جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي جامعة ديالى

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

دور بكتريا الزوائفالزنجارية في المعالجة الحيوية لبقايا بعض المبيدات الحشرية

رسالة مقدمة الى

كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في علوم الحياة – الأحياء المجهرية

من قبل

انوار علي كاظم مهدي

بإشراف

أ.د.عدنان نعمة عبد الرضا العزاوي أ.م.د. هادي رحمن رشيد الطائي

شعبان1434هـ حزيران /2013 م

1- المقدمة Introduction

تعد مشكلة تلوث التربة والماء والهواء بالملوثات الكيميائية السامة احدى المشاكل البيئية التي تواجه العالم اليوم ، إذ ان ثمانين بليون باوند من الملوثات العضوية تنتج سنويا في الاراضي الزراعية، وان 10% فقط يتم التخلص منها بطريقة امنة (Nyakundi *et al* ., 2010).

هناك العديد من الفوائد الكبيرة للمبيدات إذ تستخدم لحماية المحاصيل وأنتاج اغذية اكثر كفاءة، وتستعمل في تخفيض مستوى سوء التغذية والمجاعة للبشر والحيوانات ، وايضا للسيطرة على العديد من امراض الانسان المحمولة بوساطة الحشرات كالملاريا والتهاب الدماغ وغيرها (Helfrich *et al*,.2009)، لكن يؤدي سوء الاستخدام غير الأمن للمبيدات في حقول زراعة الخضراوات والفاكهة الى اضرار واسعة النطاق على صحة الانسان والبيئة ،إذ تعد واحدة من اكثر الاسباب شيوعا للتسمم في انحاء العالم جميعاً ، إذ ان التعرض الشديد لهذه المبيدات يسبب حالات تسمم بنسبة اكثر من 3 مليون حالة تسمم سنويا ، وان الاستعمال المفرط لها يسبب ظهور المقاومة من قبل الآفات، وكذلك ظهور بقايا هذه المبيدات في المحاصيل والتربة (Loevinsohn,1987;Mortensen,1986; Anwar, 1997).

إن التعرض للمبيدات يمكن ان يؤدي الى تأثير تراكمي وكذلك تأزري وغيرها من انماط التأثير والتي تؤثر على التعبير الجيني Gene expression في الانظمة الحية، وبالتالي تغير من المؤشرات الوراثية، فالمبيدات وخصوصا عند استعمال خليط منها تؤثر بشكل اكبر من استعمال مبيد واحد (العزاوي واخرون،2009) واثبتت العديد من التقارير ومنها منظمة حماية البيئة EPA بأن المبيدات هي سبب الاصابة بالعديد من السرطانات مثل سرطان الجلد، والجهاز العصبي ، والثدي ،وتلف الكبد، والكلى وغيرها(Alavanja *et a*l, 2004, Ossondo *et al*,.2009, Lee *et al* ,.2004,U.S.EPA,1999).

بسبب هذه المشاكل وبسبب القلق البيئي المرتبط مع تكدس هذه المبيدات في المحاصيل الغذائية، ومصادر المياه، جاءت الاهمية لمعالجة المواقع الملوثة بهذه الملوثات، وهناك العديد

من الطرائق المختلفة للمعالجة بضمنها المعالجة الكيمائية، والفيزيائية التي واجهت العديد من الانتقادات بسبب المشاكل الكبيرة التي تسببها كأنتاج الحوامض، والقواعد، بالإضافة الى ان هذه الطرائق غير اقتصادية وغير كفوءة ،ولا تتناسب والمساحات الكبيرة، لذلك كانت الحاجة لتطوير طرائق كفوءة وامنة واقتصادية لمعالجة هذه الملوثات وهي الطرق البايولوجية التي تتضمن استخدام الأحياء المجهرية(البكتريا او الفطريات) المتوافرة طبيعياً او المقدمة لتحطيم أو تكسير المبيدات او وازالة سميتها إذ تعد اكثر عمليات التحطيم اهمية في المعالجة ،وهذه القابيلة في اغلب الأحيان تكون بوساطة الانزيمات التي تشفر لها البلازميدات (Robert., *et al*., 2000 .,Magan.,2005., Nyakundi *et al* .,2010).

تعد الكروماتوغرافيا السائلة عالية الكفاءة HPLC من الطرق الحديثة للتحليل والمعتمدة عالمياً إذ أنها تتميز بإمكانية التحديد الكمي والكيفي في الوقت نفسه وإمكانية تحليل أكثر من مركب ضمن العينة الواحدة ،وكذلك الكشف الكمي حتى تراكيز تصل إلى ppm (جزء من مليون)، وحساسية عالية (Scott.,2003) ولقلة الدراسات في هذا الجانب في محافظة ديالى والتي تعد من المحافظات الزراعية لذا جاءت هذه الدراسة لتهدف الى استخدام الطرق البايولوجية في عملية ازالة الملوثات بأستخدام بعض العزلات المحلية المعزولة من ترب زراعية في محافظة ديالى وذلك بأتباع الخطوات الاتية :

1. عزل البكتريا المحللة للمبيدات البيروثيدية مثل Fenverlerate، lambd-Cyhalothrin وتشخيصها.
2. تحديد حالات النمو المثالية للعزلات المنتخبة
3. تحديد تحمل هذه العزلات للمعادن الثقيلة المختلفة .
4. دراسة المحتوى البلازميدي للعزلات الاكثر كفاءة في عملية تحليل المبيدات واجراء عملية طرد البلازميدات للعزلات المختارة Curing plasmid process .
5. استخدام تقنية الكروماتوغرافي السائل HPLC لدراسة قابلية العزلات على التكسير البايولوجي للمبيدات قيد الدراسة .

Summary

The study was made from period December 2011 until march 2013 collected during it samples from different agricultural soils in Baaquba country city, The study was included isolation and identification of bacterial strains resistant of pyrethroid pesticides (lambde-cyhalothrin ,fenvalerate) from this agricultural soils . The results appeared that the (5) isolates from (8) total bacterial strains are *Pseudomonas aeruginosa* and (3) isolates are members of the genus spore forming *Bacillus spp.* All bacterial isolates were identified by the biochemical , cultural and microbial characteristics.

The research findings of Plate count technique show that the number of bacterial cells of *Pseudomonas aeruginosa* to pesticides (fenvalerate, lambde-cyhalothrin) are 185×10^8 CPU,106×10^8 CPU respectively while the number of bacterial cells of isolates the genus spore forming *Bacillus spp* to pesticides (fenvalerate, lambde- cyhalothrin) are 66×10^8 CPU ،1×10^8 CPU respectively.

The research findings of residue concentration by use High Performance Liquid Chromatography (HPLC) technique that *Pseudomonas aeruginosa* was adapted and growth to concentration Viz. 250 µg / ml,200 µg / ml and the rate of residue concentration of (fenvalerate,lambde-cyhalothrin) in last week at 250 µg/ml are ,% 23.8,% 12.4respectively in first experiment and 2.22%, 2.84% respectively in second experiment and the rate of residue concentration of fenvalerate,lambde-cyhalothrin in last week at 200 µg/ml are 2.63%,2.86 %in first experiment 3.57%,3.9%respectively in second experiment .

The result of optimum of the selected bacterial isolates was 42ºC, (6-9) to *Pseudomonas aeruginosa* and (25-30) ºC, (8.5- 9)for spore forming Bacillus , the growth patterns of *Pseudomonas aeruginosa* were studied in defferent media Viz,N.B, M9+glucose, M9+fenvalerate, M9+ lambde-cyhalothrin .In