AUCES

دراسة تأثير مبيدات حشرية شائعة محلياً على البكتيريا ذات الأهمية الاقتصادية في التربة

إيمان الصادق منصور الحمادى

قسم التربة والمياه، كلية الزراعة، جامعة طرابلس، ليبيا

emanbensaeed@gmail.com

الملخص العربي :

تهدف هذه الدراسة إلى التعرف على تأثير تركيزات مختلفة من مبيد الدورسبان والديسيس الشائعة على العدد الكلي لبكتريا النيتروزوموناس والنيتروباكتر والمحللة للسيليلوز بالتربة خلال فصلي الشتاء والربيع من الموسم الزراعي ٢٠١٢ / ٢٠١٣ تم اختيار معدلات ثابتة للمبيدين (نصف – بنفس – ضعف) التركيز ، تم معاملة التربة بالمبيدين كلاً على حده بالتركيز المنصوص عليه لكل مبيد باستخدام آلة رش سعة ١٠ لتر ، مع عينة شاهد بدون معاملة . نتائج المبيدين بينت تأثيرها على المجموعات البكتيرية، وارتبط تأثير المبيدين بدرجة التركيز المضافة ، فانخفضت أعداد بكتيريا النيتروزوموناس والنيتروباكتر والمحللة للسليلوز عند الضعف والكمية المنصوص بها حيث استمر لفترة زمنية بعد معاملة التربة لتأكد تأثيرها بشكل عام وليس بفعل انخفاض كمية النيتروجين اللازم لتحليل الكربون العضوي ، بينما لم يؤثر تركيز النصف للمبيدين على أعداد بكتريا النيتروزوموناس وتحليل السليلوز فقد عاد ليرتفع فى الأسابيع الأخيرة ليدل على التحلل الحيوى للمبيد ولا وجود لتأثير تثبيطى لهذا التركيز على المجموعتين. بالنسبة للنيتروباكتر انخفضت أعدادها فى تركيز النصف فى المبيدين فى الأسابيع الأخيرة بعد أن ارتفعت فى الأسابيع الأولى لكن الدورسبان عاد ليرتفع فى آخر اسبوع مما يدل على التأثير التراكمى لديسيس أما الدورسبان فأن انخفاض الأعداد كان بفعل تناقص كمية المبيد وحدوث التحلل الحيوى ولا وجود لتأثير تراكمى لهذا المبيد. وبمقارنة المبيدين تبين أن تأثير التركيزات العالية للمبيدين متشابهة على أعداد المجموعات الهامة اقتصاديا ، بينما اختلف تأثير تركيز النصف فى بكتريا النيتروباكتر عن بكتريا النيتروزوموناس وتحليل السليلوز التى تشابهت فى هذا التركيز أيضا . من خلال التحليل الإحصائي تبين بأن هناك تأثير عالى المعنوية للتداخل بين نوع المبيد وتركيزه ، والمبيد يعتمد على تركيزه في إظهار التأثير على أعداد بكتيريا التأزت وتحلل السليلوز عند مستوى المعنوية ٠.٠٥.

المقدمة

ظهرت أهمية المبيدات في الزراعة حيث أصبحت عنصراً أساسياً لزيادة الإنتاج دون التنبه للأخطار البيئية المصاحبة لهذا التوسع في الاستعمال . فى السنوات الأخيرة بدأ التركيز على دراسة مدى تأثير هذه المبيدات على الكائنات الحية الدقيقة في التربة. حيث أنه من المعروف بأنها ذات أهمية كبيرة في الكثير من العمليات الحيوية المهمة سواء للتربة أو للنبات ونتيجة لوصول هذه المبيدات إلى التربة عن طريق إضافتها لسطح التربة مباشرة أو عن طريق رشها على النباتات ووصول بقايا الرذاذ إلى السطح أو عن طريق أوراق النباتات الميتة والمتساقطة أو نتيجة لتسرب هذه المواد مع مياه الري وجدت علاقة بين المبيدات والكائنات لذلك يمكن تناول هذه العلاقة الناشئة بينهما من ناحيتين. فالناحية الأولى هي أن هذه الكيميائيات صممت خصيصاً لتثبيط أو قتل أنواع معينة من الآفات بالذات ولكن هذا لا يمنع أن بعضها على الأقل قد يكون له تأثير ضار على أنواع لا تدخل ضمن الآفات بما فيها أنواع الكائنات الدقيقة المتواجدة في التربة ، فالتراكيز القاتلة من المبيدات للأحياء الدقيقة غير المستهدفة في

التربة هو من الأهداف التي يسعى الباحثون لمعرفة تأثيرها قبل استعمال المبيد خاصةً على البكتيريا ذات الأهمية الاقتصادية إن ١ %فقط من المبيد يصل الى الافة المستهدفة والكمية المتبقية تذهب الى كائنات حية اخرى في التربة غير مستهدفة تصل إلى آلاف الانواع مما يؤدي إلى احداث خلل في توازن المجاميع الميكروبية (العادل ٢٠٠٦) ، وقد يتعدى ذلك الى القضاء على الأحياء الدقيقة الاقتصادية ، ومنها بكتريا التأزت والبكتريا المثبتة للنتروجين الجوي والأحياء المحللة للمادة العضوية (Alexander, 1982 ; Keeney,1998) William and . كما أن تأثير المبيدات على الكائنات الحية الدقيقة في التربة سوف يختلف حسب نوع المبيد ، والجرعة المستخدمة، والفترة الزمنية التي استُخدم فيها المبيد ، والفترة الزمنية التي تلت المعاملة به؛ فقد وجد أن استخدام المبيدات الحشرية الفوسفورية مثل الدروسبان والجاردونا، أدى إلى تنشيط ميكروبات التربة وخصوصًا تلك المسؤولة عن تحولات النتروجين . وأظهرت أنواع أخرى من المبيدات الحشرية الفوسفورية (الجاردونا والسيولين) زيادة في أعداد الفطريات (Alexander, 1994) . وتبين أن دور الميكروبات في تفكيك المبيدات يتوقف على نوع المبيد والتركيز المضاف منه (Jerzy Dec and Bollag 2001) وفي تجارب تمت لدراسة تأثير المبيد الحشري الفوسفوري Chloropyrifos وجد أن استخدامه قاد إلى تغيير في وظائف وتركيبة الأحياء الدقيقة(Mohammad et al ,2001) كما عملت بعض المبيدات إلى سيادة أنواع ومجموعات ميكروبية على حساب مجموعات أخرى (Bollag, 1974) . بالرغم من ذلك استطاعت أعداد كبيرة من الكائنات الحية الدقيقة أن تتأقلم مع أنواع مختلفة من المبيدات –EL) (Shahawy etal ,1986 . وفى دراسة أخرى لتعرف على تأثير المبيدات على انواع كائنات التربة الدقيقة تم استخدام أنواع من المبيدات الشائعة وهى مبيدات حشرية (Marshal EC أو Posse) وعشبية (تريفلان أوديجرمينDigermin) وفطرية (بينوميل Benomyl أوBell) وتحديد تأثيرها على أعداد بكتريا النشدرة والأكتينومايسيتات والفطريات والبكتيريا االمتبوغة ، تبين زيادة أعداد الأكتينومايسيتات والفطريات عند استخدام المبيد الحشري مقارنة بالفطرية والعشبية وانخفاض اعداد البكتريا المتبوغة بشكل كبير وفسر ذلك بأن المبيد الحشرى لم يخلق ظروف غير ملائمة تشجع على التبوغ فانخفضت أعدادها بينما بلغت أعداد الأكتينومايستات إلى ذروتها بفعل قدرة الأخيرة المعروفة على تفكيك المواد العضوية المعقدة الداخلة في التركيب الكيميائي للمبيد كما ارتفعت أعداد بكتريا النشدرة ويمكن أن يعود ذلك إلى أن هذه البكتيريا ربما قامت بتحطيم حيوي للمبيد المستخدم. (العيسى، ٢٠٠٩) ومن الناحية الثانية فأن جميع المبيدات الحديثة تقريباً عبارة عن مركبات عضوية وبذلك تكون عرضة للتمثيل الغذائي وهذا يؤدي إلى تحوير أو إبطال لمفعولها النشط وعلى ذلك فقد ركز الاهتمام على الاحتمالات التالية ، الأول تثبيط هذه المبيدات لأعداد وأنشطة مجتمع الميكروبات المستوطنة بالتربة. فقد بينت دراسة حول إمكانية استخدام سلالات البكتيريا المثبتة للنيتروجين والتي لها القدرة على زيادة إنتاجية النبات بدون أن تتأثر بمعاملات المبيد التي تستخدم في العمليات الزراعية وذلك بعزل سلالات منها مقاومة للمبيدات، ثم دراسة حساسية هذه العزلات البكيترية التي أعطت أعلى

نتائج في تثبيت النيتروجين ونمو النباتات لست مبيدات حشرية و سبع مبيدات فطرية ، فأوضحت النتائج أن المبيدات الحشرية لم يكن لها تأثير على المعزولات المختارة (العبود ، ٢٠٠٦)، والثانى ،أن التمثيل الغذائي لهذه المركبات بواسطة الكائنات الدقيقة يؤدي إلى تعديل في مفعولها النشط أو في طول المدة التي تبقى فيها على صورة نشطة بالتربة. وجد أن الكميات الصغيرة من المبيدات التى تتعرض لفعل الميكروبات ولفترات طويلة يحدث لها تحلل وتتحول إلي جزيئات صغيرة ومن أهم الدراسات في هذا الاتجاه استخدام البكتيريا في تكسير المبيدات الفسفورية العضوية كما أثبتت بعض الدراسات أن فطري أسبرجيللس فلافس وإسبرجلسس سيديوي من أفضل الأنواع الفطرية المختبرة في إنتاج إنزيم الفوسفاتيز المحلل لتلك المبيدات الفسفورية العضوية (فاروق ، ٢٠٠٨) وبفعل التأثيرات المختلفة للمبيدات ، واحتمالات تأثيراتها السلبية فقد تم اختيار أكثر المبيدات استعمالا وانتشارا على المستوى المحلى وتقويم تأثيراتها على كائنات التربة الدقيقة ، وبذلك كانت أهم اهداف الدراسة الأتى ، الاهتمام بدارسة بعض المبيدات شائعة الاستعمال في التربة وتأثيراتها على أنشطة الأحياء الدقيقة ذات الأهمية الاقتصادية وفي تحولات العناصر الغذائية في التربة،عند إضافتها بتركيزات مختلفة بطريقة غير مباشرة والتي قد يؤدي تمثيلها لهذه المركبات على بقائها في التربة بصورة فعالة . أن قياس تأثير هده المبيدات يعتمد على استخدام معدلات مختلفة منها للوصول إلى التأثير الضار أو النافع خاصة عند استعمال هده المبيدات من قبل بعض المزارعين بدون وجود توجيه وإرشاد زراعي من قبل المتخصصين عن كيفية وكمية المبيد التي يجب أن تضاف ، وهذا قد يؤدى إلى زيادة كمية المبيد عن المنصوص بها مما يؤدى إلى نتائج سلبية على البيئة الزراعية وأحيانا قد تقل بالتالي لايمكن الوصول لنتائج المرجوة .

كيفية تفاعل المبيدات في التربة :

أشار كل من (Alexander,١٩٨٢) و (طه ،١٩٧١) و (شارلز وآخرون، ١٩٦٢) إلى أنه إذا ما أخذ في الاعتبار اختلاف أفراد مجتمع الميكروبات في خواصها الفسيولوجية ومقدرتها على التمثيل الغذائي للعديد من المواد فإنه تستخدم المبيدات المختلفة كغذاء لميكروبات التربة والتي تقوم بتمثيلها بطريقتين هما ، الأولى تدعم المادة الكيميائية نمو الميكروبات حيث تستخدم كمصدر للكربون والطاقة وأحياناً للنيتروجين وفي هذه الحالة تزداد كثافة الأنواع النشطة في التربة المعاملة بالمبيد ويصاحب هذه الزيادة العددية في الميكروبات اختفاء المركب الكيميائي، والثانية أن المادة الكيميائية على الرغم من تمثيلها لا تستخدم كمصدر غذائي وهذا ما يعرف بالتمثيل الغذائي المشترك وهو عبارة عن التمثيل الغذائي لأحد المركبات بواسطة الميكروبات التي لا تستطيع خلاياها استخدام هذا المركب كمصدر للطاقة أو كأحد العناصر الغذائية الأساسية لنموها . المبيدات التى استعملت فى هذه الدراسة هى من المبيدات الفوسفورية العضوية ومركبات البيروثوريدات وقد تطور استعمالها في الخمسينات من القرن العشرين ، وهى من المبيدات غير مستقرة فهى لا تستمر طويلاً في البيئة، وتتفكك حيويا بسرعة في التربة فقسم من الكربون المكون للمبيد سوف يستعمل فى بناء خلايا جديدة مثل بكتيريا السليلوز وهى بكيتريا غير ذاتية التغذية اذا ارتفعت اعدادها عند التركيزات القليلة وليست مضاعفة .

وبذلك درجة التركيز المضاف من المبيد أثرت على أعداد هذه البكتيريا بينما بكيتريا التأزت من الأنواع ذاتية التغذية وهى لا يمكنها استعمال الكربون فى هذه المبيدات وتستعمل مركبات النيتروجين كمصدر للطاقة أو مركبات أخرى من دون الإفادة منه كمصدر غذائى ، وبالتالى اختلاف الخواص الفسيولوجية لمجاميع التربة الدقيقة يؤدى الى اختلاف قدرتها التمثيلية للمركبات .

طرق اختبار تأثير المبيدات في التربة :

حدد كل من (Rangaswami,1966) و (Stevennso , 1967) طرق قياس النشاط الميكروبي في التربة إلى التأزت : تتأثر عملية التأزت (النترتة) كغيرها من النشاطات الميكروبية بالتربة بإضافة المبيدات ويتفاوت هذا التأثير بالزيادة والنقصان في هذه العملية تبعاً لعدة عوامل من أهمها التركيب الكيميائي للمبيد وأهمية بكتيريا التأزت حيث تكمن في أنها تقوم بتحويل الأمونيوم إلى نتراث وهي المادة الأساسية لدورة النيتروجين وتغذية النبات. إضافة مواد عضوية للتربة، وتنقية بيئة التربة من بقايا النباتات، وتحليل المواد النباتية والحيوانية إلى مواد بسيطة ومعقدة وهي أساس تكوين ما يعرف بذبال التربة. ومن أهم الأجناس المحللة للسليلوز : Bacillus, Pseudomonas, Cytophage.

المواد وطرق البحث:

موقع الدراسة: أجريت هذه الدراسة في محطات التجارب بكلية الزراعة بجامعة طرابلس. وذلك خلال فصلي الشتاء والربيع للموسم الزراعي٢٠١٢ / ٢٠١٣ ، بحيث تم اختيار حقل لم يسبق معاملته بأي مبيد كيميائي ومن ثم إجراء العمليات الزراعية (التسوية – تخطيط الحقل). وقد تم استعمال نوعين من المبيدات الشائعة وهما :-

- مبيد الدورسبان كلوربيريفوس إثيل (chlorpyrifos) وصيغته الكيميائية $C_9H_{11}CL_3NO_3PS$- من المبيدات الفوسفورية العضوية مشتقة من حامض الفسفوريك ، ومن صفات هذه المجموعة أنها أقل استمرار فى البيئة من مركبات الكلور العضوية ويفعل سميتها المنخفضة فقد حلت تلقائيا محل مركبات الكلور العضوية . شكل المبيد وتركيزه ، فى شكل مستحلبات أو مركزات قابلة للإستحلاب : وهى عبارة عن محلول زيتي مركز يخفف بالماء قبل الاستعمال ، بعد التخفيف بالماء يتكون مستحلب يشبه فى مظهره اللبن، تركيزه ٤٨% المادة الفعالة هى كلوربيريفوس ٤٨% وزن /حجم ، مكملات ٥٢% وزن/حجم ويحتوي على ٤٨٠ جرام كلوربيريفوس/ لتر ، معدلات الأضافة ٣٠ _ ٥٠ مل / ٢٠ لتر ماء .

طريقة الاستعمال ، ٥-٦ لتر محلول لكل متر مربع _ طريقة عمله _ بالملامسة ، ومعدي ، وله أثر بخاري بسيط _ درجة السمية ، متوسط السمية ،سام للنحل والأسماك. له أثر باقي قصير على المجموع الخضري ولكنه يبقى فعالاً لعدة أسابيع في التربة والماء.

- والمبيد الثاني هو دلتا مثرين (Deltamethrin) تحت الاسم التجاري (Decis) وصيغته الكيميائية هي $C_{22}H_{14}BrNO_3$ دلتامثرين من مركبات تسمى البيروثوريدات ، ولها أيضا قدرة عالية على إبادة الحشرات وسمية منخفضة . شكل المبيد وتركيزه ٢.٥% فى شكل مستحلب._ طريقة عمله بالملامسة ومعدي _ ضار بالنحل والأسماك والطيور _ درجة السمية ، متوسط السمية _ الإستخدام بمعدل ١٠-١٥ مل / ٢٠ لتر ماء ، يستعمل بنسبة ٥-٢٠ مادة فعالة للهكتار وهي

أعلى نسبة استعمال تقريباً يوصى بها . (عبد الحميد وعبد المجيد ، ١٩٩٦).

وقد تم اعتماد طرق البحث التي تم وصفها في كل من (Larry and Judy,1996) & (الطرابلسى، ٢٠٠١) & (الصادق، ١٩٩٤) & (الحداد، ١٩٨٥)& (محمود وآخرون ١٩٨٧) وبحيث تم اختيار ثلاث معدلات من الاضافة وهي كالتالي نصف التركيز، بنفس التركيز و ضعف التركيز ، وعينة بدون معاملة للمقارنة مع كل تركيز تم أخذه (الشاهد) ، وباستخدام آلة رش سعة ١٠ لتر تم معاملة التربة بالمبيدين كلاً على حده بالتركيز المنصوص عليه لكل مبيد. تم جمع العينات بطريقة تشمل كل الحقل مساحته تقدر ٢٥٠٠م٢ ، أي بأخذ عينات فردية لأكثر من جهة للتركيز الواحد وبذلك نحصل على عينة مركبة. وتم جمع العينات لكل أسبوع في أكياس بواقع ٨ عينات مركبة تم تجميعها من كامل الحقل ومن جهات مختلفة ثم نشرت العينات لتجفيفها هوائياً حسب نسبة الرطوبة الموجودة بها.

وعند الانتهاء من جمع العينات تم غربلة التربة بغربال بقطر ٢ ملم ومن ثم أجريت عليها الاختبارات الحيوية المتمثلة في الأتي : .

١. **تقدير أعداد بكتيريا التأزت (النترتة)**

وهي بكتيريا كيميائية ذاتية التغذية، غير متجرثمة، عصوية، سالبة جرام، ومن أهم أنواعها : .

أ_ بكتيريا تؤكسد الأمونيوم إلى نيتريت Nitrosomonas

ب_بكتيريا تؤكسد النيتريت إلى نيترات Nitrobacter

٢ . **تقدير أعداد البكتيريا المحللة للسليلوز**:

الطريقة المستخدمة في التقدير:-

طريقة العدد الأكثر احتمالاً

التحليل الأحصائى :

اتبع في هذه التجربة التصميم العشوائي الكامل CRD التجربة (ذات العاملين)

النموذج الرياضي:

Yijk= M +Ai+ Bj+ABij+EijkY ، الاستجابة =

M ، المتوسط العام = A ، نوع المبيد = B تركيز =

المبيد ، AB= التداخل ، E.الخطأ التجريبي =

١. تقدير أعداد بكتيريا التأزت "النترتة" وهي بكتيريا كيميائية ذاتية التغذية، غير متجرثمة، عصوية، سالبة جرام، ومن أهم أجناسها :_ بكتيريا تؤكسد الأمونيوم إلى نيتريت Nitrosomonas ، بكتيريا تؤكسد النيتريت إلى نيترات Nitrobacter هذه البكتيريا تستمد طاقتها من أكسدة المواد اللاعضوية (المعدنية) وتستمد كربونها من ثاني أكسيد الكربون حيث تستخدم الطاقة لاختزال ثاني أكسيد الكربون ؛ هناك بكتيريا غير ذاتية التغذية تقوم بعملية النترتة أيضا أكتشفت أخيرا في حالة وجود كمية من أيونات الأمونيوم تزيد عن حاجة هده الأحياء والشيء الدى تختلف فيه تلك الأحياء عن الذاتية التغذية كيميائية هو تمكنها من تكون النتريت أيضا من مركبات عضوية نيتروجينية (قاسم و مضر .١٩٨٩م) كما أن هناك أجناس تنمو ككائنات ذاتية التغذية كيميائية تقوم بأكسدة مركبات تحتوى على العناصر السابقة نفسها ألا أن الدراسات التي تتعلق بها إما محدودة للغاية أو تحتاج للمزيد من الدراسات للتأكيد أوانها لاتزال موضوع شك ، والأنواع كيميائية ذاتية التغذية الإجبارية قد تم تحديدها بصورة قاطعة ووضعت في أجناس *Nitrosomonas* ، *Nitrobacter* وبذلك أعتبر أن الأحياء الدقيقة الوحيدة المرتبطة بعملية النترتة في البيئة الطبيعية في الوقت الحاضر هي بكتيريا النترتة كيميائية ذاتية التغذية ذات صبغة

جرام السالب ، غير متجرثمة والتي تعود إلى عائلة *Nitrobactericeae* وتنحصر في مجموعة قليلة لكنها ذات أهمية كبيرة بالنسبة لخصوبة التربة وإنتاجها . معظم الدراسات والمصادر تشير إلى أن أكسدة الأمونيوم تتم بواسطة جنس *Nitrosomonas* أما الأجناس الأخرى اعتبرت أنها مجاميع ثانوية ، وجود هذة البكتيريا بشكل شائع وكذلك صعوبة عزلها جعل بشكل عام جميع العزلات الجديدة بأن توصف *Nitrosomonas* عن (راضى الراشدى .١٩٨٧، Focht and Verstraete . ١٩٧٧) بالنسبة لبكتيريا *Nitrobacter* فأن أنواعها محددة أكثر عن المؤكسدة للامونيوم وقد تكون أختيارية في تغذيتها الذاتية حيث يمكنها استعمال الكربون العضوي في غياب النتريت ألا أن نموها يكون بطيء جدا مقارنة بنموها عندما تكون ذاتية التغذية .

الطريقة المستخدمة في التقدير : _ العدد الأكثر احتمالا

الخطوات الرئيسية ، إعداد مستخلص التربة بنسبة ١:١٠٠، ثم إعداد سلسلة من تخفيفات التربة إلى ٥-١٠ تحت شروط التعقيم. اختيرت ثلاث تخفيفات متتالية ويعتبر ذلك شرط أساسي مرفقا مع جدول العدد الأكثر احتمالا كذلك أوساط غذائية انتقائية لكل جنس ، بكتيريا النيتروزوموناس يكون الوسط الغذائي في صورة $NH_4_Caco_3$ أما بكتيريا النيتروباكتر يكون الوسط الغذائي لها على صورة $No_2_Caco_3$ ويتم تعبئتها في أنابيب اختبار بمقدار 10ml في كل أنبوبة ومن ثم يتم تعقيمها.وكان تركيب البيئات الغذائية على النحو التالى حسب (محمود وآخرون١٩٨٧) و (الحداد ، ١٩٨٥) .

طريقة العمل ، بماصة معقمة ينقل 1ml من كل تخفيف إلى خمس أنابيب تحتوي NH4_Caco3 و 1mlمن كل تخفيف إلى خمس أنابيب تحتوي No2_Caco3. وبذلك

NH4_CaCo3		NO2_CaCo3	
(NH4)2So4	0.5g	KNo2	0.006g
K2HPo4	I g	K2HPo4	1g
NaCl	0.3g	NaCl	0.3g
MgSo4.7H2O	O.3g	MgSo4.7H2O	0.1g
FeSo4.7H2O	0.03g	FeSo4.7H2O	0.03g
CaCO3	7.5g	CaCo3	0.1g
Dist.w	1L	CaCl2	0.3 g L
		Dist.w	IL

يكون المجموع ١٥ أنبوبة للتخفيفات الثلاثة والتي تحوي الوسط الغذائي الأول و١٥ أنبوبة للتخفيفات الثلاثة التي تحوي الوسط الغذائي الثاني لكل تركيز في المبيد وبذلك يصبح عدد الأنابيب للمبيدين ١٢٠ أنبوبة وللنوع الواحد من البكتيريا ، ويتم كتابة رقم التخفيف على كل أنبوبة ومن ثم توضع الأنابيب في الحضان لمدة ٢١ يوم في درجة 28 °c .

طريقة الكشف والأدلة المستعملة في الكشف: _

يتم الكشف باستخدام مجموعة من الكواشف هي كالتالي :-

١.حامض السلفانيليك :- Salfanilic acid

يحضر بوضع 16.4g منه في70 ml ماء مقطر ساخن يبرد وبعد أن يبرد المحلول يضاف إليه 20ml من Hcl المركز ويكمل الحجم إلى 100ml في دورق عياري

٢. ألفا نفثالين أمين :- ∞-Naphthalin Amine

يتم إعداده في زجاجة معقمة حوالي 0.6g منه في 10-20 ml ماء مقطر يحوي هذا الماء

على 1ml من حامض Hcl المركز ويخفف الحجم إلى 100ml بالماء المقطر

٣. خلات الصوديوم:- Sodium Acetate

يحضر بمقدار 16.4g منه في 100 ml ماء مقطر ، تحفظ المحاليل الثلاثة في الثلاجة وعند الاستعمال تخلط هذه المحاليل في زجاجة معقمة وذلك بإضافة نفس الكمية من كل محلول وعند الكشف تضاف من قطرتين إلى ثلاث قطرات لكل أنبوبة.

المشاهدة:

تكون لون أحمر أرجواني مباشرة أو بعد ١-٢ دقيقة دليل على وجود النيتريت وبالتالي تسجل الأنابيب موجبة للنيتروزوموناس ، لايتكون لون أحمر دليل على أن النشادر لم تتم أكسدته وتسجل سالبة لبكتيريا النيتروزوموناس وفي حالة بكتيريا النيتروباكتر فتسجل موجبة إذا كانت عديمة اللون بعد إضافة خليط الكواشف أي أن النيتريت تأكسد إلى نترات وتسجل سالبة إذا ظهر فيها اللون الأحمر مباشرة دليل على عدم وجود بكتيريا النيتروباكتر والنيتريت لم يتم أكسدته إلى نيترات .

حساب العدد الأكثر احتمالا

يتم حساب أعداد البكتيريا بأخذ نتائج ثلاث تخفيفات متتالية وبالرجوع إلى الجدول العدد الأكثر احتمالا وتعوض عن قيمة P1,P2, وما يقابله في P3

العدد الاحتمالي = P3 x معكوس معامل التخفيفP2

٢.تقدير أعداد البكتيريا المحللة للسليلوز:

الطريقة المستخدمة في التقدير: _ طريقة العدد الأكثر احتمالا

الخطوات الرئيسية :

تعبئة بيئة الديبوزالغذائية (Dubos) خاصة بتحليل السليلوز داخل أنابيب الاختبار بمقدار 10 mlوتتركب من :-

$FeSO_4$ 0.1g ، KCl 0.5g ، $MgSO_4.7H_2O$ 0.5g ، K_2HPO_4 1g ، $NaNO_3$ 0.05g Diste.w 1L

توضع أوراق ترشيح داخل الأنابيب المملوءة بالبيئة(كمصدر للسليلوز) مع مراعاة ترك جزء من الورقة خارج الأنبوبة ، ثم تلقيح خمس أنابيب من وسط السليلوز بإضافة 1ml من كل تخفيف من التخفيفات الثلاث السابقة إلى الخمس أنابيب من الوسط وبذلك يكون المجموع ١٥ أنبوبة للتخفيفات الثلاثة ، يتم كتابة رقم التخفيف على كل أنبوبة ثم تحضن الأنابيب في درج المعمل لمدة تقارب أربعة أسابيع بعد ذلك تم فحص الأنابيب كل أسبوع للتعرف على علامات أو دلائل تحلل السليلوز .

طريقة الكشف:

مقارنة بين الجزء العلوي من الورقة والجزء المغمور في البيئة وتأكد ظهور علامات التحلل وهي ظهور بوادر تغير لون الورقة وتحول لون الورقة من الأبيض إلى الأصفرالباهت مع تأكل أجزاء منها.

التحليل الأحصائى :

اتبع في هذه التجربة التصميم العشوائي الكامل CRD (التجربة ذات العاملين)

النموذج الرياضي :

$$Yijk= M +Ai+ Bj+ABij+Eijk$$

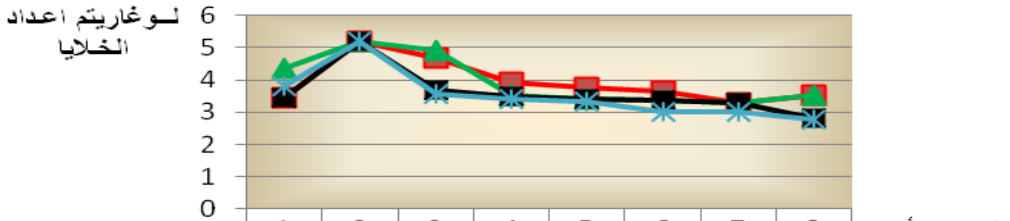
Y = الاستجابة ، M = المتوسط العام ، A = نوع المبيد ، B= تركيز المبيد ، AB= التداخل ، E= الخطأ التجريبي

النتائج والمناقشة

تبين أن المبيدات الحشرية تؤثر في نشاط أحياء التربة الدقيقة واستمر هذا التأثير إلى الأسابيع الأخيرة أي لفترة زمنية طويلة بعد معاملة التربة حيث أدت إلى تثبيط بشكل عام من خلال الكشف عن أعدادها وإنتاج النتريت

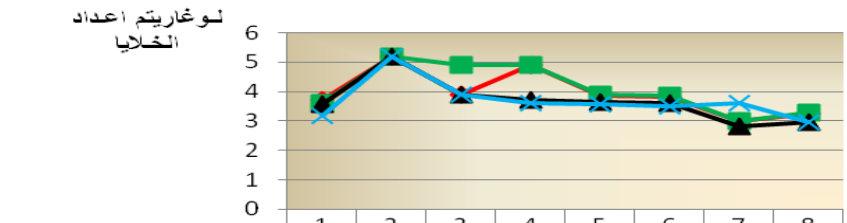
ومقارنة مستوى الارتفاع والانخفاض فى كل تركيز بعينة التربة الشاهد من النتائج في شكل (١) نتتبع أعداد بكتيريا النيتروزوموناس في التربة المعاملة بمبيد الدورسبان ولاحظنا ارتفاع في أعداد هذه البكتيريا في الأسبوع الأول والثاني الذى شهد أعلى ارتفاع ولكل التراكيز، وانخفضت أعدادها فى كل التراكيز مع الزمن عن الشاهد من الأسبوع الثالث حتى الثامن خاصة عند التركيزات المنصوص بها والضعف بينما كانت أعلى قيمة لتركيز النصف والذى كان قريب من الشاهد فى الأسبوع الثالث ثم عاد للارتفاع وكان قريب من الشاهد عن باقي التركيزات في الأسبوعين الأخيرين ، في مبيد الديسيس شكل(٢) ارتفعت أعداد بكتيريا النيتروزوموناس في الأسبوع الأول والثاني الذى شهد أعلى ارتفاع فى كل التراكيز تبين ايضا أن أعداد هذه البكتيريا فى تركيز النصف كانت الأعلى فى الأسبوع الثالث واقتربت من قيم الشاهد فى الأسبوعين الأخيرين كما فى مبيد الدورسبان ، وفى تركيز المنصوص بها والضعف انخفضت من الأسبوع الثالث حتى السابع حيث ارتفعت الأعداد فى تركيز الضعف وعادت لتنخفض فى آخر اسبوع . وبمقارنة المبيدين لم يكن لتركيز النصف لمبيد الديسيس والدورسبان أى تأثير سلبى على أعداد هذه البكتيريا ،فقد ارتفعت أعداد البكتيريا مع الزمن لمبيدين وأن تناقصت فى الأسابيع الأولى إلا انها عادت وتساوت مع قيم تربة الشاهد فى الأسبوعين الأخيرين . بينما زيادة التركيز متمثل فى الكمية المنصوص به والضعف ادى الى انخفاض فى أعدادها ، وبالتالى نتائج تركيزات مبيد الدورسبان والديسيس كانت متشابهة على أعداد هذه البكتيريا، التركيزات العالية ادت لخفض أعداد البكيتريا بينما لم يؤثر تركيز النصف على أعدادها ، وبذلك يتفق مع Jerzy et al. (2001) و(العبود ، ٢٠٠٦) فى التأكيد أن دور الميكروبات في تفكيك المبيدات يتوقف على نوع المبيد والتركيز المضاف منه.

شكل (1) تأثير التركيزات المختلفة من مبيد الدورسبان على العدد الكلي لبكتيريا النيتروزوموناس مع الزمن



	1	2	3	4	5	6	7	8
تركيز 0	3.43	5.2	4.69	3.91	3.76	3.64	3.3	3.51
تركيز النصف	4.34	5.2	4.91	3.51	3.41	3.38	3.3	3.51
تركيز المنصوص بها	3.43	5.2	3.69	3.48	3.42	3.36	3.3	2.83
تركيز الضعف	3.79	5.2	3.55	3.41	3.31	3	3	2.79

شكل (2) تأثيرات التركيزات المختلفة من مبيد الديسيس على العدد الكلي لبكتيريا النيتروزوموناس مع الزمن

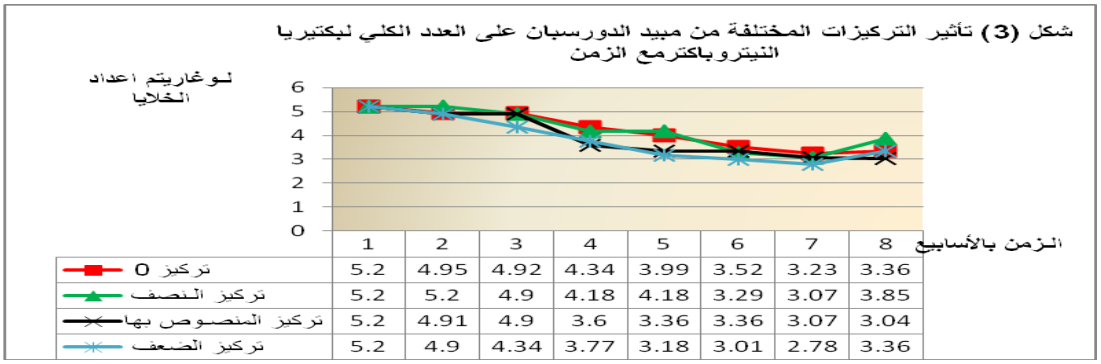


	1	2	3	4	5	6	7	8
تركيز 0	3.72	5.2	3.91	4.92	3.86	3.83	3	3.23
تركيز النصف	3.59	5.2	4.92	4.92	3.91	3.86	3	3.3
تركيز المنصوص بها	3.56	5.2	3.91	3.73	3.66	3.6	2.83	2.97
تركيز الضعف	3.18	5.2	3.91	3.6	3.56	3.51	3.6	2.96

بالنسبة الى أعداد بكتيريا النيتروباكتر في التربة المعاملة بالدورسبان مقارنة بالتربة الشاهد كما في الشكل البياني (٣) لاحظنا انخفاض أعداد البكتيريا عن الأسبوع الأول وكانت الأعداد أكثر انخفاضا عند تركيز الضعف والكمية المنصوص بها حيث استمرت فى الانخفاض حتى الأسبوع السابع ، فى آخر اسبوع الأعداد عند تركيز الضعف ارتفعت لتقترب من الشاهد بينما استمرت منخفضة فى تركيز المنصوص بها ، أما تركيز النصف فقد ارتفعت عن قيم التربة الشاهد فى الأسبوع الخامس تم عادت لتنخفض وفى آخر اسبوع ارتفعت من جديد ويمكن تفسير ذلك أنه بفعل تناقص كمية المبيد نتيجة حدوث التحلل الحيوى فى الأسابيع الأولى وعدم وجود تأثير تراكمى للمبيد ينعكس على اعداد البكتيريا وعملياتها فى التربة (العادل ٢٠٠٦). أما في حالة مبيد الديسيس كما في الشكل البياني (٤) لاحظنا انخفاض في أعداد البكتيريا عن الأسبوع الأول ،ففى تركيز الضعف كان أكثر انخفاضا في الأعداد مع الزمن وتم ذلك تدريجيا من الأسبوع الثانى الى آخر اسبوع ، أما تركيز الكمية المنصوص بها فقد ارتفعت الأعداد فى الأسبوع الثالث وعادت لتنخفض حتى آخر اسبوع بينما ارتفعت اعداد هذه البكتيريا فى تركيز النصف من الأسبوع الثانى حتى الخامس تم عادت لتنخفض فكانت أقل من قيم التربة الشاهد،وقد يكون التأثير التراكمى لهذه التركيز سببا فى الانخفاض الذى ظهر فى الأسابيع الأخيرة . وهذا ما اوضحه كل من(العيسى، ٢٠٠٩) و (Alexander, 1994) وكذلك (William and Keeney,1998) و (العادل ٢٠٠٦) و (EL-Shahawy etal. 1986) حيث وجدوا أن الكميات الصغيرة من المبيدات التى تتعرض لفعل الميكروبات ولفترات طويلة يحدث لها تحلل وتتحول إلي جزيئات صغيرة ، تستفيد منها ميكروبات مختلفة فى التربة وبنفاذها تموت هذه الميكروبات فتكون غذاء لميكروبات أخرى فترتفع الأعداد من جديد، وإن ١ % فقط من المبيد يصل الى الافة المستهدفة والكمية المتبقية تذهب الى كائنات حية اخرى في التربة غير مستهدفة تصل الى آلاف الانواع مما يؤدي الى احداث خلل في توازن المجاميع الميكروبية، وقد يتعدى ذلك الى القضاء على الأحياء الدقيقة الاقتصادية ، ومنها بكتريا التأزت والبكتريا المثبتة للنتروجين الجوي والأحياء المحللة للمادة العضوية (العادل ٢٠٠٦) وبمقارنة المبيدين، وجد أن أعلى أعداد لبكتيريا النيتروباكتر كانت عند تركيز النصف فى

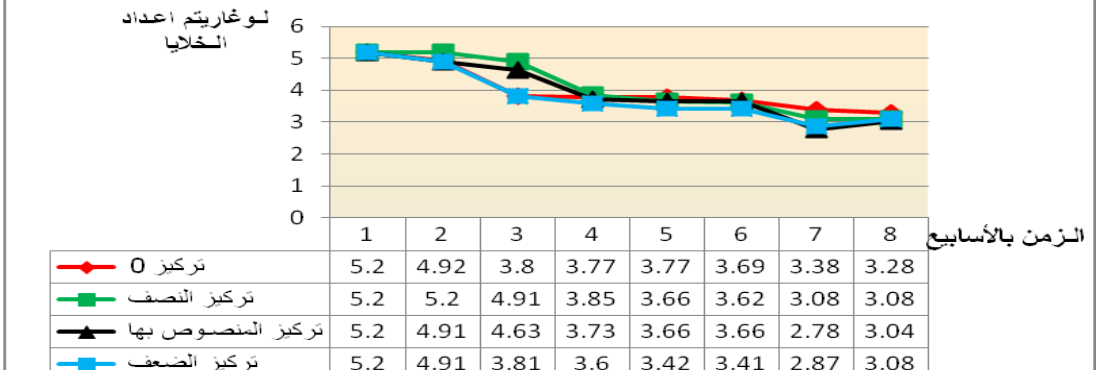
الأسابيع الأولى ، وتبين أن تأثير المبيدين كان عند كل التركيزات وأكثر سلبياً عند التركيزات العالية . وقد يرجع تأثير هذه المبيدات لاحتوائها على ذرات من الكلور والبروم ونتيجة للتحلل تتحرر هذه العناصر التي قد يكون قسم منها سام وفي بعض الأحيان يتكون غاز الامونيا الذي من المفروض أن يتأكسد إلى نترات ولكن نتيجة تأثير المبيد على بكتيريا النترتة يتجمع غـــاز الامونيـــــــا الذي يكون ســام. (Mohammad etal.2001)

شكل (3) تأثير التركيزات المختلفة من مبيد الدورسبان على العدد الكلي لبكتيريا النيتروباكترمع الزمن



	1	2	3	4	5	6	7	8
تركيز 0	5.2	4.95	4.92	4.34	3.99	3.52	3.23	3.36
تركيز النصف	5.2	5.2	4.9	4.18	4.18	3.29	3.07	3.85
تركيز المنصوص بها	5.2	4.91	4.9	3.6	3.36	3.36	3.07	3.04
تركيز الضعف	5.2	4.9	4.34	3.77	3.18	3.01	2.78	3.36

شكل (4) تأثيرالتركيزات المختلفة من مبيد الديسيس على العدد الكلي لبكتيريا النيتروباكتر مع الزمن

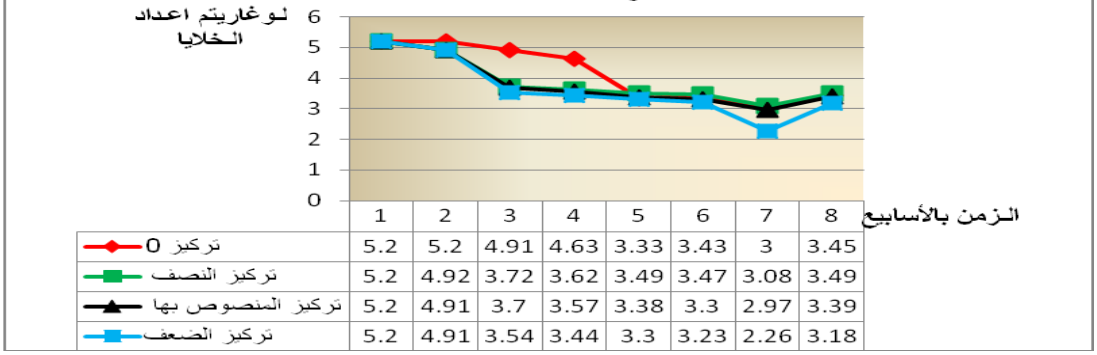


	1	2	3	4	5	6	7	8
تركيز 0	5.2	4.92	3.8	3.77	3.77	3.69	3.38	3.28
تركيز النصف	5.2	5.2	4.91	3.85	3.66	3.62	3.08	3.08
تركيز المنصوص بها	5.2	4.91	4.63	3.73	3.66	3.66	2.78	3.04
تركيز الضعف	5.2	4.91	3.81	3.6	3.42	3.41	2.87	3.08

بالنسبة لبكتيريا المحللة للسليلوز كما يوضح شكل (٥) ، شكل (٦) تأثير الدورسبان والديسيس على أعداد هذه البكيتريا ، عند تركيزات المنصوص بها والضعف حيث بدأت فى الانخفاض عن التربة الشاهد مع مرور الزمن حتى آخر اسبوع ولم يظهر إلا ارتفاع بسيط فى الأسبوع الخامس فى مبيد الدورسبان وهذا يبين مدى تأثير التراكيز العالية على أعداد هذه البكتيريا والذى استمر لفترة زمنية بعد معاملة التربة لتأكد تأثير المبيد بشكل عام وليس بفعل انخفاض كمية النيتروجين اللازم لتحليل الكربون العضوي بينما انخفضت الأعداد عند تركيز النصف للمبيدين ثم عادت للارتفاع من جديد في الأسابيع الأخيرة عن التربة الشاهد مما يدل على التحلل الحيوى للمبيد ، وعدم وجود تأثير تثبيطى لهذا التركيز على البكتيريا تحلل السليلوز فى التربة وأن الانخفاض حدث نتيجة انخفاض كمية النيتروجين اللازم لتحليل الكربون العضوي وبمقارنة تأثير المبيدين لاحظنا أن التركيزات العالية لها تأثير سلبى في خفض أعداد بكتيريا تحليل السليلوز .ويمكن تفسير ارتفاع وانخفاض أعداد البكتيريا مع مرور الزمن كما وضحه كل

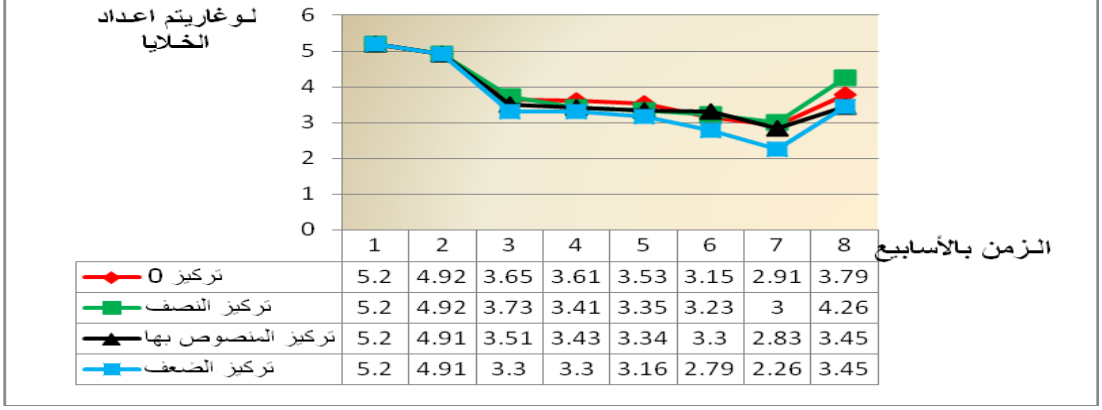
من (Bollag.1974) وكل من (etal.1986 EL-Shahawy) و(Alexander,. 1982) لتحليلها السليلوز تحتاج إلى نيتروجين والمبيدات المضافة تحوي نيتروجين الذى يساعدها على سرعة التحلل وبالتالي ارتفاع أعداد هذه البكتيريا التي تنمو وتتكاثر على حساب كربون المادة العضوية ، بعد نفاد النيتروجين يقل تحلل المادة العضوية فتتناقص أعدادها وتموت أعداد كبيرة منها والتي سوف تكون غذاء لبكتيريا أخرى وهذا يؤدي إلى ارتفاع أعدادها من جديد ويتم هذا في الأسابيع الأخيرة وليس بعد أسبوعين فقط من إضافة المبيد تحديدا من الأسبوع الثالث كما حدث لهذه البكتيريا مما يؤكد إن تركيزات العالية للمبيدات المستعملة كان لها تأثير تثبيطى على هذه البكتيريا. وبهذه النتائج يتضح أن وصول كل الكمية المنصوص بها أو تضاعف كمية هذه المبيدات متى وصلت لتربة سيكون له الآثار السلبية على البكتيريا ذات الأهمية الاقتصادية . نتائج التحليل نتائج التحليل الإحصائي بينت أن هناك تداخل عالي المعنوية بين نوع المبيد وتركيزه على البكتيريا ذات النشاطات الفسيولوجية الهامة وهى بكتيريا (التأزت، وتحليل السليلوز) عند مستوى المعنوية ٠.٠٥ ، ولان التداخل معنوي فانه يمكن تجزئة التداخل (العوامل الرئيسية والانحرافات المربعة) دون الحاجة لاختبار العوامل الرئيسية كل علي حده ، باستخدام تعدد الحدود المستقلة لمعرفة مدى تأثير العلاقات، تبين من أنواع العلاقات تأثير خطى معنوي للمبيدين على أعداد بكتيريا التأزت، وبكتيريا تحلل السليلوز (علاقة سالبة) كلما زاد التركيز قلت أعداد البكتيريا .

شكل (5)تأثير التركيزات المختلفة من مبيد الدورسبان على العدد الكلي لبكتيريا المحللة للسليلوز مع الزمن



	1	2	3	4	5	6	7	8
تركيز 0	5.2	5.2	4.91	4.63	3.33	3.43	3	3.45
تركيز النصف	5.2	4.92	3.72	3.62	3.49	3.47	3.08	3.49
تركيز المنصوص بها	5.2	4.91	3.7	3.57	3.38	3.3	2.97	3.39
تركيز الضعف	5.2	4.91	3.54	3.44	3.3	3.23	2.26	3.18

شكل (6)تأثير التركيزات المختلفة من مبيد الديسيس على العدد الكلي لبكتيريا المحللة للسليلوز مع الزمن



	1	2	3	4	5	6	7	8
تركيز 0	5.2	4.92	3.65	3.61	3.53	3.15	2.91	3.79
تركيز النصف	5.2	4.92	3.73	3.41	3.35	3.23	3	4.26
تركيز المنصوص بها	5.2	4.91	3.51	3.43	3.34	3.3	2.83	3.45
تركيز الضعف	5.2	4.91	3.3	3.3	3.16	2.79	2.26	3.45

المراجع العربية

١. الطرابلسي .ابراهيم يوسف . ٢٠٠١ . الميكروبيولوجيا الزراعية . الرياض . جامعة الملك سعود.

٢. العيسى ، عبدالله . ٢٠٠٩ . تأثير تلوث التربة ببعض المبيدات في خواصها البيولوجية. كلية الزراعة ، جامعة البعث . العراق

٣. العادل ، خالد محمد. ٢٠٠٦. مبيدات الافات مفاهيم أساسية ودورها فى المجالين الصحى والزراعى . كلية الزراعة/جامعة بغداد. ٤٢٢ صفحة.

٤- العبود، محمد عبدالله .٢٠٠٦. التأثير السمي لبعض المبيدات على البكتريا المثبته للأزوت الجوي في التربة اليمنية المركز الوطنى للمعلومات ، صنعاء ، اليمن .

٥. الفاروق ،عمر مملوك . ٢٠٠٨. الموسوعة العراقية الشاملة ، المبيدات الزراعية ، مبيدات الأفات .

٦. عبد الحميد ، زيدان هندى ،محمد ابراهيم عبد المجيد. ١٩٩٦. الملوثات الكيميائية والبيئة. القاهرة : الدار العربية للنشر والتوزيع .

٧. محمود ، سعد زكى ، عبد الوهاب عبد الحافظ ، محمد الصاوى مبارك. ١٩٨٧.

ميكروبيولوجيا الأراضي . الطبعة الثانية . القاهرة : مكتبة لأنجلو المصرية.

٨. صادق ، عبد الوهاب بن رجب صادق . ١٩٩٤ التجارب العملية في علم الأحياء الدقيقة. الطبعة الأولى .الرياض: عمادة شؤون المكتبات، جامعة الملك سعود.

٩. حداد . محمد أحمد. ١٩٨٥. تمارين معملية في ميكروبيولوجيا التربة. الطبعة الأولى البيضاء: جامعةعمر المختار.

١٠. طه . صلاح الدين محمود ١٩٩٧ . . البكتيريولوجيا الزراعية . القاهرة. المركز القومي للأعلام والتوثيق.

١١. شارلز ، وليم ، ويليام فريزير ، دويسون وجن فيت . ١٩٦٢ . علم الأحياء الدقيقة. ترجمة صلاح الدين طه. القاهرة . مكتبة النهضة المصرية، مؤسسة فرانلكين للطباعة والنشر، نيويورك.

١٢ .قاسم ، غياث محمد ، مضر عبد الستار على .١٩٨٩. علم أحياء التربة المجهرية . وزارة التعليم والبحث العلمى .الموصل . العراق.

١٣. العيسى، عبدالله ، ميساء علوش . ٢٠٠٦ ، أساسيات علم الأحياء الدقيقة .الجزء العملي ، مديرية الكتب والمطبوعات. ، جامعة البعث. بغذاد . العراق .

المراجع الأجنبية

15. **Alexander, M. A (1994). "Biodegradation and Bioremediation" . Academic Press: San Diego. US**

16. **Alexander, M. 1982. Introduction to Soil ،Microbiology. John Wiley & Sons Inc. N.Y.**

16. Bollag. J. M. (1974) "Microbial Transformation of Peticides". Advanc,Appl. Microbial. No- 18.75-130.

17. **EL-Shahawy,R.M; Mmer, H.A. and Ayed, I.A (1986). "Effect of Three Commonly Used Pesticides on Some Groups of Microorganisms and their Activities in Soil. J. Coll. Agric; King .Saud Univ; 8:457-470.**

18. **Jerzy Dec and Bollag, J. M. (2001) "Use of Enzymes in Bioremediation, In: Pesticides Biotransformation in Plants and Microorganisms: Similarities and Divergences". American Chemical Society, Washington, DC. PP.182-193.**

19. **MCkane Larry and Kandel Judy (1996) . Microbiology: Essentials and applications .2ndedUSA :McGraw –Hill, Inc.**

20- **Mohammad, R.J; Zahir, S; Jasmin, S. and Shazia,I. (2001). "Effect of Pesticides on Soil Microorganisms". J. Enviromental Appl. Note 24-25.**

21. **Rangaswami , G . (1966) . Agriculture biology . Bombay: Asia Publishing House .**

22. **Stevenson , G . (1967) . The Biology of Fungi , Bacteria and Viruses. London : Edward Arnold (Publishers) Ltd .**

23. **William, V. and Keeney, D.1998. Bugs in the system: Redesigning the pesticide industry for sustainable agriculture. Earthscan Publication limited, UK Properties. 2nd ed Amer. Soc. Agron. Inc. Madison, Wisconsin, U.S.A.**

Study the effect of insecticides commonly used locally on the bacteria of economic importance in the soil

Eman AL Sadek Mansour Al Hammadi

Soil and Water Department, Faculty of Agriculture, University of Tripoli , Libya

ABSTRACT :

This study aims to identify the effect of different concentrations of insecticides the common dorspan and decis on the total number of Nitrosomonas , Nitrobacter and cellulose degradation bacteria in the soil during the winter and spring of the agricultural season 2012/2013 has been selected for two insecticide fixed rates (half - the same - twice) concentration, was treated soil with two insecticide both individually and prescribed for each concentration of insecticide using spraying machine 10-liter, with a smaple treatmen without . Results insecticides showed its effect on bacterial groups, and has been associated it effect by quantity additive concentration, dropped the numbers of Nitrosomonas , Nitrobacter and cellulose degradation at twice and provided for it, that continued period of time after soil treatment to make sure their influence in general and not because of decline amount of the required nitrogen for the decompose of organic carbon, while it did not affect half concentration of two insecticides on the numbers of Nitrosomonas and degradation of cellulose bacteria , it returned to increase in recent weeks indicating the bio-decomposition of insecticide and there is no inhibitory effect of this concentration on the two groups. For Nitrobacter, the numbers decreased in the half concentration of two insecticides in recent weeks after increase it in the first few weeks but dorspan returned to the increase in the last week which shows the cumulative effect of Decis ,while dorspan decline the numbers by decreasing the amount of the insecticide and the occurrence of bio-decomposition and there is no accumulative effect of this insecticides. Comparing insecticides show that the effect of high concentrations of two insecticides similar on the number of economically important groups, while differed effect the half concentration on Nitrobacter for Nitrosomonas and degradation of cellulose bacteria, which were similar in this concentration too Through statistical analysis shows that there is a highly significant of the interaction between the type of insecticide and concentration, and the insecticide depends on the concentration to show the impact on the numbers of Nitrification and cellulose degradation bacteria at the level of of significance 0.05