



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ميسان
كلية التربية الاساسية

مجلة ميسان
للدراسات الاكاديمية
العلوم الانسانية والاجتماعية والتطبيقية

ISSN (Paper)- 1994- 697X

(Online)- 2706- 722X



الجلد 21 العدد 44 السنة 2022

مجلة ميسان للدراستات الاكاديمية العلوم الانسانية والاجتماعية والتطبيقية

كلية التربية الاساسية - جامعة ميسان - العراق

ISSN (Paper)- 1994-697X
(Online)- 2706-722X

مجلة (٢١) العدد (٤٤) كانون الاول (٢٠٢٢)

ISSN
INTERNATIONAL
STANDARD
SERIAL
NUMBER
INTERNATIONAL CENTRE

OJS / PKP
www.misan-jas.com

IRAQI
Academic Scientific Journals



TOGETHER WE REACH THE GOAL



ORCID

OPEN ACCESS



journal.m.academy@uomisan.edu.iq

رقم الايداع في دار الكتب والوثائق بغداد 1326 في 2009

ص	فهرس البحوث	ت
١	لطفة التعبير في مجال النُعد النفسي في نهج البلاغة (مفردات الموت أنموذجاً) فاخر هاشم سعد الياسري علي صادق جعفر	١
١٨	أثر استراتيجية قراءة الصورة في تنمية مهارات التعبير الشفهي لدى طالبات الصف الثاني المتوسط منتهى فهد بريسم هدى محمود شاكر	٢
٣٣	واقع ممارسة معلمي العلوم في المرحلة الابتدائية لمبادئ النظرية البنائية من وجهة نظر مشرفي المادة رملة جبار كاظم الساعدي أحمد عبد الرضا مراد الشريف	٣
٥٢	تصميم برنامج علاقات عامة معاصر لبناء الثقة بين المؤسسة والجمهور ليث صبار جابر علي جبار الشمري	٤
٦٢	مقدرات الموارد البشرية ودورها في تحقيق الرشاقة التنظيمية محمد حمادي جابر البخاتي زيد صلاح الظالمي سحر عباس حسين الزيايدي	٥
٨٣	الابوئة في القران الكريم (دراسة في الاسباب والمعالجات) جاسب غازي رشك	٦
٩٥	الانحراف الفكري وأثره على الجيل المعاصر في الفكر الإسلامي (الأسباب - المعالجات) حامد هادي بدن سلمان خليل حسن رهك الزركاني	٧
١١٩	الصورة الإشهارية في التشكيل النحتي المعاصر احمد خليف منخي	٨
١٣٧	القواعد الفقهية في درء الأبوئة (فريضة الحج في ظل وباء كورونا نموذجا) فاضل عاشور عبد الكريم	٩
١٤٩	استراتيجية السينات الخمسة S5 ودورها في تخفيض تكلفة المنتج دراسة تحليلية لآراء عينة من العاملين في قسم الانتاج لشركة مصافي الوسط أسامة عزيز هاوي الطائي محمود عبد علي فهد الدليمي	١٠
١٧٢	اسلوب الحوار القرآني في عرض الانحراف الفكري محمد اسماعيل هاشم خلف عمار باسم صالح	١١
١٨٨	كتاب اللُغة العربيَّة (الجديد) للصفِّ الرَّابِعِ الإِعداديِّ (دراسةٌ تحليليَّةٌ تَقْويميةٌ) أحمد عيسى طاهر	١٢
٢٠٤	تجليات مفهوم الوجود الذهني في الابواب النحوية علي جاسب عبدالله كاظم جبار علك	١٣
٢١٨	وجوه الاتفاق بين تفسير الشيخ الطوسي (التبيان) ومن سبقه من مفسري الشيعة: في (المنهج، المصادر) دراسة مقارنة. قاسم بستاني مينا شمخي عماد كاظم مانع	١٤
٢٣٨	اختراق الايقونة المقدسة في فن الوشم المعاصر ويم ديلفوي انموذجاً رجاء كريم جبوري العبيدي أزهر داخل محسن	١٥

250	The Degree of Proficiency of the Students of the Physics Branch in the College of Basic Education for the Electronic Exam Using the Edmodo Platform and their Tendencies Towards it Rasha Abdul-Hussein Sahib Abdul-Hassan	16
269	The speech Act of Apology in Iraqi Arabic: A Socio-pragmatic Study Mohammed Taher Jasim	17
282	Wallace Stevens' 'Anecdote of The Jar' and 'The Snow Man': A Lexical - Semantic Interpretation Abdul Razzaq Darweesh Abdul Razzaq	18
299	Preparation of the Antioxidant Compounds from the Styrene and P-Benzoquinone Compounds to the Lubricant Oils Faez Sameer Salih - Raed Kadhim Zaidan _ Khansa Abdul Razzaq Ali3	19
319	The Effectiveness of Training on Some Self-Regulated Learning Strategies in Improving Self-Efficacy and Academic Performance in the English Language Tuqa Mohammed Hannon	20
332	Review on Frankincense Essential Oils: Chemical Composition and Biological activities Sura M. Abbood1*, Sura Mohammed Kadhim2, Aziz Yasir Hasan Al-Ethari3, Zyad H AL-Qaisia1, Mustafa Taha Mohammed1	21
٣٤٦	التحطم الحيوي للمبيد الفطري كاربندازيم بواسطة اربعة سلالات بكتيرية. ساره ناظم حميد علاء حسن الفرطوسي	٢٢



ISSN (Paper) 1994-697X

(Online) 2706-722X

DOI: 10.54633/2333-021-044-022



التحطم الحيوي للمبيد الفطري كاربندازيم بواسطة اربعة سلالات بكتيرية.

ساره ناظم حميد علاء حسن الفرطوسي

كلية الزراعة / جامعة البصرة

المستخلص

تم معالجة التربة المحتوية على الاحياء الدقيقة بمبيد الكاربندازيم بتركيز مختلفة وصلت الى 250 جزء في المليون ولمدة 40 يوماً. عزل اربع سلالات بكتيرية اعتمادا على الصفات المظهرية الجزيئية. اثبتت تقنية تفاعل البوليمر المتسلسل بأن البكتريا هي: *Pseudomonas putida* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Klebsiella pneumonia* و *Enterobacter cloacae*. درست قابلية السلالات في تحطيم مبيد الكاربندازيم 1000 جزء في المليون في الوسط الملحي المعدني. Minerals salts media سجلت البكتريا *K. pneumonia* اعلى معدل نمو في الوسط MSM 2.257 /يوم تليها البكتريا *P. aeruginosa* 2.25 /يوم ومن ثم البكتريا *P. putida* 2.1 /يوم واقلها عند البكتريا *E. cloacae* 0.83 /يوم.

الكلمات المفتاحية: مبيد الكاربندازيم ، التحلل الحيوي، وسط الاملاح المعدنية، معدل النمو، تقنية التفاعل المتسلسل.

Biodegradation of Carbendazim using Four bacterial Strains.

Sara Nadum Hameed¹ Alaa Hassan Al-Farttoosy¹
College of Agriculture, University of Basrah, Iraq.

alaa.hassan@uobasrah.edu.iq

<http://orcid.org/0000-0002-2222-4561>

Abstract

The soil microorganisms were enriched with MBC by using different concentrations 250 ppm for 40 days. Four bacterial

strains were isolated based on morphological, and molecular identification. The Polymer chain reaction technique (PCR) proved that the isolated bacteria are: *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, and *Enterobacter cloacae*. MBC-degradation strains were studied using 1000 ppm MBC in mineral salt media. The highest growth rate was recorded by *K. pneumonia* strain, reaching 2.257/day, followed by *P. aeruginosa* 2.25/day, then *P. putida* 2.1/day, and the lowest growth rate was for *E. cloacae* 83.0/day.

Keyword: Carbendazim, biodegradation, Mineral Salts Media, Growth rate, PCR.

المقدمة

مبيد الكاربندازيم Carbendazim (methylH-benzimidazol-2-yl carbamate) هو مبيد فطري جهازي من مجموعته benzimidazole. يستخدم المبيد على نطاق واسع في العديد من البلدان. اذ يستخدم للسيطرة على الأمراض الفطرية التي تسببها الفطريات الناقصة والبازيدية للمحاصيل الزراعية (Chen و Zhou، 2009). يعد المبيد MBC ناتجاً عن تحلل بعض المبيدات المنتمة لمجموعة البنزيميدازول مثل البينوميل وثيوفانات الميثيل (Sandahl و Boudina و اخرون، 2000؛ Boudina و اخرون، 2003). مبيد الكاربندازيم MBC يستقر بشكل نسبي في التربة وتبلغ فترة نصف العمر له 12 شهراً (Pandey و اخرون، 2010) كنتيجة لبطيء معدل التحلل وقابلية الذوبان المنخفضة في الماء وتفاعله مع غرويات التربة. يعتمد امتصاص التربة للمبيد MBC على محتوى الكربون العضوي والمعدن الطيني (Cancella و اخرون، 1992؛ Berglof و اخرون، 2002) ذكرت العديد من الدراسات أن التعرض للكاربندازيم تسبب في العديد من التأثيرات الشديدة على الحيوانات بما في ذلك السمية الإنجابية في الفئران (Rajeswary و اخرون، 2007؛ Yu و اخرون، 2009). كما يمكن أن يضر الكبد و الغدد الصماء وله تأثيرات مطفرة وماسخة على الحيوانات، حتى عند التركيزات المنخفضة (Kiigemagi و اخرون، 1991). على الرغم من أن الكاربندازيم قد يتحلل بفعل العمليات الكيميائية والفيزيائية، إلا أن التحلل الميكروبي يلعب دوراً حاسماً في إزالة الكاربندازيم من التربة (Mazellier و اخرون، 2003). يعد التمثيل الغذائي الميكروبي الآلية الرئيسية المسؤولة عن تدهور MBC في التربة (WHO، 1993؛ Mazellier و اخرون، 2003). ونتيجة لذلك، برزت هناك حاجة ملحة لتطوير استراتيجيات لمعالجة تلوث الترب بالمبيد MBC من خلال استخدام كائنات دقيقة مكيفة تؤدي إلى تدهور المبيد MBC وتقلل من مستويات التلوث به.

المواد وطرائق البحث

التخصيب والعزل

حضر الوسط الملحي MSM الذي يتكون من $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.6 ، K_2HPO_4 0.62 ، NH_3SO_4 0.2 ، $0.2 \text{ MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) غم /لتر مذابة في واحد لتر ماء وعُقم في درجة حراره 121°C لمدة 15 دقيقه بواسطة جهاز المؤصدة Autoclave . اضيف 5 غم من التربة الى كل دورق زجاجي يحتوي على 35 مل MSM معاملة بمبيد الكاربندازيم بتركيز 100 جزء في المليون بعد امراره من فلتر سرنج (0.22) كمصدر وحيد للكربون. حضنت الدوارق

الزجاجية عند حرارة 30°م في حاضنة هزازة على سرعة 120 دورة في الدقيقة لمدة 10 ايام وبعد انتهاء فترة الحضانة الاولى، اخذ 5 مل من كل دورق ونقل الى دورق جديد سعة 250 مل يحتوي على 30 مل وسط معدني معقم مع 150 جزء في المليون مبيد الكاربندازيم. كررت العملية عدة مرات حتى وصلت الى مزارع خالية من التربة ووصلت الى تركيز المبيد المستخدم الى 250 جزء في المليون.

تشخيص العزلات البكتيرية

تم استخلاص DNA من العزلات البكتيرية باستخدام عدة الاستخلاص Kit DNA Extraction promega و اجري الاستخلاص تبعاً Promega Corporation (2019).

التحطيم الحيوي للمبيد MBC وحساب منحنى نمو العزلات البكتيرية باستخدام جهاز الطيف الضوئي

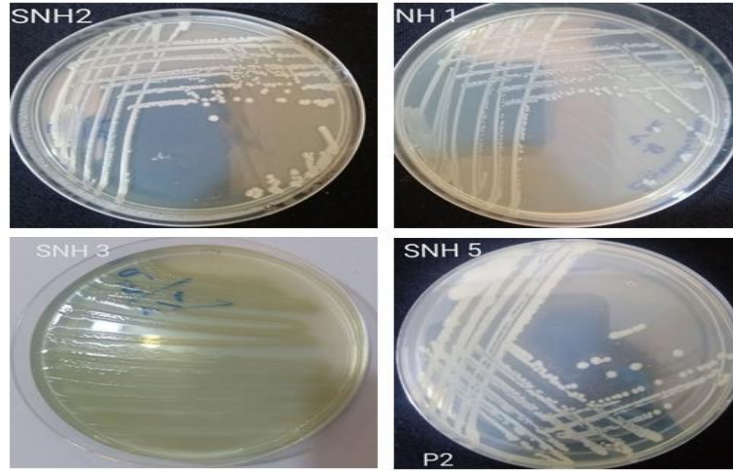
حضرت تركيز من المادة القياسية للمبيد MBC 1000 جزء في المليون. اضيف التركيز الى انابيب 50 مل تحتوي الوسط الملحي المعدني (MSM) يحتوي على الكلوكون كمصدر للكربون بنسبة 1%. بعد تعقيمه عومل كل دورق 2 مل خلية بكتيرية حية تمثل التركيز (0.5 × 10⁸) وبواقع ثلاث مكررات لكل تركيز وسلالة بكتيرية. بينما تركت معاملة المقارنة بدون اضافة المبيد MBC. حضنت العينات في الحاضنة الهزازة على درجة حرارة 30 °م. اخذت القراءات بعد (0 و 3 و 5 و 7) ايام وتم حساب النمو البكتيري باستخدام جهاز المطياف الضوئي على طول موجي 600 نانومتر.

التحليل الاحصائي

تم حساب معدل نمو البكتريا الواردة وفق المعادلة معدل النمو = اللوغاريتم الطبيعي (اخر كثافة ضوئية لنمو البكتريا / اول كثافة ضوئية بدأ النمو فيها) (Maier, 2009). كما تم تحليل نتائج نمو البكتريا بوجود المبيد وبغيابه باستخدام تحليل t-test.

النتائج والمناقشة

يبين الشكل (1) العزلات البكتيرية التي تم الحصول عليها بعد اربعون يوماً من التكييف المختبري تحت ظروف انتخابية عالية تمثلت باستخدام مبيد MBC بتركيز 1000 جزء في المليون. عزلت اربعة سلالات هي بكتريا *Pseudomonas putida* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Klebsiella pneumonia* و *Enterobacter cloacae* تمكنت السلالات المعزولة من النمو على الوسط الصلب المحتوي 1000 جزء في المليون مبيد MBC. اختلفت هذه العزلات فيما بينهما مظهرياً.

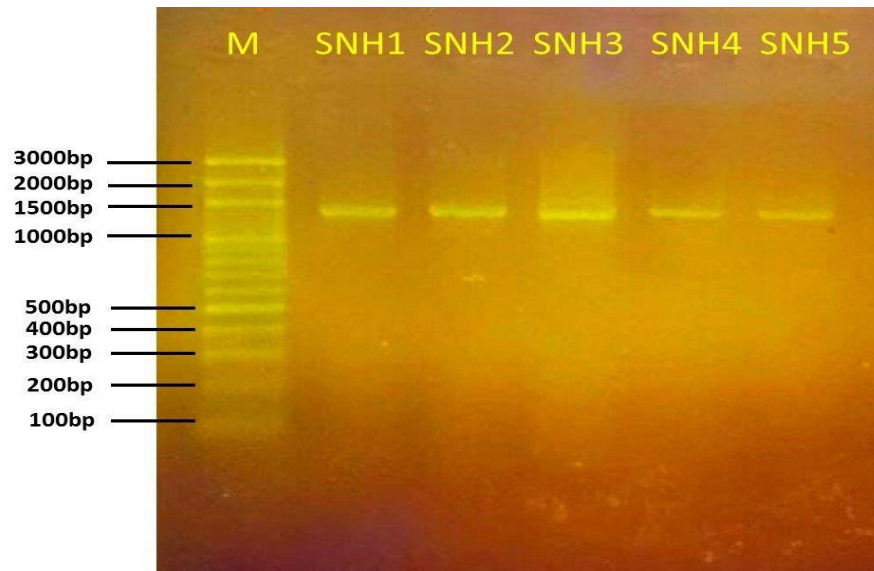


شكل (1) العزلات البكتيرية المعزولة بعد التكيف المختبري في وسط MSM المحتوي على مبيد الكاربندازيم.

تشخيص العزلات المستخدمة في تحطيم مبيد الكاربندازيم باستخدام اختبار *s rRNA16* ورسم الشجرة الوراثية

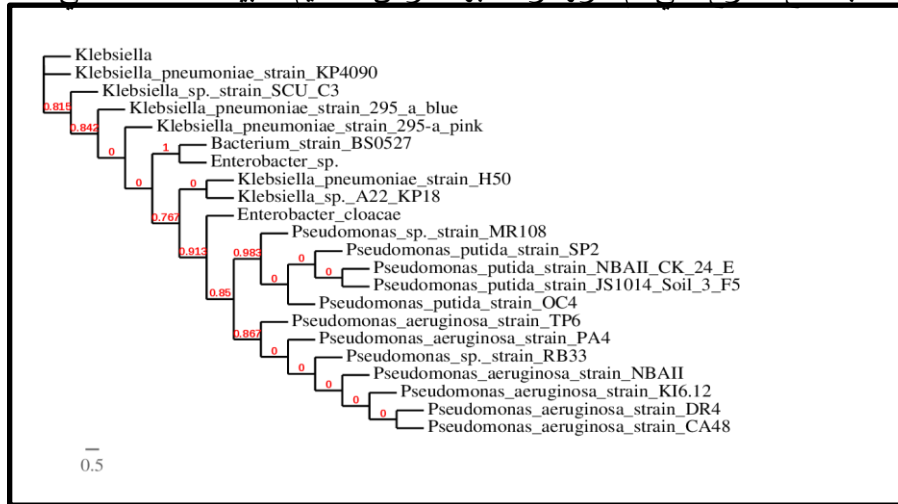
اظهرت نتائج التحري الاولي عن المادة الوراثية DNA المستخلص من العزلات البكتيرية المنتخبة ظهور حزم DNA كما في الشكل (2) مما يؤكد ان الكائنات التي تم تشخيصها تعود الى prokaryotic بدائية النواة و ليس حقيقية النواة Eukaryotic، فضلاً عن دقة الاستخلاص.

يبين الشكل (2) ترحيل الحامض النووي DNA المستخلص من العزلات المنتخبة (SNH1، SNH2، SNH3، SNH4، SNH5) على هلام الاكاروز نسبة 1.5% اذ يلاحظ هنالك اربع حزم للعزلات قيد الدراسة تمثل الحامض النووي DNA.



شكل (2) الترحيل الكهربائي للحامض النووي DNA المستخلص من العزلات البكتيرية المستخدمة في التحطيم الحيوي للمبيد MBC.

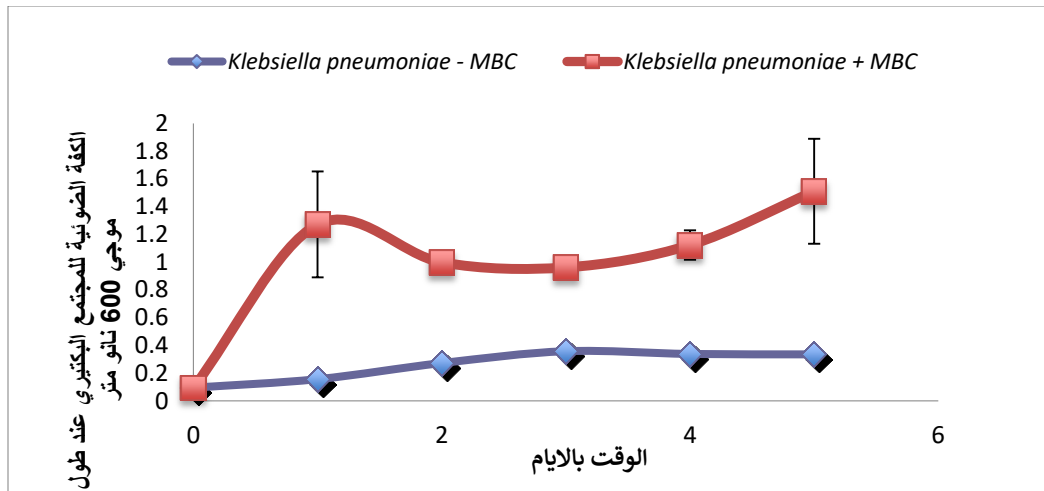
تم تحديد وتطابق تتابع القواعد النيتروجينية في موروث 16S rRNA s العائدة للعزلة البكتيرية (1SNH و 2SNH و 3SNH و 5SNH) بعد تحليل البيانات باستخدام الموقع <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/blast.cgi>. اظهرت العزلة 3SNH تطابقاً مع البكتريا *P. aeruginosa* بنسبة 97.14% والعزلة 5SNH تطابقاً مع *P. putida* بنسبة 93.58 والعزلة 1SNH تطابقاً مع البكتريا *E. cloacae*. بنسبة 97.94 والعزلة 2SNH تطابقاً مع البكتريا *P. Klebsiella* بنسبه 96.68. تم رسم الخارطة الجينية (خريطة النشوء والتطور) Phylogeny tree من خلال الموقع <http://www.phylogeny.fr> باستعمال طريقه neighbours للتقارب الوراثية باستعمال القواعد النيتروجينية للسلاسل البكتيرية المطابقة مع الانواع التي تم عزلها وانتخابها لغرض تحطيم المبيد MBC كما في الشكل (3).



شكل (3) شجرة النشوء والتطور للتشابه الوراثي لجميع العزلات البكتيرية المنتخبة لتحطيم مبيد الكاربندازيم مقارنة بالتتابعات العالمية للقواعد النيتروجينية المسجلة في Genebank.

منحنى نمو السلالات البكتيرية بوجود وغياب المبيد MBC

يبين الشكل (4) منحنى النمو البكتيري *K. pneumonia* في وسط MSM المزود بالمبيد MBC بتركيز 1000 جزء في المليون. اذ يلاحظ قدرة البكتريا في النمو بوجود المبيد، مما ادى الى ظهور الطور الاسي بعد يوم واحد من التحضين. اذ ارتفعت كمية الضوء الممتص (العكورة) من $0.095 \pm E1.38$ الى 1.271 ± 0.3816 عند طول موجي 600 نانومتر. ثم حدث تذبذب لنمو البكتريا خلال الايام الثاني والثالث والرابع ليعود وترتفع عكوره الوسط عند اليوم الخامس لتصل 1.509 ± 0.378 . بينما يلاحظ ان نمو البكتريا في الوسط الخالي من مبيد MBC لم يكن بالكفاءة العالية اذ لوحظ استمرار طور التطبعي. سجلت عكوره الوسط ارتفاعا بسيطا في كثافتها الضوئية من 0.095 ± 1.38 الى 0.335 ± 0.0156 بعد خمس ايام من التحضين.



شكل (4) منحى نمو بكتريا *Klebsiella pneumoniae* في وسط MSM.

مما يتبين ان البكتريا *K. pneumoniae* استطاعت النمو في الاوساط السائلة Broth culture المزود المبيد MBC و الكلوكوز وهذا مؤسر على قدرة البكتريا الاستعادة من الميذ والكلوكوز كمصادر للكربون. من خلال الشكل (4) فان ارتفاع الكثافة الضوئية (العكورة) سببه النمو المرتفع الناجم عن استهلاك الكلوكوز المصدر الكاربون الاضافي وعند استنفاد المصدر بدئت البكتريا بالطور الركود وهو الطور الذي يكون العدد البكتيري الحية مساويه للأعداد الميتة ثم بعد ذلك بدأت البكتريا بالنزول الى طور الانحلال وهو الطور الذي تنتهي البكتريا عنده بالنمو. وبالتالي، ما يتميز به الكلوكوز من سرعة ذوبان يجهز البكتريا بمصدر كاربون سريع الامتصاص من قبل البكتريا ونتيجة لزيادة اعدادها وتناقص الكلوكوز تدريجيا سوف تتجه البكتريا نحو المبيد للاستفادة من الكاربون المتواجد في هيكل المبيد MBC. في هذا الصدد اشارت دراسة Singh واخرون (2006) لدراسة اضافة الكلوكوز الى وسط الاملاح المعدني من خلال زيادته لأعداد ونمو البكتريا خلال الفترة الاولى من نمو البكتريا وبالتالي زيادة معدل التحلل. ذلك، اعطت اعلى كثافة ضوئية عند 1.509 عند تركيز 1000 ملغم. لتر⁻¹ وللمدة الزمنية نفسها مقارنة (بمعامله المقارنة) الوسط الزرعى MSM من دون المبيد والتي يبلغ اعلى نمو للبكتريا 0.3 عند طول موجي 600 نانوميتر.

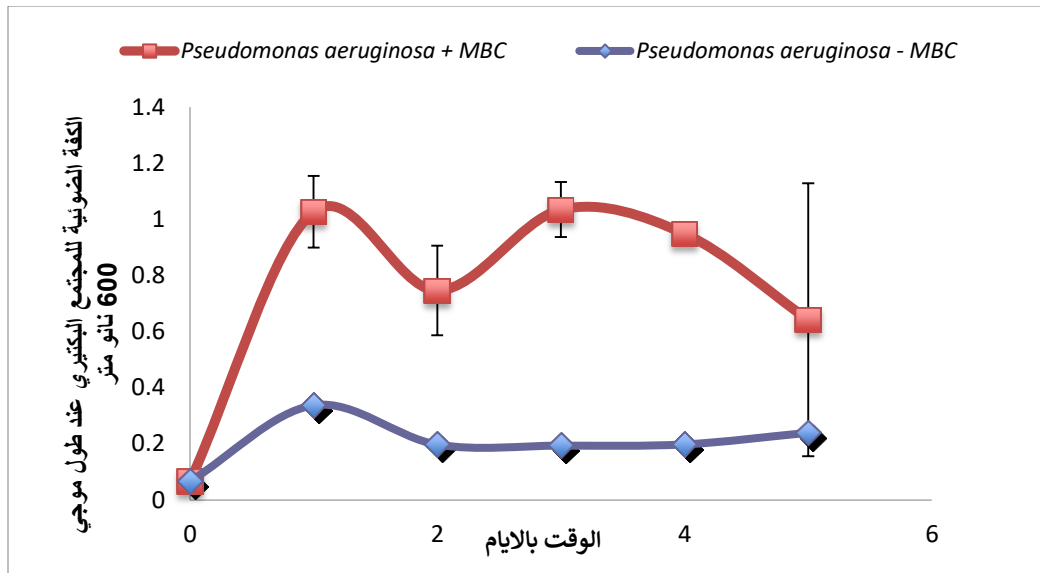
تشير هذه النتائج الى ان تحليل مبيد MBC بواسطة البكتريا *Klebsiella* ربما يرجع الى وجود انزيم التحلل المائي الأستيريز methyl benzimidazol-2-ylcarbamate esterase اذ وجد هذا الانزيم في البكتريا المحللة لمبيد الكاربندازيم، بعدما تم عزله وتشخيصه منها (Pandey واخرون، 2010) في دراسات اخرى تؤكد عزل انزيم التحلل المائي ووصفه من بكتريا *Nocardioides* لأول مره عام 2010 (Pandey واخرون، 2010) وهو يوجد في انواع محددة اهمها *Rhodococcus* (Zhang واخرون، 2013). كما يتواجد في السلالات البكتيرية التابعة لجنس *Klebsiella* و يمتلك القدرة في تكسير مبيد MBC (Dos Santos واخرون، 2017). وعليه، بناءً على ما تقدم والنتائج

الواردة في دراسة (Fang وآخرون، 2010؛ Pandey وآخرون، 2010) فإن السلالة *Klebsiella djl-5B* تكسر مبيد MBC متحولاً إلى 2-amino benzene أولاً، ثم يتحول بعد ذلك إلى 2-hydroxy benzene و BZ.

كما يوضح الشكل (5) كفاءة البكتريا *Pseudomonas aeruginosa* في النمو في الوسط MSM المزود بالمبيد MBC بتركيز 1000 جزء في المليون. يلاحظ من خلال الشكل عدم وجود طور lag وبدء البكتريا بالطور الاسي لترتفع عكوره الوسط من 0.066 الى 1.02 ويعود بالارتفاع بعد مرور ثلاثة ايام من التحضين الى 1.035 ± 0.097 ثم تنخفض عكوره الوسط الى 0.64 ± 0.48 بعد خمس ايام. من جانب اخر، لوحظ بأن نمو البكتريا بدون وجود المبيد MBC سجل ارتفاعاً في العكورة بعد يوماً واحداً من التحضين، اذا ارتفعت العكورة من 0 ± 0.066 الى 0.008 ± 0.23 بعد مرور خمسة ايام من التحضين.

ان عدم ظهور الطور التطبيعي lag في الشكل (5) ربما يرجع الى الطبيعة السمية للمركب. إذ اشار Zhao وآخرون (2018) ان البكتريا *Pseudomonas nitroreducens* NSA 02 لم يظهر اي طور تأخر لنمو الخلية عند التركيز 100 ملغم لتر⁻¹ بينما ظهر في تركيز 200 ملغم لتر⁻¹ Nicosulfuron⁻¹ بينما طالت فترة الطور التطبيعي عند استخدام 500 ملغم لتر⁻¹ ويرجع السبب الى الطبيعة السمية للمركب.

وان قدرة البكتريا على تحمل تراكيز عالية من المبيد يتوافق مع مجموعه من الدراسات التي توصلت اليه منها الدراسة التي اجراها الباحث (Ditches، 2016). اذ لاحظ ان افضل نمو تحقق للبكتريا *P. aeruginosa* في الوسط المعدني تحتوي مبيد الديازينون بتركيز 400 جزء في المليون ودراسة Zhao وآخرون (2018) اللذين حصلوا على عزلة من البكتريا *Pseudomonas aeruginosa* استطاعت النمو في تراكيز عالية تصل الى 600 جزء في المليون. كذلك دراسة عبد الرضا وآخرون (2013) اللذين استخدموا البكتريا *Pseudomonas aeruginosa* في التحطيم الحيوي للمبيدات البيروثرويدية. ان هندسة الاحياء الدقيقة بيئياً تهدف الى رفع كفاءتها في استهلاك عدد من المبيدات أو مركب واحد كمصدر وحيد للكربون والطاقة (Deslpa، 2003). كما اشارت دراسة (Robert وآخرون، 1997) الى اهمية استخدام بكتريا *P. aeruginosa* وتكيفها السريع على المركبات المحتوية على الكربون، نظراً لاملاكها بلازميدات كبيرة الحجم تملك انزيمات قادرة على تكسير المبيدات للاستفادة من الكربون والطاقة (عبد الرضا وآخرون، 2013)



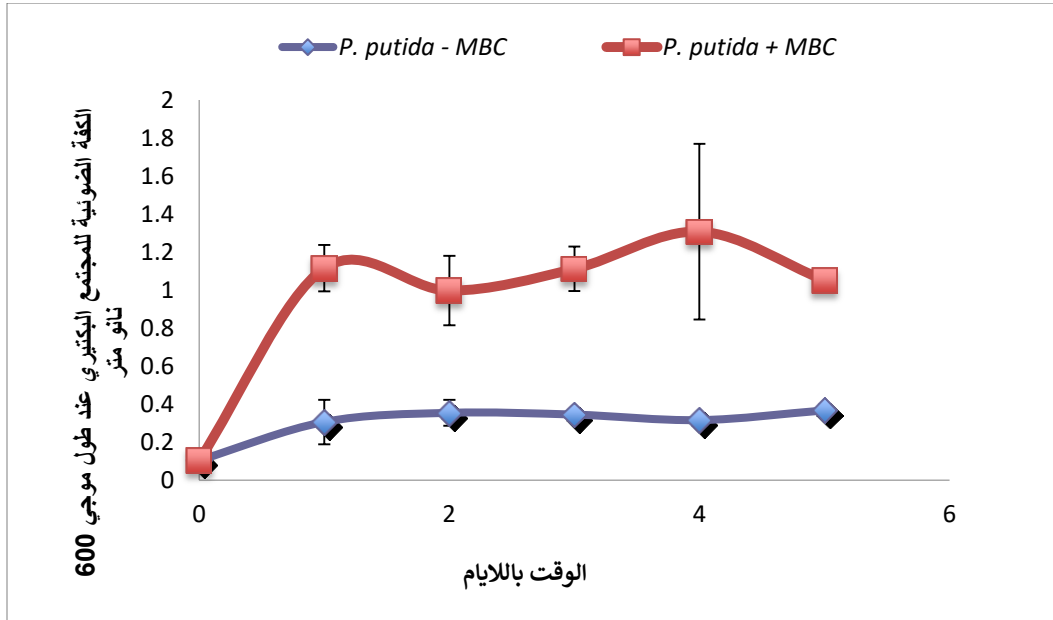
شكل (5). منحى نمو بكتريا *P. aeruginosa* في وسط MSM

تبين النتائج في الشكل (6) قدرة البكتريا *P. putida* على النمو في التركيز 1000 جزء في المليون في وسط MSM. كما يلاحظ ان البكتريا تدخل للطور الاسي مباشرة بعد التحضين، اذ يلاحظ ارتفاع عكوره الوسط من 0.104 ± 0 الى 0.46 ± 1.3 بعد مرور اربعة ايام من التحضين. على الجانب الاخر، لوحظ ان النمو البطني للبكتريا في الوسط MSM الخالي من المبيد MBC. اذ كان ارتفاع العكورة تدريجي. سجلت العكورة الابتدائية 0.104 ± 0 لتصل الى 0.03 ± 0.36 بعد خمسة ايام من التحضين تحت ظروف حرارة 30 م°.

تتفق هذه النتائج مع الدراسة التي حصلت عليها Maria واخرون (2002) عند دراسة التحليل الحيوي لمبيد الادغال Gramoxn و Matacha بواسطة البكتريا *Pseudomonas putida* اذ وجدوا ان نسبة التحلل وصلت الى 47.29 للمبيد Gramoxn و 68.72 للمبيد Matacha. تمتاز *Pseudomonas* بقدرتها على تحطيم المركبات الغريبة وذلك بسبب التنوع الأيضي لهذه الانواع اذ في العقود الاخيرة تم توثيق العديد من الانواع التابعة لهذا الجنس في انها ممتازة في تحليل المبيدات الفسفورية العضوية المتنوعة كلوربيرفوس Chlorpyrifos و ايثوبروفوس Ethoprophos و مثل باراشيون (Methyl-parathion Wang واخرون، 2014). هذه النتائج تتوافق مع دراسة الوخرون (2016) اللذين عزلوا سلالة بكتيرية جديدة لها القدرة في تحطيم MBC وتم تحديدها على أنها *Pseudomonas sp. djl-5B* اذ تتضمن حالة التحلل المثلى للسلالة djl-5B في درجة الحرارة 30 م° ودرجة حموضة 7.5 وحجم لقاح 7%.

تظهر نتائج التحلل كما في البكتريا *Klebsiella* أن دخول سلالة *Pseudomonas djl-5B* إلى التربة الملوثة بمبيد MBC يقلل بشكل كبير من عمر النصف للمبيد MBC. اذ تقوم البكتريا بتحويل المبيد MBC اولاً الى AB-2 ليتم تفككه الى 2-hydroxybenzimidazole (2-HB) و BZ.

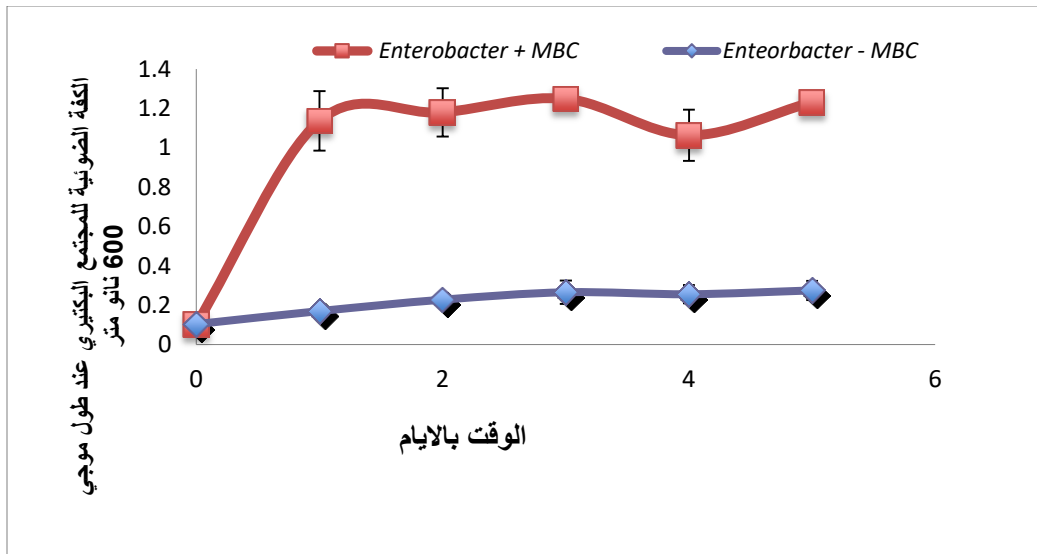
ان وجود المبيد كمصدر للكربون حفز البكتريا على النمو وهذا يلاحظ بوضوح بين السلالة النامية بوجود المبيد و غيابه. ان افتقار الوسط لمصدر الكربون سبب استمر الطور ان ارتفاع الطور الاسي phase log يعطي مؤشرا عن النمو البكتيري الصحي.



شكل (6) منحنى نمو بكتريا *P. putida* في وسط MSM

أما الشكل (7) يظهر مقدرة البكتريا *Enterobacter cloacae* في النمو في وسط MSM المعامل بالمبيد MBC من الشكل لم يلاحظ للسلالة البكتيرية طور lag وانما دخولها مباشرة بالطور الاسي مع ارتفاع العكورة من 0 ± 0.104 الى 0.006 ± 1.23 بعد خمسة ايام من التحضين المستمر. في حين لوحظ القدرة المقدرة الضعيفة للبكتريا للنمو في وسط MSM غير المجهز بالمبيد MBC وكان ارتفاع العكورة بسيطاً. ارتفعت عكوره الوسط من 0 ± 0.104 الى 0 ± 0.27 بعد خمسة ايام من التحضين عند درجة حرارة 30°C وسرعة 120 دورة/دقيقة.

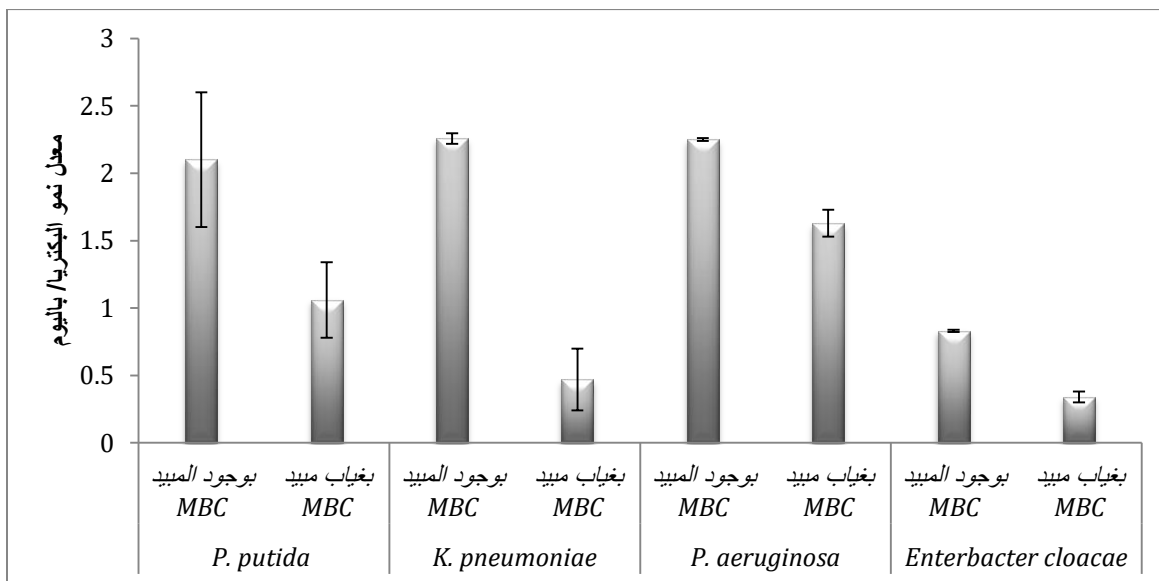
ويعود النمو الجيد للسلالة الى وجود مصدرين للكربون المبيد و (الكلوكوز) وهذا يسرع من معدل التحلل. كما في مبيد الكلوربيرفوس الذي يزداد معدل تحلله بزيادة الكلوكوز (Singh واخرون، 2006). كما تم ملاحظة تحلل مبيد TM بواسطة البكتريا *Enterobacter cloacae* حيث لاحظ ارتفاع نمو البكتريا بإضافة مصدر كربون اضافي (Parte و Kharat، 2019) تعد معاملة البيئة بالمغذيات كالكربون الصادر من مركبات سريعة الذوبان من الخصائص التي يمكن الاستفادة منها مع الكائنات الدقيقة في زيادة تطهير الملوثات بالبيئة في التكييف البيئي (Singh واخرون، 2006).



شكل (7) منحى نمو بكتريا *Enterobacter cloacae* في وسط MSM.

معدل نمو السلالات البكتيرية

استنادا لمقدرة البكتريا في النمو في الوسط الغذائي MSM بعد معاملته بالمبيد MBC بتركيز 1000 جزء في المليون، تم حساب معد النمو لكل سلالة بكتيرية. اذ يلاحظ من الشكل ان اعلى نمو بكتيري سجلته البكتريا *K. pneumonia* بمعدل 2.257 ± 0.04 / يوم تليها البكتريا *P. aeruginosa* بمعدل 2.25 ± 0.01 / يوم. من جهة اخرى سجلت البكتريا *P. putida* معدل نمو وصل الى 0.5 ± 2.1 / يوم، بينما اقل معدل نمو سجل في حالة البكتريا *Enterobacter cloacae* 0.008 ± 0.8 / يوم شكل (8).



شكل (8) معدل نمو السلالات البكتيرية بوجود او غياب مبيد MBC كمصدر للكربون.

يظهر الشكل (8) معدلات نمو السلالات البكتيرية المدروسة مع المبيد MBC و بدونه. يلاحظ هنالك فرق معنوي بين السلالات في معدل النمو. يلاحظ ان نمو السلالة البكتيرية بوجود المبيد اكبر مما في نمو السلالة بغياب المبيد. تم الحصول اعلى معدل نمو في السلالة *K. pneumoniae* يليه السلالة *P. aeruginosa* ثم *P. putida* واخيراً *Enterobacter cloacae*. يعد حساب معدل نمو السلالة البكتيرية نهجاً اساسياً لمعرفة مقدرتها في استهلاك الملوثات العضوية (Al-Farttoosy ، 2020).

الاستنتاجات

توصلت الدراسة الى امكانية عزل البكتريا من التربة الملوثة بمبيد MBC واخضاعها للتكيف البيئي المختبري باستخدام طريقة التخصيب والاثراء لمدة 40 يوماً. وايضاً امكانية نمو السلالات البكتيرية المعزولة والمكيفة مختبرياً في تراكيز تصل 1000 جزء في المليون بمبيد MBC.

References

- Abdul-Reza, A. N., Al-Taee, H.R.R., Khazim, A.A. (2013). Bioremediation of Insecticide residues by *Pseudomonas aeruginosa*. *Diyala Journal of Agricultural Sciences*, 5 (2): 58–68.
- Al-Farttoosy, A. (2020) ‘Microbial-based Bioremediation of an Exemplar Organophosphorus Chemical Warfare Agent.’, Chemical and Biological Engineering Department, the University of Sheffield, England-UK, PhD Thesis, Pp 190
- Berglof, T., Van Dung, T., Kylin, H., & Nilsson, I. (2002). Carbendazim sorption-desorption in Vietnamese soils. *Chemosphere*, 48(3), 267-273
- Boudina, A., Emmelin, C., Baaliouamer, A., Grenier-Loustalot, M. F. T., & Chovelon, J. M. (2003). Photochemical behaviour of carbendazim in aqueous solution. *Chemosphere*, 50(5), 649–655. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(02\)00620-3](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(02)00620-3)
- Cancela, G. D., Taboada, E. R., & Sánchez-Rasero, F. (1992). Carbendazim adsorption on montmorillonite, peat and soils. *Journal of Soil Science*, 43, 99-111.
- Chen, Y., & Zhou, M. G. (2009). Characterization of *Fusarium graminearum* isolates resistant to both carbendazim and a new fungicide JS399-19. *Phytopathology*, 99(4), 441–446. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-99-4-0441>
- Deslpa, S. 2003. Studies on the degradation of insecticide Endosulfan by indigenous bacterial strains .Doctoral Research
- Ditches, A. D. (2016). Biodegradation of the Organophosphorus Insecticide Diazinon by *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Agricultural Drainage Ditches. *Egyptian Journal of*

- Botany*, 56(1), 353–370. <https://doi.org/10.21608/ejbo.2016.393>
- Dos Santos JC, Batista IH, Barroso HS, Silva-Lima JM, Costa-Neto PQ, Ghelfi A, Pereira JO (2017) Biodegradation of the fungicide carbendazim by bacteria from *Coriandrum sativum* L. rhizosphere. *Acta Sci Biol Sci* 39:71–77. <https://doi.org/10.4025/actasciobiolsci.v39i1.34067>
- Fang H, Wang Y, Gao C, Yan H, Dong B, Yu Y (2010) Isolation and characterization of *Pseudomonas* sp. CBW capable of degrading carbendazim. *Biodegradation* 21(6):939–946. <https://doi.org/10.1007/s10532-010-9353-0>
- Ji, L., Lijun, R., Shibin, H., & Ron, C. H. (2016). Isolation and characterization of the carbendazim-degrading strain djl-5B. *Nature Environment and Pollution Technology*, 15(1), 97–102.
- Kiigemagi, U., Inman, R.D., Mellenthin, W.M., Deinzer, M.L., 1991. Residues of benomyl (determined as carbendazim) and captan in postharvest-treated pears in cold storage. *J. Agric. Food Chem.* 39, 400–403.
- Maria , K. ; Graciela and Fernando Z. 2002. Biodegradation of two commercial herbicides (Gramaxone and Matancha) by the bacteria *Pseudomonas putida* .*EJB Electronic of Biotechnology* ISSN:0717-3.
- Mazellier, P., Leroy, E., Laat, J.T., Legube, B., 2003. Degradation of carbendazim by UV/H₂O₂ investigated by kinetic modeling. *Environ. Chem. Lett.* 1, 68–72
- Maier, R. M. (2009). Bacterial Growth. *Environmental Microbiology*, 37–54. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-370519-8.00003-1>
- Pandey, G., Dorrian, S. J., Russell, R. J., Brearley, C., Kotsonis, S., & Oakeshott, J. G. (2010). Cloning and biochemical characterization of a novel carbendazim (methyl-1h-benzimidazol-2-ylcarbamate)-hydrolyzing esterase from the newly isolated *Nocardioides* sp. strain SG-4G and its potential for use in enzymatic bioremediation. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(9), 2940–2945. <https://doi.org/10.1128/AEM.02990-09>
- Parte, S. G., & Kharat, A. S. (2019). Aerobic Degradation of Clothianidin to 2-Chloro-methyl Thiazole and Methyl 3-(Thiazole-yl) Methyl Guanidine Produced by *Pseudomonas stutzeri* smk. *Journal of Environmental and Public Health*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/4807913>
- Promega Corporation. (2019). Technical Manual Wizard® Genomic DNA Purification Kit Wizard® Genomic DNA Purification Kit. *Technical Bulletin*, 1–19. www.promega.com
- Rajeswary, S., Kumaran, B., Ilangovan, R., Yuvaraj, S., Sridhar, M., Venkataraman. P., Srinivasan, N., & Aruldhas, M. M. (2007). Modulation of antioxidant defense system by the environmental fungicide carbendazim in Leydig cells of rats. *Reproductive Toxicology*,

24(3-4), 371-380

- Robert , E . P .Anderson and E . W. Nester . 1997. Microbiology (Human perspective) .Second edition. Published by Brown (William C.) Co ,U.S.1 -848.
- Sandahl M, Mathiasson L, Jonsson JA (2000) Determination of thiophanate- methyl and its metabolites at thrace level in spiked natural water using the supported liquid membrane extraction and the microporous membrane liquid- liquid extraction techniques combined on-line with highperformance liquid chromatography. *J Chromatogr A* 893: 123–131.
- Singh BK, Walker A, Denis J, Wright DJ (2006) Bioremedial potential of fenamiphos and chlorpyrifos degrading isolates: influence of different environmental conditions. *Soil Biol Biochem* 38:2682–2693
- Wang L, Chi X, Zhang J, Sun D, Zhou N (2014) Bioaugmen- tation of a methyl parathion contaminated soil with Pseu- domonas sp. strain WBC-3. *Int Biodeter Biodegr* 87:116–121. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.11.008>
- World Health Organization, 1993. Environment Health Criteria 149: Carbendazim. <<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc149.htm>>. (accessed 11.10.05)
- Yu, G., Liu, Y., Xie L., & Wang, X. (2009). Involvement of Sertoli cells in spermatogenic failure induced by carbendazim. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 27(2), 287-292
- Zhang, X., Huang, Y., Harvey, P. R., Li, H., Ren, Y., Li, J., Wang, J., & Yang, H. (2013). Isolation and Characterization of Carbendazim-degrading *Rhodococcus erythropolis* djl-11. *PLoS ONE*, 8(10), 1–6. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074810>
- Zhao, H., Zhu, J., Liu, S., & Zhou, X. (2018). Kinetics study of nicosulfuron degradation by a *Pseudomonas nitroreducens* strain NSA02. *Biodegradation*, 29(3), 271–283. <https://doi.org/10.1007/s10532-018-9828-y>