

## اثر بازدارندگی دو سم رایج کشاورزی (بنومیل و دیازینون) بر رشد جمعیت *Pseudomonas putida*

نسرین صبور مقدم<sup>۱</sup>، رضا خاکور<sup>۲</sup>، نسیم محمدنژاد<sup>۳</sup>، ناصر علی اصغرزاد<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۲/۱۷

تاریخ تصویب: ۹۴/۳/۱۸

### چکیده

*Pseudomonas putida* یکی از شناخته شده ترین باکتری هاست که جدایه های بسیار زیادی از آن از سراسر دنیا گزارش شده است. برخی از جدایه های این باکتری جزو مهم ترین عوامل حل کننده فسفات در خاک می باشند که باعث افزایش دسترسی گیاهان به این عنصر و بهبود رشد آنها می گردد و به همین دلیل جزء باکتری های مفید خاکزی محسوب می شوند. عوامل مختلفی بر رشد طبیعی این باکتری در خاک اثر می کند که یکی از مهم ترین این عوامل، آفت کش ها می باشند. در تحقیق

۱ استادیار، گروه منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه پیام نور، ایران (نویسنده مسئول sabourmoghaddam@pnu.ac.ir)

۲ استادیار، گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۳ دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۴ استاد، گروه خاک شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

حاضر تاثیر دو سم پرمصرف کشاورزی در ایران به نام‌های دیازینون (Diazinon) و بنومیل (Benomyl) در مقدارهای (۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۵۰۰ و ۵۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و دماهای مختلف (۲۵، ۳۰، ۳۵، ۴۰ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد) بر رشد جدایه‌ای از این باکتری مورد آزمایش قرار گرفت. بر این اساس، نتایج نشان دادند که هر دو سم حتی در پایین‌ترین مقدار مورد مطالعه (۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) باعث کاهش معنی‌داری در رشد جمعیت باکتری می‌گردند، هر چند که توقف کامل رشد باکتری دیده نشد. مقدار توصیه شده و مصرفی کشاورزان برای هر دو سم در باغات و مزارع ایران ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر است که در این غلظت رشد جمعیت باکتری برای هر دو سم بکار رفته بسیار کند و به ترتیب برای بنومیل ۶۰٪ و برای دیازینون ۱۹٪ کمتر از شاهد مشاهده گردید. سم بنومیل در هیچ یک از دزهای استفاده شده باعث توقف کامل رشد و مرگ کامل باکتری نشد، در حالی که سم دیازینون در غلظت‌های ۲۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و بالاتر از آن باعث مرگ کامل سلول‌های باکتری و از بین رفتن جمعیت اولیه باکتری گردید. در دماهای بالای ۳۰ درجه کاهش معنی‌داری در رشد جمعیت باکتری مشاهده شد که این کاهش رشد، در حضور غلظت‌های مختلف هر دو سم بطور معنی‌داری تشدید گردید.

**واژه های کلیدی:** بنومیل، باکتری‌های حل‌کننده فسفات-*Pseu*،  
*domonas putida*، خاک، دیازینون

## مقدمه

به عنوان کودهای زیستی به وفور استفاده می شود (Kudashev, (1956); Smith et al., (2013); Sharma et al., (2013)). عوامل فیزیکی و شیمیایی مختلفی ممکن است بر جمعیت این نوع از باکتری ها در خاک اثر کرده و با از بین بردن تعادل اکولوژیک و کاهش جمعیت آنها، باعث آسیب های غیر مستقیم به گیاهان و تولید محصولات کشاورزی گردند. از مهم ترین عوامل شیمیایی بر هم زننده اکوسیستم های طبیعی مختلف، سموم کشاورزی می باشند که هر ساله هزاران تن از آنها در مناطق مختلف کشاورزی به مصرف می رسند. تا کنون اثرات مخرب سموم کشاورزی بر محیط زیست و حیات جانداران مختلف مورد مطالعه قرار گرفته است، با این حال تحقیق در مورد آثار سوء آنها روی باکتری های مفید خاکزی بسیار اندک و جدید است (Bergfield, (2001)).

تحقیقات متعددی در مورد تاثیر مواد شیمیایی مختلف روی جدایه های باکتری *P. putida* در دنیا انجام شده است که نتایج حاکی از اثر باز دارنده برخی مواد روی رشد باکتری است. در حالی که برخی مواد علی رغم سمی بودن برای انسان و سایر جانوران، برای این باکتری سمی نبوده و باکتری دارای قدرت تجزیه آن نیز می باشد و می تواند این مواد سمی را جذب و مورد استفاده قرار دهد

*Pseudomonas putida* باکتری میله ای شکل، دارای تاژک های قطبی، خاکزی، گرم منفی و از گروه Gamaproteobacter ia می باشد (Shaadet al., (2001)). جنبه های مختلفی از این باکتری در پزشکی، صنعت، کشاورزی و محیط زیست مورد مطالعه قرار گرفته است. یکی از جنبه های مفید این باکتری قدرت بالای برخی از جدایه های آن در محلول سازی فسفات در خاک است. عنصر فسفر یکی از مهم ترین عناصر پرمصرف مورد نیاز گیاهان است که برای رشد و نمو همه گیاهان ضروری است (Khanet al., (2009)). این عنصر بصورت ترکیبات شیمیایی مختلف در اکثر خاک های دنیا به وفور یافت می شود، ولی گیاهان فقط در شکل شیمیایی خاصی قادر به جذب و مصرف این عنصر هستند. تعداد اندکی از میکروارگانیسم های خاک که عمدتاً جزء باکتری ها هستند قادر می باشند در ترکیب شیمیایی مولکول های فسفردار تغییر ایجاد کرده و آنها را برای گیاهان قابل جذب نمایند. این گروه از باکتری ها که اصطلاحاً باکتری های حل کننده فسفات نامیده می شوند، جزء مهم ترین باکتری های مفید خاکزی در کشاورزی می باشند (Chen et al., (2006)). مطالعه روی باکتری های حل کننده فسفات از دهه ۱۹۵۰ میلادی آغاز و هم اکنون از آنها

۲۰ درصدی محیط کشت مایع برای آزمایش اصلی استفاده شد.

### سموم کشاورزی مورد استفاده:

هر دو سم بنومیل (با نام تجاری Ben-  
Cytochem ۵۰% WP ساخت شرکت

چین) و دیازینون (با نام تجاری Basudin  
۶۰% EC بسته بندی شرکت ShimiAgro

ایران) از اداره حفظ نباتات شهر تبریز تهیه گردیدند. سم بنومیل بصورت پودر سفید قابل تعلیق در آب با غلظت ۵۰ درصد و سم دیازینون بصورت مایع قابل حل در آب با غلظت ۶۰ درصد بود. بر اساس دستورالعمل استفاده از سم، غلظت توصیه شده هر دو سم در مزارع و باغات بطور میانگین در حدود ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر بود. برای استریل کردن محلول سمی، قبل از آزمایش غلظت هایسمیتیه شده از فیلتر سرنگ (۰/۲۲ میکرومتر) عبور داده شد.

### بررسی تاثیر سم و حرارت بر روی رشد باکتری:

برای انجام آزمایش از حمام بن ماری شیکردار (ساخت شرکت زیست فن آوران سهند) و لوله های پلاستیکی فالکون (۵۰ میلی لیتر) استفاده گردید. بررسی به روش Congregado et al (۱۹۷۹) با اندکی تغییرات انجام گردید. در هر لوله فقط ۲۵ میلی لیتر محیط کشت اضافه گردید و مابقی برای تنفس هوازی باکتری

Congregado et al., (1979). قابل ذکر است که تاکنون بررسی کاملاً مشابهی از تاثیر سموم رایج کشاورزی ایران روی جدایه های بومی این نوع باکتری که توان حل کنندگی فسفات را دارند، انجام نگرفته است.

### مواد و روش ها

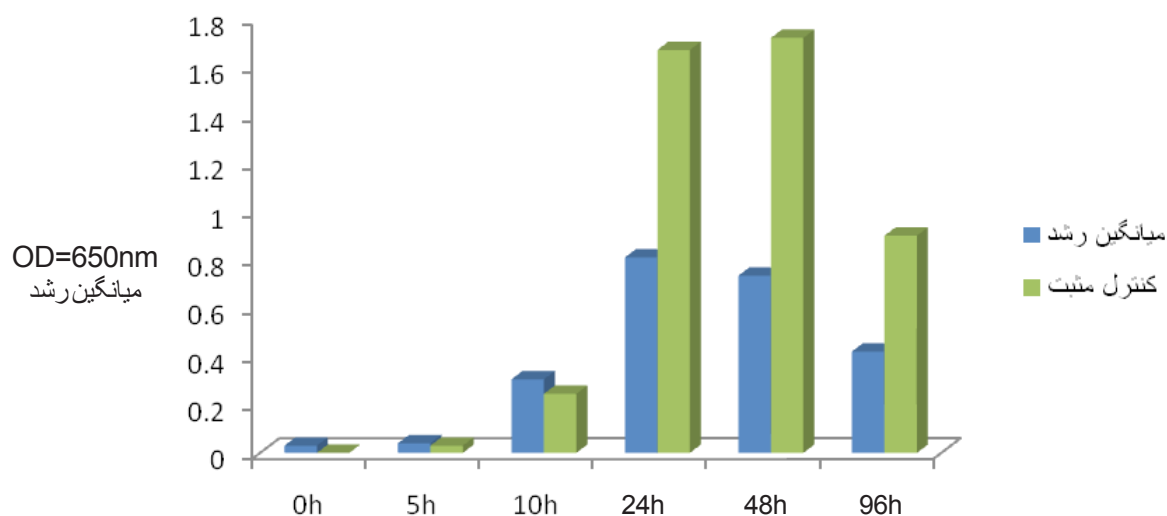
**جدایه باکتری:** جدایه باکتری *P. putida* (با کد P22 - تاریخ جمع آوری ۱۳۸۷) از آزمایشگاه بیولوژی خاک گروه خاک شناسی دانشگاه تبریز تهیه گردید. این جدایه قبلاً توسط روش های بیوشیمیایی و توالی یابی ناحیه ی 16srRNA بصورت مولکولی شناسایی و ذخیره سازی شده بود. توان حل کنندگی فسفات این باکتری قبلاً توسط آزمایش های متداول مورد ارزیابی و اثبات گردیده بود ساریخانی و همکاران، (۱۳۹۲). این جدایه پس از دریافت، در چندین پتری دیش روی محیط کشت (Sperber agar=SA) (شامل ۱۸ گرم آگار، ۱۰ گرم گلوکز، سه گرم تری کلسیم فسفات  $(Ca_3(PO_4)_2 + 2H_2O)$ ، ۰/۵ گرم عصاره مخمر، ۰/۲۵ گرم سولفات منیزیم و ۰/۱ گرم کلرید کلسیم) تجدید کشت شده و برای آزمایشات بعدی در یخچال نگهداری شده و آزمایش اصلی در داخل محیط کشت آماده (TSB (Tryptic Soy Broth) (شرکت Difco) انجام شد. به منظور رشد کندتر باکتری و کاهش کدر بودن محلول، محیط کشت پنج برابر رقیق سازی و از غلظت

شرکت Unico آمریکا) در طول موج ۶۵۰ نانومتر (OD650nm) اندازه‌گیری شد. با تغییر دمای بن‌ماری، آزمایش در پنج دمای مختلف ۲۵، ۳۰، ۳۵، ۴۰ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد تکرار گردید تا تاثیر دما نیز بررسی شود (Ekundayo, 2010).

### نتایج

سم بنومیل: بر اساس نتایج بدست آمده، سم بنومیل بطور معنی‌داری اثر بازدارنده بر رشد باکتری *P. putida* داشته و در تمام غلظت‌ها و دماهای آزمایش شده باعث کاهش رشد باکتری نسبت به شاهد گردید. این سم در دز تجاری توصیه شده (دز درج شده در روی بروشور برای بیماری‌ها و شرایط مختلف) که بطور میانگین ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد باعث کاهش ۶۰ درصدی رشد جمعیت باکتری در انتهای آزمایش گردید (شکل ۱ و جدول ۱). مقایسه

خالی گذاشته شد. در ابتدا محیط کشت مایع TSB (با غلظت ۲۰ درصد) با آب مقطر تهیه و در دمای ۱۲۱ درجه بمدت ۱۵ دقیقه استریل گردید. سپس با استفاده از سم استریل شده و محیط کشت، غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۵۰۰ و ۵۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از هر دو سم در داخل محیط کشت مایع تهیه شد. برای هر تیمار (هر غلظت سم) شش لوله فالکن به عنوان تکرار در نظر گرفته شد. دلوله حاوی محیط کشت TSB عاری از سم که فقط باکتری در آن کشت شده بود (کنترل) و چهار لوله دیگر شامل باکتری بعلاوه یکی از غلظت‌های سم تهیه شده بودند. اندازه‌گیری میزان رشد باکتری در شش مرحله (بلافاصله بعد از اضافه کردن باکتری، ۵ ساعت، ۱۰ ساعت، ۲۴ ساعت، ۴۸ ساعت و چهار روز بعد از شروع آزمایش) انجام گردید. میزان رشد باکتری در داخل محیط‌های کشت با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (ساخت



شکل ۱: میانگین رشد باکتری *P. putida* در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سم بنومیل

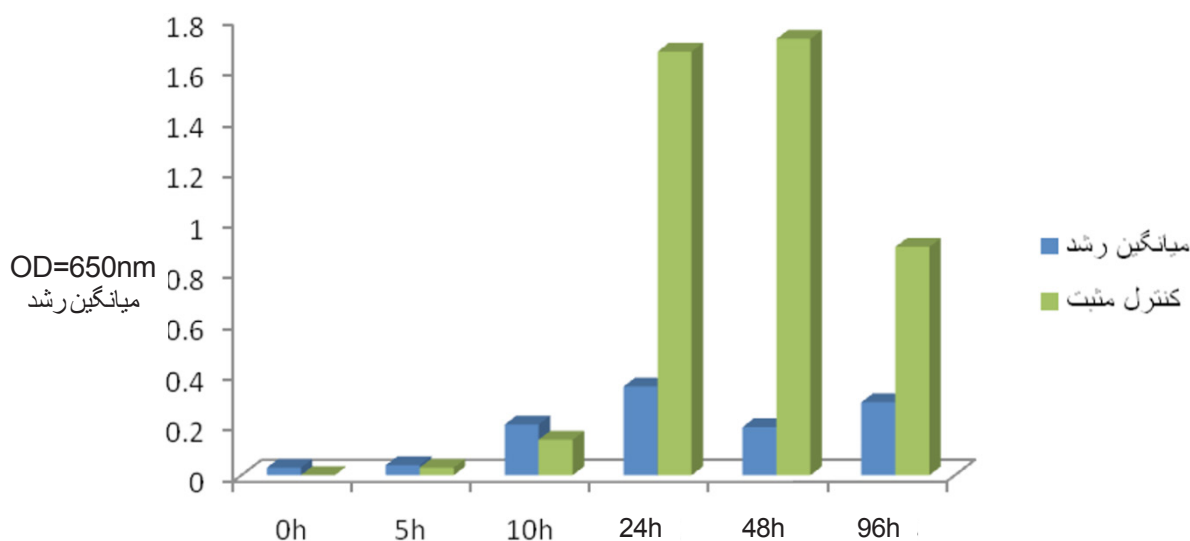
## جدول ۱: میانگین رشد جمعیت باکتری *P. putida* بیست و چهار ساعت پس از شروع آزمایش

		فاکتور غلظت سم									
		بنومیل (میلی گرم بر لیتر)					دیازینون (میلی گرم بر لیتر)				
		۲۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰	۲۵۰۰	۵۰۰۰	۲۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰	۲۵۰۰	۵۰۰۰
فاکتور دما °C	۲۵	۰/۸۵*	۰/۵۱	۰/۳۹	۰/۱۵	۰/۱۳	*۰/۳۳	۰/۲۵	۰/۲۱	۰/۰	۰/۰
	۳۰	۰/۶۲	۰/۶۰	۰/۳۵	۰/۱۴	۰/۱۱	۰/۳۲	۰/۱۶	۰/۰۹	۰/۰	۰/۰
	۳۵	۰/۴۳	۰/۴۴	۰/۲۸	۰/۲۰	۰/۱۱	۰/۲۱	۰/۱۱	۰/۰۴	۰/۰	-۰/۰۲
	۴۰	۰/۲۹	۰/۲۶	۰/۲۲	۰/۱۵	۰/۱۰	۰/۱۴	۰/۰۹	۰/۰۲	-۰/۰۴	-۰/۰۷
	۴۵	۰/۲۵	۰/۲۱	۰/۲۳	۰/۱۰	۰/۰۸	۰/۰۹	۰/۰۵	-۰/۰۱	-۰/۰۶	-۰/۱۱

\*اعداد داخل جدول نشانگر میانگین OD650nm ثبت شده برای هر یک از تیمارها (۶ تکرار) است

رشد باکتری ۳۰ درجه می باشد و با افزایش دما رشد باکتری دچار کاهش می شود. این کاهش رشد در حضور سم تشدید یافته و غلظت بالای سم همراه با دمای بالا به شدت رشد جمعیت باکتریایی را دچار اختلال کرده و در غلظت ۵۰۰۰ میلی گرم بر لیتر پس از ۲۴ ساعت می گردد باعث توقف کامل رشد می گردد (شکل ۲).

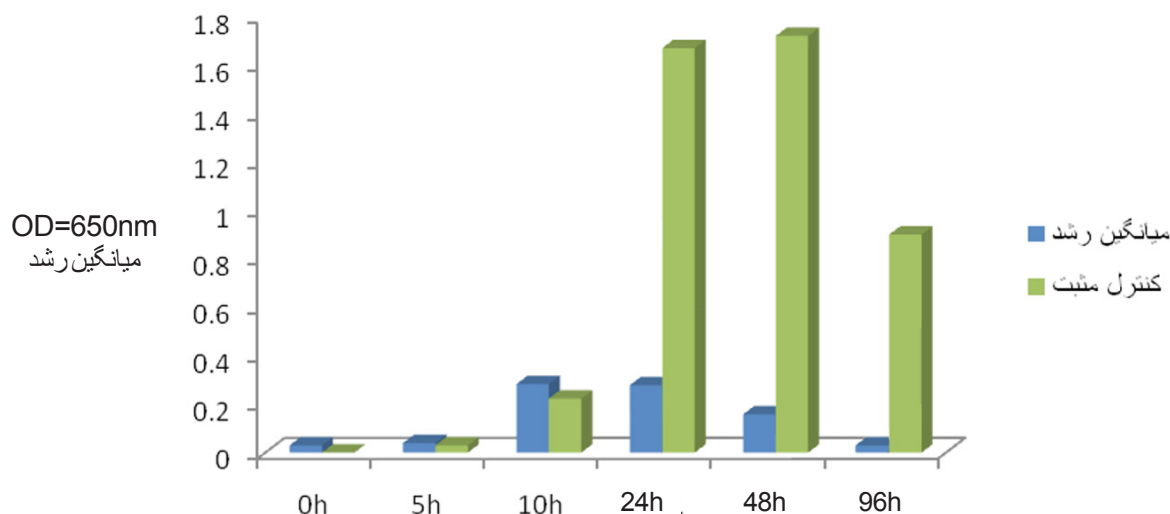
میزان رشد باکتری در دزهای مختلف سم بنومیل نشان داد که با افزایش میزان غلظت سم بنومیل در محیط کشت، رشد باکتری نیز بطور معنی داری کاهش می یابد ولی در بالاترین دز مورد استفاده (۵۰۰۰ میلی گرم بر لیتر) باعث توقف کامل رشد باکتری و یا مرگ کامل باکتری ها (رشد منفی) نمی شود. بررسی تاثیر دما نشان داد که دمای مناسب



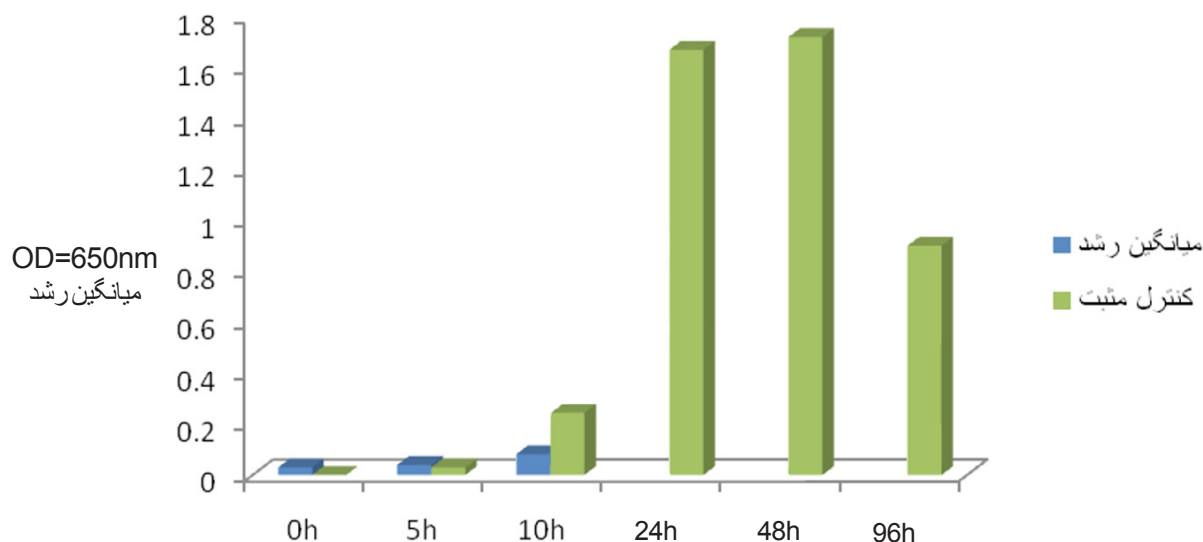
شکل ۲: میانگین رشد باکتری *P. putida* در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد و در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر سم بنومیل

جدول ۱). در دزهای بالا (۲۵۰۰ و ۵۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) اثر بازدارندگی این سم بر باکتری بسیار شدید بوده و باعث مرگ و میر جمعیت اولیه باکتری گردید. تاثیر دما بر بازدارندگی سم دیازینون همانند بنومیل تشدید کننده بوده و با افزایش دما کاهش بیشتری در رشد جمعیت باکتریایی دیده شد (شکل ۴). بر اساس نتایج بدست

سم دیازینون: نتایج آزمایشات نشان دادند که حشره‌کش دیازینون نسبت به بنومیل اثر ممانعت‌کنندگی بیشتری بر باکتری *P. putida* دارد. این سم در دز توصیه شده تجاری (۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) نه تنها تا ۸۹ درصد باعث کاهش جمعیت باکتری گردید، بلکه روند رشد جمعیت باکتری را کندتر کرد (شکل ۳ و

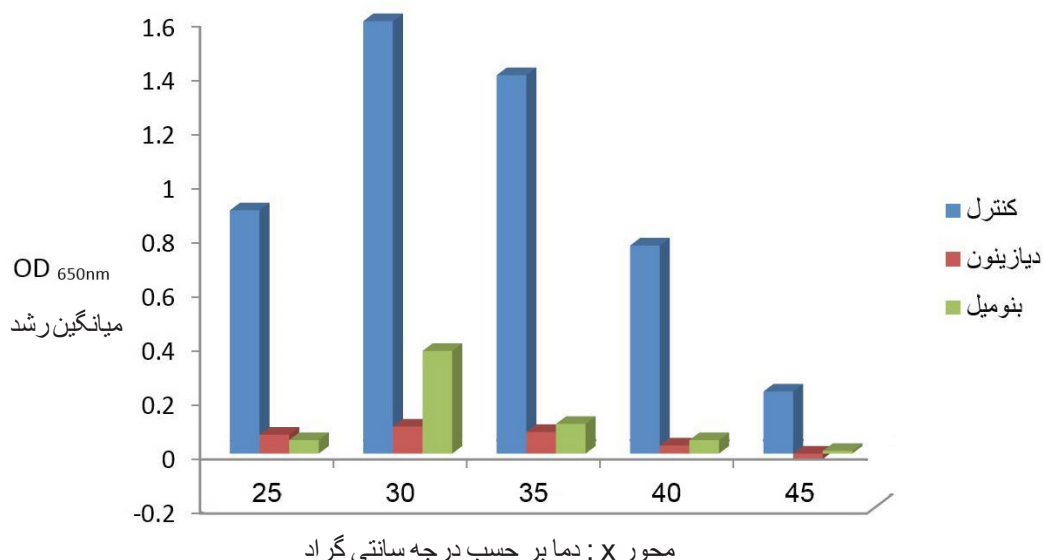


شکل ۳: میانگین رشد باکتری *P. putida* در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سم دیازینون



شکل ۴: میانگین رشد باکتری *P. putida* در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و در غلظت ۲۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سم دیازینون

آمده در دمای بالای ۳۵ درجه سانتی‌گراد، این باکتری حتی در پایین‌ترین دز (۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) نیز توان رشد ندارد. بطور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که در مورد هر دو سم بنومیل و دیازینون، دما اثر مهارکنندگی سم را افزایش داده و با افزایش دما رشد باکتری در حضور سم نیز کاهش یافته می‌یابد (شکل ۵).



شکل ۵: میانگین رشد باکتری در دماهای مختلف در حضور غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سم دیازینون و بنومیل

## نتیجه و بحث

تاثیر غیر یکنواخت این سم در شرایط یکسان بر گروه‌های مختلف میکروبی می‌باشد.

Smith et al (2000) نشان دادند که کاربرد دراز مدت سم بنومیل در مزارع، اگرچه تا ۲۰ درصد جمعیت کل باکتریایی خاک را کاهش می‌دهد در عین حال باعث افزایش ۱۰ درصدی فعالیت بالقوه میکروبی می‌شود؛ که نشان دهنده تاثیر متفاوت این سم بر میکروبه‌های خاکزی می‌باشد. بدین معنا که هر چند بنومیل جمعیت کل باکتری‌های خاکزی قابل کشت و نماتدها را در دراز مدت کاهش می‌دهد اما سایر

بنومیل سمی است با خاصیت قارچ‌کشی بالا که علیه طیف وسیعی از بیماری‌های قارچی در مزارع، باغات و انبار مورد استفاده قرار می‌گیرد رخشانی، (۱۳۸۹). این سم با تاثیر بر تکثیر سلولی در قارچ‌های مختلف باعث توقف رشد آنها می‌گردد. تاکنون تاثیر این سم بر گروه‌های مختلف میکروبی بخصوص قارچ‌های مختلف آزمایش و گزارش گردیده است. تحقیقات در مورد برهم‌کنش این سم بر میکروارگانیسم‌های خاکزی نتایج متفاوتی بدست داده است و نشان دهنده



بیمارگر را داده است. استفاده همزمان قارچ کش و باکتری مفید باعث تضعیف عامل بیماری شده و بیمارگر مقاومت یا توان رقابتی کمتری نسبت به عامل بیوکنترل از خود نشان می دهد که نهایتاً باعث افزایش کارایی عامل بیوکنترل می گردد. (Mishra et al (2014) نیز گزارش کرده اند که اکثر قارچ کش ها تاثیر منفی بر رشد باکتری های مفید بخصوص باکتری های جنس *Pseudomonas* ندارد. اما در اکثر تحقیقات قبلی همانند نتایج این تحقیق نشان داده شده است که این سم می تواند جمعیت کل یا جمعیت هایی از باکتری های ریزوسفر ریشه گیاهان بخصوص باکتری های جنس *Pseudo-monas* را کاهش دهد. منصور پور و همکاران (۱۳۸۷) طی تحقیقی نشان دادند که باکتری های آنتاگونیست (بخصوص باکتری *Pseudomonas fluorescens*) که برای بیوکنترل بیماری قارچی *Scleroti-ni asclerotiorum* بکار می روند، تحت تاثیر سم بنومیل قرار گرفته و جمعیت این باکتری ها در ریزوسفر خاک کاهش پیدا می کند، بنابراین استفاده همزمان از قارچ کش بنومیل و عوامل بیوکنترل باکتریایی برای کنترل تلفیقی این بیماری قارچی را غیر ممکن می سازد. Fawole رد سال ۱۹۹۸ گزارش کرد که کاربرد سم بنومیل در کشت گوجه فرنگی ممکن است باعث افزایش بیماری قارچی *Py-*

گروه های میکروبی نظیر پروکاریوت های غیر قابل کشت، پروتوزوا و جلبک های تک سلولی خاک را افزایش می دهد. در مقیاس کوچکتر در داخل شاخه باکتری ها نیز تحقیقات نشان داده است که تاثیر این سم بر گروه های مختلف باکتریایی متفاوت می باشد، اگرچه برای برخی از جنس های باکتریایی مضر و کشنده بوده در عین حال برای برخی دیگر بی اثر و یا حتی منبعی برای تغذیه محسوب می شود (Bergfield, (2001). در این راستا گزارش شده است که سم بنومیل در خاک به راحتی توسط برخی از باکتری ها تجزیه شده و گروه هایی از باکتری های خاکزی قادر به تجزیه مولکولی سم بنومیل و استفاده از آن در متابولیسم خود هستند (Fuchs and de Vries, (1978).

El-Hussein et al (2014) نیز نشان دادند که برخی گروه های باکتریایی از جمله جدایه هایی از جنس *Pseudomonas* توان تجزیه سم بنومیل را دارند و این سم نه تنها هیچ تاثیر منفی بر رشد این باکتری ها ندارد بلکه به عنوان منبع کربن می تواند مورد تغذیه این باکتری ها قرار گیرد. از این پدیده عدم تاثیر سوء سم بنومیل و سایر سموم روی برخی باکتری ها در مدیریت بیماری ها استفاده شده است، بطوریکه Baker (1987) پیشنهاد استفاده همزمان سم و باکتری های آنتاگونیست

*thium* گردد، در حالی که باعث کاهش جمعیت باکتری‌های بیماری‌زای جنس *Pseudomonas* در خاک شده و این گروه از بیماری‌های گوجه‌فرنگی را نیز کنترل می‌کند. (Ekundayo (2010) نشان داد که سم بنومیل تاثیر یکسان بر باکتری‌های مختلف خاکزی نداشته و باعث افزایش برخی از جنس‌های باکتریایی بخصوص گونه *Bacillus subtilis* در خاک شده و در عین حال باعث کاهش جمعیت بسیاری از باکتری‌های گرم منفی خاک از جمله باکتری‌های جنس *Pseudomonas* می‌گردد.

در مورد دیازینون نیز وضعیت مشابه می‌باشد، این سم یک حشره‌کش فسفره قوی بوده که از طریق جلد حشرات جذب شده و باعث مرگ سریع آنها می‌گردد رخشانی (۱۳۸۹). این سم در گذشته به‌وفور برای کنترل طیف وسیعی از حشرات مکنده و جونده استفاده می‌شد. هر چند در حال حاضر استفاده از این حشره‌کش به‌علت گزارش مقاومت به آن و آثار سوء زیست محیطی محدودتر شده است، اما هنوز در بسیاری از نقاط ایران در مقیاس وسیع استفاده می‌شود. گزارشات متعددی از تاثیر دیازینون بر موجودات غیر هدف در دسترس می‌باشد (Singh and Singh, (2005). بسیاری از این گزارشات مربوط به تاثیر این سم بر حشرات مفید نظیر گرده افشان‌ها، حشرات شکارگر، پرندگان و جانوران وحشی بزرگ محیط زیست می‌باشد ولی تاثیر آن بر باکتری‌های مفید به‌علت غیر ملموس بودن آثار آن کمتر مورد توجه بوده است. همانند بنومیل تاثیر سم دیازینون بر میکروب‌ها بخصوص باکتری‌ها یکسان و مشابه گزارش شده است.

(Singh and Singh (2005) گزارش کرده‌اند که سم دیازینون باعث افزایش برخی گروه‌های میکروبی در خاک نظیر قارچ‌ها، ازتوباکترها (*Azotobacteria*) و باکتری‌های رده اکتینومیست (*Actinomy-* cetes) می‌گردد. Thabit and El-Naggar (2013) نشان داده‌اند که دیازینون هیچ تاثیری روی برخی باکتری‌ها از جمله *Bacillus am-lyoliquefaciens* و چند باکتری دیگر نداشته و این باکتری‌ها قادر به جذب سم دیازینون و شکستن ساختار مولکولی آن می‌باشند. تحقیقات نشان داده است که حشره‌کش‌های فسفره‌ای که ساختارهای مولکولی شبیه به دیازینون دارند عموماً تاثیر خاصی بر باکتری‌های خاک بخصوص باکتری‌های حل‌کننده فسفات نداشته و حتی باعث افزایش جمعیت آنها می‌گردند. (Congrado et al., (1979). Cook et al (1978) گزارش دادند که برخی

را افزایش داده و تاثیر آنها بر باکتری‌ها را تشدید می‌کند، همچنین از دما برای تسهیل نفوذ داروها یا مواد شیمیایی به داخل باکتری‌ها استفاده می‌شود Sin- (2004), gleton. تاکنون گزارشی از تاثیر همزمان دما و سم بنومیل یا دیازینون بر روی باکتری‌های مفید در دسترس نیست و تحقیق حاضر اولین گزارش در این زمینه می‌باشد. اما در تحقیق دیگری که با سموم غیر مشابه با این تحقیق و باکتری‌های بیماری‌زای انسانی (*E. coli*), *Bacillus circulans*, *Sporotichumcar-nis*, ... انجام شده، نشان داده شده است که تاثیر آفت‌کش‌ها بر باکتری‌ها یا تحت تاثیر دما نبوده و یا دما باعث افزایش تاثیر سم بر باکتری‌ها می‌گردد که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد (Ratkowsky et al., 1982).

بر اساس نتایج این تحقیق کاربرد دو سم بنومیل و دیازینون بخصوص در مناطق گرمسیر باید همراه با در نظر گرفتن آثار آنها بر باکتری‌های حل‌کننده فسفات در خاک باشد. کاربرد این دو سم در مناطقی با خاک گرم، ممکن است با از بین بردن این گروه از باکتری‌ها باعث عوارض کمبود فسفر در گیاهان گردد که این امر موجب می‌شود تا کاربرد این دو سم همراه کودهای فسفره الزامی به نظر برسد و یا

از باکتری‌ها، از سموم فسفره می‌توانند به‌عنوان منبع فسفر برای خود استفاده کرده و به راحتی آنها را جذب و مورد تغذیه قرار دهند. تحقیق مشابهی که نشان دهنده تاثیر دیازینون بر باکتری *P. putida* باشد، در دسترس نمی‌باشد و این اولین گزارش از تاثیر سم دیازینون بر جدایه مفیدی از باکتری *P. putida* می‌باشد. البته (Barakah et al 2007) گزارشی منتشر کردند که حاکی از نتایج مشابه با این تحقیق و تاثیر منفی سم دیازینون بر باکتری‌های مفید خاکزی از جمله باکتری‌های حل‌کننده فسفات بوده اما آنها اشاره‌ای به نوع باکتری و نام گونه باکتریایی مسئول حل‌کنندگی فسفات نکرده‌اند.

تاثیر دما: دما بعنوان یکی از فاکتورهای مهم رشدی برای همه موجودات زنده بسیار مهم می‌باشد. به‌غیر از باکتری‌های سرما دوست همیشه دما تاثیر مثبتی روی باکتری‌ها داشته، بطوری‌که با افزایش دما در یک محدوده معین رشد باکتری نیز افزایش پیدا می‌کند و نسبت معینی بین میزان افزایش دما و مقدار افزایش رشد و تکثیر باکتری‌ها وجود دارد (Barton and Northup, 2011). افزایش دما با تاثیر روی غشاء سلولی و متابولیسم عمومی باکتری‌ها، جذب و نفوذ مواد شیمیایی

استفاده از سموم دیگری که تاثیر کمتری بر این باکتری‌ها دارند توصیه شود. کمبود فسفر برای گیاهان مخاطره‌آمیز بوده و در اکثر مواقع باعث تشدید بیماری‌ها و آفات گیاهی می‌شود، لذا استفاده از سموم فسفره در ایران بسیار رایج و توصیه شده می‌باشد. نتایج این تحقیق جایگزینی این دو سم با سموم دیگر و استفاده از سموم جدیدتر با آثار زیست محیطی کمتر را

بیشتر نمایان می‌سازد. سپاسگزاری نگارندگان کمال تشکر را از کادر فنی آزمایشگاه‌های باکتری‌شناسی گیاهی و فیزیولوژی حشرات گروه گیاهپزشکی و آزمایشگاه بیولوژی خاک گروه خاک شناسی دانشگاه تبریز را دارند.

### منابع

- رخشانی، ا. (۱۳۸۹). اصول سم شناسی کشاورزی. ویرایش سوم. انتشارات فرهنگ جامع. ۲۸۳ صفحه.
- ساریخانی، م. ا.، علی اصغرزاد، ن. و ملبوبی، م. ع. (۱۳۹۲). بهبود تغذیه فسفردر گیاه گندم با تلقیح باکتری‌های حل‌کننده فسفات. مدیریت خاک و تولید پایدار. ۳: ۳۹-۵۷.
- منصوری‌پور، م.، علیزاده ع و صفایی ن. (۱۳۸۷). بررسی توانایی بیوکنترلی و دینامیک جمعیت باکتریهای آنتاگونیست علیه *Sclerotinia sclerotiorum* در کلزا. بیماریهای گیاهی. ۴۴: ۲۳۲-۲۵۲.

- Barakah, F.N., Ibtisam, A.M., Heggio, A.M. (2007). Effect of Lannite and Diazinon pesticides on some soil Microorganisms. Alexandria Science Exchange Journal, 28: 38-53.
- Barton, L.L., Northup, D.E. (2011). Microbial Ecology. John Wiley & Sons, Inc. Publication. 448p.
- Bergfield, W.A. (2001). Rhizosphere Bacteria and Benomyl Interactions. PhD Thesis. University of Missouri-Columbia. 204p.
- Chen, Y.P., Reka, P.D., Arun, A.B., Shen, F.T., Lai, W.A., Young, C.C. (2006). Phosphate Solubilizing Bacteria from Subtropical Soil and their Tricalcium Phosphate Solubilizing abilities. Applied Soil Ecology, 34: 33-41.

- Congregado, F., Simon-Pujol, D., Juárez, A. (1979). Effect of two organophosphorus insecticides on the phosphate-dissolving soil bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 37: 169-171.
- Cook, A.M., Daughton, C.G., Alexander, M. (1978). Phosphorus-Containing Pesticide Breakdown Products: Quantitative Utilization as Phosphorus Sources by Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 36: 668-672.
- Ekundayo, F.O. (2010). Comparative influence of benomyl on rhizosphere and non-rhizosphere bacteria of cowpea and their ability to solubilize phosphate. *Journal of Soil Science and Environmental Management*, 1: 234-242.
- El-Hussein, A.A., Elsalahi, R.H., Osman, A.G., Sherif, A.M., El-Siddig, M.A. (2014). Isolation and 16S rRNA-Based Identification of Benomyl-Degrading Bacteria. *British Biotechnology Journal*, 4: 670-683.
- Fawole, O.B. (1998). Studies on Effects of Benomyl (Benzimidazole) on Non-target Microflore of Tomato Cropped Soil. *Agrosearch*, 4: 40-45.
- Fuchs, A., de Vries F.W. (1978). Bacterial breakdown of benomyl. I. Pure cultures. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 44: 283-292.
- Khan, A.A., Jilani, G., Akhtar, M.S., Naqvi, S.M.S., Rasheed, M. (2009). Phosphorus Solubilizing Bacteria: Occurrence, Mechanisms and their Role in Crop Production. *Journal of Agricultural and Biological Science*, 1:48-58.
- Kudashev, I.S. (1956). The effect of phosphobacterium on the yield and protein content in grains of autumn wheat, Maize and Soybean. *Soil and Fertilizer*, 8: 20-23.
- Mishra, G., Kumar, N., Giri, K., Pandey, S., Kumar, R. (2014). Effect of fungicides and bioagents on number of microorganisms in soil and yield of soybean (*Glycine max*). *Bioscience*, 6: 45-48.
- Ratkowsky, D.A., Olley, J., McMeekin, T.A., Ball, A. (1982). Relationship between temperature and growth rate of bacterial cultures. *Journal of Bacteriology*, 149: 1-5.
- Shaad, N.W., Jones, J.B., Chun, W. (2001). *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. 3rd edition. APS Press. 374p.

- Sharma, S.B., Sayyed, R.Z., Trivedi, M.H., Gobi, T.A. (2013). Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. SpringerPlus, 2: 1-14.
- Singh, J., Singh, D.K. (2005). Bacterial, azotobacter, actinomycetes, and fungal population in soil after diazinon, imidacloprid, and lindane treatments in groundnut (*Arachishypogaea* L.) fields. Journal of Environmental Science and Health, Part B., 40: 785-800.
- Singleton, P. (2004). Bacteria in Biology, Biotechnology and Medicine. John Wiley & Sons, Inc. 570p.
- Smith, J.H., Allison, F.E., Soulides. D.A. (1962). Phosphobacterian as Soil Inoculant, Laboratory, Greenhouse, and Field Evaluation. Technical Bulletin No. 1263. United States Department of Agriculture. 22p.
- Smith, M.D., Hartnett, D.C., Rice, C.W. (2000). Effects of long-term fungicide applications on microbial properties in tallgrass prairie soil. Soil Biology & Biochemistry, 32: 935-946.
- Thabit, T.M.A., El-Naggar, M.A.H. (2013). Diazinon decomposition by soil bacteria and identification of degradation products by GC-MS. Soil & Environment, 32: 96-99.