

فصلنامه علمی- پژوهشی زیست‌شناسی میکروارگانیسم‌ها
سال چهارم، شماره ۱۵، پاییز ۱۳۹۴، صفحه ۱۴۵-۱۵۴
تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۳/۰۷ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۶/۰۴

سازگارسازی قارچ تریکودرما به آفت کش کنفیدور و ارزیابی توان رویشی آن در محیط‌های حاوی سم

فرناز ارشاد فتح: دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی آب، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران، farnaz.ershadfath@yahoo.com
حسین بانژاد*: دانشیار مهندسی آب، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران، hossein_banejad@yahoo.com
فریبا محسن‌زاده: استادیار مهندسی بهداشت محیط، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران، fmohsenzade@gmail.com

چکیده

مقدمه: آلودگی‌های حاصل از سموم آفت کش یکی از معضلات زیست محیطی محسوب می‌شوند. بهره‌گیری از توان میکروارگانیسم‌ها برای حذف آلودگی‌ها را زیست‌پالایی می‌گویند. گونه‌های تریکودرما، قارچ‌های آزادزی هستند که به طور طبیعی در محیط زیست وجود دارند و قابلیت جذب زیستی برخی از آلاینده‌ها را دارند. هدف از پژوهش حاضر، سازگارسازی ۵ گونه از قارچ تریکودرما با سم کنفیدور و بررسی اثر این سم به‌عنوان یک آلاینده محیط زیست بر توان رویش گونه‌های سازگار شده تریکودرما به‌عنوان جاذب آلاینده است.

مواد و روش‌ها: ۵ گونه قارچی از جنس تریکودرما در محیط‌های کشت سیب‌زمینی - دکستروز کشت داده شد. سپس، قارچ‌ها به ترتیب به محیط‌های کشت با غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر سم کنفیدور انتقال داده و به تدریج سازگار شدند. پس از گذشت ۲۴ ساعت قطر پرگنه قارچ‌های کشت داده شده اندازه‌گیری و با قطر کلونی نمونه‌های شاهد مقایسه شد.

نتایج: نتایج نشان داد در تمامی موارد، رشد پرگنه قارچ در حضور سم در مقایسه با محیط شاهد، افزایش معناداری را در میانگین قطر کلونی (در سطح خطای ۰/۰۵) دارد. بیش‌ترین میانگین قطر پرگنه مربوط به گونه‌های تومنتوزوم، اسپرلوم و هارزیانوم در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر از سم بود که به ترتیب به میزان ۸۸/۸۸، ۸۷/۵ و ۸۶/۹۵ درصد رشد داشتند. ریشه‌های هوایی در همه گونه‌های قارچی، در محیط‌های کشت حاوی غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر سم نسبت به سایر غلظت‌ها بسیار ضخیم‌تر بوده و سریع‌تر گسترش یافت.

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج حاصل گویای افزایش معنادار توان رویش گونه‌های مورد مطالعه قارچ تریکودرما با افزایش غلظت سم کنفیدور و در نتیجه، نشان دهنده پتانسیل بالای زیست‌پالایی سم کنفیدور توسط این قارچ است.

واژه‌های کلیدی: کنفیدور، قارچ تریکودرما، توان رشد

* نویسنده مسئول مکاتبات، دانشیار مهندسی آب، دانشگاه فردوسی، مشهد، ایران

مقدمه

توسعه کشاورزی و تنوع آفات گیاهی سبب افزایش روزافزون استفاده از سموم آفت‌کش شده است. این سموم در غلظت‌های قابل توجه از طریق پساب‌های صنعتی و زهکش‌های کشاورزی وارد محیط زیست می‌شوند. آلودگی منابع آب و خاک از تبعات اجتناب‌ناپذیر ورود این آلاینده‌ها به محیط است (۱).

ایمیداکلروپید^۱ با فرمول مولکولی

1-(6-chloro-3-pyridylmethyl)-N-nitro-imidazolidin-2-ylideneamine

و نام تجاری کنفیدور^۲ به خانواده نئونیکوتینوئیدها^۳ متعلق است. نئونیکوتینوئیدها گروه جدیدی از آفت‌کش‌ها هستند که از نیکوتین مشتق شده‌اند و به علت خواص فیزیکی - شیمیایی خاص خود کاربردهای فراوانی در بخش کشاورزی دارند (۲ و ۳). این سم در سال ۱۹۹۱ وارد بازار شده و از آن زمان تاکنون در ۱۲۰ کشور دنیا و برای محافظت از ۱۴۰ نوع محصول کشاورزی از آفات استفاده شده است (۴). بر اساس گزارش آژانس حفاظت از محیط زیست ایالات متحده^۴، ایمیداکلروپید پتانسیل زیادی برای ورود به بدنه آب‌های زیرزمینی دارد (۵). همچنین، این ماده با توجه به انحلال‌پذیری و سیالیت بالا، قادر به آلوده کردن آب‌های سطحی نیز می‌باشد (۶).

پژوهشگران زیادی به بررسی تحرک این سم در خاک پرداخته‌اند. ولتر و کلوتز^۵ نشان دادند تحرک ایمیداکلروپید در خاک از ۱۱ نوع سم مورد مطالعه دیگر بیشتر است (۷). همچنین، پژوهشی در یک مزرعه مجهز به سیستم آبیاری قطره‌ای نشان داد سم کنفیدور می‌تواند در مدت ۷ روز به اندازه ۱۰۵ سانتی‌متر در خاک نفوذ کند در نتیجه در مزارعی که

به شکل روزانه آبیاری می‌شوند امکان تحرک این سم و ورود آن به بدنه آب‌های سطحی و زیرزمینی بسیار بالاست (۸).

زیست‌پالایی از جمله روش‌هایی است که در سال‌های اخیر برای حذف آلاینده‌ها مورد توجه قرار گرفته است. استفاده از انواع میکروارگانیسم‌ها از جمله جلبک‌ها، قارچ‌ها و باکتری‌ها در این زمینه اهمیت بسیاری دارد (۹). علت استقبال روزافزون از این روش برای کاهش و یا حذف آلاینده‌ها، هزینه‌های کم، سازگار بودن با محیط زیست و بازدهی زیاد آن است. در روش‌های زیست‌پالایی انتخاب زیست توده به علت فراوانی در محیط و کم بودن هزینه‌ها اهمیت زیادی دارد (۱۰). تاکنون در مطالعات زیست‌پالایی به استفاده از قارچ‌ها کمتر از باکتری‌ها توجه شده است هرچند که سازوکار حذف و کاهش آلودگی در هر دو میکروارگانیسم کمابیش مشابه است (۱۱).

گونه‌های مختلف قارچ تریکودرما^۶ کمابیش در همه خاک‌ها و زیستگاه‌ها حضور دارند و از متداول‌ترین قارچ‌های قابل کشت و تکثیر هستند (۱۲). این قارچ به علت توانایی تولید آنتی‌بیوتیک، به‌عنوان کنترل‌کننده زیستی بسیاری از بیماری‌ها و آفات گیاهی شناخته شده است (۱۳). همچنین، این قارچ قابلیت جذب زیستی برخی آلاینده‌ها را دارد (۱۲). اگر آلاینده‌های موجود در طبیعت حاوی ترکیبات مورد نیاز میکروارگانیسم‌ها باشند این مواد به مصرف میکروارگانیسم‌ها رسیده و به تدریج از بدنه محیط زیست حذف خواهند شد. هاگ‌زایی تریکودرما به شدت تحت تأثیر کربن و نیتروژن است (۱۴). مطالعات نشان می‌دهد که میکروارگانیسم‌هایی همچون باکتری‌ها و قارچ‌ها می‌توانند آلاینده‌های آلی را به

هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر سم کنفیدور به‌عنوان یک آلاینده محیط زیست بر توان رویش قارچ تریکودرما به‌عنوان یک میکروارگانیسم جاذب آلاینده از محیط است. اگر امکان رشد این قارچ در حضور آفت کش یاد شده تأیید شود می‌توان این قارچ را به‌عنوان عاملی زیستی برای حذف سم کنفیدور از محیط زیست معرفی کرد.

مواد و روش‌ها

تکثیر قارچ در آزمایشگاه: ۵ گونه قارچی تریکودرما به نام‌های *هارزیانوم*^{۱۴}، *اسپرلوم*^{۱۵}، *تومنتوزوم*^{۱۶}، *بوریکوم* پکتوم^{۱۷} و *کونینگگی*^{۱۸} از دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا تهیه شد. نمونه‌های قارچ مورد مطالعه برای استفاده در محیط آزمایشگاهی، به محیط کشت استریل جامد سیب‌زمینی- دکستروز^{۱۹} (مرک^{۲۰}، آلمان) انتقال داده شد. محیط کشت طبق توصیه شرکت سازنده، آماده‌سازی، سترون و در پلیت‌های سترون توزیع شد. محیط‌های آماده شده به‌منظور کسب اطمینان از عدم آلودگی به مدت ۲۴ ساعت در آزمایشگاه نگهداری شد. سپس، کشت قارچ‌های مورد نظر در محیط‌های یاد شده، انجام شد. پس از این که قارچ‌ها به حد مطلوبی از رشد رسیدند، نمونه‌ها به یخچال منتقل و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. این قارچ‌ها تا ۳ ماه برای انتقال به محیط‌های کشت جدید مناسب هستند (۲۲).

سترون‌سازی سم: با توجه به این نکته که اتوکلاو کردن سم می‌تواند سبب تغییر ساختار شیمیایی آن شود، در این مرحله با عبور دادن سم از میکرو صافی‌های سلولزی به قطر ۰/۲ میکرون، سترون کردن سم انجام شد.

عنوان منبع کربن و انرژی تجزیه کرده و آن‌ها را به مواد مفید و مورد نیاز سایر میکروارگانیسم تبدیل کنند (۱۵ و ۱۶). پژوهش‌های متعددی به بررسی امکان رشد و نمو در نتیجه قابلیت زیست پالایش میکروارگانیسم‌ها در حضور آلاینده‌ها پرداخته‌اند. برای نمونه در پژوهشی در برزیل پتانسیل حذف سم د.د.ت. در حضور ۷ نوع قارچ مختلف بررسی شد. نتایج نشان داد قارچ تریکودرما قادر است در محیطی با غلظت حداکثر ۱۵ میلی‌گرم از سم یاد شده رشد و نمو کند و پس از ۱۴ روز، درصد حذف این سم به ۵۸ درصد رسید (۱۱). در مطالعه‌ای دیگر به سازگار کردن ۴ جدایه قارچی تریکودرما در حضور نفت خام اقدام شد. نتایج نشان داد قطر پرگنه قارچ‌های یاد شده پس از گذشت ۲۴ ساعت به طور میانگین به میزان ۵ سانتی‌متر رشد داشته است (۱۷). در استرالیا به تجزیه میکروبی آفت کش‌های ارگانوفسفره اتیون، توسط گونه‌های *سودوموناس*^۷ و *آزوسپریلوم*^۸ پرداخته شد. نتایج، تجزیه سریع اتیون در حضور توده زیستی یاد شده را نشان داد (۱۸). نتایج پژوهش دیگری با عنوان تجزیه زیستی آفت کش ارگانوفسفره دیازینون توسط گونه‌های *سراتیا*^۹ و *سودوموناس*، همبستگی شدید بین فعالیت و رشد میکروبی و فرآیندهای شیمیایی طی تجزیه دیازینون را نشان داد (۱۹). در پژوهش دیگری تجزیه زیستی کلریپریفوس توسط گونه *سنتینل*^{۱۰} مطالعه شد و کاهش چشم‌گیر غلظت این آلاینده توسط توده زیستی یاد شده گزارش شد (۲۰). بریسنو^{۱۱} و همکاران در پژوهشی تأثیر ۹۰ درصدی استفاده از گونه‌های مختلف اکتینون باکتری^{۱۲} را در حذف کلریپریفوس اعلام کردند. راندمان حذف کلریپریفوس با استفاده از *باسیلیوس پامیلوس*^{۱۳} پس از ۴۵ روز به ۹۷ درصد رسید (۲۱).

سازگار کردن گونه‌های قارچی با سم کنفیدور: در

هر پلیت، حدود ۲۰ سی سی محیط کشت سیب‌زمینی - دکستروز سترون مذاب ریخته و با استفاده از سمپلر، مقادیر محاسبه شده از سم سترون شده به پلیت‌ها افزوده شد و قبل از انجماد محیط‌های کشت، با آن مخلوط شد تا محیط‌های کشت با غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم بر لیتر سم کنفیدور تهیه شود. پس از گذشت ۲۴ ساعت و اطمینان از عدم آلودگی محیط‌های کشت، گونه‌های قارچی موجود، در پلیت‌های حاوی ۵ میلی گرم در لیتر سم کنفیدور تلقیح و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، گرماگذاری شدند. پس از رشد کامل قارچ‌ها در پلیت، قارچ‌ها به محیط حاوی ۱۰ میلی گرم در لیتر و از آنجا به محیط ۲۰ میلی گرم در لیتر سم کنفیدور انتقال داده شدند. به این ترتیب از وارد شدن شوک آلودگی به جدایه‌های قارچی ممانعت شد و آن‌ها با غلظت‌های مختلف آلودگی سازگار شدند (۲۳).

بررسی میزان رشد گونه‌های قارچی مورد مطالعه

در غلظت‌های مختلف سم کنفیدور: با کمک قالب‌های استریل، مقادیر مساوی (۳ میلی‌متر) از جدایه‌های سازگار شده هر یک از گونه‌های قارچی مورد مطالعه، از قسمت اطراف پرگنه که دارای بیش‌ترین مقدار رشد بود برداشت شد و در محیط‌های کشت حاوی غلظت‌های مختلف سم کنفیدور (صفر، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم بر لیتر) در سه تکرار تلقیح و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، گرماگذاری شدند. پلیت‌های شاهد (حاوی قارچ و فاقد سم کنفیدور) نیز با سه تکرار همزمان و در شرایط مشابه گرماگذاری شدند. در نهایت، میزان رشد قطری جدایه‌های قارچی در هر یک از پلیت‌ها پس از گذشت ۲۴ ساعت بررسی و با نمونه شاهد مقایسه شد (۲۳).

تجزیه و تحلیل آماری: برای تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های جمع‌آوری شده از نرم‌افزار SPSS، نسخه ۱۶ استفاده شد. برای بررسی توزیع و آزمون نرمال بودن داده‌ها، از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف^{۲۱} در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد (۲۴).

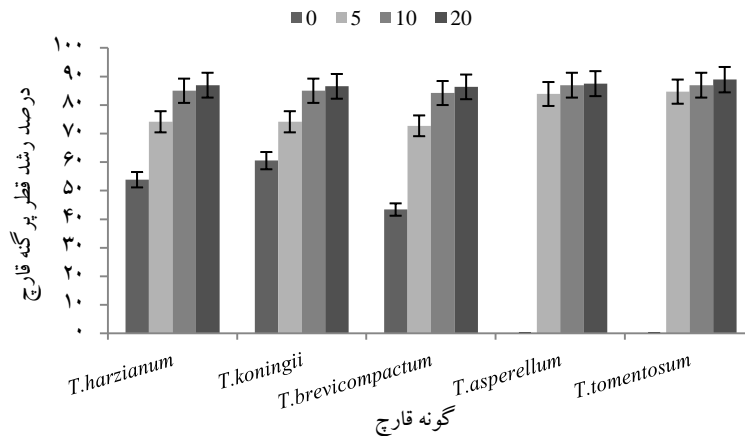
نتایج

نتایج میزان رشد ۵ گونه قارچ تریکودرما در

محیط‌های کشت محتوی سم: نتایج حاصل از میزان رشد و تشکیل کلونی برای ۵ گونه مختلف قارچ تریکودرما در شکل ۱ ارایه شده‌اند.

نتایج اندازه‌گیری میزان رشد پرگنه جدایه قارچی هارزیانوم پس از گذشت ۲۴ ساعت از کشت نشان داد اگرچه قارچ یاد شده در محیط فاقد سم دارای رشد است، اما میزان رشد قطر پرگنه قارچ در محیط حاوی ۵ میلی گرم بر لیتر سم در مقایسه با محیط شاهد به مقدار ۷۴/۱۳ درصد افزایش یافته است. این روند افزایش قطر با افزایش غلظت سم در محیط کشت ادامه یافته و میزان رشد پرگنه قارچ در غلظت ۲۰ میلی گرم در لیتر سم، نسبت به محیط کشت شاهد به میزان ۸۶/۹۵ درصد بهبود یافت (شکل ۱).

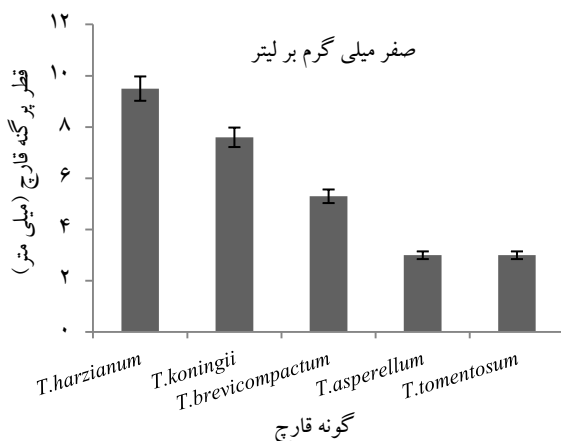
با توجه به نتایج حاصل از میزان رشد گونه قارچی کونینگی در حضور غلظت‌های مختلف سم کنفیدور می‌توان نتیجه گرفت گونه قارچی یاد شده در غلظت ۵ میلی گرم بر لیتر از سم به مقدار ۷۴/۱۳ درصد افزایش رشد داشته است و میانگین رشد قطر پرگنه این قارچ در محیط کشت حاوی ۲۰ میلی گرم در لیتر سم در مقایسه با محیط کشت شاهد، افزایش ۸۶/۵۴ درصدی دارد (شکل ۱).



شکل ۱- میانگین درصد رشد قطر پرگنه ۵ گونه قارچ تریکودرما پس از گذشت ۲۴ ساعت از تلقیح با غلظت‌های مختلف سم کنفیدور

گونه‌های هارزیانوم و برویکوم پکتوم با قطری معادل ۹/۵ و ۵/۳ میلی‌متر به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار رشد را داشتند.

نتایج حاصل از مقایسه میزان رشد قطر پرگنه ۵ گونه قارچی مورد مطالعه در محیط‌های کشت حاوی ۵ میلی‌گرم بر لیتر سم نشان داد، در این محیط‌ها همه گونه‌های قارچی قادر به رشد بوده و جدایه قارچی تومنتوزوم با قطر ۱۹/۶ میلی‌متر و برویکوم پکتوم با قطر ۱۱ میلی‌متر به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین میزان رشد را داشتند (شکل ۳).



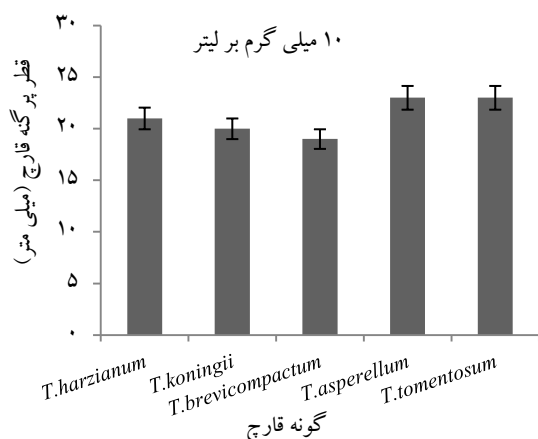
شکل ۲- نمودار میزان رشد قطر پرگنه ۵ گونه مختلف قارچ تریکودرما پس از گذشت ۲۴ ساعت در محیط کشت بدون سم (شاهد)

همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود روند رشد قطر پرگنه گونه قارچی برویکوم پکتوم در تلقیح با غلظت‌های مختلف سم کنفیدور صعودی بوده و این گونه قارچی در محیط کشت حاوی ۵ و ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر از سم به ترتیب دارای ۷۲/۷۲ و ۸۶/۳۶ درصد افزایش رشد نسبت به محیط شاهد بود (شکل ۱).

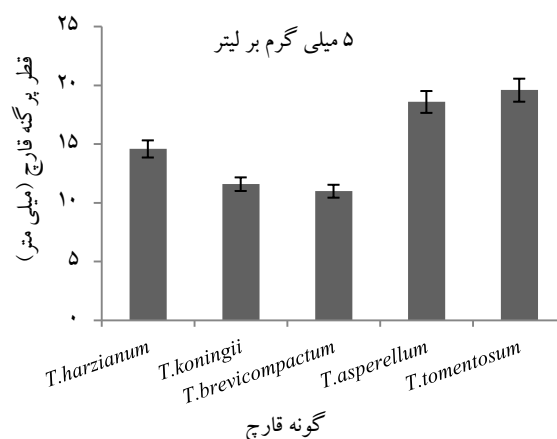
در مورد دو جدایه قارچی اسپرلوم و تومنتوزوم در محیط کشت شاهد در زمان اندازه‌گیری افزایش قطری نسبت به قطر اولیه مشاهده نشد. این دو گونه در محیط کشت حاوی غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر سم به ترتیب به میزان ۸۸/۸۸ و ۸۷/۵ درصد در مقایسه با محیط کشت حاوی ۵ میلی‌گرم بر لیتر سم رشد داشتند (شکل ۱).

مقایسه میزان رشد گونه‌های قارچی مورد مطالعه

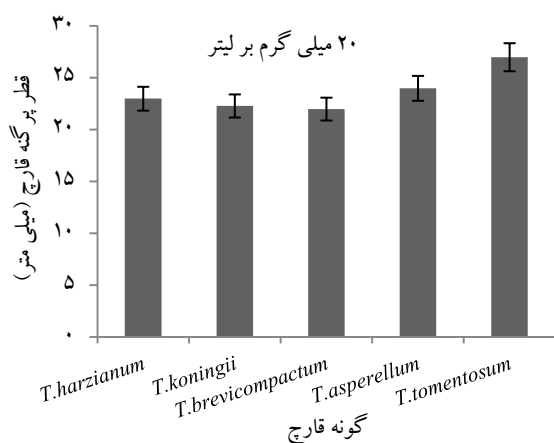
در غلظت‌های ثابت سم کنفیدور: قطری معادل ۳ میلی‌متر از هر گونه قارچی در محیط‌هایی با غلظت‌های مختلف سم مورد مطالعه کشت شد و میزان افزایش قطر پرگنه قارچ‌ها پس از گذشت ۲۴ ساعت بررسی شد. با توجه به نتایج ارائه شده در شکل ۲، دو گونه تومنتوزوم و اسپرلوم در محیط کشت بدون سم (شاهد) پس از گذشت ۲۴ ساعت فاقد هر گونه افزایش قطر بودند و



شکل ۴- نمودار میزان رشد قطر پرگنه ۵ گونه مختلف قارچ تریکودرما پس از گذشت ۲۴ ساعت از تلقیح با غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر از سم کنفیدور



شکل ۳- نمودار میزان رشد قطر پرگنه ۵ گونه مختلف قارچ تریکودرما پس از گذشت ۲۴ ساعت از تلقیح با غلظت ۵ میلی گرم بر لیتر از سم کنفیدور



شکل ۵- نمودار میزان رشد قطر پرگنه ۵ گونه مختلف قارچ تریکودرما پس از گذشت ۲۴ ساعت از تلقیح با غلظت ۲۰ میلی گرم بر لیتر از سم کنفیدور

تلقیح قارچ‌ها در محیط کشت حاوی ۱۰ میلی گرم بر لیتر از سم نشان داد، در این شرایط حداکثر مقدار رشد مربوط به ۳ جدایه تومنتوزوم، اسپرلوم و هارزیانوم به میزان ۲۳ میلی متر بوده و حداقل مقدار رشد قطر پرگنه مربوط به گونه برویکوم پکتوم و به میزان ۱۹ میلی متر بود (شکل ۴).

بر اساس نتایج به دست آمده قارچ‌های مورد مطالعه در محیط کشت محتوی ۲۰ میلی گرم بر لیتر از سم مقدار رشد بیشتری نسبت به سایر محیط‌ها داشتند و در این محیط کشت بیشترین میزان رشد مربوط به قارچ تومنتوزوم و به میزان ۲۷ میلی متر و کمترین میزان رشد مربوط به گونه قارچی برویکوم پکتوم و به مقدار ۲۲ میلی متر بود (شکل ۵). شایان ذکر است بررسی داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف نشان داد که میزان *P-value* مربوط به همه قارچ‌های مورد مطالعه بیشتر از ۵ درصد بوده و در نتیجه تمامی داده‌ها نرمال هستند.

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به افزایش روزافزون آلاینده‌ها در محیط زیست، در پژوهش حاضر به سازش‌پذیری ۵ گونه قارچ تریکودرما به غلظت‌های مختلف سم کنفیدور پرداخته شد. نتایج نشان داد که سم زیاد شده نه تنها مانع رشد قارچ‌ها نشد بلکه همه گونه‌های قارچی مورد مطالعه به خوبی با آن سازش یافتند و حتی در حضور سم رشد بهتری از خود نشان دادند. به طوری که گونه‌های اسپرلوم

هازیانوم نسبت به دو گونه دیگر بیشتر بود. به این ترتیب می‌توان نتیجه گرفت ۳ گونه یاد شده مقاومت بیشتری نسبت به حضور آلاینده کنفیدور در محیط از خود نشان دادند (شکل ۱). نتایج پژوهش حاضر با نتایج حاصل از پژوهش اورتگا^{۲۲} و همکاران مطابقت دارد. بر اساس نتایج آنان، قارچ تریکودرما قابلیت رشد در حضور غلظت‌های ۵ تا ۱۵ میلی گرم از سم د.د.ت. را داشته و در نتیجه قادر به حذف زیستی این سم در محیط‌های جامد و مایع است (۱۱). دجونوویک^{۲۳} و همکاران به سازگار کردن ۴ جدایه قارچی تریکودرما در حضور نفت خام اقدام کردند و نتایج پژوهش آنان نشان داد قطر پرگنه قارچ‌های یاد شده پس از گذشت ۲۴ ساعت به طور میانگین به میزان ۵ سانتی متر رشد داشته است (۱۷). همچنین، محسن‌زاده^{۲۴} و همکاران به حذف زیستی آلودگی‌های نفتی اطراف پالایشگاه کرمانشاه توسط گونه‌های مختلف قارچ تریکودرما اقدام کردند. بر اساس یافته‌های آنان آلودگی‌های نفتی نه تنها مانع رشد این نوع قارچ نبوده بلکه سبب افزایش مقاومت و رشد بیشتر کلونی‌های قارچی می‌باشد (۲۸). همچنین، بر اساس مطالعات حمزه^{۲۵} و همکاران، قارچ تراکودرما ویرنر^{۲۶} بیشترین رشد پرگنه را در محیطی با غلظت ۱ درصد نفت خام پس از گذشت ۶ روز نشان داد. این قارچ توانست پس از گذشت ۹ روز ۴۰ درصد از نفت خام را از محیط حذف کند (۲۹). شایان ذکر است ریشه‌های هوایی در همه گونه‌های قارچی مورد مطالعه، در محیط‌های کشت حاوی غلظت ۲۰ میلی گرم در لیتر سم نسبت به سایر غلظت‌های مورد مطالعه، بسیار سریع‌تر و ضخیم‌تر گسترش یافته بود. افزایش قطر و توسعه ریشه‌های پرگنه گونه‌های مختلف قارچ تریکودرما در حضور غلظت‌های بالای سم در محیط،

و تومنتوزوم که در محیط کشت‌های بدون سم پس از گذشت ۲۴ ساعت فاقد افزایش قطر بودند، در حضور سم توانستند رشد کنند و با افزایش مقدار سم موجود در محیط کشت، رشد آن‌ها نیز افزایش یافت (شکل ۲). تفاوت میزان رشد قارچ‌ها در محیط شاهد در زمان اندازه‌گیری ناشی از این مسأله است که در شرایط یکسان میزان و سرعت رشد قارچ‌ها با یکدیگر متفاوت است و برخی گونه‌های قارچی نسبت به بقیه دیر رشدتر هستند. نکته قابل توجه اینجاست که حتی گونه‌های دیر رشد نیز در محیط‌های حاوی سم سریع‌تر شروع به رشد پرگنه و ریشه‌های هوایی کردند. با توجه به وجود کربن و نیتروژن در ساختار مولکولی سم کنفیدور (۲۵) با افزایش غلظت سم در محیط گویی امکان دسترسی قارچ‌ها به این مواد غذایی افزایش یافته که سبب بهبود تغذیه و رشد بهتر آن‌ها شده است. نتایج برخی مطالعات پیشین نیز گویای این است که قارچ‌ها و باکتری‌ها قادرند از آلاینده‌های آلی به عنوان منبع کربن و انرژی استفاده کنند و آن‌ها را به مواد مفید و مورد نیاز خود و یا سایر میکروارگانیسم تبدیل نمایند (۱۵، ۱۶، ۲۶ و ۲۷). مطالعات دیگری در دسترس است که نشان می‌دهد قارچ‌ها قادرند از نفت و ترکیبات نفتی به عنوان منبع غذایی استفاده کنند (۲۸).

بررسی میزان رشد ۵ گونه مختلف قارچ تریکودرما در حضور غلظت‌های مختلف سم کنفیدور انجام شد و بر اساس نتایج در تمامی گونه‌های قارچی، از مقایسه رشد پرگنه در روز اول با محیط شاهد، افزایش معناداری در میانگین قطر کلونی نسبت به افزایش غلظت سم (در سطح خطای ۰/۰۵) دیده شد. همچنین، در غلظت‌های ثابت سم کنفیدور (۵، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم بر لیتر) مقدار رشد قطر پرگنه قارچ در سه گونه تومنتوزوم، اسپرلوم و

References

- (1) Kitsiou V., Filippidis N., Mantzavinos D., Poullos I. Heterogeneous and homogeneous photocatalytic degradation of the insecticide imidacloprid in aqueous solutions. *Applied catalysis B: Environmental* 2009; 86 (1): 27- 35.
- (2) Matsuda K., Buckingham SD., Kleiner D., Rauh JJ., Garuso M., Sattelle DB. Neonicotinoids: insecticides acting on insect nicotinic acetylcholine receptors. *Trends Pharmacol Science* 2001; 22 (11): 573- 80.
- (3) Millar NS., Denholm I. Nicotinic acetylcholine receptors: targets for commercially important insecticides. *Invertebrate Neuroscience* 2007; 7 (1): 53- 66.
- (4) Philippidis N., Sotiropoulos S., Efstathiou A., Poullos I. Photoelectrocatalytic degradation of the insecticide imidacloprid using TiO₂/ Ti electrodes. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 2009; 204 (2): 129- 36.
- (5) *Environmental Fate and Groundwater Branch EFGWB review of imidacloprid*. Washington, D.C: U.S. Environmental Protection Agency; 1993.
- (6) Cox C. Insecticide Effect Sheet. *Journal of Pesticide Reform* 2001; 21 (1): 15- 21.
- (7) Vollner L., Klotz D. *Leaching and degradation of pesticides in groundwater layers: In Environmental behavior of crop protection chemicals*. Vienna, Austria: International Atomic Energy Agency; 1997.
- (8) Felsot AS., Evans RG., Ruppert JR. Distribution of imidacloprid in soil following subsurface drip chemigation. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1998; 60 (1): 363- 70.

نشان دهنده پتانسیل بالای زیست‌پالایش سم کنفیدور توسط گونه‌های مختلف این قارچ است. دو گونه قارچی تومنتوزوم و اسپرلوم نسبت به سایر گونه‌های مورد مطالعه، حداکثر توان رشد و در نتیجه حداکثر توان تجزیه سم کنفیدور را دارند و به عنوان کاندیدهای مناسب برای انجام مطالعات آینده برای استفاده از قارچ *تریکودرما* در فرآیند زیست‌پالایی معرفی می‌شوند.

وجود غلظت‌های متفاوت سموم کشاورزی در محیط می‌تواند بر فعالیت میکروارگانیسم‌های موجود در آن تأثیرگذار باشد. این تأثیر در مورد سم کنفیدور بر فعالیت قارچ مورد بررسی به شکل تشدید کننده رشد و در نتیجه تشدید کننده حذف زیستی این سم از محیط است. بر اساس نتایج حاصل از پژوهش حاضر، تمامی گونه‌های قارچی مورد مطالعه توان رشد در حضور سم را داشته و در نتیجه، احتمالاً توان زیست‌پالایش خاک و آب‌های آلوده به سم را دارند. نتایج تحقیقات ارشادفتح^{۲۷} و همکاران بر امکان حذف زیستی سم کنفیدور از آب‌ها و پساب‌های کشاورزی آلوده به این سم توسط گونه‌های مختلف قارچ *تریکودرما* نیز این موضوع را تأیید می‌کند (۳۰-۳۲).

بر اساس مطالعات مرجع‌شناختی نگارندگان، هیچ‌گونه مطالعه‌ای در این باره تاکنون در ایران و جهان انجام نشده است و مطالعه حاضر نخستین بار است که گزارش می‌شود.

- (9) Zafar S., Aqil F., Ahmad E. Metal tolerance and biosorption potential of filamentous fungi isolated from metal contaminated agricultural soil. *Bioresource Technology* 2007; 98 (13): 2557- 61.
- (10) Ang EL., Zhao H., Obbard JP. Recent advances in the bioremediation of persistent organic pollutants via bio- molecular engineering. *Enzyme and Microbial Technology* 2005; 37 (1): 487- 96.
- (11) Ortega NO., Nitschke M., Mouad AM., Landgraf MD., Rezende MO., Selegim MH., et al. Isolation of Brazilian Marine Fungi Capable of Growing on DDD Pesticide. *Biodegradation* 2011; 22 (1): 43- 50.
- (12) Wang M., Zhou Q. Single and joint toxicity of chlorimuron-ethyl, cadmium, and copper acting on wheat *Triticum aestivum*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2005; 60 (2): 169- 75.
- (13) Vinale F., Sivasithamparam K., Ghisalberti EL., Marra R., Woo SL., Lorito M. *Trichoderma* plant- pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry* 2008; 40 (1): 1- 10.
- (14) Pascual S., Rico JR., Cal A., Melgarejo P. Ecophysiological factors affecting growth, sporulation and survival of the biocontrol agent *Penicillium oxalicum*. *Mycopathologia* 1997; 139 (1): 43- 50.
- (15) Baheri H., Meysami P. Feasibility of fungi bioaugmentation in composting a flare pit soil. *Journal of Hazardous Material* 2002; 89 (2- 3): 279- 86.
- (16) Mancera-Lopez ME., Esparza-Garcia F., Chavez-Gomez B., Rodriguez-Vazquez R., Saucedo-Castaneda G., Barrera-Cortes J. Bioremediation of an aged hydrocarbon-contaminated soil by a combined system of biostimulation-bioaugmentation with filamentous fungi. *International Biodeterioration and Biodegradation Journal* 2008; 61 (2): 151- 60.
- (17) Djonović S., Pozo MJ., Dangott LJ., Howell CR., Kenerley CM. Sm1., a proteinaceous elicitor secreted by the biocontrol fungus *Trichoderma virens* induces plant defense responses and systemic resistance. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 2006; 19 (8): 838- 53.
- (18) Altomare C., Norvell W., Bjorkman T., Harman G. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant promoting and bio- control fungus *Trichoderma harzianum*. *Applied Environmental Microbiology* 1999; 65 (7): 2926- 33.
- (19) Mariusz C., Marchin W., Piotrowska-Seget Z. Biodegradation of the organophosphorus insecticide diazinon by *Serratia* sp. and *Pseudomonas* sp. and bioremediation of contaminated soil. *Chemosphere* 2009; 76 (4): 494- 501.
- (20) Tjamos E., Papavizas G., Cook R. Biological control of plant disease: Progress and challenges for the future. New York, USA: Plenum Press; 1992.
- (21) Briceño G., Fuentes M., Palma G., Jorquera M., Amoroso M., Diez M. Chlorpyrifos biodegradation and 3,5,6-trichloro- 2- pyridinol production by actinobacteria isolated from soil. *International Biodeterioration and Biodegradation* 2012; 73 (1): 1- 7.
- (22) Sing C. Copper adsorption and removal from water by living mycelium of white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Water Resources* 1998; 32: 2746- 52.
- (23) Noorisafa B. Study on feasibility of bioremediation of petroleum-contamination using *Trichoderma* fungi and the effect of different contaminations of oil on the growth ability and pattern of gene expression in those fungi [Dissertation]. Borujerd: Islamic Azad Univ.; 2012.
- (24) Nasser S., Mohsenzadeh F., Nabizadeh R., Mesdaghinia A., Chehregani A., Zafari D. Identification of petroleum resistant plants and rhizospheral fungi for phytoremediation of petroleum contaminated soils. *Journal of the Japan Petroleum Institute* 2009; 52: 198- 204.

- (25) Zabar R., Komel T., Fabjan J., Bavcon Kralj M., Treb P. Photocatalytic degradation with immobilised TiO₂ of three selected neonicotinoid insecticides: Imidacloprid, thiamethoxam and clothianidin. *Chemosphere* 2012; 89: 293- 30.
- (26) Mohsenzadeh F., Ahmadi Masoud N. A Study on potential microbial removal of diesel oil from contaminated soil in Hamedan city. *Biological Journal of Microorganism* 2012; 1 (2): 77- 86.
- (27) Hassanshahian M., Emtiazi G. Isolation, and molecular detection of Alcanivorax dieselolei in the Persian Gulf and the study of biodegradation ability for remediation of oil pollution. *Biological Journal of Microorganism* 2012; 1 (1): 31- 40.
- (28) Mohsenzadeh F., Nasser S., Mesdaghinia A., Nabizadeh R., Zafari D., Chehregani A. Phytoremediation of petroleum-contaminated soils: Pre-screening for suitable plants and rhizospheric fungi. *Toxicological and Environmental Chemistry* 2009; 91 (8): 1443- 53.
- (29) Hamzah A., Abu Zarin M., Abdul Hamid A., Omar O., Senafi S. Optimal physical and nutrient parameters for growth of *Trichoderma virens* UKMP-1M for heavy crude oil degradation. *Sains Malaysiana* 2012; 41 (1): 71- 9.
- (30) Ershadfath F., Banejad H., Mohsenzadeh F. The Possibility of using *T.asperillum* Fungi as an Affordable and Environmentally Friendly Method to Remove Confidor from Agricultural Sewage. *International Bulletin of Water Resource and Development* 2014; 2 (1): 21- 9.
- (31) Ershadfath F., Mohsenzadeh F., Banejad H., Shirmohamadi N. *Bioremediation of Confidor- contaminated waters by T.tomentosum fungi*. The 1st Bioremediation Conference. Tehran: Sharif Univ.; 2013.
- (32) Ershadfath F. Study of Confidor removal by different species of *Trichoderma* fungi from contamination water [Dissertation]. Hamedan Bu- Ali Sina Univ.; 2014.

-
- ¹- Imidacloprid
 - ²- Confidor
 - ³- Neonicotinoids
 - ⁴- U.S.EPA
 - ⁵- Vollner & klotz
 - ⁶- *Trichoderma*
 - ⁷- *Pseudomonas* sp.
 - ⁸- *Azospirillum*
 - ⁹- *Serratia* sp.
 - ¹⁰- *Sentinel* sp.
 - ¹¹- Briceño
 - ¹²- actinobacteria
 - ¹³- *Bacillus pumilus*
 - ¹⁴- *T. harzinum* ATCC (20487)
 - ¹⁵- *T. asperillum* ATCC (204424)
 - ¹⁶- *T. tomentosum* ATCC (15834)
 - ¹⁷- *T. brevicompactum* ATCC (MYA 4848)
 - ¹⁸- *T. koningii* ATCC (56679)
 - ¹⁹- Potato Dextrose Agar
 - ²⁰- Merck
 - ²¹- Kolmogorov-Smirnov
 - ²²- Ortega
 - ²³- Djonović
 - ²⁴- Mohsenzadeh
 - ²⁵- Hamzah
 - ²⁶- *Trchodermavirens*
 - ²⁷- Ershadfath

Adaptation of *Trichoderma* Species to Pesticide Confidor and Evaluation of their Growth Ability in the Media Containing Confidor

Farnaz Ershadfath

M.Sc. Student of Water Engineering, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran, farnaz.ershadfath@yahoo.com

Hossein Banejad*

Associate professor of Water Engineering, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran, hossein_banejad@yahoo.com

Fariba Mohsenzadeh

Assistant professor of Environmental Health Engineering, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran, fmohsenzade@gmail.com

Abstract

Introduction: Contamination caused by pesticides is considered as one of the environmental problems. Bioremediation is exploiting the ability of microorganisms to remove pollutants. *Trichoderma* species are free-living fungi that exist naturally in the environment. These fungi have the ability to uptake some contaminants biologically. The aim of this study is to evaluate the effect of Confidor, as an environmental contaminant, on the growth ability of *Trichoderma* sp. as a contaminant absorber.

Materials and methods: Five species of *Trichoderma* fungi were cultured in PDA media. Then the fungi were adapted with 3 different concentrations of Confidor gradually (5, 10 and 20 mg/l). The diameter of the fungal colonies growing in different concentrations of the toxin, were measured after 24 hr and were compared with the control samples (medium without toxin).

Results: Results showed that in all species of fungi the colony diameters increased significantly with increasing toxin concentrations. The largest colony diameter was related to *T.tomentosum*, *T.asperellum* and *T.harzianum* (88.88, 87.5 and 86.95%, respectively) at the concentration of 20 mg of toxic. Also, in all studied fungal species, in the medium containing 20 (mg/ l) of toxic, the aerial hyphae expanded much thicker and faster than other concentrations.

Discussion and conclusion: The results indicate a significant increase in the growth ability of *Trichoderma* strains with increasing Confidor concentration. Therefore it could be concluded that *Trichoderma* fungi have a high potentiality for biodegradation of Confidor.

Key words: Confidor; *Trichoderma* sp., Growth ability

* Corresponding author, Associate professor of Water Engineering, Ferdowsi University, Mashhad, Iran

Received: May 28, 2014 / **Accepted:** August 26, 2014