مجلة جامعة شندي العدد الثاني (يناير 2005م) ISSN:1858-571X

أثر مبيد البايلتون الفطري على أنواع من بكتريا تثبيت النيتروجين

عوض جلال عثمان[1] ومقدام الشيخ عبد الغني[2]

الملخص:

أجريت هذه التجربة لتحديد أثر مبيد البايلتون الفطري على أربعة أنواع من البكتريا المثبتة للنيتروجين هي Rhizobium leguminosarum السلالة TAL 1399 و Rhizobium leguminosarum السلالة ENRRI 9 و Pseudomonas putida و Flavobacterium spp. حيث أجريت أولاً تجارب التخفيفات المتسلسلة ثم التجارب الإبتدائية والتجارب الأساسية وذلك لتحديد مدى التراكيز الفعالة للمبيد وأثرها على نمو البكتيريا.

أوضحت النتائج أن أكثر الميكروبات المختبرة مقاومة لسمية مبيد البايلتون هو بكتريا Pseudomonas putida وأن الترتيب التصاعدي لمقاومة هذه الميكروبات لسمية مبيد البايلتون هو R. leguminosarum السلالة TAL 1399 و R. leguminosarum السلالة9 ENRRI و Flavobacterium spp. ثم Pseudomonas putida على التوالي.

كما وضح أن معامل السلامة لهذه الميكروبات وهو بنفس الترتيب التصاعدي يبلغ 26 و 31 و56 و 151 على التوالي. وخلصت الدراسة الى أن التراكيز القاتلة من مبيد البايلتون ل 50 % من أعداد هذه الميكروبات تفوق التراكيز الموصى بها للاستخدام في الحقل مما يعني أنه يمكن استخدام مبيدات حيوية مؤسسة على هذه الميكروبات لتثبيت النيتروجين مع رش المحصول بمبيد البايلتون.

[1]معهد أبحاث البيئة والموارد الطبيعية _ المركز القومي للبحوث
[2]مدير معهد أبحاث البيئة والموارد الطبيعية _ المركز القومي للبحوث

مجلة جامعة شندي العدد الثاني (يناير 2005م) ISSN:1858-571X

المقدمة :

نظراً للاخطار الناجمة عن استخدام الكيماويات في الزراعة فقد لجأ الباحثون إلى بدائل تكون أقل خطراً على البيئة والإنسان مثل اتباع طرق المكافحة المتكاملة للآفات واستخدام اللقاحات الميكروبية للتسميد، ومسرعات النمو الحيوية. وتلعب الأسمدة الميكروبية المؤسسة على كائنات حية لها المقدرةعلى تثبيت النيتروجين دوراً هاماً في زيادة إنتاج المحاصيل الزراعية. ولما كانت المبيدات مازالت ذات أهمية كبيرة في مقاومة الآفات للمحافظة على إنتاجية عالية فقد أصبح من الضروري دراسة الأثر الذي تخلفه هذه المبيدات على الميكروبات ذات الفائدة التي تنعكس على النباتات بزيادة الإنتاج ومن المعلوم أن المبيدات الفطرية أكثر تأثيراً على ميكروبات التربة مقارنة بالمبيدات الحشرية ومبيدات الحشائش . وتهدف هذه الدراسة إلى تحديد مدى إمكانية استخدام ميكروبات مثبتة للنتروجين كلقاحات بكتيرية في وجود مبيد البايلتون الفطري

مواد وطرق العمل :

مجلة جامعة شندي العدد الثاني (يناير 2005م) ISSN:1858-571X

تم استخدام مبيد البايلتون (Bayleton 25, a.i. Triadimefon) وهو مبيد فطري جهازي يستخدم لمكافحة أمراض البياض الدقيقي والأصداء وتبقع الأوراق في النباتات وذلك في تجربة معملية لتحديد أثر تراكيز مختلفة من هذا المبيد على 4 أنواع من البكتريا المثبتة للنيتروجين هي

Rhizobium leguminosarum السلالة TAL 1399 و Rhizobium leguminosarum السلالة ENRRI 9 و Pseudomonas putida و Flavobacterium spp. تم الحصول على السلالة TAL 1399 من مشروع NifTAL بجامعة هاواي بالولايات المتحدة الأمريكية وتم عزل السلالة ENRRI 9 محلياً من نباتات فول مصري وجلبت بكتريا Pseudomonas putida من أكاديمية العلوم الزراعية بموسكو وبكتريا Flavobacterium spp من معهد المايكروبيولوجيا الزراعية في سانكت بترسبورغ في جمهورية روسيا.

تم إجراء اختبار التخفيفات المتسلسلة (Somasegaran and Hoben, 1994) لكل نوع من انواع البكتريا المستخدمة في التجربة لتحديد أنسب التخفيفات التي يمكن أن تستخدم في إجراء تجربة تحديد أثر المبيد على نمو كل نوع من انواع البكتريا المستخدمة. ثم أجريت تجربة ابتدائية لتحديد مدى التراكيز الفعالة للمبيد (التراكيز التي تؤدي الى موت 20-80% من البكتريا) وذلك بتحضير أوساط غذائية صلبة تحتوي على تراكيز مختلفة من المبيد (0.0 و 0.03 و 0.15 و 0.3 و 1.5 و 3 و 12 جرام /لتر) ثم صبها في أطباق بتري بتكرارين لكل تركيز مع وجود أطباق بتري محتوية على الوسط الغذائي الصلب بدون المبيد لإستخدامها كشاهد. ثم زرعت التخفيفات المناسبة من كل نوع من البكتريا في هذه الأوساط الغذائية ووضعت للتحضين في درجة حرارة 28°م. وبدأ عد المستعمرات لثلاثة أيام متتالية ابتداء من اليوم التالي من التحضين، ومن ثم تم تحديد مدى التراكيز الفعالة من المبيد على كل نوع من البكتيريا.

بعد تحديد التراكيز الفعالة من المبيد تم تكرار التجربة مرة أخرى باستخدام هذه التراكيز، وكررت التجربة 3 مرات وذلك لتحديد أثر المبيد على الأنواع المختلفة من البكتيريا المستخدمة في التجربة. كما تم تحديد التركيز القاتل ل 50% من البكتيريا (LD_{50}) وذلك باتباع طريقة (Zinchehenko et al., 1947) واستناداً على هذه النتائج تم تحديد مدى اختيارية المبيد (selectivity) ومعامل سلامة المبيد (Kruglov, 1991) باعتبار أن معامل سلامة المبيد= LD_{50} / التركيز المستخدم في الحقل (1 مليجرام من المادة الفعالة من مبيد البايلتون لكل كيلوجرام من التربة).

النتائج والمناقشة:

تجربة تحديد مدى التراكيز الفعالة للمبيد:

أظهرت نتائج هذه التجربة أن تراكيز المبيد التي تقتل 20-80% من البكتريا المستخدمة في التجربة تتراوح بين 0.0 و 0.03 جرام/لتر لكل الأنواع ما عدا بكتريا P.putida والذي تراوح تركيز المبيد الكافي لقتل 20-80% من خلاياها بين 0.0 و 0.3 جرام/لتر مما يدل على أن هذه البكتريا هي الأكثر تحملاً لأثر المبيد من بين الأنواع المختبرة (جدول 1).

تجربة تحديد أثر التراكيز الفعالة من المبيد على نمو البكتيريا:

أظهرت نتائج التجربة اختلاف أثر تركيز المبيد على نمو البكتيريا باختلاف نوع البكتيريا فقد أدت زيادة التركيز من 0.0 الى 0.25 جرام/لتر إلى موت 80% من أعداد بكتيريا Flavobacterium spp. (جدول 2) وموت 60% من بكتيريا P.putida (جدول 3). ونتج عن زيادة التركيز من 0.0 إلى 0.05 جرام/لتر إلى موت 64% من بكتيريا R. leguminosarum السلالة TAL 1399 (جدول 4) والزيادة من 0.0 إلى 0.1 جرام/ لتر الى موت 52% من بكتيريا R. leguminosarum السلالة ENRRI 9 (جدول 5). وتدل هذه النتائج على أن بكتيريا P.

putida هـي الأكثر مقاومة لأثر المبيد وكانت أكثرها حساسية للمبيد هي بكتيريا R. leguminosarum السلالة TAL 1399 ومن المعلوم أن الكائنات الدقيقة تختلف في مقدرتها على مقاومة المبيدات الكيميائية باختلاف أنواعها (Osman et al., 1999) وأيضاً باختلاف سلالات النوع الواحد (Kruglov, 1991). وتأتي أهمية هذه النتيجة في التطبيق العملي عند استخدام المبيدات لتحديد الأثر الضار لهذه المبيدات على أنواع ميكروبات التربة المفيدة ومدى الضرر الذي قد تسببه هذه المبيدات في إحداث خلل في توازن أعداد الميكروبات وأنواعها وتأثير ذلك دورات العناصر الغذائية ومايليه من تأثير على توفر هذه العناصر للنباتات.

تجربة تحديد التركيز القاتل ل 50% من أعداد البكتيريا (LD_{50}):

بعد تحديد أثر التراكيز الفعالة من المبيد وباتباع طريقة (Zinchehenko et al., 1947) أمكن تحديد تركيز المبيد الذي يؤدي إلى موت 50% من أعداد خلايا كل نوع من أنواع البكتيريا. وقد وجد أن LD_{50} من المبيد لكل نوع من أنواع البكتيريا المستخدمة (الأشكال 1 و 2 و 3 و 4) تبلغ 0.0151 و 0.0056 و0.0026 جرام/لتر لكل من P.putida و R. leguminosarum السلالة ENRRI 9 و.Flavobacterium spp وR. leguminosarum السلالة TAL 1399 على التوالي . وتدل هذه النتائج على أن ترتيب مدى مقدرة أنواع البكتيريا لمستخدمة في التجربة على مقاومة أثر البايلتون هو نفس الترتيب الوارد ذكره أعلاه.

تجربة تحديد معامل اختيارية المبيد:

عنــد تحليل نتائج تحديد التركيز المؤدي إلى موت 50% من أعداد خلايا كل نوع من أنواع البكتيريا يتضح أن LD_{50} من المبيد لبكتيريا Pseudomonas putida يفوق LD_{50} لكل من R. leguminosarum السلالة ENRRI 9 و Favobacterium.

R. leguminosarum السلالة TAL 1399 بحوالي 3 و 5 و 6 أمثال spp و (جدول 6) مما يدل على أن معامل اختيارية المبيد هو الأعلى بالنسبة لبكتيريا R. leguminosarum السلالة TAL والأقل بالنسبة لبكتيريا P. putida .

تجربة تحديد معامل سلامة المبيد :

اعتماداً على معامل سلامة المبيدات على ميكروبات التربة (Kruglov, 1991) يتضح أن مبيد البايلتون يؤثر تأثيراً طفيفاً على بكتيريا P.putida و R. leguminosarum السلالة ENRRI 9 (جدول 7) بينما يؤثر تأثيراً غير معنوي على ميكروبي . Flavobacterium spp و R. leguminosarum السلالة TAL 1399. ونخلص من هذه النتيجة إلى أن LD_{50} من مبيد البايلتون لأنواع البكتيريا المستخدمة في التجارب تفوق التراكيز المستخدمة في الحقل من هذا المبيد على البقوليات مثل البازلاء وغيرها من الخضروات.

مجلة جامعة شندي العدد الثاني (يناير 2005م) ISSN:1858-571X

جدول 1 : أثر تراكيز مختلفة من مبيد البايلتون على نمو أنواع مختلفة من بكتيريا تثبيت النيتروجين

تركيز المبيد (جرام/لتر)	متوسط أعداد البكتيريا			
	Flavobacterium	**Rhizobium strain TAL 1399**	**Pseudo monas**	**Rhizobium strain TAL 1399**
12	**0**	**0**	**0**	**0**
3	**0**	**0**	**0**	**0**
1.5	**0**	**0**	**0**	**0**
0.3	**4.5**	**0**	**1.5**	**2**
0.15	**8.5**	**0**	**2**	**2.5**
0.03	**13.5**	**135.7**	**19.5**	**11**
0.0	**27**	**192.7**	**29.5**	**39.5**

جدول 2 : أثر التراكيز الفعالة من مبيد البايلتون على بكتريا Flavobacterium spp

تركيز المبيد (جرام /لتر)	**متوسط أعداد البكتيريا**
0.0	12
0.02	9
0.04	5.4
0.1	3.6
0.25	2.4

جدول 3 : أثر التراكيز الفعالة من مبيد البايلتون على بكتيريا P.putida

مجلة جامعة شندي العدد الثاني (يناير 2005م) ISSN:1858-571X

تركيز المبيد (جرام/لتر)	متوسط أعداد البكتيريا
0.0	90
0.02	72
0.04	63
0.1	54
0.25	36

جدول 4: أثر التراكيز الفعالة من مبيد البايلتون على بكتيريا R. leguminosarum السلالة TAL 1399

تركيز المبيد (جرام /لتر)	متوسط أعداد البكتيريا
0.000	25
0.025	23
0.030	12
0.035	11
0.050	9

جدول 5: أثر التراكيز الفعالة من مبيد البايلتون على بكتيريا R. leguminosarum السلالة ENRRI 9

تركيز المبيد (جرام /لتر)	متوسط أعداد البكتيريا
0.00	90
0.035	72
0.040	63
0.050	54
1.000	36

جدول 6: تحديد معامل اختيارية مبيد البايلتون

البكتيريا	LD_{50}	معامل الإختيارية

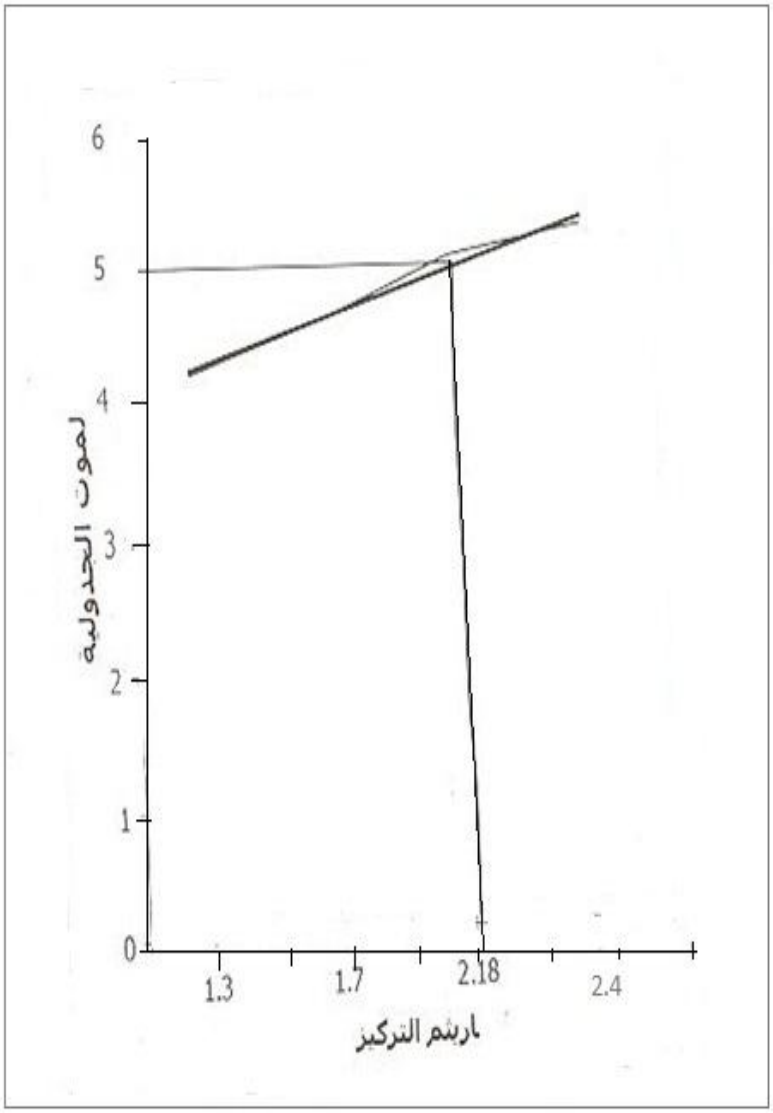
	P.putida	Rhizobium ENRRI 9	Flavobacterium	Rhizobium TAL 1399
P.putida	0.0151	-	2.7	4.9	5.8
Rhizobium ENRRI 9	0.0056	-	-	1.8	2.2
Flavobacterium	0.0031	-	-	-	1.19
Rhizobium TAL 1399	0.0026	-	-	-	-

جدول 7 : تحديد معامل سلامة مبيد البايلتون

البكتيريا	LD_{50}	معامل السلامة
P.putida	0.0151	151
Rhizobium ENRRI 9	0.0056	56
Flavobacterium	0.0031	31
Rizobium TAL 1399	0.0026	26

شكل 1 : منحنى اعتماد على تركيزه لبكتيريا Pseudomonas putida

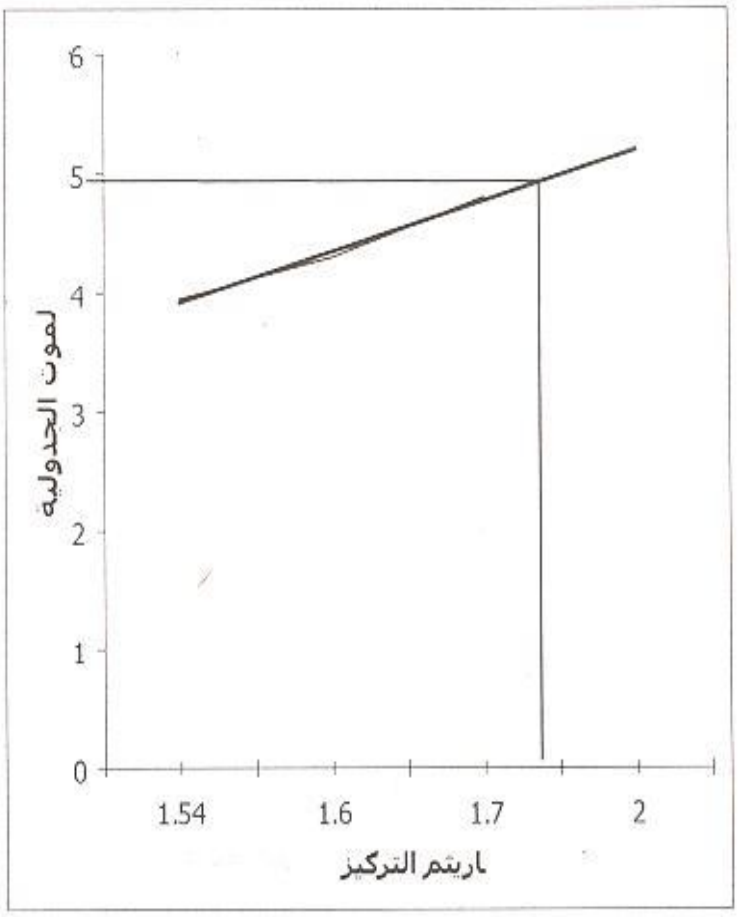
مجلة جامعة شندي العدد الثاني (يناير 2005م) ISSN:1858-571X



شكل 2 : منحنى اعتماد المبيد على تركيزه لبكتيريا R. leguminosarum

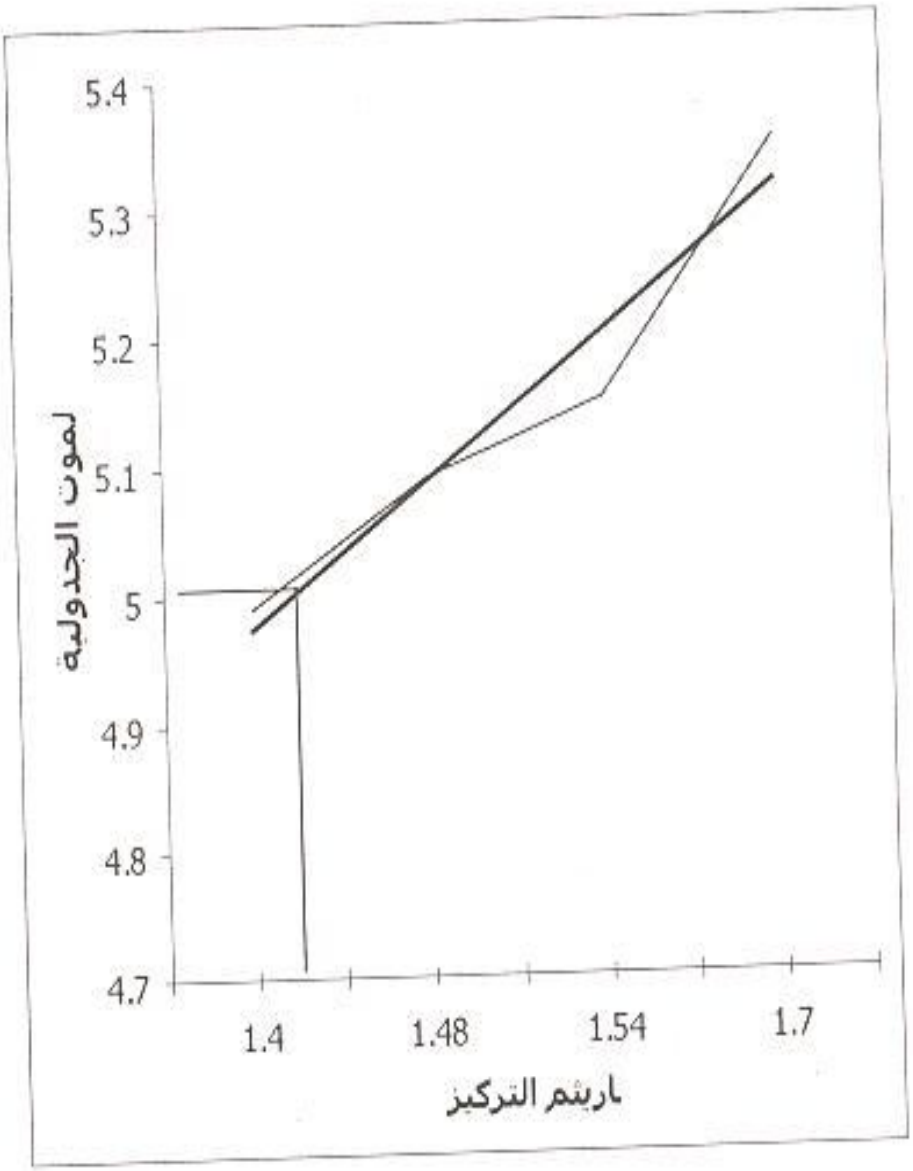
ENRRI 9

مجلة جامعة شندي العدد الثاني (يناير 2005م) ISSN:1858-571X

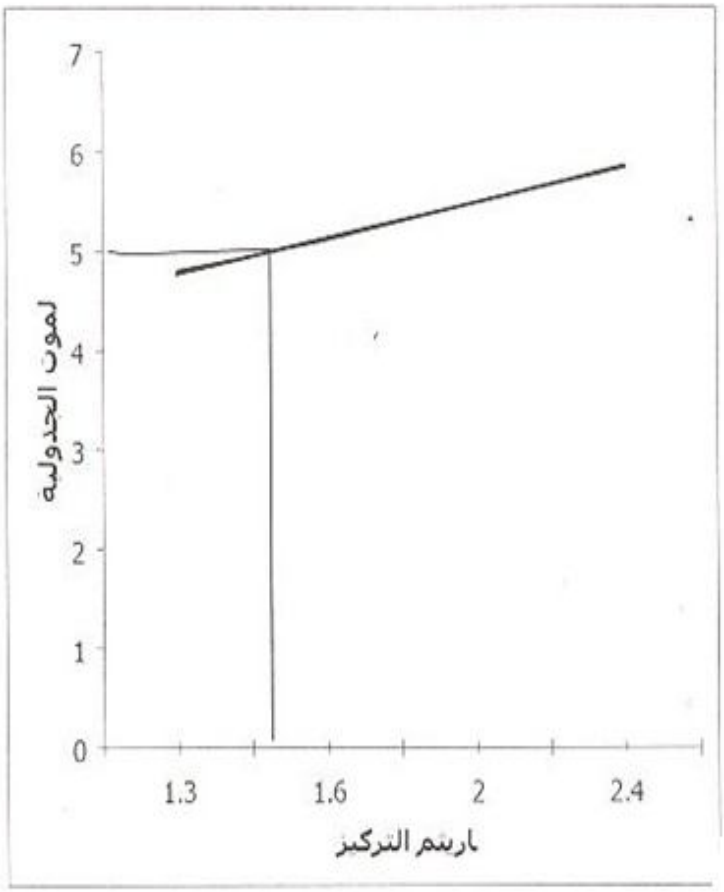


شكل 3 : منحنى اعتماد المبيد على تركيزه لبكتيريا R. leguminosarum TAL 1399

مجلة جامعة شندي العدد الثاني (يناير 2005م) ISSN:1858-571X



شكل 4 : منحنى اعتماد المبيد على تركيزه لبكتيريا Flavobacterim spp *sp.*



المراجع :

- Kruglov, U. V. (1991). Soil Microflora and Pesticides. Agroprom Publishers. Moscow .128 pp. In Russian.
- Osman, A. G.; Emtesev, V. T.; Smirnov , A.N. and bikov, K. V. (1999). The effect of fungicides Amistar on beneficial microorganisms and some strains of phytophthora infetants. Journal of Moscow Agricultural Academy 1 : 139 – 145.
- Somasegaran, P. and Hoben, H. J. (1994). Handbook for Rhizobia:Methods in Legume-Rhizobium Technology. Springler-Verlag. New York . 450pp.
- Zinchenko, V . A . Viatkina, N. E. Afanaseva, A. U. (1974). Biological methods of determination of toxicity and residuals of insecticides. Manual for practical. Department of Chemical Plant Protection. Moscow Agricultural Academy. 54 pp.