تأثير مستويات مختلفة من خليط مبيدات الأدغال 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 الأدغال (تويك + لوكران) (75 +25، 150 +50، 300 +100) ppm وبثلاث مكررات . وحضنت لخمس مدد حضن (3 ، 7 ، 10 ، 14 ، 21) يوما لتحديد اقل تركيز مثبط الـ (MIC) في نمو وأعداد خلايا الـ (12) عزلة من A. Chroococcumالمعزولة من تربة رايزوسفير 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) يوما ، بينما العزلات (I4 , I5 , I6) المأخوذة من المعاملات غير المعاملة بخليط المبيدات لم تسجل نموا 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) يوما . وبهذا يمكن عد العزلات (I1 , I2, I3) عزلات محلية أكثر تحملا لخليط المبيدات مقارنة بالعزلات (I4 , I5 , I6) علما إن 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 و7) أيام والتركيز الرابع لمدة الحضن (21) يوما، وأظهرت أكثر تحملا عند جميع التراكيز لمدة الحضن (10 و 14) يوما ، بينما العزلات (I10 , I11

, I12) والمأخوذة من المعاملات غير المعاملة بخليط المبيدات ، لم تسجل نموا وأعدادا عندمـــدة الحضن(3) أيام ، إذ إن الـ(MIC) لها هو التركيز الثاني وكان الـ (MIC) لها هو التركيز الثالث عند مدة الحضن (7) أيام والتركيز الرابع عند مدة الحضن (10 ، 14 ، 21) يومـــا. وان جميع العزلات الستة عزلت من المعاملات التي أضيف لها (100 %) من التوصية السمادية .إن العزلات (I1, I2 ,I3)المأخوذة من المعاملات المعاملة بخليط المبيدات مع إضافة(50 %) من التوصية السمادية أظهرت أكثر تحملا من العزلات (I7 , I8 , I9) المأخوذة من المعاملات التي عوملت بخليط المبيدات مع إضافة (100 %) من التوصية السمادية .

تأثير مستويات مختلفة من خليط مبيدات الأدغال 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_1,I_2 ,I_3) which were taken from treatments of mixed pesticide considered as resistant local isolations to mixed pesticide compared with the isolations (I_4, I_5 , I_6) which were taken from untreated treatment with mixed pesticide .So the (MIC) of (I_1 ,I_2 and I_3) isolation is (C_4) for (3) days incubation and growth in all concentration for the period of incubation (7 ,10 , 14 and 21) days , while the isolation (I_4 , I_5 and I_6) was not recorded growth and numbers with (3) days incubation the (MIC) in (C_4) for the incubation period (7 , 10 , 14 and 21) days . The results also showed that the isolation (I_7 ,I_8 and I_9) which were taken from treatments of pesticide mixture addition as considered resistant local isolation for mixture of pesticide compared with isolation (I_{10} , I_{11} and I_{12}) .

1.المقدمة

يعد جنس الازوتوباكتر من أجناس البكتريا حرة المعيشة وذات مقدرة على تثبيت النتروجين الجوي (ألزغبي وآخرون ، 2007) 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،2002) ، كما أنها تفرز الكثير من المضادات الفطرية للحماية من المسببات المرضية (الحداد ،1998) . ان استعمال هذه البكتريا كسماد حيوي هو ضرورة للتخفيف من مشاكل تلوث البيئة التي تسببها الأسمدة الكيميائية (Hammad,1998) وللمساهمة في تخصيب التربة حيويا. تعد إضافة المبيدات الكيميائية بهدف الحد من انتشار الأدغال ومقاومة المسببات المرضية احد طرائق المكافحة والمقاومة في حقول المحاصيل الحقلية والبستنية ، إلا ان الاستعمالات المفرطة لهذه المبيدات ذات تأثيرات سلبية في صحة الإنسان وظهور مشكلة التلوث البيئي (Michaelidou وآخرون 2000)، فضلا على تأثيراتها السلبية في الكتلة الإحيائية في التربة ، وممكن ان 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 الأدغال التوبك (Topic 100 Ec) واللوكران ((Logran extra 64 WG من المبيدات الجهازية المستعملة في حقول الحنطة لمكافحة الأدغال رفيعة وعريضة الأوراق على التوالي والتي ترش بعد بزوغ الأدغال ، إذ يتم امتصاصها من خلال الأوراق والجذور ، تضاف بمعدل (600) سم3.هكتار−1 و (250) غم.هكتار−1 على التوالي ,(Tomlin, 1998). الازوتوباكتر من المخصبات الحيوية واسعة الانتشار في الطبيعة ووفرتها تحددها عوامل عديدة منها المبيدات بأنواعها المختلفة (Helmeezi وآخرون ,1984) ، وتعد هذه البكتريا من الأنواع الحساسة بشكل كبير لإضافة مبيدات الأدغال (Milosevic وآخرون, 2000) .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 كلقاحات 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 1992) . يهدف البحث دراسة تأثير مستويات مختلفة من خليط مبيدات الأدغال (التو بك + اللوكران) في نمو وأعداد عزلات مختلفة من A.chroococcum لتحديد أدنى تركيز مثبط MIC لنمو البكتريا .

2.المواد وطرائق العمل

جمعت (12) عينة من منطقة رايزوسفير(المنطقة التي تقع تحت تأثير جذور النباتات فهي تشمل المنطقة الملاصقة لأسطح الجذر والتربة الملاصقة تماما) جذور نباتات القمح الملقحة 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 (12) عزلة من بكتريا (A.chroococcum). جدول(1) 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) لتحديد اقل تركيز مثبط (MIC) لنمو وأعداد خلايا البكتريا (Rana وآخرون ،1998 ، وسهيل وفهمي ،2009) . تم تحضير بيئة المانيتول . أكار الخالية من

النتروجين وأضيف لها المبيدات التي تم تعقيمها باستعمال المرشح البكتيري (Seitz filter) قبل تصلبها وبأربعة تراكيز (C1 , C2, C3 ,C4) مستعملين التركيز الموصى به ومستويين يمثلان التركيز الواطئ والعالي إضافة لمعاملة المقارنة (بدون مبيد) ، كما في الجدول (2) .باستعمال الناقل تم تخطيط الأطباق وبثلاثة مكررات لكل تركيز ولكل عزلة، حضنت الأطباق على درجة حرارة (28 مo) ولمدد حضن (3 و7 و10 و14 و21) يوما . سجل نمو العزلات البكتيرية خلال مدد الحضن . ولعد الخلايا البكتيرية حضرت مزرعة سائلة من كل عزلة ، إذ تم تنميتها في بيئة المانتول السائلة الخالية من النتروجين ، بعد أسبوع من الحضن تم إجراء التخافيف المتسلسلة . تم تحضير بيئة المانتول . أكار وأضيف لها المبيدات (كما في التجربة الأولى) ، لقحت الأطباق بإضافة (1) مل من المزرعة السائلة لكل عزلة ، حضنت الأطباق على درجة حرارة (28 مo) ولنفس مدد الحضن السابقة . عدت المستعمرات النامية لكل عزلة بكتيرية في الأطباق خلال مدد الحضن ، وكانت معاملات التجربتين كلاتي :

12 عزلة × 4 تراكيز × 3 مكررات = 144 وحدة تجريبية لكل مدة حضن .

3.النتائج والمناقشة

يبين الجدولان (3 و 4) حالة نمو وأعداد الخلايا البكتيرية للعزلات(I3, I2, I1) المأخوذة من منطقة رايزوسفير جذور نباتات القمح في تربة معاملة بخليط المبيدات الكيميائية (توبك + لوكران) وللعزلات (I6, I5, I4) المأخوذة من رايزوسفير جذور نباتات القمح في تربة غير معاملة بخليط المبيدات الكيميائية وفي حالة إضافة (50%) من المغذيات الكبرى (NPK). أوضحت النتائج ان متوسط نمو وأعداد الخلايا البكتيرية للعزلات(I3, I2, I1) سجل زيادة معنوية مقارنة بمتوسط نمو وأعداد الخلايا البكتيرية للعزلات (I6, I5, I4) وبصرف النظر عن تراكيز المبيدات الكيميائية المستعملة ومدد الحضن. إن حالة النمو وأعداد الخلايا البكتيرية للعزلات (I3, I2, I1) و (I6, I5, I4) وعند المعاملة التي لم تستلم المبيدات الكيميائية (التركيز صفر) سجلت أعلى نموا" وأعدادا" عند مدة الحضن (10) أيام وان هناك زيادة معنوية في الأعداد من اليوم (3–10) أيام ثم انخفضت الأعداد البكتيرية انخفاضا" معنويا" عند مدة الحضن (14و21) 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 (7و10) أيام. ان ازدياد النمو وأعداد الخلايا

البكتيرية من اليوم (3–10) 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"(ألشرابي وآخرون ،2004) . إن زيادة تركيز المبيدات الكيميائية من (صفر) إلى التركيز الثاني والثالث عند مدة الحضن (3) 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 الأدغال المضافة وإضافتها بكميات عالية تؤدي إلى قتل أحياء التربة .

عند مدد الحضن (7 ، 10 ، 14 ، 21) 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 (14) يوما" وانخفضت الأعداد معنويا" عند مدة الحضن (21) . ان العزلة (I3) كانت متفوقة في نموها وأعدادها عن العزلتين (I2, I1) اللتين توقف نموهما عند التركيز الرابع عند مدة الحضن (7 ، 21) يوما.

ان نمو العزلات (I3, I2, I1) في جميع التراكيز وعند مدد الحضن أعلاه يعطي مؤشرا" واضحا" بان هذه العزلات والمأخوذة من منطقة رايزوسفير 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 (التو بك+اللوكران). ان دراسة Nastasija وآخرون ،(2002) أظهرت ان عزلات مختلفة من بكتريا الازوتوباكتر لها المقدرة في النمو عند جميع التراكيز المضافة من مبيدي الأدغال (Pytamin ; RO-Neet).

إما العزلات (I6, I5, I4) فان متوسط نموها وأعدادها ازداد زيادة غير معنوية عند التركيز الثاني والثالث وسجلت أعلى قيمة لها عند مدة الحضن (14) يوما" وانخفضت أعدادها بشكل غير معنوي عند المدة (21) يوما" 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 نموا" وإعدادا" 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 السلمان (1999) إلى ان إضافة مبيدات التو بك واللوكران و 2-4-D وبتراكيز مختلفة إلى البيئات الصناعية الصلبة لأربع عزلات بكتيرية من (A.chroococcum) أظهرت العزلات اختلافا" معنويا" في استجابتها للمبيدات .

ان انخفاض نمو وأعداد خلايا الازوتوباكتر في البيئات الصناعية الصلبة بزيادة مستويات المبيدات أيضا" ذكرها Milosevic وآخرون ، (2000) وألغزي ، (2006) وأشار سهيل وفهمي ،(2009) إلى ان زيادة تراكيز مبيد الأدغال جراوند أب من التركيز (صفر Co) إلى التراكيز (5 ، 10 ، 20)مل .لتر−1 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 (3) أيام وزيادته بزيادة مدد الحضن إلى (14) يوما" يمكن إن يعزى إلى مرور البكتريا في طور السكون (lag phase) أي تتكيف وتتطبع على الظروف الطارئة (إضافة المبيد) عند المدة (3) 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 (3) أيام وبعد تلك المدة يحصل تأقلم لنمو البكتريا إذ إن الخلايا تتكيف مع الوسط الجديد حيث يلزمها بعض الوقت لتتعود على البيئة الجديدة وقيامها ببناء أنزيمات جديدة يمكنها من الاستفادة من مكونات الوسط الجديد (ألشرابي وآخرون ،2004) ، فنلاحظ زيادة في النمو ،إذ ان الأنزيمات متوفرة وبكامل نشاطها (الخفاجي،1987) ، أي ان البكتريا تبدأ بتحطيم جزيئات المركب (خليط المبيدات) وتقليل درجة سميته واستعماله مصدرا" للغذاء والطاقة مما يفسر زيادة النمو والأعداد إلى (14) يوما" .

أما انخفاض أعداد البكتريا بل انعدامها لبعض العزلات عند مدة الحضن (21) يوما" قد يعزى ذلك إلى إن البكتريا مرت بطور الضعف أو الموت ، إذ يبدأ عدد الخلايا الميتة يفوق عدد الخلايا الحية نتيجة لنفاذ العناصر الغذائية الناتجة من تحلل المبيدات وتراكم الفضلات لذا يصبح الوسط غير ملائم وعندها يتوقف النمو(ألشرابي وآخرون،2004) ،

أو يعتقد بان البكتريا استطاعت تحويل المبيدات إلى نواتج سامة للنوع نفسه من الأحياء التي تؤثر في المركب الأصلي (الكسندر،1982) . ان مقاومة البكتريا لمضاد معين قد يفسر إلى تغير في تسلسل القواعد النتروجينية للحامض 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 (5 و 6) حالة نمو وأعداد الخلايا البكتيرية للعزلات (I9, I8, I7) المأخوذة من منطقة رايزوسفير جذور نباتات القمح في تربة معاملة بخليط المبيدات الكيميائية (توبك + لوكران) والعزلات (I12, I11, I10) المأخوذة من رايزوسفير جذور نباتات القمح في تربة غير معاملة بخليط المبيدات وفي حالة إضافة (100%) من الـNPK . 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 (7 و10 و14) يوما"، وغير معنوي عند مدة الحضن (3 و21) 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 (3، 7، 10) وبلغ أعلى نمو وأعداد الخلايا عند (10) أيام ثم انخفضت الأعداد معنويا" عند (14و21) يوما"، إذ كانت اقل قيمة لها عند (21) 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 (7 و 10) أيام. إن زيادة نمو وأعداد الخلايا البكتيرية من اليوم (3–10) أيام عند التركيز (صفر) وانخفاضها بعد تلك المدة قد تعزى إلى إن حالة النمو والأعداد اتجهت طبقا" لمنحنى نمو البكتريا، إذ مرت بطور التطبع والتكيفlag phase الذي تكون سرعة النمو فيه صفرا" 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 .(ألشرابي وآخرون،2004) . إن زيادة تركيز خليط المبيدات من (صفر) إلى التركيز الرابع وعند المدة (3) أيام سببت توقف النمو للعزلات (I9, I8, I7) فيما عدا العزلة (I9) أظهرت نموا" ضعيفا" عند التركيز الثاني . أي إن الـ(MIC) لهذه العزلات هو التركيز الثالث ، إذ أنها لم تسجل أي نمو عند هذا التركيز وهذا يعطي مؤشرا" إلى إن العزلات الثلاثة أعلاه (I9, I8, I7) قد انخفضت مقاومتها للمبيدات بسبب إضافة 100% من السماد الكيميائي في التربة. إذ إن للأسمدة النتروجينية وخاصة اليوريا والامونيا تأثيرا" مثبطا" ليس لأنزيم النتروجينيز فقط بل لأنظمة أنزيمية أخرى قد تكون مسؤولة عن النمو (Drozd وآخرون ،1972) أما العزلات (I12, I11, I10) فقد فشلت في إعطاء أي نمو في جميع التراكيز . عند مدد الحضن (7و10و14و21) يوما" وعند التركيز الثاني والثالث فان العزلات (I9, I8, I7) زاد متوسط نموها وأعدادها بزيادة مدد الحضن وسجلت أعلى قيمة لها عند (14) يوما" إذ كانت الزيادة معنوية. بينما سجلت نموا" وأعدادا" عند التركيز الرابع وعند (10و14) يوما" فقط وانخفضت الأعداد معنويا"عند (21) يوما" ولجميع التراكيز .وهذا يعني إن العزلات(I9, I8,I7) قد دخلت في طور السكون عند التركيز الرابع وللمدة من (3-7) أيام وبعد تلك المدة حصل تأقلم فبدأت بالنمو وبلغت أعدادها (2.33 و 6.83) *104 cfu .مل-1 عند المدة (10 و 14) يوما" على التوالي، مما يشير إلى إن البكتريا بدأت بتحليل خليط المبيدات عند تلك المدة. لقد ذكر Kole وآخرون ،(1994) بأن مبيد الأدغال pendimethalin قد تحلل بفعالية من قبل بكتريا الازوتوباكتر بنسبة (45%) بعد (10) أيام و(55%) بعد (20) يوما". إن نمو هذه العزلات في جميع التراكيز عند مدد الحضن (10و 14) يوما" يعطي مؤشرا" واضحا" بأنها أكثر تحملا" لخليط المبيدات الكيميائية وان الـ MIC لها هو التركيز الرابع عند مدة الحضن (7 و21) يوما .

أما العزلات (I12, I11, I10) فقد سجلت نموا" وأعدادا" تراوحت بين (3.5-4.5) *104 cfu .مل-1 عند التركيز الثاني فقط ولمدة الحضن (7) أيام أي إن الـ (MIC) لها هو التركيز الثالث. والـ(MIC) لهذه العزلات هو التركيز الرابع عند مدة الحضن (10 ، 14 ، 21) يوما" إذ إنها لم تسجل نمو وأعداد عند هذا التركيز ولقد لاحظنا إن العزلة (10) هي فقط سجلت نموا" وأعدادا" عند التركيز الثالث ولمدد الحضن (10 ، 14 ، 21) يوما"، مما يشير إلى إن هذه العزلة هي أكثر تحملا" من بين العزلات الثلاثة وان الـ (MIC) لها هو التركيز الرابع ، بينما نجد العزلتين (I12,

I11) كان الـ(MIC) لها هو التركيز الثالث ، إذ إن هناك تباينا واضحا بين العزلات في مقدرتها على تحمل التراكيز العالية من المبيدات . إن معدل تحلل مبيدات الأدغال يعتمد على العزلات البكتيرية المستعملة بالتلقيح (Burns,1995). من الجدول (7) يتبين بان العزلات (I3, I2, I1) أعطت نموا" وأعدادا" أعلى من العزلات (I9, I8, I7) إذ إن الـ (MIC) للعزلات (I3, I2, I1) هو التركيز الرابع عند مدة الحضن (3) أيام و وأظهرت تحملا" عند جميع التراكيز عند مدة الحضن (7 ، 10 ، 14 ، 21) يوما"، إما العزلات (I9, I8, I7) فكان الـ (MIC) لها هو التركيز الثالث عند مدة الحضن (3) أيام و الـ (MIC) كان التركيز الرابع عند مدة الحضن (7 و 21) يوما" و وأظهرت تحملا" عند جميع التراكيزعند مدة الحضن (10، 14) يوما" 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 (100%) من التوصية السمادية وهذا قد اثر في نموها وأعدادها عندما أضيف لها خليط المبيدات في البيئات الصناعية الصلبة . إذ أشار Gordon وآخرون ، (1981) 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 (7) أيضا ان الـ (MIC) للعزلات (I6, I5 , I4) والعزلات (I10 , I11 , I12) كان متشابها لجميع مدد الحضن ماعدا مدة الحضن (7) أيام إذ كان الـ(MIC) للعزلات (I6 , I5 , I4)هو التركيز الرابع، بينما للعزلات (I10 , I11 , I12) هو التركيز الثالث . علما إن جميع هذه العزلات الست عزلت من المعاملات التي لم يضف لها خليط المبيدات الكيميائية.

4.الاستنتاجات

العزلات التي أخذت من المعاملات التي عملت بخليط المبيدات الكيميائية وبإضافة (50 %) 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 (50 %) من السماد الكيميائي ثبط 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 (50 %) من السماد الكيميائي أظهرت تفوقا في نموها وأعدادها مقارنة بالعزلات التي أخذت من المعاملات التي أضيف لها (100 %) من السماد الكيميائي .

5.المصـادر

1- ألزغبي ، محمد منهل والضمان ، فاطمة وكريدي ، نبيلة وارسلان ، اواديس (2007) . عزل البكتريا الازوتوباكتر من بعض الترب السورية واختبار فعاليتها في تثبيت الازوت الجوي في التربة. مجلة باسل الأسد للعلوم الهندسية . العدد 0 37) .

2- Abbas, Z. and okon, Y. (1993). Plant growth promotion by Azotobacter Paspail in the rhizosphere. Soil Biol. Biochem .25: 1075- 1083.

3- السامرائي ، إسماعيل خليل (2002) .دور الأسمدة الحيوية في معالجة نقص الحديد في نبات الحنطة،مجلة الزراعة العراقية .مجلد (8) . عدد (2) .

4- الحداد ، محمد السيد مصطفى (1998). 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, 15-16 /5/1998.

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 genotoxity 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.l.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 .

12 – سهيل ، فارس محمد وفهمي ، علاء حسن (2009). تحديد أدنى تركيز مثبط من المبيدات الكيميائية في أعداد بكتريا الازوتوباكتر تحت مدد حضن مختلفة. المؤتمر العلمي الأول لكلية الزراعة – جامعة ديالى . 15 /3/ 16 / 2009 .

13– ألشرابي ، نجم الدين وهابيل ،منير والبلخي ،مصطفى (2004) . الإحياء الدقيقة .منشورات جامعة دمشق . كلية الزراعة .

14-Milosevic, N ; Govedarica , M.(2002).Effect of herbicides on microbiolog- ical 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 (1999). دور المبيدات العشبية في نمو وفعالية بكتريا الازوتوباكتر وأثرها في نمو الحنطة. رسالة ماجستير. كلية الزراعة والغابات- جامعة الموصل .

17- ألغزي ، اسعد كاظم عبدا لله (2006). 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 .

19- الخفاجي ، زهرة محمود (1987). الفعاليات الحيوية للبكتريا . دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل .

20- الكسندر ، مارتن(1982).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 , 1st ed . mosby –Year Book .Inc.

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 (1) : المعاملات التي عزلت منها الازوتوباكتر وأرقام العزلات .

رقم العينة	المعاملات التي عزلت منها البكتريا	رقم العزلة
.1	خليط المبيدات+50%* *A.chroococcum*+NPK	I_1
.2		I_2
.3		I_3
.4	بدون خليط المبيدات +50 % *A.chroococcum*+ NPK	I_4
.5		I_5
.6		I_6
.7	خليط المبيدات +100 % NPK + *A.chroococcum*	I_7
.8		I_8
.9		I_9
.10	بدون خليط المبيدات+100% NPK+ *A.chroococcum*	I_{10}
.11		I_{11}
		I_{12}

*50% من التوصية السمادية البالغة : (الداب 112 و K2So4 120 واليوريا 200) كغم .هكتار-1

جدول (2) : مستويات خليط مبيدات الأدغال المستعملة في التجربة .

نوع المبيد	التراكيز المستعملة (ppm مادة فعالة)			
	C_1	C_2	* C_3	C_4
توبك	0.00	75	150	300
لوكران	0.00	25	50	100

* التركيز الموصى به حقليا .

جدول (5): تأثير إضافة تراكيز مختلفة من خليط المبيدات الكيميائية (توبك + لوكران) في نمو خلايا الازوتوباكتر المعزولة من المعاملات المضاف لها 100 %من الـ (NPK)

رقم العزلة	3 أيام				7 أيام				10 أيام				14 يوم				21 يوم			
	C_1	C_2	C_3	C_4	C_1	C_2	C_3	C_4	C_1	C_2	C_3	C_4	C_1	C_2	C_3	C_4	C_1	C_2	C_3	C_4
I_7	++	_	_	_	+++	+	−	_	+++	+	+	−	++	++	+	+	+	+	+	_
I_8	++	_	_	_	+++	+	−	_	+++	+	+	−	++	++	+	+	+	++	+	_
I_9	++	−	_	_	+++	+	−	_	+++	++	+	+	++	++	+	+	+	+	−	_
I_{10}	++	_	_	_	+++	+	_	_	+++	+	+	_	++	+	+	_	+	+	+	_
I_{11}	++	_	_	_	+++	+	_	_	+++	+	_	_	++	+	_	_	+	+	−	_
I_{12}	+	_	_	_	++	_	_	_	++	+	_	_	++	+	_	_	−	−	_	_

C1= صفر ppm 25 + 75 = C2

ppm 50 + 150 = C3 ppm 100+ 300 = C4

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

جدول (6) : تأثير إضافة تراكيز مختلفة من خليط المبيدات الكيميائية (توبك + لوكران) في أعداد خلايا الازوتوباكتر (CFU* 104)المعزولة من المعاملات المضاف لها 100%من الـ (NPK) .

رقم العزلة	3 أيام				7 أيام				10 أيام				14 يوم				21 يوم			
	C_1	C_2	C_3	C_4	C_1	C_2	C_3	C_4	C_1	C_2	C_3	C_4	C_1	C_2	C_3	C_4	C_1	C_2	C_3	C_4
I_7	12.5	0	0	0	19	2.5	0	0	32.5	5.0	4.5	0	17.0	15.5	9.5	2.5	14.0	7.0	2.5	0

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

0	9.0	9.5	11.5	10.5	10.5	13.0	14.0	1.5	9.5	5.0	27.5	0	0	2.0	25	0	0	0	16	I_8
0	1.5	7.5	13.0	7.5	10.5	16.5	14.5	5.5	7.0	15.5	41.5	0	2.0	4.0	27.5	0	0	1.5	18.5	I_9
0	4.33	8.0	12.83	6.83	10.16	15.0	15.16	2.33	7.0	8.5	37.16	0	0.66	2.83	23.83	0	0	0.5	15.6	المعدل
0	4.5	11.5	11.0	0	8.5	13.0	15.0	0	4.0	8.5	30.0	0	0	3.5	20	0	0	0	16.5	I_{10}
0	0	8.0	12.0	0	0	9.0	14.5	0	0	5.5	22.5	0	0	4.5	19.5	0	0	0	15.0	I_{11}
0	0	0	10	0	0	9.0	12.0	0	0	3.0	28.5	0	0	0	13.5	0	0	0	9.0	I_{12}
0	0	6.5	11.0	0	2.83	10.33	13.83	0	1.33	5.66	27.0	0	0	2.66	17.66	0	0	0	13.5	المعدل

L.S.D (0.05)

I (العزلة) = 0.355	العزلة × التركيز = 4.597
D (الأيام) = 0.324	العزلة × الأيام = 8.495
C (التركيز) = 0.29	الأيام × التركيز = 2.536

جدول (7) : يبين الـMIC. لخليط المبيدات في أعداد خلايا جميع العزلات

رقم العزلة	3 أيام	7 أيام	10 أيام	14 يوم	21 يوم
I_1 I_2 I_3	C_4	-	-	-	-
I_7 I_8	C_3	C_4	-	-	C_4

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

					I_9
C_4	C_4	C_4	C_4	C_2	I_4 I_5 I_6
C_4	C_4	C_4	C_3	C_2	I_{10} I_{11} I_{12}