

تأثير مستويات مختلفة من خليط مبيدات الأذغال في نمو وأعداد خلايا بكتريا الازوتوباكتر تحت مدد حضن مختلفة

فارس محمد سهيل، إسماعيل خليل السامرائي

## تأثير مستويات مختلفة من خليط مبيدات الأذغال في نمو وأعداد خلايا بكتريا الازوتوباكتر تحت مدد حضن مختلفة

فارس محمد سهيل، إسماعيل خليل السامرائي  
كلية الزراعة - جامعة ديالى، كلية الزراعة - جامعة بغداد

### المستخلص

أجريت تجربتان مختبريتان باستعمال تصميم (RCBD). تضمنت كل تجربة (144) وحدة تجريبية لكل مدة حضن، نتجت من (12) عزلة بكتيرية من *Azotobacter chroococcum* وأربعة تراكيز من خليط مبيدات الأذغال (توبك + لوكران) (75+25، 150+50، 300+100) ppm وبثلاث مكررات. وحضنت لخمس مدد حضن (3، 7، 10، 14، 21) يوماً لتحديد أقل تركيز مثبط الـ (MIC) في نمو وأعداد خلايا الـ (12) عزلة من *A. Chroococcum* المعزولة من تربة رايوسفير نباتات القمح الملقحة بالازوتوباكتر المعاملة وغير المعاملة بخليط المبيدات من تجربة حقلية سابقة. أظهرت النتائج ان الـ (MIC) للعزلات (I1, I2, I3) والمأخوذة من المعاملات التي عوملت بخليط المبيدات هو التركيز الرابع لمدة الحضن (3) أيام وأظهرت أكثر تحملا عند جميع التراكيز عند مدد الحضن (7، 10، 14، 21) يوماً، بينما العزلات (I4, I5, I6) المأخوذة من المعاملات غير المعاملة بخليط المبيدات لم تسجل نمواً وأعداد عند مدة الحضن (3) أيام، إذ ان الـ (MIC) لها هو التركيز الثاني والـ (MIC) لها هو التركيز الرابع عند مدد الحضن (7، 10، 14، 21) يوماً. وبهذا يمكن عد العزلات (I1, I2, I3) عزلات محلية أكثر تحملا لخليط المبيدات مقارنة بالعزلات (I4, I5, I6) علماً ان العزلات الستة عزلت من المعاملات التي أضيف لها (50%) من التوصية السمادية. بينت النتائج ان الـ (MIC) للعزلات (I7, I8, I9) والمأخوذة من المعاملات التي أضيف لها خليط المبيدات هو التركيز الثالث لمدة الحضن (3 و 7) أيام والتركيز الرابع لمدة الحضن (21) يوماً، وأظهرت أكثر تحملا عند جميع

تأثير مستويات مختلفة من خليط مبيدات الأذغال في نمو وأعداد خلايا بكتريا الازوتوباكتر تحت مدد حضن مختلفة

فارس محمد سهيل، إسماعيل خليل السامرائي

التركيز لمدة الحضن ( ١٠ و ١٤ ) يوما ، بينما العزلات ( , I10 I12 , I11 ) والمأخوذة من المعاملات غير المعاملة بخليط المبيدات ، لم تسجل نموا وأعدادا عند مدة الحضن ( ٣ ) أيام ، إذ إن الـ ( MIC ) لها هو التركيز الثاني وكان الـ ( MIC ) لها هو التركيز الثالث عند مدة الحضن ( ٧ ) أيام والتركيز الرابع عند مدة الحضن ( ١٠ ، ١٤ ، ٢١ ) يوما. وان جميع العزلات الستة عزلت من المعاملات التي أضيف لها ( ١٠٠ % ) من التوصية السمادية. إن العزلات ( I3, I2 ,I1 )المأخوذة من المعاملات المعاملة بخليط المبيدات مع إضافة ( ٥٠ % ) من التوصية السمادية أظهرت أكثر تحملا من العزلات ( I7 , I8 , I9 ) المأخوذة من المعاملات التي عوملت بخليط المبيدات مع إضافة ( ١٠٠ % ) من التوصية السمادية .

تأثير مستويات مختلفة من خليط مبيدات الأذغال في نمو وأعداد خلايا بكتريا الازوتوباكتر تحت مدد حضن مختلفة

### Abstract

Two laboratory experiments were carried out with (CRD) design. Each experiments were included (144) experimental units for each incubation period and comes of (12) bacterial isolation, (4) level of herbicide mixture (0.0, 75+25, 150+50, 300+100) and (3) replication five period of incubation (3, 7, 10, 14, 21) days were used for measuring (MIC) of growth and bacterial cells number. The results showed that the isolation (I<sub>1</sub>, I<sub>2</sub>, I<sub>3</sub>) which were taken from treatments of mixed pesticide considered as resistant local isolations to mixed pesticide compared with the isolations (I<sub>4</sub>, I<sub>5</sub>, I<sub>6</sub>) which were taken from untreated treatment with mixed pesticide. So the (MIC) of (I<sub>1</sub>, I<sub>2</sub> and I<sub>3</sub>) isolation is (C<sub>4</sub>) for (3) days incubation and growth in all concentration for the period of incubation (7, 10, 14 and 21) days, while the isolation (I<sub>4</sub>, I<sub>5</sub> and I<sub>6</sub>) was not recorded growth and numbers with (3) days incubation the (MIC) in (C<sub>4</sub>) for the incubation period (7, 10, 14 and 21) days. The results also showed that the isolation (I<sub>7</sub>, I<sub>8</sub> and I<sub>9</sub>) which were taken from treatments of pesticide mixture addition as considered resistant local isolation for mixture of pesticide compared with isolation (I<sub>10</sub>, I<sub>11</sub> and I<sub>12</sub>).

### ١. المقدمة

يعد جنس الازوتوباكتر من أجناس البكتريا حرة المعيشة وذات مقدرة على تثبيت النتروجين الجوي (ألزغبي وآخرون، ٢٠٠٧) والذي انتشر استعماله في مجالات استعمال الأسمدة الحيوية، فضلا على أهميتها في إفراز بعض الهرمونات والأنزيمات والفيتامينات ومنظمات النمو في الأوساط الصناعية وأوساط نمو النبات (Abbas and Okon, 1993 والسامرائي، ٢٠٠٢)، كما أنها تفرز الكثير من المضادات الفطرية للحماية من المسببات المرضية (الحداد، ١٩٩٨). ان استعمال هذه البكتريا كسماد حيوي هو ضرورة للتخفيف من مشاكل تلوث البيئة التي تسببها الأسمدة الكيميائية (Hammad, 1998) وللمساهمة في تخصيب التربة حيويًا. تعد إضافة المبيدات الكيميائية بهدف الحد من انتشار الأذغال ومقاومة المسببات المرضية احد طرائق مكافحة والمقاومة في حقول المحاصيل الحقلية والبستانية، إلا ان الاستعمالات المفرطة لهذه المبيدات ذات تأثيرات سلبية في صحة الإنسان وظهور مشكلة التلوث البيئي (Michaelidou وآخرون ٢٠٠٠)، فضلا على تأثيراتها السلبية في الكتلة الإحيائية في التربة، ويمكن ان

## تأثير مستويات مختلفة من خليط مبيدات الأذغال في نمو وأعداد خلايا بكتريا الازوتوباكتر تحت مدد حضن مختلفة

يحصل التمثيل الغذائي لهذه المركبات بوساطة أحياء التربة المجهرية مما يؤدي إلى فقد سميتها أو تنشيطها ، لهذا يجب الوصول إلى استراتيجيه ( المستوى الأمثل للإنتاج ) ، أي الارتقاء بنوعية أقصى منتج يمكن تحقيقه ، إذ يتصف بنظافته وخلوه من بقايا المبيدات وسميتها تعد مبيدات الأذغال التوبك ( Topic 100 Ec ) واللوكران ( Logran extra 64 ) من المبيدات الجهازية المستعملة في حقول الحنطة لمكافحة الأذغال رفيعة وعريضة الأوراق على التوالي والتي ترش بعد بزوغ الأذغال ، إذ يتم امتصاصها من خلال الأوراق والجذور ، تضاف بمعدل ( ٦٠٠ سم<sup>٣</sup> هكتار-١ و ٢٥٠ ) غم.هكتار-١ على التوالي ، (Tomlin, 1998). الازوتوباكتر من المخصبات الحيوية واسعة الانتشار في الطبيعة ووفرتها تحدها عوامل عديدة منها المبيدات بأنواعها المختلفة (Helmeezi وآخرون، ١٩٨٤) ، وتعد هذه البكتريا من الأنواع الحساسة بشكل كبير لإضافة مبيدات الأذغال ( Milosevic وآخرون، ٢٠٠٠ ) .لذا فمن الضروري معرفة الاستعمال الأمثل للمبيدات سواء من ناحية تراكيزها المؤثرة وطريقة ووقت إضافتها ، ولهذا يجب اختيار الأحياء ذات الكفاءة العالية في مقاومة المبيدات وتحللها وإكثارها واستعمالها كلفاحات حيوية ، ويتم هذا عن طريق دراسة مدى حساسية الأحياء للمبيدات ودرجة تعرضها لها ودرجة نشاطها الحيوي وذلك من خلال معرفة أدنى تركيز مثبط للنمو ( MIC ) كأساس لقياس مستويات المقاومة للبكتريا ( Jones وآخرون ١٩٩٢ ) . يهدف البحث دراسة تأثير مستويات مختلفة من خليط مبيدات الأذغال ( التوبك + اللوكران ) في نمو وأعداد عزلات مختلفة من *A.chroococcum* لتحديد أدنى تركيز مثبط MIC لنمو البكتريا .

### ٢.المواد وطرائق العمل

جمعت ( ١٢ ) عينة من منطقة رايزوسفير ( المنطقة التي تقع تحت تأثير جذور النباتات فهي تشمل المنطقة الملاصقة لأسطح الجذر والتربة الملاصقة تماما ) جذور نباتات القمح الملحقة ببكتريا الازوتوباكتر (*A.chroococcum*) والمعاملة بخليط المبيدات الكيميائية (توبك + لوكران ) من معاملات تجربة حقلية سابقة ، وحسب طريقة تخافيف التربة وباستعمال الوسط ( Sucrose mineral salts ) تم عزل وتشخيص ( ١٢ ) عزلة من بكتريا (*A.chroococcum*). جدول ( ١ ) يبين المعاملات التي عزلت منها البكتريا وأرقام العزلات. نفذت تجربتان مختبريتان بتصميم RCBD لاختبار تأثير خليط المبيدات في نمو وإعداد عزلات مختلفة من (*A. Chroococcum*)

تأثير مستويات مختلفة من خليط مبيدات الأذغال في نمو وأعداد خلايا بكتريا الازوتوباكتر تحت مدد حضن مختلفة

لتحديد اقل تركيز مثبط ( MIC ) لنمو وأعداد خلايا البكتريا (Rana وآخرون، ١٩٩٨، وسهيل وفهمي، ٢٠٠٩) . تم تحضير بيئة المانيتول – أكار الخالية من النتروجين وأضيف لها المبيدات التي تم تعقيمها باستعمال المرشح البكتيري ( Seitz filter ) قبل تصليبها وبأربعة تراكيز ( C1, C2, C3, C4 ) مستعملين التركيز الموصى به ومستويين يمثلان التركيز الواطئ والعالي إضافة لمعاملة المقارنة (بدون مبيد ) ، كما في الجدول ( ٢ ) . باستعمال الناقل تم تخطيط الأطباق وبثلاثة مكررات لكل تركيز ولكل عزلة، حضنت الأطباق على درجة حرارة ( ٢٨ م) ولمدد حضن ( ٣ و ٧ و ١٠ و ١٤ و ٢١ ) يوما . سجل نمو العزلات البكتيرية خلال مدد الحضن . ولعد الخلايا البكتيرية حضرت مزرعة سائلة من كل عزلة ، إذ تم تميمتها في بيئة المانتول السائلة الخالية من النتروجين ، بعد أسبوع من الحضن تم إجراء التخفيف المتسلسلة . تم تحضير بيئة المانتول – أكار وأضيف لها المبيدات ( كما في التجربة الأولى ) ، لقت الأطباق بإضافة ( ١ ) مل من المزرعة السائلة لكل عزلة ، حضنت الأطباق على درجة حرارة ( ٢٨ م) ولنفس مدد الحضن السابقة . عدت المستعمرات النامية لكل عزلة بكتيرية في الأطباق خلال مدد الحضن ، وكانت معاملات التجريبتين كالتالي :

١٢ عزلة × ٤ تراكيز × ٣ مكررات = ١٤٤ وحدة تجريبية لكل مدة حضن .

### ٣. النتائج والمناقشة

يبين الجدولان ( ٣ و ٤ ) حالة نمو وأعداد الخلايا البكتيرية للعزلات ( I1, I2, I3 ) المأخوذة من منطقة رايوسفير جذور نباتات القمح في تربة معاملة بخلط المبيدات الكيميائية ( توبك + لوكران ) وللعزلات ( I4, I5, I6 ) المأخوذة من رايوسفير جذور نباتات القمح في تربة غير معاملة بخلط المبيدات الكيميائية وفي حالة إضافة ( ٥٠ % ) من المغذيات الكبرى ( NPK ) . أوضحت النتائج ان متوسط نمو وأعداد الخلايا البكتيرية للعزلات ( I1, I2, I3 ) سجل زيادة معنوية مقارنة بمتوسط نمو وأعداد الخلايا البكتيرية للعزلات ( I4, I5, I6 ) وبصرف النظر عن تراكيز المبيدات الكيميائية المستعملة ومدد الحضن. إن حالة النمو وأعداد الخلايا البكتيرية للعزلات ( I1, I2, I3 ) و ( I6, I5, I4 ) وعند المعاملة التي لم تسلم المبيدات الكيميائية ( التركيز صفر ) سجلت أعلى نموًا وأعدادًا عند مدة الحضن ( ١٠ ) أيام وان هناك زيادة معنوية في الأعداد من اليوم ( ٣-١٠ ) أيام ثم انخفضت الأعداد البكتيرية انخفاضًا

تأثير مستويات مختلفة من خليط مبيدات الأذغال في نمو وأعداد خلايا بكتريا الازوتوباكتر تحت مدد حضن مختلفة

معنويا" عند مدة الحضن ( ٢١ و ١٤ ) يوما ولكن متوسط نمو وأعداد الخلايا البكتيرية للعزلات ( I3, I2, I1 ) كان متفوقا" معنويا" على متوسط نمو وأعداد الخلايا البكتيرية للعزلات ( I6, I5, I4 ) عند مدة الحضن ( ١٠ و ٧ ) أيام. ان ازدياد النمو وأعداد الخلايا البكتيرية من اليوم ( ٣-١٠ ) أيام عند التركيز ( صفر ) وانخفاضها بعد تلك المدة قد يعزى إلى ان بكتريا الازوتوباكتر سريعة النمو وذلك لتوفر العناصر الغذائية اللازمة لنمو البكتريا في الوسط الغذائي خلال مدد الحضن الثلاثة الأولى ثم تقل الأعداد نتيجة تراكم النواتج السمية أو عندما تتناقص المادة المغذية وان الأوكسجين من أكثر المواد المستنفذة شيوعا" (أشراي وآخرون، ٢٠٠٤) . إن زيادة تركيز المبيدات الكيميائية من ( صفر ) إلى التركيز الثاني والثالث عند مدة الحضن ( ٣ ) أيام تسببت في خفض معنوي لنمو وأعداد الخلايا البكتيرية للعزلات ( I3, I2, I1 )، إذ إن ( MIC ) لهذه العزلات هو التركيز الرابع ، إذ انعدم نموها تماما في هذا التركيز، إما العزلات ( I6, I5, I4 ) فقد فشلت في إعطاء أي نمو في التركيز الثاني والثالث والرابع وعند مدة الحضن نفسها أي إن الـ MIC لها هو التركيز الثاني . لقد أشارت الدراسات التي نفذها ( Milosevic and Govedarica ) ( 2002 ) إلى ان بكتريا الازوتوباكتر أكثر حساسية لمبيدات الأذغال المضافة وإضافتها بكميات عالية تؤدي إلى قتل أحياء التربة .

عند مدد الحضن ( ٧ ، ١٠ ، ١٤ ، ٢١ ) يوما" وعند التركيز الثاني والثالث والرابع فان العزلات ( I3, I2, I1 ) ازداد متوسط نموها وأعدادها زيادة غير معنوية مع زيادة مدة الحضن وسجلت أعلى قيمة لها عند مدة الحضن ( ١٤ ) يوما" وانخفضت الأعداد معنويا" عند مدة الحضن ( ٢١ ) . ان العزلة ( I3 ) كانت متفوقة في نموها وأعدادها عن العزلتين ( I2, I1 ) اللتين توقف نموها عند التركيز الرابع عند مدة الحضن ( ٧ ، ٢١ ) يوما.

ان نمو العزلات ( I3, I2, I1 ) في جميع التراكيز وعند مدد الحضن أعلاه يعطي مؤشرا" واضحا" بان هذه العزلات والمأخوذة من منطقة رايروسفير نباتات القمح المعاملة بخليط المبيدات الكيميائية أكثر تحملا" لخليط المبيدات الكيميائية الذي قد أسهم في إكساب هذه العزلات مقاومة للمبيدات وبذلك يمكن اعتبارها عزلات محلية للازوتوباكتر أكثر تحملا" لخليط ( التوبك+اللوكران ) . ان دراسة Nastasija وآخرون، ( ٢٠٠٢ ) أظهرت ان عزلات مختلفة من بكتريا الازوتوباكتر لها المقدرة في النمو عند جميع التراكيز المضافة من مبيد الأذغال ( RO-

.( Neet ; Pytamin

تأثير مستويات مختلفة من خليط مبيدات الأذغال في نمو وأعداد خلايا بكتريا الازوتوباكتر تحت مدد حضن مختلفة

إما العزلات ( I6, I5, I4 ) فان متوسط نموها وأعدادها ازداد زيادة غير معنوية عند التركيز الثاني والثالث وسجلت أعلى قيمة لها عند مدة الحضن ( ١٤ ) يوماً وانخفضت أعدادها بشكل غير معنوي عند المدة (٢١) يوماً ولم تسجل أي نمو عند التركيز الرابع ولجميع مدد الحضن أعلاه ، أي إن الـ ( MIC ) لهذه العزلات هو التركيز الرابع . ومن بين العزلات ( I6, I5, I4 ) نجد ان العزلة ( I4 ) سجلت نمواً وإعداداً عند التركيز الثالث ، وان الـ ( MIC ) لها هو التركيز الرابع ، في حين ان العزلتين ( I6, I5 ) كان الـ ( MIC ) لها هو التركيز الثالث ، إذ أشار السلطان (١٩٩٩) إلى ان إضافة مبيدات التوبك واللوكران و 2-4-D وبتراكيز مختلفة إلى البيئات الصناعية الصلبة لأربع عزلات بكتيرية من ( A.chroococcum ) أظهرت العزلات اختلافاً معنوياً في استجابتها للمبيدات .

ان انخفاض نمو وأعداد خلايا الازوتوباكتر في البيئات الصناعية الصلبة بزيادة مستويات المبيدات أيضاً ذكرها Milosevic وآخرون ، (٢٠٠٠) ، وألغزي ، (٢٠٠٦) ، وأشار سهيل وفهمي ، (٢٠٠٩) إلى ان زيادة تراكيز مبيد الأذغال جراوند أب من التركيز (صفر Co ) إلى التراكيز ( ٥ ، ١٠ ، ٢٠ ) مل .لتر-١ أدت إلى خفض معنوي في أعداد خلايا A . Chroococcum . إذ إن نمو البكتريا في بيئة ذات محتوى عال من المبيد قد يؤدي إلى زيادة في امتصاص المبيد من قبل البكتريا أو ربطه على المواقع الفعالة على سطح الخلية بحيث يؤدي إلى إيقاف عمل الأنزيمات الأمر الذي يؤدي إلى إيقاف النمو والعمليات الايضية (Anderson, 1983). انعدام النمو لجميع العزلات عند إضافة تراكيز المبيدات الكيميائية عند مدة الحضن (٣) أيام وزيادته بزيادة مدد الحضن إلى (١٤) يوماً يمكن إن يعزى إلى مرور البكتريا في طور السكون ( lag phase ) أي تتكيف وتتطبع على الظروف الطارئة ( إضافة المبيد ) عند المدة (٣) أيام ، إذ ان نسبة عالية من خلايا اللقاح لاتستطيع النمو في الأوساط الجديدة التي تنتقل إليها فتموت مما يؤدي إلى هبوط أعدادها عند مدة الحضن ( ٣ ) أيام وبعد تلك المدة يحصل تأقلم لنمو البكتريا إذ إن الخلايا تتكيف مع الوسط الجديد حيث يلزمها بعض الوقت لتعود على البيئة الجديدة وقيامها ببناء أنزيمات جديدة يمكنها من الاستفادة من مكونات الوسط الجديد ( أشرابي وآخرون ، ٢٠٠٤ ) ، فنلاحظ زيادة في النمو ، إذ ان الأنزيمات متوفرة وبكامل نشاطها ( الخفاجي، ١٩٨٧ ) ، أي ان البكتريا تبدأ بتحطيم جزيئات المركب ( خليط المبيدات ) وتقليل درجة سميته واستعماله مصدراً للغذاء والطاقة مما يفسر زيادة النمو والأعداد إلى (١٤) يوماً .

تأثير مستويات مختلفة من خليط مبيدات الأذغال في نمو وأعداد خلايا بكتريا الازوتوباكتر تحت مدد حضن مختلفة

أما انخفاض أعداد البكتريا بل انعدامها لبعض العزلات عند مدة الحضن (٢١) يوما" قد يعزى ذلك إلى إن البكتريا مرت بطور الضعف أو الموت ، إذ يبدأ عدد الخلايا الميتة يفوق عدد الخلايا الحية نتيجة لفاذ العناصر الغذائية الناتجة من تحلل المبيدات وتراكم الفضلات لذا يصبح الوسط غير ملائم وعندها يتوقف النمو (أشراي وآخرون، ٢٠٠٤ ، ) أو يعتقد بان البكتريا استطاعت تحويل المبيدات إلى نواتج سامة للنوع نفسه من الأحياء التي تؤثر في المركب الأصلي ( الكسندر، ١٩٨٢) . ان مقاومة البكتريا لمضاد معين قد يفسر إلى تغير في تسلسل القواعد النتروجينية للحمض النووي (DNA) للخلايا البكتيرية الذي قد يؤثر في المسار الايضي لها والذي يؤدي إلى زيادة أو نقصان في نمو البكتريا ومن ثم في كفاءة تثبيت النتروجين الجوي ( El-Zawahry,1976). كما بين (Atlas 1995) بان بعض الأنواع من البكتريا تمتاز بامتلاكها صفة المقاومة الذاتية وهي التي توقف فعل المضاد أو المقاومة المكتسبة والتي تؤدي إلى ظهور سلالات مقاومة كانت أصلا" حساسة لفعل مضاد معين يبين الجدولان ( ٥ و ٦ ) حالة نمو وأعداد الخلايا البكتيرية للعزلات ( I9, I8, I7 ) المأخوذة من منطقة اريزوسفير جذور نباتات القمح في تربة معاملة بخلط المبيدات الكيميائية (توبك + لوكران ) والعزلات ( I12, I11, I10 ) المأخوذة من اريزوسفير جذور نباتات القمح في تربة غير معاملة بخلط المبيدات وفي حالة إضافة ( ١٠٠% ) من NPK . بينت النتائج إن متوسط نمو وأعداد الخلايا البكتيرية للعزلات ( I9, I8, I7 ) سجلت زيادة معنوية مقارنة بمتوسط نمو وأعداد الخلايا البكتيرية للعزلات ( I12, I11, I10 ) بغض النظر عن التراكيز المستعملة ومدد الحضن.

إن متوسط أعداد الخلايا البكتيرية للعزلات ( I9, I8, I7 ) تفوق معنويا" على متوسط أعداد الخلايا البكتيرية للعزلات ( I12, I11, I10 ) ولمدد الحضن ( ٧ و ١٠ و ١٤ ) يوما"، وغير معنوي عند مدة الحضن ( ٣ و ٢١ ) يوما"، وهذا يشير إلى إن خليط المبيدات قد اكسب العزلات ( I9, I8, I7 ) نشاطا" وفعالية أعلى من العزلات ( I12, I11, I10 ) . إن العزلات ( I9, I8, I7 ) والعزلات ( I12, I11, I10 ) وعند التركيز ( صفر ) أعطت زيادة معنوية في نموها وأعدادها عند مدة الحضن ( ٣، ٧، ١٠ ) وبلغ أعلى نمو وأعداد الخلايا عند (١٠) أيام ثم انخفضت الأعداد معنويا" عند (٢١ و ١٤) يوما"، إذ كانت اقل قيمة لها عند (٢١) يوما" وكان متوسط نمو أعداد الخلايا البكتيرية للعزلات ( I9, I8, I7 ) متفوقا" معنويا" على متوسط أعداد الخلايا البكتيرية للعزلات ( I12, I11, I10 ) عند مدة الحضن ( ٧

تأثير مستويات مختلفة من خليط مبيدات الأذغال في نمو وأعداد خلايا بكتريا الازوتوباكتر تحت مدد حضن مختلفة

و ١٠) أيام. إن زيادة نمو وأعداد الخلايا البكتيرية من اليوم (٣-١٠) أيام عند التركيز ( صفر ) وانخفاضها بعد تلك المدة قد تعزى إلى إن حالة النمو والأعداد اتجهت طبقاً لمنحنى نمو البكتريا، إذ مرت بطور التطبع والتكيف lag phase الذي تكون سرعة النمو فيه صفراً" ومن ثم طور النمو اللوغارتمي والذي تكون سرعة النمو بأقصاه وطور الثبات الأفقي ثم طور الموت والهبوط الذي تكون فيه سرعة النمو ذات قيمة سالبة .(أشراي وآخرون، ٢٠٠٤) . إن زيادة تركيز خليط المبيدات من ( صفر ) إلى التركيز الرابع وعند المدة (٣) أيام سببت توقف النمو للعزلات ( I9, I8, I7 ) فيما عدا العزلة ( I9 ) أظهرت نمواً "ضعيفاً" عند التركيز الثاني . أي إن الـ ( MIC ) لهذه العزلات هو التركيز الثالث ، إذ أنها لم تسجل أي نمو عند هذا التركيز وهذا يعطي مؤشراً إلى إن العزلات الثلاثة أعلاه ( I9, I8, I7 ) قد انخفضت مقاومتها للمبيدات بسبب إضافة ١٠٠% من السماد الكيميائي في التربة. إذ إن للأسمدة النتروجينية وخاصة اليوريا والامونيا تأثيراً "مثبطاً" ليس لأنزيم النتروجيناز فقط بل لأنظمة أنزيمية أخرى قد تكون مسؤولة عن النمو ( Drozd وآخرون، ١٩٧٢) أما العزلات ( I12, I11, I10 ) فقد فشلت في إعطاء أي نمو في جميع التراكيز . عند مدد الحضن ( ١٠ و ١٤ و ٢١ ) يوماً" وعند التركيز الثاني والثالث فإن العزلات ( I9, I8, I7 ) زاد متوسط نموها وأعدادها بزيادة مدد الحضن وسجلت أعلى قيمة لها عند (١٤) يوماً" إذ كانت الزيادة معنوية. بينما سجلت نمواً "وأعداداً" عند التركيز الرابع وعند (١٤ و ١٠) يوماً" فقط وانخفضت الأعداد معنوياً" عند (٢١) يوماً" ولجميع التراكيز. وهذا يعني إن العزلات ( I9, I8, I7 ) قد دخلت في طور السكون عند التركيز الرابع وللمدة من (٣-٧) أيام وبعد تلك المدة حصل تأقلم فبدأت بالنمو وبلغت أعدادها ( ٢.٣٣ و ٦.٨٣ ) \* ١٠٤ cfu .مل-١ عند المدة ( ١٠ و ١٤ ) يوماً" على التوالي، مما يشير إلى إن البكتريا بدأت بتحليل خليط المبيدات عند تلك المدة. لقد ذكر Kole وآخرون (١٩٩٤) ، بأن مبيد الأذغال pendimethalin قد تحلل بفعالية من قبل بكتريا الازوتوباكتر بنسبة (٤٥%) بعد (١٠) أيام و(٥٥%) بعد (٢٠) يوماً". إن نمو هذه العزلات في جميع التراكيز عند مدد الحضن ( ١٠ و ١٤ ) يوماً" يعطي مؤشراً واضحاً بأنها أكثر تحملاً" لخليط المبيدات الكيميائية وان الـ MIC لها هو التركيز الرابع عند مدة الحضن ( ٧ و ٢١) يوماً .

تأثير مستويات مختلفة من خليط مبيدات الأذغال في نمو وأعداد خلايا بكتريا الازوتوباكتر تحت مدد حضن مختلفة

أما العزلات ( I12, I11, I10 ) فقد سجلت نمواً وأعداداً تراوحت بين ( ٣.٥-٤.٥ ) \* ١٠٤ cfu. مل-١ عند التركيز الثاني فقط ولمدة الحضن (٧) أيام أي إن الـ ( MIC ) لها هو التركيز الثالث. والـ ( MIC ) لهذه العزلات هو التركيز الرابع عند مدة الحضن ( ١٠ ، ١٤ ، ٢١ ) يوماً إذ إنها لم تسجل نمو وأعداد عند هذا التركيز ولقد لاحظنا إن العزلة (١٠) هي فقط سجلت نمواً وأعداداً عند التركيز الثالث ولمدد الحضن (١٠ ، ١٤ ، ٢١ ) يوماً، مما يشير إلى إن هذه العزلة هي أكثر تحملاً من بين العزلات الثلاثة وإن الـ ( MIC ) لها هو التركيز الرابع ، بينما نجد العزلتين (I12, I11) كان الـ ( MIC ) لها هو التركيز الثالث ، إذ إن هناك تبايناً واضحاً بين العزلات في مقدرتها على تحمل التراكيز العالية من المبيدات . إن معدل تحلل مبيدات الأذغال يعتمد على العزلات البكتيرية المستعملة بالتلقيح ( Burns,1995 ). من الجدول (٧) يتبين بان العزلات ( I3, I2, I1 ) أعطت نمواً وأعداداً أعلى من العزلات ( I9, I8, I7 ) إذ إن الـ ( MIC ) للعزلات ( I3, I2, I1 ) هو التركيز الرابع عند مدة الحضن (٣) أيام و أظهرت تحملاً عند جميع التراكيز عند مدة الحضن ( ٧ ، ١٠ ، ١٤ ، ٢١ ) يوماً، أما العزلات ( I9, I8, I7 ) فكان الـ ( MIC ) لها هو التركيز الثالث عند مدة الحضن (٣) أيام و الـ ( MIC ) كان التركيز الرابع عند مدة الحضن ( ٧ و ٢١ ) يوماً و أظهرت تحملاً عند جميع التراكيز عند مدة الحضن ( ١٠ ، ١٤ ) يوماً وهذا يعني بان العزلات الثلاثة الأولى أكثر مقاومة من العزلات الثلاثة الأخرى على الرغم من إن العزلات الستة أعلاه عزلت من التربة المعاملة بخليط المبيدات الكيميائية وقد يعزى السبب في ذلك إلى إن العزلات ( I9, I8, I7 ) عزلت من المعاملات التي أضيف لها السماد الكيميائي ( NPK ) بنسبة ( ١٠٠% ) من التوصية السمادية وهذا قد اثر في نموها وأعدادها عندما أضيف لها خليط المبيدات في البيئات الصناعية الصلبة . إذ أشار Gordon وآخرون ، (١٩٨١) إلى إن استعمال تراكيز عالية من اليوريا والامونيا كان أكثر من حاجة البكتريا واستغلالها مما أدى إلى تراكمها ومن ثم تثبيط الأنظمة الأنزيمية المختلفة للخلايا البكتيرية ومنها أنظمة النمو . هناك تأثير تثبيطي للأسمدة الكيميائية المعدنية النتروجينية والفوسفاتية عالية التركيز في نشاط وأعداد البكتريا ( Rai and Gaur,1988 ) . بينت نتائج جدول ( ٧ ) أيضاً ان الـ ( MIC ) للعزلات ( I6, I5 , I4 ) والعزلات ( I12 , I11 , I10 ) كان متشابهاً لجميع مدد الحضن ماعدا مدة الحضن ( ٧ ) أيام إذ كان الـ ( MIC ) للعزلات ( I6 , I5 , I4 ) هو التركيز الرابع، بينما للعزلات ( I12 , I11 )

تأثير مستويات مختلفة من خليط مبيدات الأذغال في نمو وأعداد خلايا بكتريا الازوتوباكتر تحت مدد حضن مختلفة

( I10 ) هو التركيز الثالث . علما إن جميع هذه العزلات الست عزلت من المعاملات التي لم يصف لها خليط المبيدات الكيميائية.

#### ٤. الاستنتاجات

العزلات التي أخذت من المعاملات التي عملت بخليط المبيدات الكيميائية وبإضافة ( ٥٠ % ) من السماد الكيميائي أظهرت تحملا لجميع التراكيز المستعملة لخليط المبيدات في البيئات الصناعية الصلبة ، بينما العزلات التي أخذت من المعاملات غير المعاملة بخليط المبيدات وبإضافة ( ٥٠ % ) من السماد الكيميائي تثبط نموها وأعدادها في التراكيز العالية لخليط المبيدات الكيميائية ، إذ إن الـ ( MIC ) لها هو التركيز الرابع ( C4 ) . العزلات التي أخذت من المعاملات التي أضيف لها ( ٥٠ % ) من السماد الكيميائي أظهرت تقوفا في نموها وأعدادها مقارنة بالعزلات التي أخذت من المعاملات التي أضيف لها ( ١٠٠ % ) من السماد الكيميائي .

#### ٥. المصادر

- ١- ألزغبى ، محمد منهل والضمان ، فاطمة وكريدي ، نبيلة وارسلان ، اواديس (٢٠٠٧) . عزل البكتريا الازوتوباكتر من بعض الترب السورية واختبار فعاليتها في تثبيت الازوت الجوي في التربة. مجلة باسل الأسد للعلوم الهندسية . العدد ٣٧٠ ( ٣٧ ) .
- 2- Abbas, Z. and okon, Y. (1993). Plant growth promotion by Azotobacter Paspail in the rhizosphere. Soil Biol. Biochem .25: 1075- 1083.
- ٣- السامرائي ، إسماعيل خليل (٢٠٠٢) . دور الأسمدة الحيوية في معالجة نقص الحديد في نبات الحنطة،مجلة الزراعة العراقية .مجلد ( ٨ ) . عدد ( ٢ ) .
- ٤- الحداد ، محمد السيد مصطفى (١٩٩٨) . دور الأسمدة الحيوية في خفض التكاليف الزراعية وتقليل تلوث البيئة وزيادة إنتاجية المحصول .كلية الزراعة- جامعة عين شمس الدورة التدريبية القومية حول إنتاج واستخدام المخصبات الحيوية .المملكة الأردنية الهاشمية، ١٥-١٦ /٥/١٩٩٨.

تأثير مستويات مختلفة من خليط مبيدات الأذغال في نمو وأعداد خلايا بكتريا الازوتوباكتر تحت مدد حصن مختلفة

- 5- Hammad, A .M .M. (1998). Evalytion of alginate .encapsulated A.chrooc- cum as a phag - resistant and effective inoculum.J.Basic Basic Mic-robiol . 38. 1, 9-16 .
- 6- Michaelidou, St .C; Piera, P. and Nicolaou, S.A.(2000 ) . Evaluation of combination toxic effects and genotoxicity of pesticides for Environ-mental protect and sustaiabitiy , proceeding of the 1st European con-ference on pesticides and related organic micropollutants in the environment (T. Albanis ed ). Ioannina, Greece ,49 – 52 .
- 7- Tomlin, C.D.S.(1998) .Aword compendium .The pesticide manual Eleventh Edition British, crop protection council .1998 .
- 8- Helmeezi , B ; Nagg ,M ; Katail , J. and bessengei , M .(1984 ) . Effect of Herbicides combinations containing ethal faralin on the soil micro- flora and the N-fixing capacity of Azotobacter. Soil Biology and concervation of the Bio- pere, 1:239- 250 Budapest , Hungary .
- 9- Milosevic ,N.;Govedarica , M.and Konstantinovic , B(2000 ) . Uticaj herbic-idana nodulaciju soje microbiological aktivnost zemljista .Sestikongres korovima ,zabonik radova , Banja Koviljaca . 455- 46.
- 10-Jones ,S.E ;Jones ,A.I.I and Johnson , D.B.(1992 )Effects of differential pesticides inputs on the size and composition of soil microbial biomass :results from the Box worth and SCARAB projects.Symp-osiumon Environmental Aspects of pesticide microbiology.Siguna. Sweden , 17-21 . August .In press .
- 11 - Rana , A., shams Tabrez Khan and Masood Ahmad . (1998 ) . In biofertil-lizer and biopesticide .Ed :by A .M. Dehmukh ,Tech ci.publis India P: 145 – 149 .

تأثير مستويات مختلفة من خليط مبيدات الأذغال في نمو وأعداد خلايا بكتريا الازوتوباكتر تحت مدد حضانة مختلفة

١٢ - سهيل ، فارس محمد وفهمي ، علاء حسن (٢٠٠٩) . تحديد أدنى تركيز مثبط من المبيدات الكيميائية في أعداد بكتريا الازوتوباكتر تحت مدد حضانة مختلفة. المؤتمر العلمي الأول لكلية الزراعة - جامعة ديالى . ١٥ - ١٦ / ٣ / ٢٠٠٩ .

١٣ - الشرايبي ، نجم الدين وهابيل ، منير والبلخي ، مصطفى (٢٠٠٤) . الإحياء الدقيقة . منشورات جامعة دمشق . كلية الزراعة .

14-Milosevic, N ; Govedarica , M.(2002 ).Effect of herbicides on microbiological Properties of soil.Natural Sciences maticasrpska Novi sad .No.102, 5-12.

15- Nastasija ,B ; Cacic , A .and Milic , M .( 2002 ). Effects of pesticides on A.chroococcum. Natural Sciences, Matica Srpska Novi sad ,No.102 23- 28 .

16- السلمان ، توفيق بشير محمد (١٩٩٩) . دور المبيدات العشبية في نمو وفعالية بكتريا الازوتوباكتر وأثرها في نمو الحنطة. رسالة ماجستير. كلية الزراعة والغابات - جامعة الموصل .

١٧- ألغزي ، اسعد كاظم عبدا لله (٢٠٠٦) . تأثير مبيد الرونستار في نمو بكتريا الازوتوباكتر رسالة ماجستير. كلية الزراعة - جامعة بغداد .

18- Anderson .W.P.(ed ).(1983).Weed science principles.West Publishing company st . paul. New York . Los angles. San Francisco .

١٩- الخفاجي ، زهرة محمود (١٩٨٧) . الفعاليات الحيوية للبكتريا . دار الكتب للطباعة والنشر . جامعة الموصل .

٢٠- الكسندر ، مارتن (١٩٨٢) . مقدمة في ميكروبيولوجيا التربة. الطبعة الثانية. جون وأيلي وأولاده نيويورك .

21- El- Zawahry ,Y.A.(1976 ).Studies on the effect of gamma radiation on growth and activity of Rizobium Legumiosarm . Ph . D. Thesis University of Cario .

22- Atlas, R.M. (1995 ). Principles of Microbiology , ١st ed . mosby -Year Book .Inc.

تأثير مستويات مختلفة من خليط مبيدات الأذغال في نمو وأعداد خلايا بكتريا الازوتوباكتر تحت مدد حضن مختلفة

- 23- Drozed, J. W ;Tubb, R .S and Postgate , J.R.(1972 ). Achemostate study of the effect of fixed nitrogen sources on nitrogen fixation,membranes and free amino aminoacid in *A. chroococcum* .J. Gen.Microbil ,73 : 221-222 .
- 24-Kole , R .K.Saha ,J.Pal ,S.Chandhur,S. and Chowdhury,A.(1994) .Bacterial degradation of the herbicide pendimethalin and activity evaluation of its metabolites Bulletin of Environmental contamination and toxicology , 53 (5 ):779-786.
- 25- Burns, R.G. (1995 ). Enumeration , Survival , and Benficial activities of microorganisms introduced into soil . in: Environmental Impact of soil component interaction, metales ,ther inorganics and,microbial activities (eds Huang. P.M.Berthlin , J ,Bollage J.M, Mcgill, W.B, page A.L.) 145- 164. CRC Press .Inc
- 26- Gordon ,J.k.; shah,V.K.and Brill ,W.J. (1981 ).Feed back inhibition of nitrogennase .J.J.Bacteriol .148: 884-888 .
- 27- Rai ,S.N.and Gaur ,A.C. (1988). Characterization of *Azotobacter* Spp.and effect of *Azotobacter* and *Azospirillum* asinoculant on the Yield and N-up take of wheat crop . plant and soil. 109 : 131-134 .

جدول ( ١ ) : المعاملات التي عزلت منها الازوتوباكتر وأرقام العزلات .

رقم العزلة	المعاملات التي عزلت منها البكتريا	رقم العينة
I <sub>1</sub>	خا يبط المبيدات + ٥٠%*	.١
I <sub>2</sub>	<i>A.chroococcum</i> +NPK	.٢
I <sub>3</sub>		.٣
I <sub>4</sub>	بدون خليط المبيدات + ٥٠%	.٤
I <sub>5</sub>	<i>A.chroococcum</i> + NPK	.٥
I <sub>6</sub>		.٦
I <sub>7</sub>	خليط المبيدات + ١٠٠% + NPK	.٧
I <sub>8</sub>	<i>A.chroococcum</i>	.٨

تأثير مستويات مختلفة من خليط مبيدات الأذغال في نمو وأعداد خلايا بكتريا الازوتوباكتر تحت مدد حضن مختلفة

I <sub>9</sub>		.9
I <sub>10</sub>	بدون خليط المبيدات +100% NPK <i>A.chroococcum</i>	.10
I <sub>11</sub>		.11
I <sub>12</sub>		

\* 50% من التوصية السمادية البالغة : (الداب 112 و K<sub>2</sub>So<sub>4</sub> 120 واليوربا 200) كغم. هكتار-1

جدول ( ٢ ) : مستويات خليط مبيدات الأذغال المستعملة في التجربة .

التراكيز المستعملة (ppm مادة فعالة)				نوع المبيد
C <sub>4</sub>	* C <sub>3</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	
300	150	75	000	توبك
100	50	25	000	لوكران

\* التركيز الموصى به حقليا .

جدول (٥): تأثير إضافة تراكيز مختلفة من خليط المبيدات الكيميائية (توبك + لوكران) في نمو خلايا الازوتوباكتر المعزولة من المعاملات المضاف لها 100% من الـ ( NPK )

٢١ يوم				١٤ يوم				١٠ أيام				٧ أيام				٣ أيام				رقم العزلة
C <sub>4</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	
-	+	+	+	+	+	++	++	-	+	+	+++	-	-	+	+++	-	-	-	++	I <sub>7</sub>
-	+	++	+	+	+	++	++	-	+	+	+++	-	-	+	+++	-	-	-	++	I <sub>8</sub>
-	-	+	+	+	+	++	++	+	+	++	+++	-	-	+	+++	-	-	-	++	I <sub>9</sub>
-	+	+	+	-	+	+	++	-	+	+	+++	-	-	+	+++	-	-	-	++	I <sub>10</sub>
-	-	+	+	-	-	+	++	-	-	+	+++	-	-	+	+++	-	-	-	++	I <sub>11</sub>
-	-	-	+	-	-	+	++	-	-	+	++	-	-		++	-	-	-	+	I <sub>12</sub>

$$\text{ppm } 25 + 75 = C2$$

$$C1 = \text{صفر}$$

$$\text{ppm } 100 + 300 = C4$$

$$\text{ppm } 50 + 150 = C3$$

تأثير مستويات مختلفة من خليط مبيدات الأذغال في نمو وأعداد خلايا بكتريا الازوتوباكتر تحت مدد حضن مختلفة

\_ عدم وجود نمو + نمو ضعيف ++ نمو متوسط +++ نمو جيد

جدول ( ٦ ) : تأثير إضافة تراكيز مختلفة من خليط المبيدات الكيميائية (توبك + لوكران) في أعداد خلايا الازوتوباكتر ( ١٠٤ \* CFU

(المعزولة من المعاملات المضاف لها ١٠٠% من الـ ( NPK ) .

رقم العزلة	٣ أيام				٧ أيام				١٠ أيام				١٤ يوم				٢١ يوم			
	C <sub>4</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>
I <sub>7</sub>	٠	٠	٢.٥	١٩	٠	٠	٢.٥	٣٢.٥	٠	٤.٥	٥.٠	٢٢.٥	٠	٤.٥	٥.٠	١٧.٠	٢.٥	٩.٥	٧.٠	١٤.٠
I <sub>8</sub>	٠	٠	٢.٠	٢٥	٠	٠	٢.٠	٢٧.٥	٠	٩.٥	٥.٠	٢٧.٥	٠	٩.٥	٥.٠	١٤.٠	١٠.٥	١٠.٥	٩.٥	١١.٥
I <sub>9</sub>	٠	٠	٤.٠	٢٧.٥	٠	٠	٤.٠	٢٧.٥	٠	٧.٠	١٥.٥	٤١.٥	٠	٧.٠	١٥.٥	١٤.٥	٧.٥	١٠.٥	٧.٥	١٣.٠
المعدل	٠	٠.٥	٢.٨٣	٢٣.٨	٠	٠.٦٦	٢.٨٣	٢٣.٨	٠	٧.٠	٨.٥	٣٧.١	٠	٧.٠	٨.٥	١٥.١	٦.٨٣	١٠.١	٨.٠	١٢.٨
I <sub>10</sub>	٠	٠	٣.٥	٢٠	٠	٠	٣.٥	٣٠.٠	٠	٤.٠	٨.٥	٣٠.٠	٠	٤.٠	٨.٥	١٥.٠	٠	٨.٥	١١.٠	١١.٠
I <sub>11</sub>	٠	٠	٤.٥	١٩.٥	٠	٠	٤.٥	٢٢.٥	٠	٠	٥.٥	٢٢.٥	٠	٠	٥.٥	١٤.٥	٠	٠	١٢.٠	١٢.٠
I <sub>12</sub>	٠	٠	٠	١٣.٥	٠	٠	٠	٢٨.٥	٠	٠	٣.٠	٢٨.٥	٠	٠	٣.٠	١٢.٠	٠	٠	١٠	١١.٠
المعدل	٠	٠	٢.٦٦	١٧.٦	٠	٠	٢.٦٦	١٧.٦	٠	١.٣٣	٥.٦٦	٢٧.٠	٠	١.٣٣	٥.٦٦	١٣.٨	٠	٢.٨٣	٦.٥	١١.٠

L.S.D (0.05)

I (العزلة) = ٠.٣٥٥  
D (الأيام) = ٠.٣٢٤  
C (التركيز) = ٠.٢٩  
العزلة × التركيز = ٤.٥٩٧  
العزلة × الأيام = ٨.٤٩٥  
الأيام × التركيز = ٢.٥٣٦

تأثير مستويات مختلفة من خليط مبيدات الأذغال في نمو وأعداد خلايا بكتريا الازوتوباكتر تحت مدد حضن مختلفة

لخليط المبيدات في أعداد خلايا جميع العزلات. MIC جدول ( ٧ ) : يبين الـ

رقم العزلة	٣ أيام	٧ أيام	١٠ أيام	١٤ يوم	٢١ يوم
I <sub>1</sub> I <sub>2</sub> I <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	—	—	—	—
I <sub>7</sub> I <sub>8</sub> I <sub>9</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	—	—	C <sub>4</sub>
I <sub>4</sub> I <sub>5</sub> I <sub>6</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>4</sub>
I <sub>10</sub> I <sub>11</sub> I <sub>12</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>4</sub>