أثر مبيد الادغال كلايفوسيت في سكان بكتريا *Azotobacter chroococcum* وبكتريا *Rhizobium leguminosarum*

زيد رعد عباس
الجامعة المستنصرية/ كلية العلوم
رياض عباس عبد الجبار
جامعة تكريت/ كلية العلوم
هادي مهدي عبود
وزارة العلوم والتكنلوجيا/ دائرة البحوث الزراعية

الخلاصة

اظهرت نتائج أثر مبيد الادغال كلايفوسيت بالجرعة الموصى بها و بضعف الجرعة الموصى بها في سكان بكتريا *A.chroococcum* و ان التاثير اعتمد على نوع البكتريا وتركيز المبيد والفترة الزمنية ما بعد المعاملة . لم يحدث مبيد كلايفوسيت بالجرعة الموصى بها تأثير معنويا في سكان البكتريا بعد ٣ ايام و ٦٠ يوما من المعاملة اذ بلغ ٨٠× ١٠^{٥} وحدة مكونة لمستعمرة / ١غم تربة ٨٣ ×١٠^{٥} وحدة مكونة لمستعمرة/ ١غم تربة في حين احدث خفضا معنويا لسكان البكتريا بضعف الجرعة الموصى بها بعد ٣ ايام و ٦٠ يوم من المعاملة اذ بلغ ٦١ × ١٠^{٥} وحدة مكونة لمستعمرة / ١غم و٦٥× ١٠^{٥} وحدة مكونة لمستعمرة / ١غم تربة مقارنتا لمعاملة المقارنة التي سجلت ٨١ × ١٠^{٥} وحدة مكونة لمستعمرة / ١غم تربة و ٨٥ وحدة مكونة لمستعمرة / ١غم تربة وعلى التوالي . اظهرت النتائج ان مبيد الكلايفوسيت يظهر تأثيرا معنويا لسكان بكتريا . *R. leguminosarum* بعد ٣ ايام و ٦٠ يوم من المعاملة اذ سجل ١٣ × ١٠^{٥} وحدة مكونة لمستعمرة / ١غم تربة ٨١ وحدة مكونة لمستعمرة / ١غم تربة في حين احدثت الجرعة المضاعفة من

المبيد خفضا معنويا لسكان البكتريا بعد ٣ ايام و ٦٠ يوم من المعاملة اذ بلغ ١٠ × ١٠^{٥} وحدة مكونة لمستعمرة / ١غم تربة و ١٣ وحدة مكونة لمستعمرة / ١غم تربة مقارنتا بمعاملة المقارنة التي سجلت ١٤ وحدة مكونة لمستعمرة / ١غم تربة ١٨ وحدة مكونة لمستعمرة / ١غم تربة وعلى التوالي.

المقدمة

تعتمد الزراعة الحديثة اعتمادا كبيرا على المبيدات الكيميائية لمكافحة افات المحاصيل لتعظيم العوائد والفوائد الاقتصادية في عام متزايد السكان. لقد ساعد استخدامها في احتواء الخسائر الاقتصادية التي تسببها تلك الافات وتحسين انتاجية المحاصيل , الا ان الاستخدام المفرط للمبيدات لاسيما ذات التاثير الواسع الطيف منها لتغطية الحاجة المتزايدة الى انتاج زراعي واسع يلائم التضخم السكاني العالمي احدث اضرارا بالنظام البيئي وخلق تهديدا لاستدامة النظام الزراعي , كونه اثر سلبا في الكائنات الحية الغير مستهدفة ومن بينها على وجه الخصوص احياء التربة المجهرية التي تمثل مكون اساس من مكونا التربة (١ , ٢) من بين اهم المبيدات التي تستخدم في العراق مبيد الادغال (Glyphosate) وهو من المبيدات الادغال الجهازية الواسعة الطيف والذي يستخدم لمكافحة طيف واسع من الادغال. (٣) ولاهمية الموضوع ولتعزيز الاستخدام السليم للمبيدات تجاه الكائنات المستهدفة وتقليل اثارها السلبية تجاه الكائنات غير المستهدفة هدفت الدراسة الحالية لبحث تاثير مبيد الكلايفوسيت بالجرعة الموصى بها وبضعف الجرعة الموصى بها في مجتمع بكتريا *R. leguminosarum*

المواد وطرائق العمل

استخدمت في هذه الدراسة عزلة من البكتريا *A. chroococcum* تم عزلها من تربة مزرعة للخيار في منطقة التويثة (٣٠ كم جنوب بغداد) على الوسط الزرعي الموصوف من قبل (٤) والمكون من المواد التالية / لتر ماء glucose

, $MgSo_4$. $7H_2o$ 0.2gm , $CaCl_2$ 0.1gm , $K_2Hpo_4$1gm, 10gm) (PH= 7.5 , $FeSo_4.7H_2o$, $Na_2MoO_4\,2H_2o$ 0.002gm

وبأستخدام طريقة التخافيف العشرية . شخصت العزلة بعد تنقيتها وفق الطريقة الموصوفة من قبل (٤) اعتمادا على صفاتها الزرعية والكيميائية (٥) . حضر اللقاح البكتيري للعزل على وسط المذكور من قبل (٤) واستخدام بواقع ١٠ مل من مزارعها بعمر ٢ يوم لكل اصيص سعة ٢ كغم تربة(يحتوي $١٠^{٩}$ cfu / ا مل)

اما 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 (٦) والمكون من المواد التالية / لتر ماء (Mannitol 10 gm , K_2Hpo_4 0.2 gm , KH_2Po_4 Yeast Extract Powder 0.2 gm , $MgSo_4$. $7H_2o$ 0.1 gm , $CaCl_2$. $2H_2o$ 0.05) استخدمت بواقع ١٠ مل من مزارعها على الوسط اعلاه / اصيص ٢ كغم تربة ($١٠^{٩}$ cfu / ا مل)

نفذت تجربتين بالظلة للتحري عن تأثير مبيدات الادغال glyphosate بالجرعة الموصى بها (١ لتر / دونم) وبضعف الجرعة الموصى بها (٢ لتر / دونم) حيث جهزت لكل تجربة ٢٤ اصيص بلاستيكي سعة ٢ كغم تربة (٢ : ١ تربة مزيجية الى بتموس) معقمة بجهاز الاوتوكليف على درجة حرارة ١٢١ / م وضغط ١ بار وليومين متعاقبين وزرعت الاصص داخل الظلة وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة وبواقع ٤ اصص بلاستيكية لكل معاملة من المعاملات الاتية:-

١-تربة معاملة بكتريا *A. chroococcum* فقط

٢-تربة معاملة ببكتريا *A. chroococcum* وبمبيد الادغال Glyphosate بالجرعة الموصى بها

٣-معاملة ببكتريا *A. chroococcum* وبمبيد الادغال Glyphosate بضعف الجرعة

٤-تربة معاملة ببكتريا *R. leguminosarum* فقط

٥-تربة معاملة ببكتريا *R. leguminosarum* وبالمبيد الادغال بالجرعة الموصى بها .

٦-تربة معاملة ببكتريا *R. leguminosarum* وبالمبيد الادغال وبضعف الجرعة الموصى بها.

وبعد ٣ ايام من المعاملة زرعت الاصص ببذور الماش صنف محلي (١٠بذرة/ اصيص) سحبت نماذج من تربة كل معاملة للتحليل الميكروبي لحساب سكان بكتريا *A. chroococcum* و *R. leguminosarum* قبل وبعد المعاملة بالمبيد بأستخدام طريقة التخافيف العشرية على وسط (٤) سقيت الاصص بالماء المعقم لتسجيل النسبة المئوية للانبات وبعد اكتمال الانبات خفت النباتات الى ٣ نباتات لكل اصيص وبعد مرور شهرين تم حساب سكان البكتريا *A. chroococcum* و *R. leguminosarum*

النتائج والمناقشة

اظهرت نتائج اثر المعاملة بمبيد الادغال كلايفوسيت بالجرعة الموصى بها وبضعف الجرعة في سكان بكتريا *A. chroococcum* ان التاثير يعتمد على تركيز المبيد والمدة الزمنية بعد المعاملة (جدول 1)

ت	المعاملة	العدد الكلي لسكان بكتريا *Azotobacter chroococcum* x ١٠^{٥}		
		قبل رش المبيد	بعد ٣ ايام	بعد ٦٠ يوم
	المقارنة	٣٣	a ٨١	a ٨٥
١	١ لتر / دونم Glyphosate	٣٣	a ٨٠	a ٨٣
٢	٢ لتر / دونم Glyphosate	٣٣	b ٦١	b ٦٥

اذ لم تظهر المعاملة بمبيد الكلايفوسيت في الجرعة الموصى بهـا اختلافـا معنويا في سكان البكتريا بعد ٣ ايام و ٦٠ يوم من المعاملة اذ بلـغ (٨٠ , ٨٣ × ١٠^٥ cfu/ ١غم تربة) مقارنتا (٨١ , ٨٥ × ١٠^٥ CFU/ ١غم تربة) في معاملة المقارنة وعلى التوالي. وعند مضاعفة الجرعة حدث خفضا معنويا لسكان البكتريـا اذ سجل (٦١ , ٦٥ × ١٠^٥ cfu/ ١غم تربة) وعلى التوالي تتفق هذه النتائج مـع ما وجده (3) الى ان تأثير مبيد الكلايفوسيت في سكان البكتريا المسـتوطنة لمحـيط الجذور يرتبط مباشرة بتركيز المبيد وان التاثير الضار للمبيد تأتي عند التركيز فوق الموصى بها من المبيد.

اما فيما يخص تاثير الكلايفوسيت على بكتريـا *R. leguminosarum* فقـد اظهرت نتائج اثر المعاملة بالجرعة الموصى بها وبضعف الجرعة في سكان بكتريا *R. leguminosarum* ان التأثير اعتمد على تركيز المبيد تركيزه والمدة الزمنيـة بعد المعاملة (جدول ٢)

ت	المعاملة	العدد الكلي لسكان بكتريا *Rhizobium leguminosarum* x ١٠^٥		
		قبل رش المبيد	بعد ٣ ايام	بعد ٦٠ يوم
	المقارنة	١٢	a ١٤	a ١٨
١	١ لتر / دونم Glyphosate	١٢	a ١٣	a ٢١
٢	٢ لتر / دونم Glyphosate	١٢	a ١٠	b ١٣

اظهرت النتائج ان مبيد الكلايفوسيت لم يؤثر معنويا فـي سـكان البكتريـا *R. leguminosarum*. بعد ٣ ايام وبعد ٦٠ يوما من المعادلة بالجرعة الموصـى بها اذ سجل ١٣ × ١٠^٥ و ٢١ × ١٠^٥ cfu / ١غم تربة مقارنتـا فـي ١٤ × ١٠^٥ cfu / ١غم تربة و ١٨ × ١٠^٥ cfu / ١غم تربة فـي معاملـة المقارنـة , الا ان خفضا معنويا في سكان البكتريا حدث عند استخدام ضعف الجرعة الموصى بها بعد ٣ وبعد ٦٠ يوما من المعاملة اذ سجل ١٠ × ١٠^٥ cfu / ١غم تربة و ١٣ × ١٠^٥ cfu / ١ غم تربة وعلى التوالي قد يعود عدم التاثير السلبي للمبيـد Glyphosate

عند الجرعة الموصى بها في سكان البكتريا *A. chroococcum* الى قابلية هـذه البكتريا على تحطيم هذا المبيد واستخدامه كمصدر للفسفور فقد سجل (7) في اختبار قابلية عدة انواع من البكتريا تابعة للعائلـة Rhizobiaceae علـى تحطـيم مبيـد الكلايفوسيت واستخدامه كمصدر للفسفور بفعل نشاط انزيم c-plyase الـذي ينـتج عن نشاطه مادة (sarcosine) او تحليله الى مركب aminomethylphosphate كما تتوافق هذه النتيجة مع ماوجده (8) الذين وجدو ان تـأثير المبيـد كلايفوسـيت يرتبط مباشرة مع التركيز المستخدم ولا تتوافق هذه النتائج مع اوجـده (9) مـن ان ٦٩% من مجتمعات Rhizobium تختزل فـي التربـة بفعـل المعاملـة بمبيـد الكلايفوسيت على الرغم من اشارته الى وجود سلالات من بكتريا ال Rhizobium تطور صفة التحمل للمبيد بشكل سريع , الامر الذي يؤدي الى زيادة مجتمعها مـرة اخرى في منطقة الرايزوسفير ان هذه النتائج تؤكد ان مجتمـع البكتريـا ممكـن ان يتطور في التربة بعد ٦٠ يوم من المعاملة , لكن قد لا يأتي هذا من صالح النبـات الذي وصل مرحلة الحصاد او تكوين البذور , لكن قد يأتي بنتائج ايجابية في الموسم القادم نتيجة لتطور هكذا سلالات متحملة للمبيد الامر الذي يتطلب الاسـتمرار فـي متابعة سلوك هذا المبيد في البيئة ولعدة سنوات .

المصادر:

1. Ferreira, E. P. B., Dusi, A. N., Costa, J. R., Xavier, G. R. and Rumjanek, N.G. 2009. Assessing Insecticide and Fungicide Effects on the Culturable Soil Bacterial Community by Analyses of Variance of Their DGGE Fingerprinting Data. Eur. J. Soil Biol., 45: 466-472.
2. Zabaloy,M.C., Garl,J.L. and Gome,M.A., 2008. An integrated approach to evaluate the impacts of the herbicides glyphosate, 2,4-D and metsulfuron-methylon soil microbial communities in the Pampas region ,Argentina . Applied soil Ecology 40:1-12.
3. AL-Safor, F.A. 2012. Isolation and identification of local isolates of *Sinorhizobium meliloti* and studying its tolerance towards the herbicides Glyphosate. Rafidain Journal of science 23:11-21.
4. Harold, J. Benson , W. C. B., M. C. Grawlt. 1998. Microbiological applications laboratory manual in general microbiology. Seventh Edition.
5. 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.
6. 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.
7. Suwa, T., A. Jennifer and T.Jay . 2009. Rapid evolution of Rhizobia in response to glyphosate application . 94th ESA annual meeting .ps51-107.
8. Liu, C.M., P.A. Mclean, C.C. Sookdeo and F.C. Cannon. 1991. Degradation of the herbicide Glyphosate application . 94th ESA annual meeting . PS51-107.
9. Bo.T., L. Jiang , X. Shen,F.Luan and L.Qin, .2011. Effect of Glyphosate on soil micro-organisms. Chinese Journal of soil crop sciences . 33:162-168.

Effect of Glyphosate herbicide on the population of *Azotobacter chroococcum* and *Rhizobium leguminosarum*

Zaid Raad Abbas* Riedh Abass Abdul Jabbar ** Hadi Mahdi Aboud ***

* Al- Mustansiriya University College of Sciences Biology department

** Tikrit University College of Sciences Biology Department

***Ministry of Science and Technology Directorate Agricultural Research

Abstract

The results of the influence of glyphosate herbicide at the recommended and fold recommended dose on the population of *A. chroococcum* and *R. leguminosarum*. were found to be bacterial species, fungicide concentrate and period after treatment dependent.

Glyphosate recommended dose didn't induce significant effect on bacterial population 3days and 10 days after application which recorded 80 × ١٠^٥ cfu / 1 gm soil , 83× ١٠^٥ cfu / 1 gm soil while significant reduction in bacterial population was induces at fold recommended dose after 3 days and 60 days of application which recorded 61× ١٠^٥ cfu / 1gm soil , 65 × ١٠^٥ cfu / 1gm soil compered to control treatment which recorded 81× ١٠^٥ cfu /1gm soil and 85× ١٠^٥ cfu /1gm soil respectively.

The results also revealed that glyphosate didn't induce significant reduction in *R. leguminosarum* after 3 days and 60 days of application which recorded 13× ١٠^٥cfu /1gm soil , 21×١٠^٥ cfu /1gm soil while the fold recommended dose induced significant reduction in bacterial population after 3 days and 60 days of application which recorded 10× ١٠^٥ cfu /1gm soil , 13× ١٠^٥ cfu /1gm soil as compared to control treatment which

recorded in 14× ١٠^{٥} cfu / 1gm soil and 18 × ١٠^{٥} cfu /1gm soil respectively.