مجلة علوم البحار والتقنيات البيئية
المجلد (1)، العدد (2) (ديسيمبر-2015)

ISSN: 2413-5267

تأثير بعض المبيدات المتداولة على حيوية بكتيريا العقد الجذرية تحت ظروف البيئة المحلية وادي الشاطئ، ليبيا

محمد علي السعيدي[1]، هالة يوسف محمد حسن[2]

[1]قسم علوم البيئة، كلية العلوم الهندسية والتقنية، جامعة سبها

[2]قسم العلوم العامة، كلية العلوم الهندسية والتقنية، جامعة سبها

Effect of Some Pesticides on Nitrogen Fixing Bacteria under *Wadi Alshatti* Conditions, Libya

Mohamed Ali Elssaidi[1], and Hala Youssef Mohamed[2]

[1]Environmental Science Department, Faculty of Engineering & Technology, Sebha University, Libya.
[2]General Science Department, Faculty of Engineering & Technology, Sebha University, Libya.

الملخص

استهدف هذا البحث إلقاء الضوء على تأثير بعض المبيدات المتداولة محليا علي أنواع من البكتيريا المثبتة للنيتروجين في التربة، وقد بينت النتائج ان أكثر أنواع البكتيريا حساسية للمبيدات هي بكتيريا الرايزوبيا *R. melolit* المعزولة من جذور نبات الحلبة. كما أوضحت اختلاف التأثيرات الناتجة عن استعمال المبيدات باختلاف نوع المبيد والتركيز المستخدم والتنوع الميكروبي في التربة. وبينت الدراسة انه ليست كل معدلات الاستعمال لها آثار ضارة وان للمبيدات تأثيرات طفيفة على المدى القصير وان المبيدات تتحلل إلى مركبات قد تحفز نمو البكتيريا أو تكون مثبطة له أذا ما حدث تراكم حيوي ولكنها قد تسبب تسمم مزمن على المدى البعيد.

الكلمات الاستدلالية: التلوث، المبيدات، البقوليات، العقد الجذرية، النيتروجين، الشاطئ، ليبيا.

Abstract

This research was conducted to throw light on the effect of some locally handled pesticides application on nitrogen-fixing bacteria in the rhizosphere, the results revealed that Rhizobium bacteria isolated from fenugreek, i.e., *R. melolit* was the most affected and sensitive species. Data also showed that the pesticide concentration, the type of pesticide, and bacterial species were affecting the rate of the effect. Not all the rates of pesticide application were effective, but in a short time, no harmful effects were observed. Degradation of pesticides produces new products that may induce or inhibit bacterial growth, Bioaccumulation, in a long time may lead to chronic toxicity.

Keywords: *Pollution, Pesticides, Legumes, Nitrogen, Alshatti, Libya.*

ISSN: 2413-5267

1. المقدمة

تسلك المبيدات في التربة عدة مسارات ويعتمد ذلك علي خواص التربة ونوع المبيد ووجود المادة العضوية في التربة فبعض المبيدات تتحلل في وجود الأشعة فوق البنفسجية والعوامل الحيوية وبذلك لا تؤثر علي التربة مع مراعاة الفترة اللازمة للتحلل وفترة التحريم و تبقي بعض المبيدات في التربة لفترة طويلة و تقاوم التحلل فتسبب أثار سلبية علي الأحياء المفيدة مثل البكتيريا المثبتة للنيتروجين. كما تتأثر ميكروبات التربة بدرجات مختلفة بالمبيدات حسب نوع المبيد وظروف التربة فبعض المبيدات لها تأثير منشط لميكروبات التربة ومنها ما وجد له تأثير مثبط واكثر العمليات الحيوية تأثرا من استعمال المبيدات هي عملية تثبيت النيتروجين تكافليا لما لطبيعة هذه الميكروبات من حساسية لتغير الظروف البيئية مقارنة بعمليات أخرى مثل النشدرة التي تقوم بها أنواع عديدة من الميكروبات بعضها حساسة او قليل الحساسية. وقد درست (Shin *et al.*, 1989) تأثير بعض مبيدات الأعشاب alachlor ، Linuron ، simazine على بكتيريا (Bradyrhizobium Japonicum) المعزولة من جذور نبات فول الصويا في الظروف المعملية. حيث حدث نقص شديد في أعداد البكتيريا عند التركيز 400 ملجم/لتر من المبيدات Alachlor ، Linuron بمقدار 27.4 % ، 57.8 % على التوالي بينما حدث تأثير بسيط في التركيز 200 ملجم/لتر من Parquat وكان تأثير Alachlor مختلف مع عزلات من البكتيريا العقدية بعضها كانت مقاومة للمبيد نسبيا ، وبعضها كانت أكثر حساسية بينما كانت بعضها مقاومة جدا في الجرعة الموصى بها. ودرس (Sandhu *et al.*, 1991) اثر رش مجموعة من مبيدات الأعشاب علي نبات العدس الملقحة وغير الملقحة ببكتيريا *Rhyzobium leguminosarum* وتأثيرها علي تكوين العقد الجذرية وتثبيت النيتروجين ، حيث أظهرت النتائج زيادة عدد العقد الجذرية والنيتروجين المثبت عاليا في النباتات غير المعاملة بينما حدث انخفاض شديد في النباتات المعاملة بمجوعة مبيدات Oxyfluorfen ، Linuron ، Metribuzin، Oxadiazon. كما درس (Gurcharan *et al.*, 1994) اثر المعاملات المستخدمة من مبيدات الأعشاب علي نشاط الكائنات الحية الدقيقة في التربة حيث استخدم مبيدي methabenzthazuron ، Linuron وقد أدت المعاملات إلى انخفاض أعداد البكتيريا والفطريات ونقص في أعداد العقد الجذرية ومستويات النيتروجين المثبت. ودرس (Digrak, and Kazanici, 2001) معاملة عينات من التربة بمجموعة من المبيدات الفسفورية الحشرية وهي مبيدات الايزوفينوفوس ، الفينوفوس ، الفورات ، وقد أظهرت نتائج الدراسة إن عدد البكتيريا في عينة التربة المعاملة بمبيد الايزوفينوفوس كان أكثر من عينة التربة غير المعاملة ، بينما اظهر مبيدي الفينوفوس و الفورات تأثير واضح على أعداد البكتيريا في عينات التربة المعاملة. فيما بين (Wackett, 2004) دور الإنزيمات التي تفرزها البكتيريا في تحلل مبيدات الأعشاب من مجموعة الترايزين ، أجريت الدراسة علي بكتيريا Pseudomonas حيث أظهرت النتائج أن تحلل المبيدات مجموعة الترايزين الى حمض سيانوريك يتم بواسطة ثلاثة أنواع من الإنزيمات التي تفرزها بكتيريا Pseudomonas وأن بعض من أنواع البكتيريا لها القدرة علي استخدام المبيدات كمصدر للطاقة. كما أوضح (المسلاتى، 2006) تأثير بعض مبيدات الحشائش علي

ISSN: 2413-5267

كائنات التربة غير المستهدفة وأظهر في دراسته إن المعاملة بمبيد اللنرون قد قلل من التعداد الكلي للبكتيريا بعد 3 أيام من المعاملة حيث قل تعداد بكتيريا الباسيلس لأقل من المعدل الطبيعي في التربة كما زاد التأثير في التربة بعد 14يوم من المعاملة . وحفز تعداد بكتيريا السيدوموناس علي الأعماق المختلفة .كما بينت الدراسة إن المعاملة بمبيد السنكور حفز التعداد الكلي للبكتيريا وتركز في الطبقة السطحية للتربة علي عمق 10سم وقلت عند الأعماق و ظهر اعلي تعداد للبكتيريا علي عمق 20 سم بعد 14 يوم من المعاملة وحدت نفس التأثير علي نوعي الباسيلس و السيدوموناس. كما حدث تثبيط بدرجه قليلة لكل من نوعي بكتيريا الباسيلس والسيدوموناس تحث الظروف المعملية بعد 24 ساعة من المعاملة بتركيزات مختلفة من مبيدي اللنرون و السنكور. وقد انتشر استخدام المبيدات في الزراعة والصحة العامة على نطاق واسع وتسبب في مشاكل بيئية حادة ومخاطر صحية متعددة كالتشوهات وأمراض الجلد والصداع والغثيان والتقيؤ والتعب ومشاكل المعدة والأمعاء والسرطان والاعراض العصبية وغيرها. كذلك ادخلت مجموعة المبيدات الاصطناعية في حماية الأطعمة ومواد البناء والملابس. عادة ما تكون تستخدم ضد الآفات الضارة المختلفة التي تؤثر على عائلات مختلفة من المحاصيل وفي برامج الإدارة المتكاملة للآفات (IPM) وهي فلسفة إدارة الآفات بدلا من استراتيجية محددة والجمع بين العمليات المختلفة البيولوجية والكيميائية واستخدام أصناف مقاومة (Jha *et al*., 2012). استخدام المبيدات الحشرية في المحاصيل لحماية النباتات ضد مجموعات مختلفة من الآفات وبالرغم من تطبيق المبيدات الحشرية في تركيزات منخفضة في التربة امكنها تغيير المكونات غير الكيميائية والبيولوجية لتلك التربة وتؤثر أيضا على الكائنات المجهرية في التربة. وتتمثل آثار المبيدات على الكائنات المجهرية في التربة في انخفاض عدد من الكائنات الحية الدقيقة ، وتعديل النشاط الكيموحيوي ، والانخفاض الكمي والنوعي للمجتمع الميكروبي (Cycon *et al*., 2006 ، Vig *et al*., 2008 ، Cycon *et al*., 2010). ومن المعروف أن سلالات من الميكروبات لها تأثيرات مفيدة إلى حد كبير على النباتات (بكتيريا النيتروجين التكافلية والمايكوريزا) في حين بعضها قد يؤدي الى تأثيرات ضارة (مسببات الأمراض). هناك أيضا PGPR/B التي تساهم في زرع المواد الغذائية اقتناء مثل نعرف جيدا المثبتون التكافلية النيتروجين، البكتريا العصوية، ولكن أيضا تعيش بحرية المثبتون N_2 هذه كما Azospirillum والآزوتية إنتاج البيولوجي واستقبال إشارات كيميائية هي سمة مشتركة للإحيائية المتكاملة عرض في التربة الزراعية والمحصلة النهائية لهذه التفاعلات على إنتاج المحاصيل الزراعية قد تكون إيجابية كما هو موضح أعلاه، أو سلبي. في المقابل PGPR/B مجموعة من الكائنات الحية الدقيقة يطلق عليه "البكتيريا الضارة ريزوسفير (DRB) ، وترتبط بعض المبيدات الزراعية بشكل غير مباشر بالزيادة في أعداد DRB (Kloepper *et al*, 2012 ، Ipsilantis *et al*., 2012). ويجب اعداد استراتيجية لمكافحة تدهور الترب عن طريق زيادة الجهود البحثية لفهم دور بيولوجيا التربة لا سيما الأحياء المجهرية على صحة التربة. والتعرف على الأحياء التربة غير المعترف بها حاليا أو كليا فهمت وكيف ويمكن معالجة هذه الاحتياجات باستخدام أدوات البحث الناشئة. نستنتج، استنادا لدينا سوف تصورات المعرفة فيما يتعلق البيولوجيا كيف الجديد التربة تساعد على جعل الزراعة

ISSN: 2413-5267

أكثر مستدامة ومنتجة، من خلال التوصية التركيز الأبحاث التي يجب أن تتلقى أولا الأولوية من خلال تعزيز الجمهور والبحوث الخاص من أجل عكس مسار نحو تدهور التربة العالمي (Lehman *et al.*, 2015).

2. المواد والطرق

اختبرت في هذا البحث أربعة أنواع من المبيدات وثلاثة سلالات بكتيرية على النحو التالي :

1.2. مبيد الكلوربيروفوس

الاسم التجاري : سالوت

الاسم العلمي : *6-trichloro-2-pyridylphosphorothioate;chlorpyrifos-ethyl. ،3 ،o-diethylo-5 ،o*

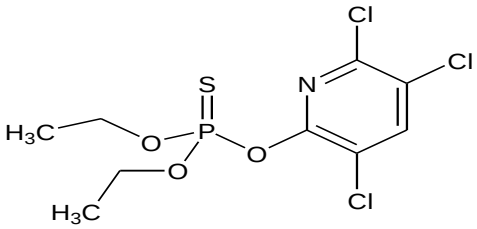
أسماء أخري : Dursban (DowElanco) ، lorsbn (DowElanco)، pyrinex (Makhteshim-Agan).

التركيب الجزيئي : $C_9H_{11}CL_3No_3PS$

الوزن الجزيئي : 350.59

نسب المكونات : *C* : 30.38%, *H* : 3.16%, *Cl* : 30.34%, *N* : 4%, *O*: 13.69%, *P* : 8.83%, *S* : 9.15%

التركيب البنائي :



التصنيف الكيميائي : فسفوري عضوي

الاستخدام : حشري

التأثير : جهازي ، بالملامسة

الجرعة السامة LD_{50} للفار : 244 ملجم/كجم من وزن الجسم لمركب التسمم عن طريق الجلدLD_{50} للفار : 2,760 ملجم من وزن الجسم. المبيد مضر للنحل و الأسماك لذلك يجب الامتناع عن الرش في فترة الإزهار وعدم تلوث برك الأسماك و المياه. ومعدلات الاستعمال : 120-200 مل/100 لتر ماء أو 25-40 مل /20 لتر ماء او1.20-2 مل/هكتار ، هذه المعدلات تكون كافيه للحالات الاعتيادية ولكن في حالات الإصابة الشديدة يلزم زيادة المعدل إلى 200 مل/100 لتر. ليس له تأثير عكسي علي الحاصلات إذا ما استعمل بالمعدلات الاعتيادية الموصى بها فترة الانتظار (14-21 يوم).

ISSN: 2413-5267

2.2. مبيد الجلايفوسيت

الاسم التجاري : كلاش

الاسم العلمي : *N-(phosphonomethyl) glycine*

أسماء أخرى للمبيد : Gallup ، Land master ، Pond master ، Ranger ، Roundup ، Rodeo ،

التركيب الجزيئي : $C_3H_8NO_5P$

الوزن الجزيئي : 169.08

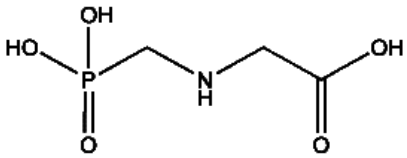
نسب المكونات : *C* : 21.31% ، *H* : 4.77% ، *N* : 8.28% ، *O* : 47.31% ، *P* : 18.32%.

التركيب البنائي :

التصنيف الكيميائي : Phosphonoglycine

الاستخدام : عشبي

التأثير : تثبيط البناء الضوئي



حاد السمية: LD_{50} للفئران عن طريق الفم 5,600 ملجم/كجم من وزن الجسم وسمية الجلايفوسيت الحامضي (Roundup) له نفس التأثير. متوسط السمية : LD_{50} للفئران عن طريق الفم لملح trimethylsulfoni 750 ملجم/كجم من وزن الجسم. المركبات الأخرى تكون معتدلة السمية LD_{50} للفئران عن طريق الفم تقع بين 1,000 و5,000ملجم/كجم من وزن الجسم. LD_{50} للمبيد الجلايفوسيت أكثر من 10,000ملجم/كجم من وزن الجسم للفئران والأرانب والماعز وهو غير سام عن طريق الجلد LD_{50} أكثر من5,000 ملجم/كجم من وزن الجسم للمركب الحامضي وملح isopropylamine . LD_{50} عن طريق الجلد للمركب trimethylsulfonium أكثر من 2,000 ملجم/كجم من وزن الجسم. ليس له تأثير على الجلد يحتوي علي المجموعة الوظيفية aphosphatyl وهو غير مثبط لإنزيم الكولين استريز. معدلات الاستعمال : مبيد حامضي في صورة ملح او مستحلب مركز ويستخدم بمعدل 7 لتر/هكتار.

3.2. مبيد اللنرون

الاسم التجاري : اللنرون (افلون)

الاسم العلمي : *3-3 ، 4-dichlorophenyl-1-methoxy-1-methylurea*

ISSN: 2413-5267

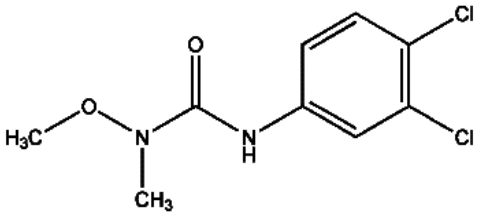
أسماء أخرى للمبيد : Linex ، Linorox ، Linurex ، Lorox ، Premalin ، Sarclex ، and Sinuron Garnitan

التركيب الجزيئي : $C_9H_{10}Cl_2N_2O_2$

الوزن الجزيئي : 249.11

نسب المكونات : C : 43.40%, H : 4.05%, Cl:28.47%, N : 11.25%, O : 12.83%

التركيب البنائي :



التصنيف الكيميائي : استبدال عن اليوريا

الاستخدام : عشبي

التأثير : يثبط البناء الضوئي

سميتة الحادة : LD_{50} للفئران عن طريق الفم 1,200-1,500ملجم/كجم من وزن الجسم وLD_{50} للأرانب عن طريق الفم 2,250 ملجم/كجم من وزن وعن طريق الجلد أكثر من 5,000 ملجم. السمية المزمنة : يسبب تحسس الجلد لخنازير غينا وحدوث تشوهات في خلايا الدم الحمراء للجرذان بمعدل 2.75 ملجم/كجم/يوم/سنتين. كما تسبب في حدوث أنيميا للكلاب عند الجرعة اكبرمن6.25 ملجم كجم/يوم. -التأثيرات المنتجة غير محتملة عند الإنسان عند مستويات التعرض المتوقعة. التأثيرات المشوهة : لا يسبب حدوث عيوب وراثية عندما اختبر علي الأرانب والفئران عند الجرعات و25.6 ملجم/كجم /يوم من وزن الجسم في فترة الحمل. التأثيرات المسرطنه : حدوث أورام غدية غير خبيثة للجرعات من 72.5 ملجم/كجم/يوم للجرذان وحدوث ورم خلوي كبدي للفئران عند الجرعات 180 ملجم/كجم/يوم. معدلات الاستعمال : مبيد عشبي يستعمل للقضاء علي الأعشاب الضارة عريضة الأوراق من خلال تثبيط التمثيل الضوئي ، يستعمل في المخازن والحقول لمحاصيل الذرة والذرة البيضاء وفول الصويا والبطاطا والكرفس والجزر وبمعدل1.3 كجم/هكتار

4.2. مبيد الميتروبيوزين

الاسم التجاري : سنكور

الاسم العلمي : *4-amino-6-tert-butyl-4 ، 5-dihydro-3-methyltio-1 ، 2 ، 4-triazin-5-one*

أسماء أخرى للمبيد : Lexone ، Sencoral ، Sencorex

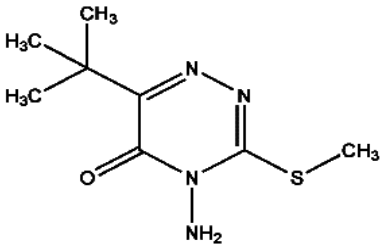
التركيب الجزيئي : $C_8H_{14}N_4OS$

ISSN: 2413-5267

الوزن الجزيئي : 214.29

نسب المكونات : C : 44.48%, H : 6.59%, N : 26.15%, O : 7.47%, S : 15.31%

التركيب البنائي :



التصنيف الكيميائي : الترايزينات

الاستخدام : عشبي

التأثير : تثبيط البناء الضوئي

السمية الحادة : LD_{50} للفئران عن طريق الفم 700 ملجم/كجم من وزن الجسم وللجرذان 1,090-2,300 ملجم/كجم من وزن الجسم وخنازير غينا من 245- 274ملجم/كجم من وزن الجسم غير سام عن طريق الجلد LD_{50} 20,000 ملجم/كجم للأرانب. التعرض عن طريق الاستنشاق اقل سمية ليس له تأثير علي الجلد للإنسان التعرض الحاد له تأثير مخدر للجرذان. التأثيرات المسرطنه: ليس له تأثيرات مسرطنه للجرذان عندما أعطيت جرعة 15ملجم/ كجم/يوم/ سنتين والفئران عند380 ملجم/كجم/يوم/سنتين. التأثيرات المشوهة : ليس لها تأثيرات مشوهة علي الحيوانات. كما أجريت دراسة علي جرعة عالية كان لها تأثير على الجهاز العصبي المركزي و الغدة الدرقية والكبد. معدلات الاستعمال: مبيد عشبي للأعشاب التي تصيب محاصيل الخضر يثبط عملية البناء الضوئي للأعشاب ويستخدم بصورة سائلة أو في شكل مسحوق .

استخدمت سلالتين من بكتيريا الرايزوبيا تم عزلها من نباتات الحلبة (*Trigonella Foenum greacum*) والترمس (*Lupinius albus*). هما بكتيريا الازوتوباكتر (*A . chroococcum*) تم عزلها من عينة تربة أخذت من أحد المزارع من منطقة قمم الشاطئ حسبما جاء في (زكي ، 1988). وعزلات نقية من بكتيريا *Bacillus subtils* حصل عليها من معمل الأحياء الدقيقة بقسم علوم البيئة – كلية العلوم الهندسية والتقنية / جامعة سبها.

وكانت أوساط نمو البكتيريا/ للرايزوبيا (بيئة احمر الكونغو) وتحضيرها حسب (أبو الذهب والجعراني، 1983):

مانيتول	10 جم	مستخلص خميرة	1 جم
فوسفات ثنائية البوتاسيوم	0.5 جم	احمر الكونغو (1 : 400)	10 مل
كبريتات الماغنيسيوم	0.2 جم	أجار	20 جم
كربونات كالسيوم	3 جم	ماء مقطر	1,000 مل
كلوريد صوديوم	0.1 جم		

ISSN: 2413-5267

بينما وسط نمو الازوتوباكتر (بيئة قاعدية 77 لتنمية الازوتوباكتر) حضرت حسب (زكي ، 1988):

فوسفات ثنائية البوتاسيوم	0.5 جم	كلوريد الحديديك	أجار
كبريتات الماغنيسيوم	0.2 جم	ماء مقطر	1,000 مل
كلوريد صوديوم	0.2 جم	pH	7.2
كبريتات المنجنيز الثنائية	أثار		

ووسط نمو *Bacillus subtils* (بيئة الاجار المغذي) تم تحضيرها حسبما جاء في (ابوالذهب والجعراني، 1983):

مستخلص لحم	3 جم	ماء مقطر	1,000 مل
ببتون	5 جم	pH	7.2
أجار	20 جم		

زرعت نباتات الحلبة والترمس تحت ظروف ري وتسميد طبيعي وتمت متابعة النمو وبداية تكوين العقد من المراحل الأولي (شهرين من نمو النباتات) حتى مرحلة اختفاء العقد وانحلالها وأفضل مرحلة للحصول علي عقد كبيرة الحجم هي مرحلة ما قبل الأزهار. بعد ذلك جمعت النباتات وفصلت الجذور وتم إزالة العقدة الكبيرة وتقطع مع جزء من الجذر وتغسل جيدا بالماء لإزالة حبيبات التربة العالقة. وضعت العقدة بعد ذلك في محلول كلوريد الزئبقيك بتركيز 1,000/1لتر لمدة 5 دقائق. ونقلت إلى طبق بتري به كحول 96% لمدة 5 دقائق ووضعت في طبق بتري به ماء معقم مع التقليب لغسلها من بقايا الكحول. تنقل لطبق بتري به ماء معقم 1مل ثم يضغط عليه بواسطة ملقط معقم لتنفجر ولتكوين معلق بكتيري. ويحضر غشاء بكتيري من المعلق ويصبغ بصبغة (ازرق الميثلين) ويفحص لملاحظة طور الباكترويد الذي يدل علي أن العقدة صادقة. تجهز بيئة احمر الكونغو في أطباق بتري معقمة وتترك لتتصلب. ونلقح سطح أجار احمر الكونغو وتحضن علي 28 مْ مدة 7 أيام ويلاحظ شكل المستعمرات. تعزل المستعمرات بصورة نقية علي سطح أجار احمر الكونغو وصبغة الجرام وتفحص مجهريا. السلالات المعزولة من بيئة احمر الكونغو مرتفعة غير مصبوغة لامعة ثم أصبحت طباشيرية ذات قوام لزج جدا وعند الفحص المجهري ظهرت الخلايا تحت العدسة الزيتية عصوية قصيرة منتفخة سالبة جرام.

وعزلت بكتيريا الازوتوباكتر سهلة التميز نظر لكبر حجم الخلايا عن معظم أنواع البكتيريا .تختلف في الشكل من عصوية إلى كروية ولكن الخلايا المستديرة هي السائدة في التربة الزراعية ،أما عزل هذه الميكروبات فليس من السهل إذ أن بعض الميكروبات تعيش في الخلايا المخاطية التي تغلف الخلية وكذلك بين خلايا الازوتوباكتر المتجمعةحيث أضيف 1 جم من التربة وكانت النسبة المئوية للرطوبة 23% في 50 مل من بيئة 77 لتنمية الازوتوباكتر ورجت جيدا وحضنت على 28 مْ لمدة 14 يوم وظهرت الازوتوباكتر علي السطح علي هيئة قشور. عزلت بعد ذلك بطريقة الأطباق المخطوطة علي البيئة الصلبة للحصول علي عزلات نقية. وبصبغة جرام للتعرف علي شكل الخلايا. وبمسحة من النمو ووضعها في البيئات السائلة نحصل علي بيئات سائلة.

ISSN: 2413-5267

تم تلقيح البيئات السائلة بإضافة 1 مل من المزرعة السائلة لكل ميكروب من الميكروبات المختبرة فيكون التخفيف 10^2. وزعت المعاملات علي الأوساط المغذية السائلة بحيث تمثل (¼ ، ½ ، 1 ، 1.5 ، 2 الجرعة الموصى بها) من كل مبيد في 100مل. ترج الأنابيب تم نخفف إلى 10^3-10^4، يؤخذ 1 مل من التخفيفات في أطباق بتري معقمة وذلك بعمل مكررين لكل تخفيف بحيث تمثل (الشاهد) بعد إضافة المبيد مباشرة واستمرت إلى (12، 24، 48، 72ساعة). جهزت البيئات الصلبة وصبت علي الأطباق وحضنت الأطباق علي 28 مْ لمدة (48-72 ساعة) علي حسب الميكروب. ويلاحظ التأثير من خلال نمو المستعمرات علي المعاملات المختلفة مقارنة مع المزرعة غير المعاملة. وقد تم التقدير الكمي للنمو البكتيري في 1 مل من المزرعة الأصلية وذلك بضرب متوسط عدد المستعمرات النامية في الطبق في مقلوب التخفيف المستعمل.

3. النتائج والمناقشة

يمكن سر نتائج أثر المبيدات المدروسة علي الميكروبات المختبرة على النحو التالي :

1.3. مبيد الكلوربيريفوس

النتائج الواردة في الجدول (1) تبين تأثير مبيد الكلوربيريفوس على البكتيريا اللاتكافلية أعداد بكتيريا *B. subtilus* إلى انه حدث تثبيط كبير في نمو البكتيريا خلال 24 ساعة من المعاملة مع كافة التراكيز المستخدمة (¼ ، ½ ، 1 ، 1.5 ، 2 الجرعة الموصى بها) بينما استمر الميكروب في النمو في العينة غير المعاملة (الشاهد). كما تشير النتائج الى تأثير مبيد الكلوربيريفوس على أعداد بكتيريا الازوتوباكتر إلى أن المبيد أدى الى زيادة كبيرة في أعداد البكتيريا خلال 12 ساعة مع كل التراكيز المستخدمة ثم حدث تناقص في أعداد البكتيريا خلال 24 ساعة عند استخدام التراكيز (1 ، 1.5 ، 2 الجرعة الموصى بها) بينما استمرت الأعداد في الزيادة في التركيزين (1.5 ، 2 الجرعة الموصى بها) وعادت البكتيريا الى النشاط في التراكيز (¼ ، ½ ، 1 الجرعة الموصى بها) خلال 48 ساعة بينما كانت الزيادة مستمرة مع التركيزين (1.5 ، 2 الجرعة الموصى) بها وخلال 72 ساعة من زمن تعرض البكتيريا للمبيد كان التأثير مثبط تام باستخدام ضعف التركيز أما أثر التراكيز الأخرى استمر إلى أكثر من 72 ساعة من زمن التعرض. وعلى البكتيريا التكافلية اظهرت النتائج تأثير مبيد الكلوربيريفوس على أعداد بكتيريا *R. meliloti* المعزولة من جذور نبات الحلبة ، حيث أدى المبيد الى تثبيط نمو البكتيريا بعد حوالي 12 ساعة من المعاملة مع كافة التراكيز المستخدمة بينما استمرت البكتيريا في النمو في العينة غير المعاملة. وتشير النتائج ايضا الى تأثير مبيد الكلوربيريفوس على أعداد بكتيريا *B. lupini* المعزولة من جذور نبات الترمس حيث كان للمبيد تأثير مثبط لنمو البكتيريا بعد 24 ساعة من المعاملة مع كافة التراكيز المستخدمة مقارنة بالعينة غير المعاملة.

ISSN: 2413-5267

الجدول 1. تأثير مبيد الكلوربيروفوس على أعداد بكتيريا العقد الجذرية المعزولة

البكتيريا	التعرض (ساعة)	الشاهد	تضاعف الجرعة الموصى بها				
			0.25	0.5	1	1.5	2
B. subtilus	0	1,900	188	149	105	99	155
	12	580	146	154	186	61	14
	24	730	0	0	0	0	0
Azotobacter	0	100	9	19	4	7	5
	12	20	24	25	53	30	85
	24	40	18	26	35	43	73
	48	10	13	13	31	41	58
	72	70	2	6	3	3	1
R. melil oti	0	2,200	296	390	430	368	422
	12	258	1	1	1	1	1
B. lupini	0	1,660	258	298	360	306	404
	12	6,060	960	810	580	520	720
	24	4,000	1	1	1	1	1

2.3. مبيد الجلايفوسيت

تشير البيانات الواردة في الجدول (2) إلى تأثير مبيد الجلايفوسيت على البكتيريا اللاتكافلية حيث كانت أعداد بكتيريا *B. subtilus* إلى انه حدث تثبيط تام للبكتيريا خلال 24 ساعة من المعاملة مع كافة التراكيز المستخدمة بينما استمرت البكتيريا في النمو في العينة غير المعاملة. وتبين النتائج أن المبيد أدى الى انخفاض نمو البكتيريا خلال 12 ساعة من زمن التعرض ثم عادت البكتيريا إلى نشاطها بعد 12 ساعة واستمرت في النمو الى حوالي 24 ساعة ثم حدث تثبيط تام للبكتيريا خلال 72 ساعة في كافة التراكيز المستخدمة. وعلى البكتيريا التكافلية كانت أعداد بكتيريا *R. meliloti* والمعزولة من جذور نبات الحلبة حيث أظهرت النتائج أن المبيد قد أ أدى الى تثبيط نمو البكتيريا بعد حوالي 12 ساعة من المعاملة مع التركيزين (¼ ، ½ الجرعة الموصى بها) واستمرت البكتيريا في النمو بعد 12 ساعة وحدث تثبيط تام خلال 48 ساعة من زمن التعرض مع الجرعة الموصى بها وانخفض النمو خلال 12 ساعة ثم عادت البكتيريا إلى نشاطها واستمرت في النمو مع التركيزين (1.5، 2 الجرعة الموصى بها) ثم أصبح النمو في حالة مستقرة. كما تبين النتائج ايضا تأثير مبيد الجلايفوسيت على أعداد بكتيريا *B. lupini* المعزولة من جذور نبات الترمس حيث أظهرت النتائج انخفاض في نمو البكتيريا خلال 12 ساعة الأولى من زمن التعرض ثم عادت البكتيريا إلى نشاطها بعد 12 ساعة إلى حوالي 24 ساعة من زمن التعرض في جميع التراكيز المستخدمة وبعد ذلك حدث انخفاض في نمو البكتيريا مرة أخرى في التركيزين (1.5، 2 الجرعة الموصى بها) وعادت إلى نشاطها في التراكيز (¼ ، ½ ، 1 من الجرعة الموصى بها).

ISSN: 2413-5267

الجدول 2. تأثير مبيد الجلايفوسيت على أعداد بكتيريا العقد الجذرية المعزولة

البكتيريا	التعرض (ساعة)	الشاهد	تضاعف الجرعة الموصى بها				
			0.25	0.5	1	1.5	2
B. subtilus	0	22,000	180	228	25	19	23
	12	258,000	1	1	145	1	6
	24	56,000			230	26	136
	48	244,000			1	462	250
	72	99,999				552	504
Azotobacter	0	100	51	30	27	0	0
	12	20	40	4	4		
	24	40	43	90	10		
	48	10	13	8	8		
	72	70	1	0	0		
R. meliloti	0	1,900	46	48	135	100	128
	12	580	2	7	4	2	3
	24	730	0	0	0	0	0
B. lupini	0	1,660	190	170	105	83	97
	12	6,060	366	70	258	40	218
	24	4,000	750	1,230	1,110	945	1,290
	48	99,999	39	130	336	82	350
	72		43	680	148	15	13

3.3. مبيد السنكور

تشير البيانات الواردة في الجدول (3) إلى تأثير مبيد السنكور على أعداد البكتيريا اللاتكافلية الازوتوباكتر حيث أظهرت النتائج أن المبيد أدى إلى انخفاض نمو البكتيريا خلال 12 ساعة الأولى مع كافة التراكيز المستخدمة ثم عادت إلى النشاط بعد حوالي 12 ساعة إلى 24 ساعة من زمن التعرض ثم حدث نقص في النمو بعد 24 ساعة من زمن التعرض مع كافة التراكيز المستخدمة. أدى مبيد السنكور على أعداد بكتيريا *B. subtilus* الى زيادة في نمو البكتيريا خلال 12 ساعة ثم حدث انخفاض شديد في النمو بعد حوالي 12 ساعة واستمر الانخفاض إلى 24 ساعة من زمن التعرض ثم عادت البكتيريا الى نشاطها بعد 24 سلعة مع كافة التراكيز المستخدمة. وعلى البكتيريا التكافلية يتضح تأثير مبيد السنكور على أعداد بكتيريا (*R. meliloti*) المعزولة من جذور نبات الحلبة حيث أظهرت النتائج انخفاض في نمو البكتيريا خلال 12 ساعة الأولى من زمن التعرض ثم استعادت البكتيريا نشاطها بعد حوالي 12 ساعة إلى 24 ساعة من زمن التعرض ثم حدث تثبيط تام لنمو البكتيريا خلال 48 ساعة من زمن التعرض. تأثير مبيد السنكور واضح ايضا على أعداد بكتيريا *B. lupini* المعزولة من جذور نبات الترمس حيث أظهرت النتائج أن البكتيريا استمرت في النمو مع زيادة زمن التعرض مع كافة التراكيز المستخدمة أي المبيد حفز البكتيريا على النمو .

ISSN: 2413-5267

الجدول 3. تأثير مبيد السنكور على أعداد بكتيريا العقد الجذرية المعزولة

البكتيريا	التعرض (ساعة)	الشاهد	تضاعف الجرعة الموصى بها				
			0.25	0.5	1	1.5	2
B. subtilus	0	1,900	50	127	53	75	103
	12	580	58	126	132	140	76
	24	730	1	1	1	43	4
	48	10	18	1	11	6	18
	72	820	25	9	68	20	8
Azotobacter	0	100	16	10	2	19	20
	12	20	3	9	4	11	12
	24	40	71	23	24	38	71
	48	10	35	25	20	33	60
	72	70	3	3	4	2	3
R. meliloti	0	2,200	498	378	194	288	240
	12	258	10	13	46	246	8
	24	5,600	386	260	400	140	490
	48	2,440	1	1	1	1	1
	72	99,999					
B. lupini	0	1,660	109	78	186	112	98
	12	6,060	456	302	486	426	372
	24	4,000	99,999	498	600	440	640
	48	99,999		99,999	99,999	99,999	99,999
	72						

4.3. مبيد اللنرون

على البكتيريا اللاتكافلية تشير البيانات الواردة في الجدول رقم (4) إلى تأثير مبيد اللنرون على أعداد بكتيريا *B. subtilus* حيث أظهرت النتائج انخفاض في نمو البكتيريا في كافة التراكيز المستخدمة ثم حدث تثبيط تام لنمو البكتيريا خلال 48 ساعة من زمن التعرض في التراكيز (1، 1.5، 2 الجرعة الموصى بها) بينما حدث استقرار في نمو البكتيريا خلال 72 ساعة من زمن التعرض في التركيزين (¼ ، ½ الجرعة الموصى بها) ، تأثير مبيد اللنرون على أعداد بكتيريا الازوتوباكتر حيث أظهرت النتائج زيادة في نمو البكتيريا خلال 12 ساعة من زمن التعرض ثم حدث انخفاض في النمو بعد 12 ساعة إلى حوالي 24 ساعة من زمن التعرض ثم حدث تثبيط للنمو بعد 48 ساعة من زمن التعرض في التركيزين (¼ ، ½ الجرعة الموصى بها) أما بالنسبة للتركيزين (1، 1.5 الجرعة الموصى بها) حدث انخفاض في نمو البكتيريا خلال 12 ساعة الأولى من زمن التعرض ثم عادت البكتيريا الى نشاطها بعد 12 ساعة الى 48 ساعة من زمن التعرض في الجرعة الموصى بها ثم حدث تثبيط تام لنمو البكتيريا في هذا التركيز خلال 72

ISSN: 2413-5267

ساعة وانخفاض في النمو في التركيز (1.5 الجرعة الموصى بها). في حين كان تأثير مبيد اللنرون على البكتيريا التكافلية واضح على أعداد بكتيريا *R. meliloti* المعزولة من جذور نبات الحلبة حيث أظهرت النتائج انه حدث تثبيط تام في نمو البكتيريا خلال 12 ساعة من زمن التعرض مع كافة التراكيز المستخدمة بينما استمرت البكتيريا في النمو في العينة غير المعاملة. تأثير مبيد اللنرون على أعداد بكتيريا *B. lupini* المعزولة من نبات الترمس حيث أظهرت النتائج زيادة نمو البكتيريا خلال 24 ساعة الأولى من زمن التعرض ثم حدث تثبيط تام لنمو البكتيريا خلال 72 ساعة من زمن التعرض.

الجدول 4. تأثير مبيد اللنرون على أعداد بكتيريا العقد الجذرية المعزولة

البكتيريا	التعرض (ساعة)	الشاهد	تضاعف الجرعة الموصى بها				
			0.25	0.5	1	1.5	2
B. subtilus	0	75	67	121	135	83	83
	12	7	42	65	83	20	20
	24	14	12	77	20	19	19
	48	10	4	0	0	0	0
	72	5	8	0	0	0	0
Azotobacter	0	100	8	13	11	21	0
	12	20	26	90	13	18	0
	24	40	45	15	42	78	0
	48	10	11	38	48	7	0
	72	70	5	3	1	2	0
R. meliloti	0	2,200	392	289	410	560	544
	12	258	1	1	1	1	1
	24	5,600					
B. lupini	0	1,660	316	338	292	336	288
	12	6,060	830	500	420	298	444
	24	4,000	1,080	1,170	1,230	1,080	1,080
	48	99,999	26	149	190	300	460
	72		0	0	0	0	0

ويمكن ان تخلص هذه الورقة إلى أن مبيد الكلوربيريفوس كان أكثر المبيدات فعالية في خفض أعداد بكتيريا الرايزوبيا *R. meliloti* المعزولة من جذور نبات الحلبة ثم تأثيره على كل من أعداد بكتيريا *B. lupini* المعزولة من جذور نبات الترمس وبكتيريا *B. subtilus* بينما كان المبيد أقل تأثيرا على أعداد بكتيريا الازوتوباكتر من الميكروبات الأخرى حيث حدث تثبيط تام للبكتيريا بعد حوالي 72 ساعة من تعرض البكتيريا للمبيد عند مستوى ضعف الجرعة الموصى بها. ومبيد الجلايفوسيت كان أكثر تأثيرا على أعداد بكتيريا *B. subtilus* ثم تأثيره على أعداد بكتيريا الازوتوباكتر وبكتيريا *B. lupine* المعزولة من جذور نبات

ISSN: 2413-5267

الترمس بينما كان المبيد أقل تأثيرا على بكتيريا *R. meliloti* المعزولة من جذور نبات الحلبة. ومبيد السنكور كان أكثر تأثيرا على أعداد بكتيريا *R. meliloti* المعزولة من جذور نبات الحلبة ومن تم تأثيره على أعداد بكتيريا *B. subtilus* وبكتيريا الازوتوباكتر بينما كان المبيد أقل تأثيرا على أعداد بكتيريا *B. lupine* المعزولة من جذور نبات الترمس بينما مبيد اللنرون كان أكثر تأثيرا على بكتيريا *R. meliloti* المعزولة من جذور نبات الحلبة وبكتيريا *B. lupini* المعزولة من جذور نبات الترمس ومن تم تأثيره على بكتيريا الازوتوباكتر بينما كان اقل تأثيرا على بكتيريا *B. subtilus*. وهذا يتفق مع العديد من الباحثين من أن تأثير بعض المبيدات الحشرية على الكائنات المجهرية في التربة مثل الميكروبات المثبتة للنيتروجين على الانتقالات غير البيولوجية والكيميائية للتربة مهمة جدا في دورات المغذيات الجيوكيميائية والانزيمات التي تنتجها الكائنات المجهرية في التربة اضافة للتحولات الكيموحيوية ، ولهذا فان تقييم تأثير المبيدات الحشرية على وظائف النظام البيئي يمكن تقديره على أساس النشاط الأيضي والميكروبية للكتلة الحيوية (Nannipieri *et al*., 2003). وتتفق مع (Filimon *et al*., 2015) الذي افاد بان المبيدات الحشرية تؤثر على نشاط المجتمعات الميكروبية للتربة. وقد أظهر مبيد السيبرميثرين وثيامثوكسام تأثير كابح بشكل خاص على عمليات التمثيل الغذائي في التربة، وقيم الأنشطة الإنزيمية كالهيدروجينيز، اليوريز، الكاتاليز والفوسفاتيز وكانت أقل بكثير مما كانت عليه في العينة غير المعاملة. وتؤثر درجة الحموضة والرطوبة على الأنشطة الإنزيمية واظهرت ارتباط إيجابي مع نشاط الكاتاليز واليوريز وارتباط سلبي مع نشاط الفوسفاتيز. وحدث انخفاض كبير في المتغيرات المعاملة بالمبيدات مقارنة مع العينات غير المعالجة. ومن الصعب تحديد مدى تأثير المبيدات الحشرية على المجتمعات الميكروبية في التربة بسبب تداخل العديد من المتغيرات مثل قوام التربة، والتركيب العضوي وغير عضوي، والملمس، ودرجة الحموضة ودرجة الحرارة (Monkiedje *et al*., 2002 ، Beulke *et al*., 2004).

المراجـع

قائمة المراجع العربية

ابوالذهب مصطفى، الجعراني محمد (1983). البكتيريا التمارين المعملية الأساسية. الجزء الثاني، دار المطبوعات الجديدة، الإسكندرية، مصر.

المسلاتي، حسين ابراهيم (2006). تأثير بعض مبيدات الحشائش على الكائنات الدقيقة غير المستهدفة في التربة، رسالة ماجستير، معهد الدراسات و البحوث البيئية، جامعة عين شمس، القاهرة، مصر.

زكي سعد، محمد عبد الوهاب، محمد الصاوي (1988). ميكروبيولوجيا الأراضي. مكتبة الانجلو المصرية، القاهرة، مصر.

زكي سعد (1988). ميكروبيولوجيا التطبيقية المعملية. مكتبة الانجلو المصرية، القاهرة، مصر.

محمد عبد الوهاب، محمد الصاوي (1996). الميكروبيولوجيا التطبيقية. الطبعة الأولى، المكتبة الأكاديمية، القاهرة، مصر.

ISSN: 2413-5267

قائمة المراجع الأجنبية

Beulke S., Brown C.D., Fryer C.J., and Van Beinum W. (2004). Influence of Kinetic Sorption And Diffusion On Pesticide Movement Through Aggregate Soils. *Chemosphere*, 57: 481-490.

Cycoń M., Piotrowska-Seget Z., Kaczyńska A., and Kozdrój J. (2006). Microbiological characteristics of a sandy loam soil exposed to tebuconazole and λ-cyhalothrin under laboratory conditions. *Ecotoxicology*, 15(8): 639-646.

Cycoń M., Piotrowska-Seget Z., and Kozdrój J. (2010). Responses of indigenous microorganisms to a fungicidal mixture of mancozeb and dimethomorph added to sandy soils. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 64(4): 316-323

Digrak M., and Kazanici F. (2001). Effect of some organophosphorus insecticides on soil microorganisms. *Turkish Journal of Biology*, 25(1): 51-58.

Filimon M.N., Voia S.O., Popescu R., Dumitrescu G., Petculescu L., Ciochina M.M. and Vlad D.C. (2015). The effect of some insecticides on soil microorganisms based on enzymatic and bacteriological analyses. *Romanian Biotechnological Letters*, 20(3): 10439-10447.

Gurcharan Singh, Kundra H.C., Brar L.S., Gupta R.P., and Singh G. (1994). Effect of herbicides on soil microorganism dynamics, Rhizobium-legume symbiosis and grain yield of pea (Pisum sativum). *Annals of Agricultural Research*, 15: 22-26.

Ipsilantis I., Samourelis C., and Karpouzas D.G. (2012). The impact of biological pesticides on arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biol. Biochem.*, 45: 147–155.

Jha S.K., Paras Jain, and Sharma H.P. (2015). Xenobiotic Degradation by Bacterial Enzymes. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.*, 4(6): 48-62.

Kloepper J.W., Hu C.H., Burkett-Cadena M., Liu K., Xu J., and McInroy J. (2012). Increased populations of deleterious fluorescent pseudomonads colonizing rhizomes of leatherleaf fern (Rumohra adiantiformis) and expression of symptoms of fern distortion syndrome after application of benlate systemic fungicide. *Appl. Soil Ecol.*, 61: 236–246.

Lehman, R.M., Cambardella, C.A., Stott, D.E., Acosta-Martinez, V., Manter, D.K., Buyer, J.S., Maul, J.E., Smith, J.L., Collins, H.P., Halvorson, J.J. and Kremer, R.J. (2015). Understanding and Enhancing Soil Biological Health: The Solution for Reversing Soil Degradation. *Sustainability*, 7(1): 988-1027.

Monkiedje A., Ilori M.O., and Spiteller M. (2002). Soil quality changes resulting from the application of the fungicides mefenoxam and metalaxyl to a sandy loam soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 34(12): 1939-1948..

Nannipieri P., J. Ascher, M.T. Ceccherini, L. Landi, G. Pietramellara, and G. Renella (2003). Microbial Diversity and Soil Functions. *Eur. J. Soil Sci.*, 54: 655–670.

ISSN: 2413-5267

Sandhu P.S., Dhingra K.K., Bhandari S.C., and Gupta R.P. (1991). Effect of hand-hoeing and application of herbicides on nodulation, nodule activity and grain yield of Lens culinaris. *Med. Plant and Soil*, 135: 293-296.

Sharmila M., Ramanand K., and Sethunathan N. (1989). Effect of yeast extract on the degradation of organophosphorus insecticides by soil enrichment and bacterial cultures. *Can. J. Microbiol.*, 35: 1105-1110.

Shin J.Y., and Cheney M.A. (1989). Abiotic dealkylation and hydrolysis of atrazine by birnessite. *Environ. Toxicol., Chem.*, 24(6): 1353-1360.

Vig K., Singh D.K., Agarwal H.C., Dhawan A.K., and Dureja P. (2008). Soil Microorganisms In Cotton Fields Sequentially Treated With Insecticides. *Ecotoxicology And Environmental Safety*, 69: 263-276.

Wackett L.P. (2004). Evolution of enzymes for the metabolism of new chemical inputs into the environment. *J. Biol. Chem.*, 279: 41259-41262.