دراسة تاثير مبيد Cypermethrin على بعض أنواع البكتريا

مي حميد محمد الدهيمي

كلية علوم البيئة – جامعة القاسم الخضراء

Mayhameed85@yahoo.com

الخلاصة

هدفت هذه الدراسة الى معرفة تاثير مبيد Cypermethrin في بعض أنواع البكتريا التي تتواجد بصورة طبيعية أو بشكل ممرض في البيئة وبالتالي معرفة مدى تاثير وجود هذا النوع من المبيدات في حالة عدم تحللها على البكتريا التي يمكن ان تتواجد في البيئة. إذ اعتمد في هذه الدراسة على معرفة تراكيز مختلفة من مبيد Cypermethrin على بكتريا *E.coli* الممرضة وغير الممرضة و *Salmonella sp.* و *Bacillus sp.* و *Clostridium sp.* فضلا عن البكتريا المعوية Enterobacteriaceae بصورة عامة النامية على وسط ماكونكي والبكتريا الكلية Total bacteria النامية على وسط الغراء المغذي. إذ أظهرت النتائج أن معدلات أعداد مستعمرات البكتريا النامية على اوساط حاوية على تراكيز مختلفة من المبيد كانت (112 , 117 , 123) مستعمرة / مل و(173 , 120 , 109) مستعمرة / مل و(23 , 29 , 37) مستعمرة / مل و(16 , 19 , 22) مستعمرة / مل و(23 , 10 , 4) مستعمرة / مل لكل من البكتريا (*E.coli* الممرضة , *E.coli* غير الممرضة , *Salmonella* sp. , *Bacillus* sp. , *Clostridium* sp.) ولكل من تراكيز المبيد (0.1 , 0.3 , 0.5) ملغم /لتر على التوالي , وان معدلات أعداد مستعمرات البكتريا المعوية المزروعة على وسط ماكونكي كانت (178 , 189 , 180) مستعمرة / مل وللبكتريا الكلية النامية على وسط الاكار المغذي كانت (100 , 90 , 70) مستعمرة / مل لكل من تراكيز المبيد المذكورة سابقا. كما أظهرت النتائج وجود فروق معنوية بين معدلات أعداد المستعمرات النامية وأظهرت وجود معاملات ارتباط ايجابية وسلبية مع تراكيز المبيد المستخدمة عند مستوى احتمالية 0.05 .

الكلمات المفتاحية : مبيد حشري , مستعمرات بكتيرية , بكتريا التربة

Abstract

This study aimed to known of effect of Cypermethrin pesticide on some types of bacteria that found naturally or pathogeny in environment and then known the effect of presence of this type of pesticides; when it nondegradation; on bacteria that found on environment. This study depended on effect of different concentration of Cypermethrin on bacteria: *E.coli* pathogen, *E.coli*, *Salmonella sp.*, *Bacillus sp.* and *Clostridium sp.* in addition to Enterobacteriaceae on generally that growth on MacConkey agar and total bacteria that growth on nutrient agar. the result showed that average of bacterial colonies that growth on media have different concentration of pesticide were (112, 117, 123) colony/ml, (173, 120, 109) colony/ml, (23, 29, 37) colony/ml, (16, 19, 22) colony/ml, (23, 10, 4) colony/ml, for (*E.coli* pathogen, *E.coli*, *Salmonella* sp., *Bacillus* sp., *Clostridium* sp.) bacteria and for each concentration of pesticide (0.1, 0.3, 0.5) mg/l respectively. Also the average of Enterobacteriaceae colonies that growth on MacConkey agar was (178, 189, 180) colony/ml, and for total bacteria that growth on nutrient agar was (100, 90, 70) colony/ml for each pesticide concentrations that mention earlier. The results showed a significant differentiation between average of number of growth colonies and also appeared positive and negative correlation factors with pesticide concentrations that used in level of probability 0.05.

Keywords: insecticide, bacterial colonies, soils bacteria

المقدمة

يوجد العديد من المبيدات التي تستخدم لغرض التخلص من مختلف أنواع الحشرات سواء كانت تلك الحشرات ذات التاثير الاقتصادي أو ذات التاثير الصحي , ولذلك كانت هنالك بالمقابل العديد من الدراسات التي تناولت تاثيرات هذه المبيدات سواء كانت طبيعية أو صناعية على الاحياء التي لا تعد الهدف الذي أوجد المبيد لاجله , ومن هذه الدراسات من تناولت تاثير بعض هذه المبيدات على بعض أنواع البكتريا التي لا تعد هدفا لصنع المبيد ثم اظهار فيما إذا كانت لتلك المركبات تاثير في مجتمعاتها مثل دراسة Ahmed and Shakeel (2006) التي استخدم فيها مبيد (Carbofuran20EC, Chlorpyrifos40ES, Imidacloprid200SL, Bifenthrin10EC, Cypermethrin10EC, Endosulfan35EC) لمعرفة تاثيرها في بعض اجناس

بكتريا التربة في ظروف المختبر وفي ظروف الحقل. أما في دراسة Zhang *et.al.* (2008) فقد تناولت تاثير مبيد cypermethrin في البكتريا الممرضة لنبات الخيار, واظهرت النتائج زيادة في الكتلة الكلية والحيوية للبكتريا وانخفاض كتلة الفطريات وانخفاض نسبة البكتريا الموجبة الى البكتريا السالبة. وان هنالك دراسات هدفت الى ايجاد بعض أنواع البكتريا التي تعمل على ازالة مبيد cypermethrin من البيئة كدراسة Majid *et.al.* (2012) التي استخدم فيها كل من بكتريا (*Pseudomonas aeruginosa, P.fluorescens, Bacillus licheniformis, Alcaligenes* sp. and *Corynebacterium* sp.) لبيان قدرتها على تحطيم هذا المبيد وإزالته من البيئة , إذ اظهرت النتائج ان كل من *Pseudomonas* sp. و *Bacillus licheniformis* كانت أكثر عملية في إزالة المبيد من باقي أنواع البكتريا المدروسة.

مبيد Cypermethrin هو مبيد حشري عضوي فوسفاتي من مجموعة الباراثرويد pyrethroids وهو مركب يتواجد بشكل مستحلب أو بشكل مسحوق قابل للبلل مصنع كيميائيا مشابه للباراثرين pyrethrin المتواجد في مستخلص البارثرم pyrethrum المتاتي من نبات الاقحوان *Chrysanthemum* (Schleier, *et.al* ; 2007 , Kalyan *et.al.* , 2011) وقد صنع هذا المركب ليكون تاثيره طويل المفعول. يؤثر هذا المبيد في الفقريات واللافقريات عن طريق الاتصال المباشر بها أو عن طريق تغذيتها عليه ويكون تاثيره سريع على النظام العصبي المركزي (Weiner , Jones2009 ; 2005 *et.al.*) أو بصورة غير مباشرة ويمتد تاثيره لفترات من الزمن (Prater. *et.al.* , 2003). أما بالنسبة لسميته للانسان فلم تتوفر للعلماء أدلة كافية عن حوادث سمية أو تغيرات مورفولوجية في الجلد المعرض للمبيد (Toynton, *et.al.* , 2009) مع ذلك فان كونه قد يسبب السرطان للانسان يبقى واردا (EPA , 2007). كما ان هذا المبيد يمتاز بكونه ثابت باشعة الشمس لمدة 100 يوم ويقاوم التحلل المائي لمدة 50 يوم (Jones , 2005), وله ارتباط قوي بجزيئات التربة ونصف عمر يبلغ 30 يوم في التربة و خمسة أيام في اوراق النباتات (EPA , 1989) و6-20 يوما في الظروف الهوائية و 14 يوما في الظروف اللاهوائية (Jones , 2005).

البكتريا الكلية هي مجموع البكتريا السالبة والموجبة لصبغة غرام والممرضة وغير الممرضة التي يمكنها النمو على وسط الاكار المغذي الذي يعد الوسط المناسب لنموها والتي جزء منها بعض أنواع البكتريا المعوية. أما البكتريا المعوية Enterobacteriaceae فهي عائلة تضم اجناس بكتيرية متعددة تقريبا 53 جنسا ومنها ما يفوق 170 نوعا معروفا (PHE , 2015) وهي بكتريا صغيرة عصوية الشكل وسالبة لصبغة غرام وغير مكونه للسبورات وبعضها متحرك وهي لا هوائية اختيارية وتسبب مدى واسعا من الأمراض للانسان ولبقية الكائنات الحية وبعضها مميت (Khan *et.al.* , 2011), وتعد بكتريا *E.coli* من البكتريا المعوية التي يعرف منها خمسة أنواع تسبب الامراض للانسان (Euzeby , 2013). أما بالنسبه الى بكتريا *E.coli* غير الممرضة فهي بكتريا تتواجد بصورة طبيعية في أمعاء الأطفال حديثي الولادة وهي تتواجد بصورة طبيعية في أمعاء الانسان في الحالة الصحية الجيدة وفي حالة تكافلية مع المضيف وان حالة التعايش لهذه السلالات البكتيرية من النادر أن تسبب الأمراض للمضيف (Winn *et.al.* , 2006).

بكتريا *Salmonella sp.* فهي بكتريا سالبة لصبغة غرام ممرضة ومع ذلك فإن أغلب الأحياء المصابة بها لا تظهر عليها علامات الاصابة بالمرض , وأنها تتواجد بكميات قليلة في فضلات الاحياء (Ramsay *et.al.* , 2002). أما بكتريا *Bacillus sp.* فهي بكتريا عصوية موجبة لصبغة غرام بعض أنواعها تسبب تسمم غذائي وبعضها الاخر ممرضة وقد تكون مميتة (Klee *et.al.* , 2006) ويمكن ان تتواجد اجناس

هذه البكتريا بصورة طبيعية في التربة وهي مكونة للسبورات وبعض اجناسها لها دور في تحلل بعض المواد الهيدروكاربونية في البيئة (Tallent *et.al.*, 2012). أما بكتريا *Clostridium sp.* وهي جنس بكتريا عصوية تحوي على اكثر من 140 نوعا وهي موجبة لصبغة غرام ولاهوائية اجبارية ومكونه للسبورات وبعض اجناسها مسببة للامراض ولبعضها الاخر دور في تحلل المواد العضوية (Warnick , 2002 ; Jeong *et.al.* , 2004 *et.al.*) وتلف الأغذية (Neghina , 2010 *et.al.*)

هدفت هذه الدراسة الى معرفة تاثير تراكيز مختلفة من مبيد Cypermethrin في بعض أنواع البكتريا المرضية وغير المرضية المعزولة من المياه والتربة الملوثة للحصول على بكتريا *E.coli* الممرضة و *Clostridium sp.* و Enterobacteriaceae والتربة غير الملوثة للحصول على بكتريا *E.coli* غير الممرضة و *Bacillus sp.* اضافة الى عزل بكتريا *Salmonella sp.* من عضلات الاسماك , وذلك لاهمية كل هذه البكتريا وتاثيرها على الكائنات الحية من جهة وتاثيرها على البيئة من جهة اخرى وخاصة ان هذا المبيد هو مبيد حشري ذو تاثير فعال على مدى واسع من الحشرات ويمكن ان يكون بتماس مباشر مع هذه البكتريا التي يمكن ان تتواجد في كل مكان تقريبا.

المواد وطرق العمل

حضر المبيد الحشري Cypermethrin بالاعتماد على الطريقة المتبعة من قبل Ahmed و Shakeel (2006) والطريقة المتبعة من قبل Chen وجماعتة (2012) بواقع ثلاث تراكيز وهي (0.1 , 0.3 , 0.5) ملغم/ لتر من محلول قياسي محضر سابقا ذو تركيز 50 ملغم/ لتر باستخدام قانون التخفيف وبواقع خمس مكررات لكل تركيز. واستعملت عينات من الترب الملوثة والترب غير الملوثة أو البعيدة عن التلوث القريبة من النهر وبعض اسماك الكارب المربى في البحيرات للحصول على البكتريا المستخدمة في هذه التجربة لغرض معرفة تاثير تراكيز مختلفة من مبيد Cypermethrin عليها , اذ عرضت البكتريا لتاثير المبيد من خلال مزج المبيد مع الوسط الزرعي الصلب واستخدمت لهذه الغاية طريقة الصب بالاطباق Plate count method (, 2005 FDA) كطريقة لحساب معدلات أعداد المستعمرات التي قد نمت على الوسط الزرعي المعامل بالمبيد اضافة الى عينة السيطرة التي كانت خالية من اي تركيز من تراكيز المبيد المستخدم.

وبعدها تركت لتتصلب وحضنت مقلوبة وبظروف هوائية وبدرجة حرارة 37 م^{o} لكل البكتريا المذكورة وبدرجة حرارة 55 م^{o} لبكتريا *E. coli* الممرضة وبظروف لاهوائية لبكتريا *Clostridium sp.* وحضنت جميعها لمدة 48 ساعة. وقد استخدم فحص IMVIC [الاندول (ماء البيتون + كاشف Kovacs) وفحص الاحمر المثيل (وسط MR-VP + كاشف الاحمر المثيل) وفحص استهلاك السترات (Simmon Citrate Agar + كاشف Bromothymol Blue)] لغرض التاكد من تشخيص هذه البكتريا (Forbes , 1998) قبل اجراء التجربة. كما استخدمت اوساط خاصة لعد البكتريا منها اوساط زرعية تفريقية كوسط MacConkey Agar لحساب أعداد البكتريا المعوية وEosin Methylene Blue Agar لحساب بكتريا *E. coli* الممرضة وغير الممرضة و S.S. Agar لحساب بكتريا *Salmonella sp.* , فضلا عن استخدام وسط Nutrient agar لحساب أعداد مستعمرات بكتريا *Bacillus sp.* وبكتريا *Clostridium sp.* وحساب العدد الكلي للبكتريا (Yagoub , 2009).

التحليل الاحصائي

استخدم التصميم التام التعشية (CRD) وحللت النتائج احصائيا باستخدام اقل فرق معنوي (LSD) بعد أن خضعت لتحليل التباين وايجاد معامل الارتباط (النعيمي وطعمه , 2008).

النتائج والمناقشة

يوضح جدول (1) معدلات أعداد مستعمرات بكتريا *E.coli* الممرضة و *E.coli* غير الممرضة و *Salmonella sp.* و *Bacillus sp.* و *Clostridium sp.* و Enterobacteriaceae و total bacteria , إذ بينت النتائج كما في الشكل (1 و 3) أن معدلات أعداد مستعمرات بكتريا *E.coli* الممرضة النامية على وسط زرعي معامل بتراكيز مختلفة من المبيد كانت تزداد بزيادة التركيز ولكن بمعدلات أقل مما في السيطرة مع ذلك أظهرت النتائج وجود معامل ارتباط سلبي قد يعود سببها انخفاض معدلاتها عن السيطرة , إذ إن معدلات أعداد مستعمراتها كانت تقل عما في السيطرة على الرغم من أنها كانت تزداد كلما زاد التركيز اذ كانت (123, 117, 112) مستعمرة / مل لكل من (0.1 ,0.3, 0.5) ملغم / لتر على التوالي , وقد يعود ذلك ربما لكون وجود بعض مكونات المبيد زادت من نفاذية غشاء الخلية البكتيرية (Hecht , 2001) والذي أدى الى موت بعض من سلالاتها التي ربما لم تتاقلم مع تراكيز المبيد المستخدمة (0.1 و0.3 و0.5) ملغم /لتر مما أدى إلى إنخفاض أعداد مستعمراتها . وإن سبب ارتفاع معدلات أعداد مستعمراتها كلما زاد التركيز قد يعود سببه الى امتلاك بعض سلالات لهذه البكتريا المتبقية على عوامل التصاق خاصه قد تكون بروتينات غشاء خارجي تمكنها من النمو في بيئات غير طبيعية فضلا عن امتلاكها لبلازميدات محللة التي يستحث عملها عند وجود تراكيز معينة من بعض المواد الكيمياوية السامة (Kaper *et.al.* , 2004) مما يقود إلى الاعتقاد بأن المبيد يعمل على انتقاء سلالات هذه البكتريا عند وجوده بتراكيز قليلة

بينت النتائج أن معدلات أعداد مستعمرات بكتريا *E.coli* التي يمكن أن تتواجد بصورة طبيعية في البيئة كانت تقل كلما زاد التركيز إذ أظهرت النتائج (الشكل 1 و 3) وجود معامل ارتباط سلبي مما يعني أن تركيز المبيد يؤثر بتاثير عكسي في معدلات أعداد المستعمرات البكتيرية النامية على الوسط المعامل بالمبيد, إذ كانت معدلات أعداد مستعمراتها (173 , 120 , 109) مستعمرة / مل لكل من (0.1 , 0.3 , 0.5) على التوالي , وقد يعود سبب ذلك إلى تداخل المبيد مع مسالك انظمة اخذ عنصر الحديد (Grozdanov , 2004 *et.al.*; Sonnenborn and Schulze , 2009) مما يعرقل نفوذ الحديد إلى داخل الخلية ومن ثم تغيير لسيولة محتوى الخلية قياسا ببكتريا *E.coli* الممرضة التي كانت تمتاز بامتلاكها لجينات مسببة للمرض وفي الوقت نفسه تكون مقاومة للعوامل السامة التي يمكن أن تتواجد في البيئة التي تتواجد فيها البكتريا (Wagner *et.al* , 2002), مما يعني أن هذا النوع من البكتريا يكون أكثر تاثرا بوجود المبيد في البيئة وبحسب التنوع الجيني (Ishii, *et.al*. , 2006) لهذا النوع البكتيري غير الممرض فانه من المتوقع ان تعمل هذه البكتريا على تطوير جينات مقاومة أو محللة لمثل هذا النوع من المبيدات, وهذا يعني ان هذا النوع من البكتريا المدروسة لم تتعرض سابقا لمثل هذه المركبات أو لمركبات مشابهه لها في التركيب الكيميائي.

أظهرت النتائج كما في الشكل (2 و 3) أن معدلات أعداد مستعمرات بكتريا *Salmonella sp.* كانت تزداد بازدياد تركيز المبيد المستخدم و بمعامل ارتباط ايجابي , اذ كانت معدلات أعداد مستعمراتها (23 , 29 , 37) مستعمرة /مل لكل من (0.1 , 0.3 , 0.5) ملغم/ لتر على التوالي. وقد يعود السبب إلى امتلاكها لمحتوى من الجينات المقاومة التي تتطور باستمرار والتي اغلبها غير معروفة

(2008, Batchelor *et.al.*) وبـذلك تسـاعد البكتريـا علـى التكيـف للمعيشـة فـي بيئـات مختلفـة (2008 , Su *et.al.*) , أو أنها استخدمت بعض مركبات المبيد كمصادر للطاقة (2005 , Guan *et.al.*) ويعتقد في بعض الدراسات الى ان وجود هذا المبيد أو أي مركب مشابه له يمكن أن يحفز على أن تكون هذه البكتريـا أكثـر ضـراوة بسـبب سـلوكها كمستضـدات اكثـر مقاومـة داخـل جسـم الكـائن الحـي (2007 , Baker and Dougan) .

بينت النتائج (شكل 2 و 3) أن معدلات أعداد مستعمرات بكتريا *Clostridium sp.* كانت تنخفض بوجود المبيد , وأنها كانت تقل كلما زاد تركيز المبيد وبمعامل ارتباط سلبي , إذ كانت معدلات أعداد مستعمراتها (23 , 10 , 4) مستعمرة /مل لكل من (0.1 , 0.3 , 0.5) ملغم/ لتر على التوالي من تراكيز المبيد المستخدم الذي يعود سببه إلى أن المبيد يسرع عملية تحلل البكتريا من الداخل (2000 , Nantel *et.al.*) , أو أنه يعمل على تحطيم سطح جدار الخلية البكتيرية (2006 , Sebaihia *et.al.*) بسبب تركيبة الكيميائي (2007 , Kalyan *et.al.*) , الذي قد يقود فيما بعد الى تكوين سلالات من السبورات المتشكلة التي تكون أكثر تحملا من الخلايا الناتجة منها (2012 , Leggett *et.al.*)

أظهرت النتائج الشكل (1 و 3) أن معدلات أعداد مستعمرات بكتريا *Bacillus sp.* كانت تقل عن معدلاتها في السيطرة , و أنها كانت تزداد كلما زاد التركيز وكذلك اظهرت النتائج وجود معامل ارتباط سلبي بين معدلات أعدادها وتراكيز المبيد , اذ كانت معدلات أعداد مستعمراتها (16 , 19 , 22) مستعمرة / مل لكل من (0.1 , 0.3 , 0.5) ملغم/ لتر على التوالي, والذي يعود سببه إلى ألتاثير المباشر للمبيد في الخلية البكتيرية نتيجة لتكوينها مضادات حيوية ببتيدية دهنية على جدار الخلية تعمل على ربط المبيد معها على سطح الخلية البكتيرية مسببة بذلك تحطمها (2001, CPL). أما سبب زيادتها بوجود تركيز اعلى من المبيد فيعود إلى أن هذا التركيز ربما عمل على تحفيز البكتريا لانتاج مركبات تعزز بناء جدار الخلية بسبب امتلاكها تنوعا جينيا كبيرا (2004 , Helgason *et.al.* ; 2000 , Okinaka *et.al.*), أو ربما لامتلاكها جينات تشفر لمركبات تعمل علـى تحطـيم المبيـد قـد تـم تفعيلهـا بتراكيـز معينـة مـن المبيـد بهـدف حمايـة الخليـة مـن تـاثيرات المبيـد (2015 , Akbar *et.al.* ; 2001 , Suyama and Bork), أو أن أيض الخلية وجهه باتجاه تكوين مركبات تعمـل علـى تقييـد المبيـد داخـل الخليـة البكتيريـة للتقليـل مـن تـاثير المبيـد والمحافظـة علـى نوعهـا (2006 , Slepecky and Hemphill ; 2006 , Zigha *et.al.*) وقد يكون هذا سبب ظهور مستعمراتها بحجم أصغر مما في السيطرة

وأظهرت النتائج (شكل 1) أن معدلات أعداد مستعمرات بكتريا Enterobacteriaceae كانت متباينة في أعداد مستعمراتها , إذ كانت معدلات أعداد مستعمراتها بصورة عامة تزداد بوجود المبيد مما يعني أن وجود المبيد قد شجع على نموها ربما كمصدر غذائي للبكتريا أو كمادة محفزة لانتاج اجيال متعاقبة , وأشارت النتائج الى وجود معامل ارتباط إيجابي , إذ كانت معدلات أعداد مستعمرات البكتريا (178) مستعمرة / مل عند أقل تركيز مستخدم (0.1) ملغم/ لتر والذي يعود الى استهلاك المبيد من بعض أنواعها أما بواسطة تحلله بفعل الانزيمات البكتيرية (2005 , Jones), أو باستخدامه مصدرا للغذاء (2002 , Tuohy *et.al.*) . وأظهرت النتائج أن معدلات أعداد مستعمراتها كانت تزداد الى (189) مستعمرة / مل عند تركيز (0.3) ملغم/ لتر والذي يعود الى أن هذا التركيز قد يكون حفز عمل جينوم بعض الخلايا على تشفير بعض الوظائف التي كانت خاملة لغرض نشرها بين الخلايا البكتيرية للمحافظة على نوعها (2000 , Hacker and Kaper) , أو أن المبيد عمل على تشجيع نمو بعض أنواعها عبر اقصاء أنواع بكتيرية أخرى (2010, Hibbing *et.al.*). في حين كانت قلة

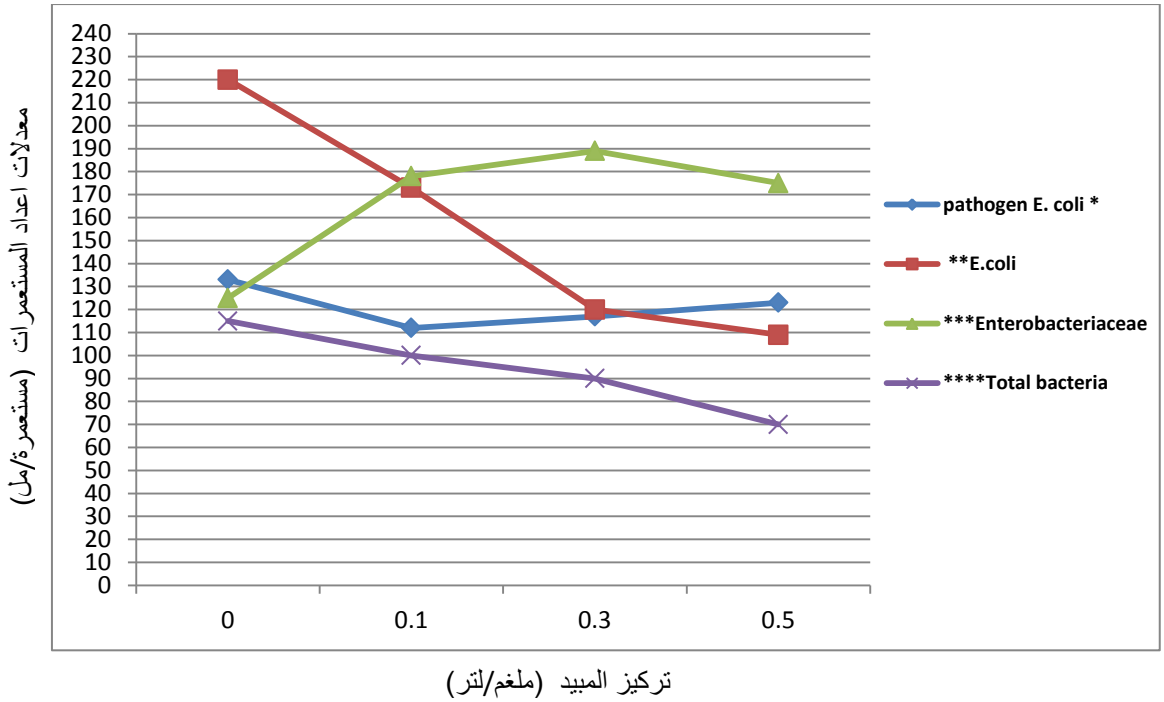
معدلات أعداد المستعمرات (175) مستعمرة / مل عند اعلى تركيز مستخدم (0.5) ملغم/ لتر والذي يعزى بالدرجة الرئيسة الى منع بعض أجناس الخلايا البكتيرية من نمو أجناس خلايا بكتيرية اخرى على الوسط الزرعي بوجود المبيد (Griffin *et.al.* , 2004), والذي يعود سببه إلى أن البكتريا المعوية المزروعة على وسط ماكونكي تحوي على طيف واسع من البكتريا الممرضة الحاوية على سلالات متعددة والتي تحوي على مدى واسع من الجينات (Murray *et.al.* , 2003) والتي لها متطلبات تغذية قد تكون غير كافية لها بوجود المبيد وأنواع متعددة من البكتريا ما قد يعمل على تغيير طريقة استجابتها للمؤثرات والعوامل الخارجية (Khan *et, al.* , 2011).

بينت النتائج (شكل 1 و 3) أن معدلات أعداد مستعمرات البكتريا الكلية كانت تقل بوجود المبيد وكلما زاد تركيزه إذ أظهرت النتائج وجود معامل ارتباط سلبي , اذ كانت معدلات أعداد مستعمرات البكتريا (100 , 90 , 70) مستعمرة / مل لكل من (0.1 , 0.3 , 0.5) ملغم/ لتر من المبيد على التوالي , مما يشير إلى أن وجود المبيد وزيادة تركيزه يمكن ان تعمل على تقليل معدلات أعداد مستعمرات البكتريا النامية على وسط الاكار المغذي التي قد يعود الى التباين بين أنواع البكتريا, ففي درسة كل من Ahmed و Shakeel (2006) كانت تاثيرات المبيدات المستخدمة في الدراسة تختزل أعداد البكتريا في المختبر أما في الحقل فكان التأثير يظهر بعد 21 يوم من المعاملة في حين أن نوع اخر من المبيدات Bifenthrin كان يسبب زيادتها في المختبر. كما أشارت بعض الدراسات الى ان بعض أنواع البكتريا غير الممرضة كانت تموت بسبب التاثير السام لبعض مركبات المبيد لكون هذه المركبات لها ارتباط شديد مع جدار الخلية مما يعمل على تحطمها (Schatz , 2014 , *et.al.*) , وان بعضها الاخر كانت تزداد نفاذيتها للسوائل عند وجود بعض مركبات بعض أنواع المبيدات (Zhang *et, al.* , 2009) , وقد اشارت دراسات أخرى إلى أن بعض أنواع المبيدات يمكن أن يسبب في التصاق الخلايا البكتيرية مع بعضها البعض مما قد يحد من تكاثرها (moons *et.al.* , 2009) ومع ذلك ونتيجة للتنوع العالي لجينوم بعض أنواع البكتريا لاسيما بكتريا الموجبة لصبغة غرام (Stover, *et.al.* , 2000) فان البكتريا يمكن ان تطور مقاومة أو تعمل على الاستغلال الامثل لوجود هذه المركبات في البيئة مما قد تعد صفة ايجابية لصالح البيئة أو ربما صفة سلبية إذا كانت هذه البكتريا ممرضة.

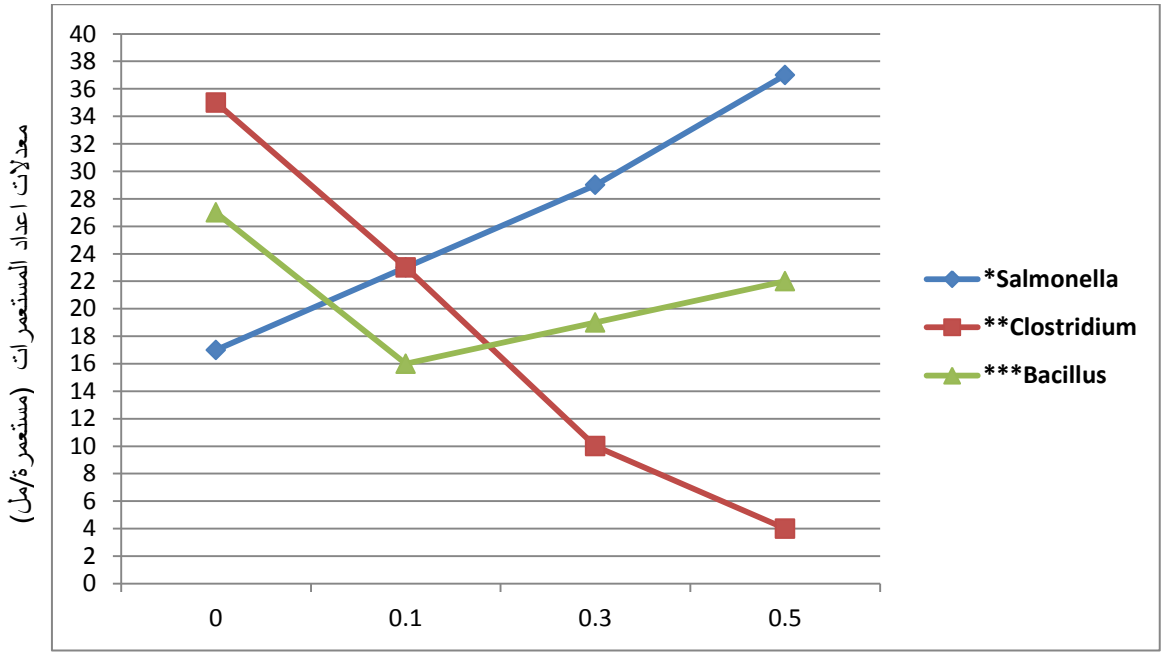
جدول (1) يوضح أعداد مستعمرات البكتريا النامية على ألاوساط الزرعية المعاملة بتراكيز مختلفة من مبيد Cypermethrin بعد 48 ساعة من الحضن .

البكتريا	التراكيز (ملغم/لتر)			
	السيطرة	0.1	0.3	0.5
pathogen *E.coli*	**133**	**112**	**117**	**123**
E.coli	**220**	**173**	**120**	**109**
Salmonella	**17**	**23**	**29**	**37**
Clostridium	**35**	**23**	**10**	**4**
Bacillus	**27**	**16**	**19**	**22**
Enterobacteriaceae	**125**	**178**	**189**	**175**
Total bacteria	**115**	**100**	**90**	**70**

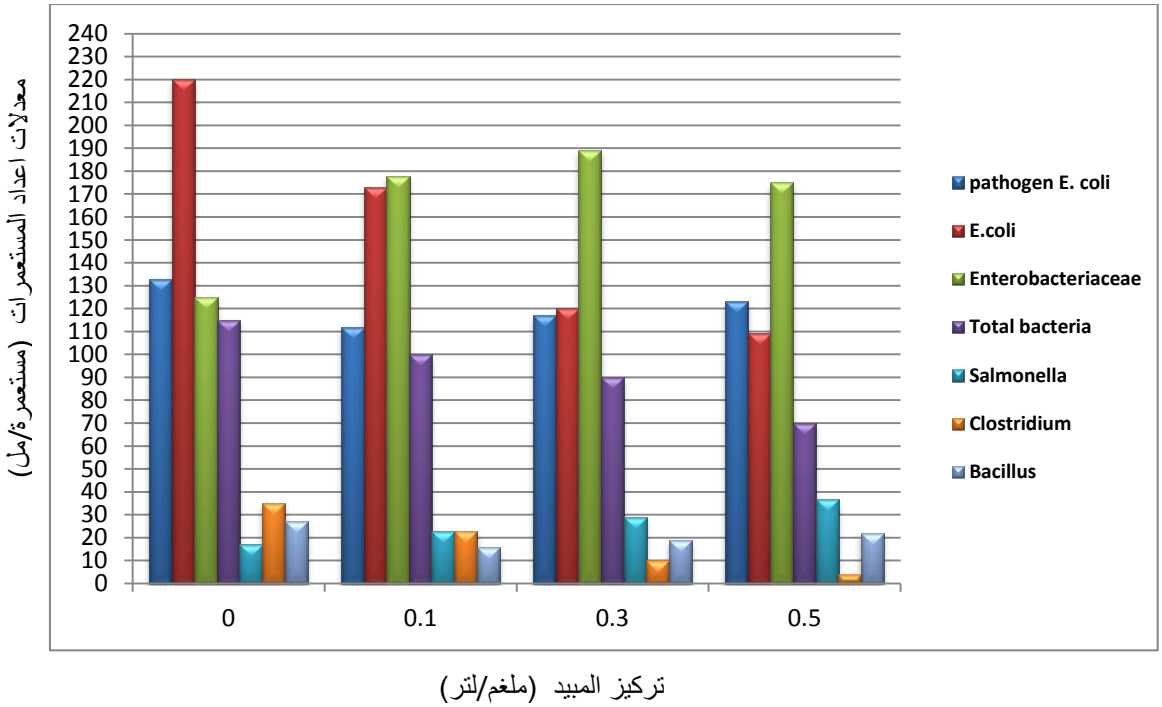
LSD= 1.151



شكل (1) يوضح التباين بين معدلات أعداد مستعمرات البكتريا (مستعمرة/مل) النامية على ألاوساط الزرعية المعاملة بتراكيز مختلفة من مبيد Cypermethrin بعد 48 ساعة من الحضن (r**=0.056, r***=0.031, r**=−0.089, r*=−0.0047).**



شكل (2) يوضح التباين بين معدلات أعداد مستعمرات البكتريا (مستعمرة/مل) النامية على ألاوساط الزرعية المعاملة بتراكيز مختلفة من مبيد Cypermethrin بعد 48 ساعة من الحضن (r*=−0.012, r**=−0.228, r*=0.092).**



شكل (3) يبين معدلات أعداد مستعمرات البكتريا (مستعمرة/مل) النامية على ألاوساط الزرعية المعاملة بتراكيز مختلفة من مبيد Cypermethrin بعد 48 ساعة من الحضن .

المصادر العربية

النعيمي, محمد عبد العال و طعمة, حسن ياسين. (2008). الاحصاء التطبيقي. الطبعة الأولى, دار وائل للنشر والتوزيع, عمان, الاردن.

References

Ahmed, S. and Shakeel M. A . (2006). Effect of insecticides on the total number of soil under laboratory and field conditions. Pak. Entomol., 28 (2): 63-68.

Akbar, S.; Sultan, S. and Kertesz, M. (2015) .community analysis of cypermethrin enrichment cultures and bioremediation of cypermethrin contaminated soils. Journal of basic microbiology Bacterial, 55 (7): 819–829.

Baker, S. and Dougan, G. (2007). The genome of *Salmonella* enteric serovar *Typhi*. Clinical Infection Disease, 45 (1) : 29-33.

Batchelor, M.; Hopkins, K. L.; Liebana, E.; Slickers, P.; Ehricht, R.; Mafura, M.; Aarestrup, F.; Mevius, D.; Cliftonhadley, F. A.; Woodward, M. J.; Davies, R. H.; Threlfall, E. J. and Anjum, M. F. (2008). Development of a miniaturised microarray-based assay for the rapid identification of antimicrobial resistance genes in Gram-negative bacteria. Int. J. Antimicrobiology Agents, 31 (5): 440–451.

Chen, S.; Luo, J.; Hu, M.; Lai, K.; Geng, P. and Huang, H. (2012). Enhancement of cypermethrin degradation by a coculture of *Bacillus cereus* ZH-3 and *Streptomyces aureus* HP-S-01. Bioresource Technology, 110: 97–104.

CPL Scientific Publishing Services Ltd. (2001). Material fact sheet: *Bacillus subtilis* . Worldwide Directory of Agrobiologicals, pp: 1-6.

Euzeby, J. P. (2013). List of prokaryotic names with standing in nomenclature - Genus Escherichia.

FDA (US. Food and Drug Administration). (2005). Bacteriological Analytical Manual. 18th Ed., AOAC, Washington, DC.

Forbes, B. A. (1998). Enterobacteriaceae. Baily and Scott's Diagnostic Microbiology. Baltimor, Mosby, pp: 509-526.

Griffin, A. S.; West, S. A. and Buckling, A. (2004).Cooperation and competition in pathogenic bacteria. Journal of Nature, 430: 1024-1027.

Grozdanov, L.; Raasch, C.; Schulze, J.; Sonnenborn, U.; Gottschalk, G.; Hacker, J. and Dobrindt, U. (2004). Analysis of the Genome Structure of the Nonpathogenic Probiotic *Escherichia coli* Strain Nissle 1917 . J. Bacteriol. , 186 (16): 5432–5441.

Guan, T. T. Y.; Blank, G.; Holley, R. A. (2005). Survival of pathogenic bacteria in pesticide solutions and on treated tomato plants. Journal of food protection, 2: 216-437.

Hacker, J. and Kaper, J. B. (2000). Pathogenicity islands and the evolution of microbes. Annual Revew Microbiol., 54: 641–79.

Hecht, G. (2001). Microbes and microbial toxins: paradigms for microbial–mucosal interactions. VII. Enteropathogenic *Escherichia coli*: physiological alterations from an extracellular position. Am. J. Physiol Gastrointest. Liver Physiol., 281: G1–G7.

Helgason, E., N. J.; Tourasse, R.; Caugant, M. D. A. and Kolstø, A. B. (2004). Multilocus sequence typing scheme for bacteria of the *Bacillus cereus* group. Appl. Environ. Microbiol.,70: 191–201.

Hibbing, M. E.; Fuqua, C.; Parsek, M. R. and Peterson, S. B. (2010). Bacterial competition: surviving and thriving in the microbial jungle. Nat Rev Microbiol., 8 (1): 15–25.

Ishii , S.; Ksoll, W. B.; Hicks, R. E. and Sadowsky, M. J. (2006). Presence and Growth of Naturalized *Escherichia coli* in Temperate Soils from Lake Superior Watersheds. Appl. Environ. Microbiol., 72 (1): 612-621.

Jeong, H.; Yi, H.; Sekiguchi, Y.; Muramatsu, M.; Kamagata, Y. and Chun, J. (2004). Clostridium jejuense sp. nov., isolated from soil. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 54: 1465–1468.

Jones, D. (2005). Environmental fate of Cypermethrin, Environmental Monitoring and Pest Management, Department of Pesticide Regulation, Sacramento, CA 95814-3510.

Kalyan, C. B.; Rambabu, N. and Philip, G. H. (2007). Study of Cypermethrin Cytogenesis effects on Human Lymphocytes Using In-Vitro Techniques. J. Appl. Sci. Environ. Manage., 11 (2): 77 – 81.

Kaper, J. B.; Nataro, J. P. and Mobley, H. L. (2004). Pathogenic Escherichia coli. National Review Microbiol., 2 (2): 123-40.

Khan, F.; Rizvi, M.; Shukla, I. and Malik, A. (2011). A novel approach for identification of members of Enterobacteriaceae isolated from clinical samples. Biology and Medicine, 3 (2): 313-319.

Klee, S. R.; O ¨zel, M.; Appel, B.; Boesch, C.; Ellerbrok, H.; Jacob, D.; Holland, G.; Leendertz, F. H.; Pauli, G.; Grunow, R. and Nattermann, H. (2006). Characterization of *Bacillus anthracis*-Like Bacteria Isolated from Wild Great Apes from Coˆte d'Ivoire and Cameroon. Journal of Bacteriology, 188 (15): 5333–5344.

Leggett, M. J.; McDonnell, G.; Denyer, S. P.; Setlow, P. and Maillard, J. Y. .(2012). Bacterial spore structures and their protective role in biocide resistance. Journal of applied microbiology, 113(3): 485–498.

Majid, M. R; Pahlaviani, K.; Massiha, A.; Issazadeh, K. and Muradov, P. Z. (2012). Biodegradation of Cypermethrin by using Indigenous Bacteria Isolated from Surface Soil. International Conference on Environment and Industrial Innovation (IPCBEE), 35: 71-76.

Moons, P.; Michiels, C. W. and Aertsen, A. (2009). Bacterial interactions in biofilms. Crit Rev Microbiol., 35 (3):157-68.

Murray, P. R.; Baron, E. J.; Jorgensen, J. H.; Pfaller, M. A. and Yolken, R. H. (2003). Enterobacteriaceae: Introduction and identification. In: Farmer, JJ III (eds). Manual of Clinical Microbiology. Elsevier, Philadelphia, USA, 647.

Nantel, J. A.; Balali-Mood, M.; Groszek, B.; Temple, W.; Langford, N.; Szajewski, J. M. D. and Tempowski, J. (2000). *Clostridium botulinum*: International Programme on Chemical Safety Poisons Information Monograph 858 Bacteria. World Health Organization, Warsaw Poisons Centre, Centre de Toxicologie du Québec, Erfurt, Germany.

Neghina, A. M.; Marincu, L.; Moldovan, R.; Iacobiciu, L. and Neghina, R. (2010). Foodborne botulism in southwest Romania during the post-communism period 1990–2007. International journal of infectious diseases, 14 (2): e96–e101.

Okinaka, P.; Jackson, J. and Hugh-Jones, M. E. (2000). Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis reveals genetic relationships within *Bacillus anthracis*. Journal of Bacteriol., 182: 2928–2936.

Prater, M. R., Blaylok, B. L. and Holladay, S. D. (2003). Molecular mechanisms of cis-urocanic acid and permethrin-indced alterations in cutaneous immunity. Photodermatology, Photoimmunology, and Photomedicine, 19 (6): 287-294.

Public Health England (PHE). (2015). Bacteriology – Identification: UK Standards for Microbiology Investigations, Identification of Enterobacteriaceae . UK Standards for Microbiology Investigations, Public Health England, 4: 6 - 34 .

Ramsay, E. C.; Daniel, G. B.; Tryon, B. W.; Merryman, J. I.; Morris, P. J. and Bemis, D. A. (2002). Osteomyelitis associated with *Salmonella enterica* SS arizonae in a colony of ridgenose rattlesnakes (*Crotalus willardi*). J. Zoo. Wildlife Medical, 33: 301-10.

Schatz, A.; Bugle, . and Waksman, S. A. (2014). Streptomycin, a Substance Exhibiting Antibiotic Activity Against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria. *Exp. Biol. Med. (Maywood)* , 55 (1): 66-69.

Schleier, J. J.; and Peterson, R. K. D. (2011). Pyrethrins and Pyrethroid Insecticides. Department of Land Resources and Environmental Sciences, Montana State university, Chapter 3, pp: 94-131 .

Sebaihia, M.; Wren, B. W,; Mullany, P.; Fairweather, N. F.; Minton, N.; Stabler, R.; Thomson, N. R.; Roberts, A. P.; Cerdeño-Tárraga, A. M.; Wang, H.; Holden, M. T. H. and et.al. (2006). The multidrug-resistant human pathogen *Clostridium difficile* has a highly mobile, mosaic genome. Nature Genetics, 38: 779 - 786 .

Slepecky, R. A. and Hemphill, H. E. (2006) .The Genus Bacillus—Nonmedical. Prokaryotes, 4: 530–562.

Sonnenborn, U. and Schulze, J. (2009). The non-pathogenic Escherichia colistrain Nissle 1917 – features of a versatile probiotic. Microbial Ecology in Health and Disease. 21: 122–158.

Stover, C. K.; Pham, X. Q.; Erwin A. L.; Mizoguchi S. D.; Warrener P.; Hickey M. J.; Brinkman F.S. L.; Hufnagle W. O.; Kowalik D. J.; Lagrou M. and Garber R. L. [1] et.al. (2000). Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen. Nature, 406: 959-964.

Su, L. H.; Chu, C.; Cloeckaert, A. and Chiu, C. H. (2008). An epidemic of plasmids? Dissemination of extended spectrum cephalosporinases among Salmonella and other Enterobacteriaceae. FEMS Immunology Medical Microbiology, 52 (2): 155–168.

Suyama, M. and Bork, P. (2001). Evolution of prokaryotic gene order: genome rearrangements in closely related species. Journal of Trends Genetic, 17: 10–13.

Tallent, S. M.; Kotewicz K.; Strain, E. and Bennett, R. (2012). Efficient Isolation and Identification of *Bacillus cereus* Group. Journal of AOAC International, 95 (2): 446-451.

Toynton, K.; Luukinen, B.; Buhl, K.; Stone, D. (2009). Permethirn Technical Fact Sheet; National Pesticide Information Center, Oregon State University Extension Services.

Tuohy, K. M.; Ziemer, C. J.; Klinder, A.; Knöbel, Y.; Pool-Zobel, B. L. and Gibson, G. R. (2002). A Human Volunteer Study to Determine the Prebiotic Effects of Lactulose Powder on Human Colonic Microbiota. Microbial Ecology in Health and Disease, 14 (3): 165-173.

U.S. Environmental Protection Agency .(2007). Eligibility Decision (RED) for Permethrin; Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substance, Office of Pesticide Programs, Reregistration 2. ,U.S. Government Printing Office: Washington, DC.

United States Environmental Protection Agency. (1989). Cypermethrin Pesticide. Fact Sheet,Washington, D.C.

Wagner, P. L . ; Livny, J.; Neely, M. N . ; Acheson, D. W. K . ; Friedman, D. I . ; Waldor, M. K . (2002). Bacteriophage control of Shiga toxin 1 production and release by *Escherichia coli*. Molecular. Microbiology, 44: 957–970 .

Warnick, T. A.; Methe, B. A. and Leschine, S. B. (2002). *Clostridium phytofermentans sp*. nov., acellulolytic mesophile from forest soil. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 52: 1155–1160

Weiner, M. L.; Nemec, M.;Sheets, L,; Sargent, D. and Breckenridge, C. (2009). Comparative functional observational battery study of twelve commercial pyrethroid insecticides in male rats following acute oral exposure. Neurotoxicology, Suppl., 1: S1-16.

Winn, W. J.; Allen, S.; Janda, W.; Koneman, E.; Procop, G.; Schreckenberger, P. and Woods, G. (2006). . Enterobacteriaceae. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Lippincott Williams and Wilkins, USA, pp: 212-289.

Yagoub, S. O. (2009). Isolation of Enterobacteriaceae and *Pseudomonas* spp. from raw fish sold in fish market in Khartoum state. Journal of Bacteriology Research, 1(7): 085-088.

Zhang , B.; Zhang, H.; Jin, B.; Tang, L.; Yang, J.; Li, B.; Zhuang, G. and Bai, Z. (2008). Effect of cypermethrin insecticide on the microbial community in cucumber phyllosphere. Journal of Environ. Sci. (China), 20 (11): 1356-62.

Zigha, A.; Roesnfield, E.; Schmitt, P. and Duport, C. (2006). Anaerobic cells of Bacillus cereus F4430/73 respond to low oxidoreduction potential by metabolic readjustments and activation of enterotoxin expression. Archives of Microbiology, 185: 222-233.