المحلية.

المراجع:

المراجع العربية:

1. الجوهري، احسان فليح. دراسة تأثير المبيد الحشري فنتراثايون (سومثيون) على بعض فطريات التربة في حقول محافظة القادسية. مجلة القادسية للعلوم الصرفة. المجلد (6)، العدد (1). 2001. 78– 90.

2. الحمصي، شريف؛ ونور الهدى زيدان. التقنيات الحديثة في تجهيز وتنقية المبيدات. دار الكتب العلمية Dar Alkotb Alilmiyah، 2016، 304ص.

3. ديوان، مجيد متعب. فيسيولوجيا فطريات. مديرية دار الكتب والطباعة والنشر، جامعة بغداد، العراق، 2008، 291ص.

4. سرحان، عبد الرضا طه؛ ونيران عبيد جاسم. *التحلل الحيوي لمبيد الأدغال 2,4- D بواسطة الفطر Fusarium oxysporum*. مجلة القادسية للعلوم الصرفة، المجلد (8). العدد (1). 2003، 70– 77.

5. شعبان، سومر. دراسة المقاومة المكتسبة عند بعض هجن (البندورة والفليفلة) إزاء الفطرين الممرضين *Fusarium solani* و*F. oxysporum*. أطروحة دكتوراه في البيئة والتصنيف النباتي. جامعة تشرين، كلية العلوم، قسم علم الحياة النباتية. 2016. 95ص.

6. العادل، خالد محمد. مبيدات الآفات. مديرية دار الكتب والطباعة والنشر، جامعة بغداد، العراق، 2006، 266ص.

7. عباس، مثال كريم. *التحلل الحيوي للمبيد الحشري النيماتودي الفايديت (أوكساميل) بوساطة بعض الفطريات الممرضة للنبات*. مجلة القادسية للعلوم الصرفة، المجلد (7). العدد (1). 2010، 132– 141.

8. عبدالرضا، عدنان نعمة؛ الطائي، هادي رحمن رشيد؛ وأنوار علي كاظم. *المعالجة الحيوية لبقايا المبيدات الحشرية بواسطة Pseudomonas aeruginosa*. مجلة ديالى للعلوم الزراعية، 5 (2)، 2013، 58 –68.

9. علوان، صباح لطيف؛ وأحمد رشيد سكر. *اختبار قدرة بعض الأنواع الفطرية في التحطيم الحيوي لبعض أنواع المبيدات الكيميائية*. مجلة جامعة الكوفة لعلوم الحياة. المجلد (2)، العدد (2): 1– 13، 2010.

المراجع الأجنبية:

1. ANNIBALE, A.D., ROSETTO, F., LEONARDI, V., FEDERICI, F. and PETRUCCIOLI, M. *Role of autochthonous filamentous fungi in bioremediation of a soil historically contaminated with aromatic hydrocarbons*. Appl. Env. Microbiol. 72: 2006, 28-36.

2. ARJMAND, M., SANDECMANN, JR., H. and ANDEMANN, G. *Mineralization of Chloroaniline/ Lignin Conjugates and of Free Chloroanilines by the White Rot Fungus Phanerochaete chrysosporiurn*," J. Agric. Food Chem. 1985, 33, 1055-1060.

3. ARX, J.A.V. The Genera of Fungi Sporulating in Pure Culture. J. Cramer, Vaduz, 2nd ed, 315. 1970.

4. BARNETT, H and HUNTER, B. Illustrated Genera of impact fungi .library of congress, America, 250. .(1972).

5. BENDING, G., FRILOUX, M. and WALKER, A. Degradation of contrasting pesticides by white rot fungi and its relationship with ligninolytic potential. *FEMS Microbiology Letters*, 212, 2002, 59-63.
6. BENNET, J.W.; WUNCH, K.G. and FAISON, B.D. Use of fungi in biodegradation. In: Hurat (ed.) Manual of environmental microbiology. 2nd edition, ASM Press Washington. 2002, 960-971.
7. BUMPUS, J. A; KAKAR, S. N. and COLEMAN, R. D. Fungal Degradation of Organophosphorous Insecticides. Department of Chemistry and Biochemistry, University of Notre Dame, Indian, 1992, p. 24.
8. BUMPUS, J. S., TIEN, M., WRIGHT, D., AUST, S.D., "*Oxidation of Persistent Environmental Pollutants by a White Rot Fungus.*" Science, 1985, '228, 1434-1436.
9. DARKO, G., and AKOTO, O. *Dietary intake of organophosphorus pesticide residues through vegetables from Kumasi, Ghana.* Food and Chem. Toxicol. 46, (2008). 3703–3706.
10. EMBAR, K. *The role of indigenous bacterial and fungal soil population in the biodegradation of crude oil in a desert soil*. Biodeg., 17: 2006, 369-377.
11. FOGARITY, A. M. and TUOVINEN, O. H. Microbiological degradation of pesticides in yard waste composting. Microbiological Reviews, 55 (2). 1999, 225- 233.
12. GAN, J. and KOSKINEN, W.C. Pesticide fate and behaviour in soil at elevated concentrations. 1998, P. 59-84. In: P.C. Kearney (ed.) Pesticide remediation in soil and water. John Wiley and Sons, Chichester, England.
13. GARDINA, P., AUTORE, F., FARACO, V., FESTA, G., PALMIERI, G., PISCITELLI, A. and SANNIA, G. *Structural characteristics of heterodimeric laccases from Pleurotus ostreatus.* Appl. Microbiol. Biotechnol., 2007,75: 1293-1300.
14. GERLACH, W. and NIRENBERG, H. The genus *Fusarium*- a Pictorial Atlas .2,Berlin,404. .(1982).
15. HANSON, J. R. Chemistry of fungi, RSC publishing, 2008, 190pp.
16. HE, Y.H.; SHEN, D.S.; FANG, C. and ZHU, Y. *Rapid biodegradation of metsulfuron methyl by a soil fungus in pure cultures and soil*. Worl. J. Micobiol. Biotechnol., 22: 2006, 1095-1104.
17. JOHNSEN, A.R.; WICK, L.Y. and HARM, H. Principles of microbial PAH–degradation in soil. *Env. Pollut*., 133, 2005, 71-84.
18. KEARNEY, P.. Disposal options based on properties of pesticides in soil and water. In: Kearney, P. and Roberts, T. (eds.) pesticides remediation in soils and water. Wiley series in Agrochemicals and Plant Protection, 1998, 155.
19. KONSTANTINOU, I. K., HELA, D. G. & ALBANIS, T.A. *The status of pesticide pollution in surface waters (rivers and lakes) of Greece. Part I. Review on occurrence and levels*. Environ. Pollut. 141, (2006) 555-570.
20. LILLY,V. and BARNETT, H. The influence of pH and certain growth factors on mycelia growth and perithecial formation by Sordaria fimicola. *Am. J. Botany*, 34, 1997, 131-138.
21. LIND, D. Physico-Chemical properties and environmental fate of pesticides. 1994, 120p.
22. MAGAN, N. Use of fungi in bioremediation of pesticides. PhD. Thesis, Cranfield University. 2005, 241pp.
23. NERUD, F., BALDRINAN, J., GABRIEL, J. and OGBEIFUN, D. Non enzymic degradation and deeolorization of recalcitrant compounds. In Sasek V. et. al. (Eds.) The

utilization of bioremediation to reduce soil contamination: Problems and solutions. 2003, PP. 29-48. Kluwer Academic Publishers.
24. OKERENTUGBA, P. and EZERONYE, O. Petroleum degradation Potentials of single and mixed from rivers and refinery effluent in Nigeria. *Afri. J. Biotechnol*., 2, 2003, 288-292.
25. POINTING S. *Feasibility of bioremediation by white-rot fungi*. Applied Microbiology and Bioteehnology; 57: 2001, 20-33.
26. RICHARD, G. Biodegradable polymers for the environment, American Association of Advanced Science, 2002. 804pp.
27. RIFAI, M. A. A revision of the genus Trihoderma. Mycological Papers. Kew, Surrey, UK, Commonwealth Mycological Institute, No. 116,1-56. (1969).
28. SACK, L.; PERRY, J.; HOUK, V.S.; WILLIAMS, R.W. and CLAXTON, L.D.. Changes in mutagencitty during crude oil. Degradation by Fungi. Biodegra., 7: 1997, 335-343.
29. SAMAN, A *Biological control of Fusarium solani f. sp. phaseoli the causal agent of root rot of bean using Bacillus subtilis CA32 and Trichoderma harzianum RU01*. Ruhuna Journal Of Science, Sri Lanka, 2, .(2007). 82-88.
30. SASEK, J. Why mycoremediations have not yet come to practice. In: Sasek, et al. (Eds.). In: The utilization of bioremediation to reduce soil contamination: Problems and solutions, 2003, pp. 247-276. Kluwer Academis Publishers.
31. SHOEFS,O., PERRIER, M. and SAMSON, R. Estimation of contaminate depletion in unsaturated soils using a reduced order biodegradation model and carbon dioxide measurement. Applied Microbiology and Biotechnology. 64: 2004, 256- 261.
32. WALLNOFER, P. R., and ENGELHARDT, G. Microbial degradation of pesticides, p. 1-115. In G. Haug and H. Hoffmann (ed.), Chemistry of plant protection, vol. 2. 1989, Springer-Verlag KG, Berlin.
33. WALTER, M; JAKLITSC, G. J; SARAH, L. and BING, S.L *Hypocrea rufa/Trichoderma viride: a reassessment, and description of five closely related species with and without warted conidia*. Stud Mycol USA, 56,1, .(2006). 135-177.
34. ZHANG, J. and CHIAO, C. *Novel approaches for remediation of pesticide pollutants*. International Journal Enviroment and Pollution, 18(5): 2002, 423-433.