اثر المبيد الفطري بافستين في سكان بكتريا *Azotobacter chroococcun* وبكتريا *Rhizobium leguminosarum*

زيد رعد عباس
الجامعة المستنصرية كلية العلوم قسم علوم الحياة

هادي مهدي عبود
وزارة العلوم والتكنلوجيا دائرة البحوث الزراعية

رياض عباس عبد الجبار
جامعة تكريت كلية العلوم قسم علوم الحياة

الخلاصة .

اظهرت نتائج اثر المبيد الفطري بافستين بالجرعة الموصى بهـا 500 مل/هكتـار وبضعف الجرعة الموصى بها (1 لتر / هكتار) في سكان بكتريا *A. chroococcum* و *R. leguminosarum* ان التأثير اعتمد على نوع البكتريا وتركيز المبيد في الفترة الزمنية مابعد المعاملة . احدث مبيد البافستين بالجرعة الموصى بها وبضعف الجرعة الموصى بها خفضا معنويا في سكان بكتريا *A. chroococcum* بعد 3 ايام وبعد 60 يوم من المعاملة اذ بلغ 53 × 10^5 وحدة مكونة لمستعمرة / 1غم تربة 68 × 10^5 وحدة مكونة لمستعمرة / 1غم تربة 42× 10^5 وحدة مكونة لمستعمرة / 1غم تربة, 58× 10^5 وحدة مكونة لمستعمرة / 1غم تربة مقارنة بمعاملة المقارنة التي سجلت 81× وحدة مكونة لمستعمرة / 1غم تربة و85 × 10^5 وحدة مكونة لمستعمرة / 1غم تربة وعلى التوالي .

لم يحدث مبيد البافستين خفضا معنويا لسكان البكتريا *R. leguminosarum* في الجرعة الموصى بها بعد 3 ايام و 60 يوم من المعاملة اذ سجل 10 × 10^5 وحدة مكونة لمستعمرة / 1غم تربة, 17 × 10^5 وحدة مكونة لمستعمرة / 1غم تربة مقارنة بمعاملة المقارنة التي سجلت 14× 10^5 وحدة مكونة لمستعمرة / 1غم تربة و 18× 10^5 وحدة مكونة لمستعمرة / 1غم تربة في الوقت الذي احدثت ضعف الجرعة الموصى بها من المبيد خفضا معنويا لسكان البكتريا بلغ 7× 10^5 وحدة مكونة لمستعمرة / 1غم تربة , 11× 10^5 وحدة مكونة لمستعمرة / 1غم تربة وعلى التوالي .

المقدمة

استخدمت الكيميائيات الزراعية بشكل عام والمبيدات الكيميائية بشكل خاص كاحد اهم مدخلات العملية الزراعية لزيادة الانتاج الزراعي بما يوافق الزيادة الهائلة في سكان العالم اذ يقدر ان يصل سوق المبيدات العالمي عام 2013 بحوالي 73 مليار دولار امريكي (1) مما لا شك فيه ان المبيدات الزراعية لعبت دورا مهما في تلافي الخسارة التي تحدثها الافات الحشرية والمرضية والادغال وبما يلائم الطلب المتزايد على الغذاء الى ان الاستخدام المكثف لهذه المبيدات في ادارة الافات الزراعية حمل معه اثار سلبية على التربة الزراعية من اهمها تعرض احياء التربة المجهرية لاسيما تلك المحيطة بالجذور الى تأثير مباشر وغير مباشر جراء استعمال هذه المبيدات العشوائي واحيانا غير المبرر. (2 , 3) من بين اهم المبيدات التي تستخدم لمكافحة المسببات المرضية الفطرية هو المبيد الفطري Bavistin (carbendazim) وهو من المبيدات الفطرية الواسعة الطيف التي تستخدم لمكافحة العديد من الامراض النباتية (4) الا ان تاثيره في الاحياء المجهرية بشكل عام والبكتريا المثبتة للنتروجين بشكل خاص غير مدروس في العراق لذا هدفت هذه الدراسة للتحري عن تأثير المبيد الفطري البافستين بالجرعة الموصى بها وبضعف الجرعة في مجتمع بكتريا *Azotobacter chroococcum* .

المواد وطرق العمل

استخدمت في هذه الدراسة عزلة من البكتريا *A. chroococcum* تم عزلها من تربة مزرعة للخيار في منطقة التويثة (30 كم جنوب بغداد) على الوسط الزرعي الموصوف من قبل (5) والمكون من المواد التالية / لتر ماء glucose (10gm , K_2Hpo_4 1gm , $CaCl_2$ 0.1gm, $MgSo_4.\ 7H_2o$ 0.2gm , $FeSo_4.7H_2o$, $Na_2MoO_4.2H_2o$ 0.002gm , PH= 7.5)

وبأستخدام طريقة التخافيف العشرية . شخصت العزلة بعد تنقيتها وفق الطريقة الموصوفة من قبل (5) اعتمادا على صفاتها الزرعية والكيميائية (6) .

حضر اللقاح البكتيري للعزل على وسط المذكور من قبل (5) واستخدام بواقع 10 مل من مزارعها بعمر 2 يوم لكل اصيص سعة 2 كغم تربة(يحتوي 10^9 cfu / ا مل).

أما عزلة البكتريا *R. leguminosarum* فقد تم الحصول عليها من مركز التقانات الاحيائية / دائرة البحوث الزراعية التي تم عزلها من محصول الماش . نشطت العزلة وتم اكثارها على الوسط الزرعي الموصوف من قبل (7) والمكون من المواد التالية / لتر ماء (Mannitol 10 gm , K_2Hpo_4 0.2 gm , $MgSo_4.7H_2o$ 0.1 gm , Yeast Extract Powder 0.2 gm , KH_2Po_4 , $CaCl_2.\ 2H_2o$ 0.05) استخدمت بواقع 10 مل من مزارعها على الوسط اعلاه / اصيص 2 كغم تربة (10^9 cfu / ا مل) .

نفذت تجربتين بالظلة للتحري عن تأثير المبيد الفطري Bavistin بالجرعة الموصى بها (500 مل / هكتار) وبضعف الجرعى الموصى بها (1000 مل / هكتار) حيث جهزت لكل تجربة 24 اصيص بلاستيكي سعة 2 كغم تربة (2: 1 تربة مزيجية الى بتموس) معقمة بجهاز الاوتوكليف على درجة حرارة 121 / م وضغط 1 بار وليومين متعاقبين وزرعت الاصص داخل الظلة وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة وبواقع 4 اصص بلاستيكية لكل معاملة من المعاملات الاتية:-

1. تربة معاملة ببكتريا *A. chroococcum* فقط
2. تربة معاملة ببكتريا *A. chroococcum* وبالمبيد الفطري Bavistin بالجرعة الموصى بها
3. تربة معاملة ببكتريا *A. chroococcum* وبالمبيد الفطري Bavistin بضعف الجرعة الموصى بها
4. تربة معاملة ببكتريا *R. leguminosarum* فقط

5. . تربة معاملة ببكتريا *R. leguminosarum* وبالمبيد الفطري Bavistin بالجرعة الموصى بها

6. . تربة معاملة ببكتريا *R. leguminosarum* وبالمبيد الفطري Bavistin بضعف الجرعة الموصى بها

وبعد 3 ايام من المعاملة زرعت الاصص ببذور المـــاش صـــنف محلـــي (10 بذرة/ اصيص) سحبت نماذج من تربة كل معاملة للتحليل الميكروبي لحساب سكان بكتريا *A. chroococcum* و *R. leguminosarum* قبل وبعد المعاملـــة بالمبيـــد بأستخدام طريقة التخافيف العشرية على الوسط الزرعي الموصوف مـــن قبـــل (5) سقيت الاصص بالماء المعقم وتم متابعتها لتسجيل النسبة المئويـــة للانبـــات وبعـــد اكتمال الانبات خفت النباتات الى 3 نباتات لكل اصيص وبعد مـــرور شـــهرين تـــم حساب سكان البكتريا *A. chroococcum* و *R. leguminosarum*

النتائج والمناقشة

اظهرت نتائج اثر المعاملة بمبيد البافستين بالجرعة الموصى بها وبضعف الجرعة في سكان بكتريا *A. chroococcum* ان التأثير اعتمد على الجرعة المستخدمة و الفترة الزمنية بعد المعاملة الجرعة المستخدمة (جدول 1)

ت	المعاملة	العدد الكلي لسكان بكتريا *Azotobacter chroococcum* 10^5 x		
		قبل رش المبيد	بعد 3 ايام	بعد 60 يوم
	المقارنة	33	a 81	c 85
1	500 غم / هكتار Bavistin	33	b 53	b 68
2	1000 غم / هكتار Bavistin	33	c 42	a 58

فقد اظهر مبيد البافستين تأثيرا سلبيا في سكان البكتريا خصوصا بعد 3 ايام من المعاملة اذ بلغ العدد الكلي لسكان بكتريا *A.chroococcum* 53 , 42 × 10^5 cfu/ 1غم تربة عند استخدام الجرعة الموصى بها من المبيد وضعف الجرعة مقارنتا بمعاملة المقارنة التي سجلت 81 × 10^5 cfu / 1غم تربة وعلى التوالي وعلى الرغم من ان هذا التأثير اصبح اقل بعد 60 يوم من المعاملة (68, 58 × 10^5cfu / 1غم تربة) الا انه بقى مختلفا معنويا على معاملة المقارنة التي سجلت 85 × 10^5 cfu /1غم تربة بالجرعتين الموصى بها وضعفها وعلى التوالي ان هذه النتائج تتفق مع ماذكره (8) الذي وجد ان مبيد ال Bavistin له تأثير مختلف في احياء التربة المجهرية وان هذا التأثير يكون اشده بعد 20 يوم الاولى من المعاملة بعدها يكون اقل شدة بتقدم الزمن كما تتفق هذه النتائج مع ماسجله (4) الذي وجد ان مبيد البافستين يختزل مجتمع البكتريا المثبتة للنتروجين الجوي ومنها بكتريا *Azotobacter* في جميع التراكيز المختبرة على عكس مبيد Mancozeb الذي يحفز نمو هذه البكتريا عند استخدامه بالتركيز 1غم / لتر ويثبطها في التراكيز الاعلى من ذلك.

اما فيما يخص تأثير مبيد البافستين في بكتريا .*R. leguminosarum* فقد اظهرت نتائج اثر المعاملة بالجرعة الموصى بها وبضعف الجرعة في سكان بكتريا *R. leguminosarum* ان التأثير اعتمد على تركيز المبيد والمدة الزمنية بعد المعاملة (جدول 2)

ت	المعاملة	العدد الكلي لسكان بكتريا *Rhizobium leguminosarum* x 10^5		
		قبل رش المبيد	بعد 3 ايام	بعد 60 يوم
	المقارنة	12	a 14	a 18
1	500 غم / هكتار Bavistin	12	b 10	a 17
2	1000 غم / هكتار Bavistin	12	b 7	b 11

ففي الوقت الذي لم تظهر معاملة مبيد البافستين تأثيرا سلبيا معنويا في سكان بكتريا *R. leguminosarum* بعد 3 ايام و 60 يوما من المعاملة (10, 17 × 10^5 cfu / اغم تربة) مقارنتا بسكان البكتريا في معاملة المقارنة (14 , 18 × 10^5 cfu / اغم تربة) وعلى التوالي، لكن احدثا خفضا معنويا لسكان البكتريا كما اظهرت المعاملة بضعف الجرعة الموصى بها من مبيد البافستين بعد 3 ايام و 60 يوم من المعاملة اذ سجلت (7× 10^5 cfu / اغم تربة) و (11× 10^5 cfu / اغم تربة) مقارنة بمعاملة المقارنة التي سجلت (14 , 18 × 10^5 / اغم تربة) بعد 3 ايام من المعاملة 60 يوم وعلى التوالي . ان هذه النتائج تؤكد ان مجتمع البكتريا ممكن ان يتتطور في التربة بعد مرور 60 يوم من المعاملة , لكن قد لا يأتي هذا من صالح النبات الذي وصل مرحلة الحصاد او تكوين البذور , لكن قد يأتي بنتائج ايجابية في الموسم القادم نتيجة لتطور هكذا سلالات متحملة للمبيد. توكد هذه النتائج ما توصل اليه (9) من ان المبيدات الفطرية لها تأثيرات سلبية في مجتمع الاحياء المجهرية عند استخدامها بالتراكيز العالية , اذ ينتمي مبيد البافستين الى مجموعة مبيدات البنزيميدازول التي تمتاز بفعاليتها في استحداث طفرات وراثية في الاحياء المعرضة لها (10) وبالتالي امكانية تأثيرها بشكل مباشر في تكاثر البكتريا وامكانية حدوث طفرات في مجتمع البكتريا تقود الى تطور سلالات متحملة للمبيد الامر الذي يفسر زيادة اعدادها بعد 60 يوم من المعاملة فضلا عن حدوث تحلل للمبيد اوغسله من التربة.

المصادر

1- Grube A. D., Donaldson, Kiely, Tiomthy, K. and Wu, L. 2011. Pesticides Industry Sales and usage: 2006 and2007 Market Estimates. United State Environmental protection Agency:33pp.

2- Magdoff, F., and Vanes , H., 2000. Building soils for Better crops. Sustainable agriculture network hand book series , book 4. Publisher: SARE outreach.

3- Ros, M., Pascual, J.A., Garcia, C., Hernandez, M.T., and Insam, H., 2006 .Hydrolase activities, microbial biomass and bacterial community in a soil after long-term amendment with different Composts. Soil Biology & Biochemistry 38:3443-3452.

4- Aggarwal A., Sharma D., Parkash V., Sharma S.,Gupta A. 2005. Effect of Bavistin and Dithane M-45 on the Mycorrhizae and Rhizosphere microbes of sunflower. Helia. 42:75-88.

5- Harold, J. Benson , W. C. B., M. C. Grawlt. 1998. Microbiological applications laboratory manual in general microbiology. Seventh Edition.

6- Shankarapp, T. H. and A. R. Madhav Rao. 1998 .Characterization and Identification of Azotobacter strains Isolated. from Mulberry Rhizosphere Soil. In : Biofertilizers and Biopesticiders. Deshmukh, A.M.. India. 1: 1-3.

7- Khanuja, S. P. S. and Kumar, S.1989. Symbiotic and galactose utilization properties of phage RMP64 resistant mutants affecting three complementation group in *Rhizobium meliloti*. J. Genet., 68: 93-108.

8- Sudhakar, P., G.N Chattopadhyay, S.K. Gangwar, J.K. Ghosh and B. Saratchandra.2000. Effect of common pesticides on nitrogen fixing bacteria of mulberry. Indian J. of Agric.Res.34:211-216.

9- Pandita, T.K. 1988.Assessment of mutagenic potential of fungicide Bavistin using multiple assays. Mutation Research. 204:627-643.

10- Rahman, M.M., Kim, T., Rhee, I. and Kim J. 2003. Effect of the fungicide chlorothalonil on microbial activity and nitrogen Dynamics in soil Ecosystem. Agric. Chem. Biotechnol. 46: 169-173.

The effect of Bavistin fungicide on the population of *Azotobacter chroococcum* and *Rhizobium leguminosarum*

Zaid Raad Abbas* Hadi Mahdi Aboud ** Riedh Abass Abdul Jabbar ***
* Al- Mustansiriya University College of Sciences Biology department
** Ministry of Science and Technology Directorate Agricultural Research
*** Tikrit University College of Sciences Biology Department

Abstract

The result. of the influence of Bavistin fungicide at recommended (500 ml / h.) and fold recommended dose on the population of *A. chroococcum*. and *R. leguminosarum* were found to be fungicide concentration and the period after treatment dependent.

Bavistin at recommended and fold recommended dose induced significant reduction in *A. chroococcum* population at 3 days and 60 days after application which recorded 53 × 10^5 cfu/1gm soil , 86 × 10^5 cfu /1 gm soil and 48 ×10^5 cfu / 1gm soil 85 cfu / 1gm soil compared with control treatment which recorded 81 × 10^5 cfu / 1gm soil , 85× 10^5 cfu / 1gm soil respectively.

Bavistin didn't induce significant reduction in *R. leguminosarum* at recommended dose after 3days and 60 days of application which recorded 10 × 10^5 cfu / 1gm soil , 17 × 10^5 m cfu / 1gm soil as compared to control treatment which recorded 14 × 10^5 cfu /1gm soil , 18 × 10^5 cfu / 1gm soil while the fold recommended soil induced significant reduction in bacterial population which recorded 7 × 10^5 cfu / 1gm soil , 11 × 10^5 cfu / 1gm soil respectively