تاثیر کاربرد بنومیل (Benomyl) و پاراکوات (Paraquat) بر رشد جمعیت باکتری *Azospirillum irakense*

نسرین صبورمقدم[۱*]، رضا خاک‌ور[۲]، نسیبه محمد نژاد[۳] و فاطمه انصاری[۳]

۱-استادیار گروه منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه پیام نور، ایران.

۲-استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز.

۳-دانشجویان سابق کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز.

*مسئول مکاتبه sabourmoghaddam@pnu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۳/۶/۵ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۰/۲۱

چکیده

اعضای جنس آزوسپیریلوم همگی خاکزی و دارای قدرت بالایی برای تثبیت نیتروژن در خاک هستند. حضور جمعیت‌های زیاد این نوع باکتری‌ها در خاک، برای افزایش رشد و نمو گیاهان با اهمیت می‌باشند. عوامل مختلفی می‌تواند بر تعادل طبیعی اکوسیستم خاک اثر گذاشته و جمعیت باکتری‌های مفید خاک را کاهش دهند که این امر بطور غیرمستقیم باعث کاهش رشد و نمو گیاهان می‌شود. سموم کشاورزی یکی از عوامل عمده و موثر بر جمعیت‌های میکروبی خاک هستند. در این تحقیق تاثیر پنج غلظت مختلف قارچ‌کش بنومیل و علف‌کش پاراکوات (در غلظت‌های بین ۲۵۰ تا ۵۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) در پنج دمای مختلف (بین ۲۵ تا ٤٥ درجه سانتی‌گراد) روی جدایه‌ای از باکتری *Azospirillum irakense* به عنوان باکتری بومی تثبیت‌کننده نیتروژن در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای اندازه‌گیری گردید. آزمایش در قالب طرح فاکتوریل و با چهار تکرار برای هر تیمار انجام شد. نتایج آزمایشگاهی نشان دادند که هر دو ترکیب بنومیل و پاراکوات در غلظت ۵۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر برای این باکتری کاملاً کشنده بوده و باعث توقف کامل رشد این باکتری می‌شوند. در غلظت‌های پایین‌تر، هر دو ترکیب به‌طور معنی‌داری باعث کاهش رشد جمعیت باکتریایی شدند ولی توقف رشد صورت نگرفت. در شرایط گلخانه‌ای و داخل خاک گلدان‌های کشت نشده، این دو سم در هیچ یک از غلظت‌ها باعث حذف باکتری از خاک نگردید، ولی بطور معنی‌داری موجب کاهش جمعیت باکتری در خاک شدند. در شرایط آزمایشگاهی، بین افزایش دما و افزایش بازدارندگی هر دو سم روی رشد باکتری ارتباط معنی‌داری دیده شد و با افزایش دمای محیط میزان بازدارندگی افزایش یافت.

واژه‌های کلیدی: باکتری تثبیت کننده نیتروژن، بنومیل، پاراکوات، قارچ‌کش، علف‌کش.

مقدمه

تثبیت بیولوژیکی نیتروژن به فرایند تبدیل نیتروژن اتمسفری (N_2) به نیتروژن آلی ($-NH_4$) اطلاق می‌شود که بین موجودات زنده فقط گروه خاصی از پروکاریوت‌ها قادر به انجام آن هستند. باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن در خاک شامل گروه‌ها و جنس‌های مختلفی هستند که یکی از معروف‌ترین آنها اعضای جنس *Azospirillum* می‌باشند. این جنس از راسته *Rhodospirillales*، شاخه *Alphaproteobacteria* و از باکتری‌های گرم منفی بوده و شامل بیش از ۱۵ گونه شناخته شده است که همگی بصورت آزادزی در خاک‌های مختلف زندگی کرده و بدون نیاز به همزیستی با ریشه گیاهان قادر به تثبیت نیتروژن در خاک هستند (اوکون و گونزالز ۱۹۹٤; بالدانی و همکاران ۲۰۰٤). با توجه به این توانایی، تاکنون تحقیقات گسترده‌ای برای شناخت ویژگی‌های این باکتری‌ها و در صورت امکان

استفاده از آنها به‌عنوان کود زیستی در مناطق مختلف دنیا انجام شده است (باشان و همکاران ۲۰۰٤).

استفاده از سموم کشاورزی جزء اجتناب ناپذیر در فرآیند تولید محصولات کشاورزی می‌باشد ولی استفاده از آنها آثار بسیار سوئی بر موجودات غیر هدف در مزارع، باغات و اکوسیستم‌های اطراف آنها ایجاد می‌کند. بخشی از این آثار مخرب، مربوط به ورود این مواد شیمیایی به خاک و تاثیر مستقیم و یا غیر مستقیم بر موجودات زنده خاک می‌باشد. باتوجه به این ویژگی‌ها استفاده از این سموم بایستی همواره با دقت فراوان و همراه با آگاهی از آثار آنها بر موجودات غیر هدف خاکزی باشد. یکی از عمده‌ترین موجودات غیر هدف برای سموم کشاورزی باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن در خاک هستند که در صورت وجود گزارش از آثار کشنده هر سمی روی این موجودات مفید، بایستی در استفاده از آنها تجدید نظر کرده و یا حداقل با کنترل‌های خاص مورد مصرف قرار گیرد.

بنومیل با نام تجاری بنلیت® به‌عنوان یک قارچ‌کش پرمصرف و سم پاراکوات با نام تجاری گراماکسون® به‌عنوان یک علف‌کش پرمصرف در اکثر نقاط ایران بویژه در استان‌های شمال غربی کشور محسوب می‌شوند (رخشانی، ۱۳۸۹). تاکنون تحقیقات متعددی از تاثیر این دو ترکیب بر موجودات غیر هدف انجام گرفته ولی مطالعه‌ای که نشان دهنده نوع اثر این دو ماده شیمیایی بر باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن در خاک باشد در ایران و در دنیا در دسترس نمی‌باشد. بنابراین در تحقیق حاضر اثر این دو سم در غلظت‌های مختلف در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای روی یک گونه بومی از جنس آزوسپیریلوم آزمایش گردید. با توجه به متغیر بودن دما در فصول زراعی، تاثیر دما نیز در روند تاثیر این سموم روی باکتری، مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

جدایه باکتری *Azospirillum irakense* مورد استفاده در این آزمایش، یک جدایه بومی استان آذربایجان‌شرقی بود که قبلاً از خاک‌های زراعی استان جمع‌آوری، خالص‌سازی و به روش‌های مولکولی و بیوشیمیایی مورد شناسایی قرار گرفته و در کلکسیون آزمایشگاه بیولوژی خاک گروه خاک‌شناسی دانشگاه تبریز نگهداری می‌شد. طی آزمایش‌های متداول، توان بالای این باکتری در تثبیت نیتروژن در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای اثبات شده بود (حیدریان باروق، ۱۳۹۰). برای تکثیر و نگهداری، ابتدا باکتری داخل چندین ظرف پتری روی محیط کشت جامد YEM (Yeast Extract Mannitol) (شامل ۱۵ گرم آگار، ۱۰ گرم مانیتول، یک گرم عصاره مخمر، یک گرم کربنات کلسیم، نیم گرم فسفات دی پتاسیم، دو دهم گرم سولفات منیزیم و یک دهم گرم کلرید سدیم و ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر با pH نهایی برابر هفت) تجدید کشت شده و برای آزمایش‌های بعدی در یخچال ذخیره‌سازی شد. آزمایش اصلی در داخل محیط کشت YEM broth (محیط کشت بدون آگار) انجام شد.

قارچ‌کش بنومیل مورد استفاده بصورت پودر سفید قابل تعلیق در آب با خلوص ۵۰ درصد با متوسط دز توصیه شده مزرعه‌ای دو گرم در لیتر (۱۰۰۰ میلی‌گرم ماده موثره بر لیتر) و علف‌کش پاراکوات بصورت مایع سبز رنگ با غلظت ۲۰ درصد و متوسط غلظت توصیه شده آن یک درصد (۲۰۰۰ میلی‌گرم ماده موثره بر لیتر) بود. برای حذف آلودگی‌های میکروبی داخل محلول‌های سمی از فیلتر سرنگ (۰/۲۲ میکرومتر) استفاده شد ولی به‌دلیل عدم عبور پاراکوات خالص از فیلتر (غلیظ و صمغی بودن محلول) و جامد و پودری بودن بنومیل، ابتدا با استفاده از آب مقطر، غلظت ۵۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر هر دو ترکیب تهیه و سپس از فیلتر سرنگ عبور داده شد.

آزمایش در قالب طرح فاکتوریل، در شرایط آزمایشگاهی جهت بررسی همزمان اثر دو عامل دما و غلظت سم با ۲۵ تیمار انجام گردید. این تیمارها شامل پنج غلظت مختلف سم (۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۵۰۰ و ۵۰۰۰

میلی‌گرم بر لیتر) در داخل محیط کشت مایع YEM و پنج دمای مختلف (۲۵، ۳۰، ۳۵، ۴۰ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد) با استفاده از حمام بن‌ماری شیکردار (ساخت شرکت زیست فن‌آوران سهند) تامین شده بود. غلظت‌های انتخاب شده بر اساس بالاترین و پایین‌ترین غلظت توصیه شده هر دو ترکیب در انواع کشت‌ها و تیمارهای دمایی بر اساس امکان‌های مختلف دمایی که ممکن است در مزارع استان دیده شود انتخاب گردیدند (انتخاب دماهای زیر ۲۵ درجه بدلیل عدم دسترسی به بن‌ماری یخچال‌دار امکان پذیر نبود). تیمارها داخل لوله‌های پلاستیکی درب‌دار (موسوم به فالکن) به حجم ۵۰ میلی‌لیتر در چهار تکرار تهیه شدند. به منظور ایجاد شرایط هوازی فقط ۲۵ میلی‌لیتر محیط کشت مایع به هر لوله ریخته شد و مابقی خالی گذاشته شد. برای شروع آزمایش به هر یک از لوله‌های فالکن مقدار ۲۵ میکرولیتر محلول باکتری تازه کشت شده به غلظت (10^8 cell/ml) اضافه شد. میزان تغییر در جمعیت باکتریایی در داخل محیط‌های کشت با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (ساخت شرکت Unico) در طول موج ۶۵۰ نانومتر (OD_{650nm}) اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری OD_{650} در شش مرحله (بلافاصله بعد از اضافه کردن باکتری، پنج، ۱۰، ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت بعد از شروع آزمایش) صورت گرفت.

برای بررسی تاثیر آفت‌کش بر باکتری در داخل خاک، ابتدا نمونه خاک زراعی غنی از مواد آلی جمع‌آوری شده از زمین‌های زراعی دانشگاه تبریز (منطقه خلعت‌پوشان)، در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو شد. پس از چند روز و سرد شدن خاک، به داخل هر یک از گلدان‌های پلاستیکی (به قطر دهانه ۱۰ سانتی‌متر)، ۳۰۰ گرم خاک استریل شده اضافه گردید. با استفاده از آب مقطر استریل و کلونی‌های تازه کشت شده باکتری (کلونی ۲۴ ساعته) و اسپکتروفتومتر، غلظت مناسبی از باکتری (10^6 سلول باکتری در هر میلی‌لیتر) در حجم بالا تهیه و در شرایط سرد (۴Ċ) بلافاصله به گلخانه منتقل شد. به هر یک از گلدان‌های آماده شده، مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از این محلول باکتریایی اضافه شده و کاملاً با خاک مخلوط گردید. یک روز بعد، ۱۰ میلی‌لیتر از هر غلظت سمی تهیه و به روی خاک پاشیده شد. برای هر غلظت سم، پنج گلدان به‌عنوان تکرار در نظر گرفته شد. در پنج گلدان شاهد نیز بجای سم فقط آب مقطر استریل اضافه شد. یک هفته بعد، دوباره گلدان‌ها با همان غلظت سم تیمار شدند. دمای گلخانه در حدود ۳۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت هوا در حدود ۵۰ درصد تنظیم گردید.

خاک گلدان‌ها در طول مدت آزمایش با استفاده از آب آبیاری استریل (عبور داده شده از فیلتر سرنگ µm ۰/۲۲) مرطوب نگه داشته شد. چهارده روز پس از شروع آزمایش، از خاک گلدان‌های هر تیمار مجموعاً ۱۰ گرم برداشته و با هم مخلوط شد، سپس یک گرم از این مخلوط خاک به آزمایشگاه منتقل و پس از رقیق‌سازی (Serial dilution) با آب مقطر استریل، روی محیط کشت YEM کشت داده شد. جمعیت باکتری در خاک با شمارش کلونی‌های رشد کرده باکتری *A. irakense* بعد از ۴۸ ساعت مورد ارزیابی قرار گرفت. تجزیه داده‌های آزمایش‌های گلخانه‌ای و آزمایشگاهی با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (ver. 16) انجام شد. نمودارهای رشد توسط نرم افزار EXCEL (2007) رسم گردید.

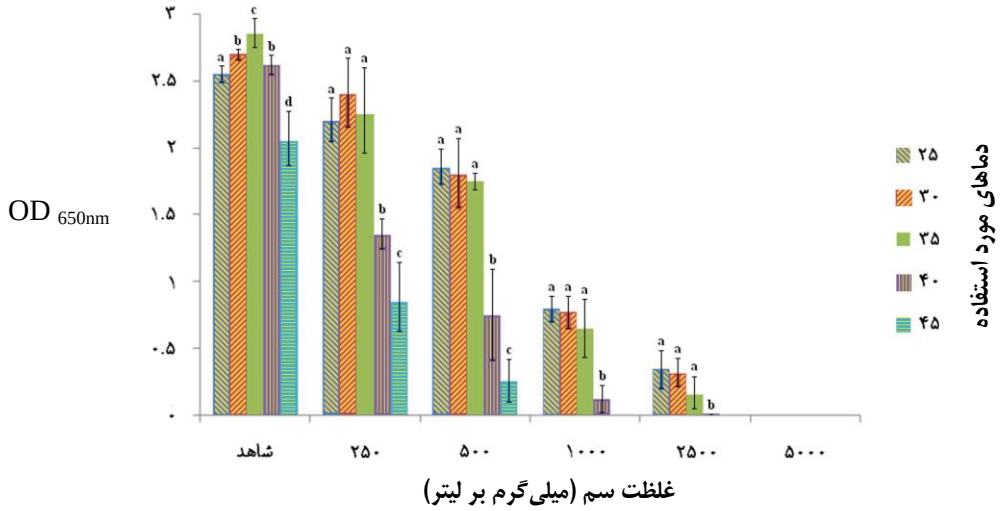
نتایج

تاثیر همزمان دو عامل دما و غلظت سم بر جدایه بومی باکتری *A. irakense* مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان دادند هر دو ترکیب بنومیل و پاراکوات برای باکتری *A. irakense* اثر باز دارندگی شدیدی دارند. بر اساس نتایج بدست آمده، در دمای معمولی اتاق (۲۵Ċ) بنومیل در ۲۴ ساعت اولیه تا ۶۵ درصد و پاراکوات تا ۷۷ درصد در جمعیت باکتری *A. irakense* در داخل

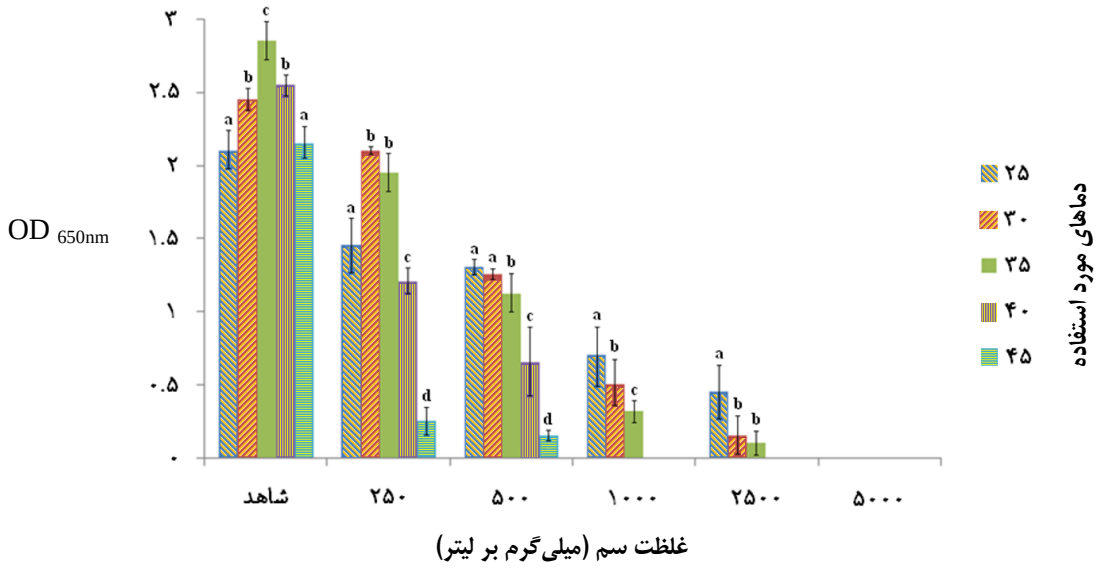
محیط کشت مایع کاهش ایجاد کردند. ارتباط معنی‌داری بین افزایش میزان غلظت سم و کاهش جمعیت باکتری مشاهده گردید، بدین صورت که با افزایش غلظت سم، میزان کاهش رشد تشدید شده و در نهایت غلظت ۵۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر هر دو سم بطور کامل رشد باکتری را متوقف کرده و باعث مرگ جمعیت باکتریایی شدند (شکل‌های ۱و۲).

نتایج نشان دادند که عامل دما بصورت معنی‌داری هم بر رشد باکتری و هم بر میزان تاثیر سم بر باکتری موثر می‌باشد. بر اساس نتایج بدست آمده، بهترین دمای رشد این باکتری بدون حضور سم ۳۵ درجه سانتی‌گراد بود و در دماهای بالاتر و یا پایین‌تر رشد کمتری ثبت شد. اما در حضور سم با افزایش دمای محیط کاهش رشد بیشتری در جمعیت باکتری مشاهده شد و بیشترین جمعیت باکتری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد دیده شد. در حالیکه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد باکتری قادر به رشد در حضور غلظت‌های بیشتر هر دو سم مورد آزمایش بود ولی در دمای ٤٠ درجه سانتی‌گراد و بالاتر در همان غلظت‌ها قادر به رشد نبوده و حتی جمعیت اولیه خود را نیز از دست داد (شکل‌های ۱و ۲).

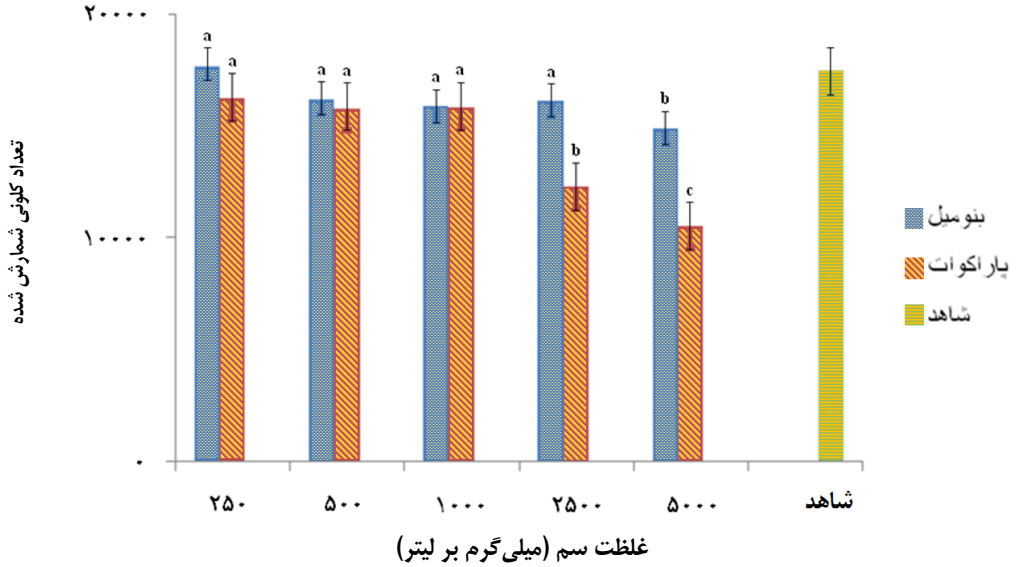
بررسی جمعیت باکتری *A. irakense* چهارده روز پس از شروع آزمایش گلخانه‌ای نشان داد که هیچکدام از این دو سم در هیچ غلظتی قادر به حذف باکتری از خاک نیستند و حتی در بالاترین غلظت هر دو ترکیب (۵۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر)، جمعیت قابل ملاحظه‌ای از باکتری در خاک باقی می‌ماند. ولی در حضور غلظت‌های بالای هر دو ترکیب در خاک (غلظت ۲۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به بالای پاراکوات و غلظت ۵۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بنومیل)، بطور معنی داری جمعیت باکتری کاهش پیدا می‌کند، به‌طوری‌که جمعیت باکتری در غلظت ۵۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر هر دو سم، پس از ١٤ روز نسبت به شاهد به ترتیب ۱۵ درصد در بنومیل و ٢٤ درصد در پاراکوات کمتر بود (شکل ۳).



شکل ۱- میانگین رشد باکتری متاثر از دما و غلظت‌های مختلف بنومیل در ٢٤ ساعت اول.



شکل ۲- میانگین رشد باکتری متاثر از دما و غلظت‌های مختلف پاراکوات در ۲٤ ساعت اول.



شکل ۳- میانگین جمعیت باکتریایی شمارش شده در تیمارهای گلخانه‌ای ١٤ روز بعد از شروع آزمایش.

بحث

بنومیل و پاراکوات هر دو از پر مصرف‌ترین سموم کشاورزی در ایران می‌باشند که سالانه هزاران تن از آنها چه بطور مستقیم از طریق پاشش روی خاک و چه بصورت غیر مستقیم از طریق شستشو توسط آب باران یا آب آبیاری وارد طبقات زیرین خاک شده و میکروب‌های خاکزی را تحت تاثیر قرار می‌دهند. تاثیر این دو سم بر موجودات مختلف خاک یکسان گزارش نشده است (ویلر ۲۰۰۲).

سم بنومیل یک قارچکش سیستمیک بوده و با تاثیر بر تقسیمات سلولی و همچنین دیواره سلولی قارچها باعث توقف رشد قارچهای رده آسکومیست و بازدیومیست‌ها در محیط می‌شود (رخشانی ۱۳۸۹). علاوه بر خاصیت قوی قارچکشی، سم بنومیل بر میکروارگانیسم‌های دیگر

خاک نیز اثر کرده و گاهی باعث کاهش و یا افزایش جمعیت آنها در خاک می‌شود. جیانی و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند که سم بنومیل قادر به کنترل جمعیت دو گونه جلبک سبز بوده و روی رشد این نوع جلبک‌ها حتی در غلظت‌های پایین اثر مهارکنندگی معنی‌داری از خود نشان می‌دهد، در حالی‌که بر برخی گونه‌های دیگر جلبک هیچ تاثیر منفی ندارد. در بین باکتری‌ها نیز تاثیرات بنومیل هم به صورت مفید و هم به حالت مضر گزارش شده است (الصلاحی و همکاران ۲۰۱٤). در تحقیقات متعددی نشان داده شده که سم بنومیل بر رشد و تکثیر باکتری‌های گرم منفی بازدارنده بوده و باعث کاهش جمعیت آنها در خاک می‌شود در حالی‌که بر خیلی از باکتری‌های گرم مثبت بی‌تاثیر می‌باشد (فالوول ۱۹۹۸).

تاکنون گزارش مستقیمی از تاثیر سم بنومیل روی باکتری *A. irakense* به عنوان تثبیت کننده نیتروژن منتشر نشده است، ولی گزارش‌های محدودی از تاثیر این سم بر برخی باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن که ساکن ریزوسفر ریشه گیاهان هستند، وجود دارد (مقبول حسین و الکساندر ۱۹۸٤; برگ فیلد و همکاران ۱۹۹٦). بر اساس تحقیقی، سم بنومیل در غلظت‌های ۲۰-۱۰ گرم بر لیتر باعث کاهش جمعیت دو گونه باکتری تثبت‌کننده نیتروژن بنام‌های *Bradyrhizobium japonicum* و *Azotobacter chroococum* در خاک شد (اکوندایو ۲۰۱۰). با توجه به نتایج این تحقیق و گزارشات قبلی تردیدی در مضر بودن سم بنومیل بر باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن از جمله باکتری *A. irakense* باقی نمی‌ماند، لذا کاربرد سم بنومیل می‌تواند علاوه بر آثار مفیدی که در کنترل قارچ‌های بیماریزای گیاهی دارد، باعث تشدید کمبود نیتروژن در خاک گردد.

در مورد سم پاراکوات نیز وضعیت مشابهی دیده شد. سم پاراکوات بر خلاف سم بنومیل کشندگی بیشتری بر انسان و جانوران محیط زیست دارد (رخشانی، ۱۳۸۹) به همین علت توصیه‌های متعددی در نحوه و مقدار استفاده از آن در مزارع و باغات ارائه شده است، اما تاثیر آن بر باکتری‌های مفید خاک کمتر مورد توجه محققان بوده است. در مطالعات آزمایشگاهی اثبات شده که این سم باعث کاهش جمعیت اکثر باکتری‌های گرم منفی بیماریزای انسانی در محیط کشت می‌گردد، در مقابل باکتری‌های گرم مثبت مقاومت بیشتری در مقابل آن از خود نشان داده و تنها در غلظت‌های بالای سم دچار کاهش رشد می‌شوند (پترسون و همکاران ۱۹۸۱). آیانسین و آموسن (۲۰۱۳) گزارش کردند که پاراکوات در خاک‌های مناطق استوایی تاثیرات مختلفی بر جمعیت باکتری‌های خاکزی دارد، خاصیت اسیدی بالای این سم باعث کاهش اسیدیته محیط شده لذا در غلظت‌های پایین سم بعلت کاستن از اسیدیته خاک و اسید دوست بودن اکثر باکتری‌ها (شاد و همکاران ۲۰۰۱)، جمعیت باکتری‌های خاک افزایش می‌یابد ولی با افزایش غلظت سم، بتدریج اثر کشندگی سم بر باکتری‌ها ظاهر شده و جمعیت باکتری‌های خاک بخصوص دو جنس *Bacillus* و *Pseudomonas* درآن کاهش می‌یابد. این گزارشات مشابه نتایج تحقیق حاضر بوده چراکه در تحقیق حاضر نیز علاوه بر اینکه خاصیت بازدارندگی سم پاراکوات بر باکتری حتی در غلظت‌های پایین اثبات گردید، بلکه مشخص شد که این سم در شرایط گلخانه‌ای و در داخل خاک نیازمند غلظت‌های بالاتری برای تاثیر مشابه بر باکتری می‌باشد. علت این امر می‌تواند غیر فعال شدن سریع بخش عمده‌ای از پاراکوات در اثر جذب به ذرات خاک باشد و تحقیقات قبلی نیز اثبات کرده‌اند که این سم با سرعت بالا در خاک تجزیه شود (برنز و آودوس ۱۹۷۰).

با توجه به اینکه کمبود نیتروژن بشدت بر رشد و نمو گیاهان اثر کرده و باعث کاهش محصول می‌گردد (زاوو و همکاران ۲۰۰۵) لذا با عنایت به نتایج تحقیق حاضر در مورد دو سم پر مصرف بنومیل و پاراکوات، توصیه می‌شود همزمان یا بعد از مصرف این دو سم استفاده از کودهای ازته برای جلوگیری از بروز آثار کمبود نیتروژن در گیاهان منطقه توصیه شود و یا از کودهای

زیستی حاوی باکتری *Azospirillum* در منطقه استفاده گردد.

سپاس‌گزاری

این مقاله مستخرج از طرح پژوهشی با عنوان مطالعه تاثیر برخی سموم کشاورزی روی باکتری‌های مفید خاکزی است که با حمایت مالی دانشگاه پیام نور انجام شده است. نگارندگان کمال تشکر را از کادر فنی آزمایشگاه‌های باکتری‌شناسی گیاهی و فیزیولوژی حشرات گروه گیاهپزشکی و آزمایشگاه بیولوژی خاک گروه خاک‌شناسی دانشگاه تبریز را دارد.

منابع

حیدریان باروق ز. ۱۳۹۰. تاثیر گونه‌های باکتری *Azospirillum* بر جذب نیتروژن و فعالیت آنزیم نیترات رداکتاز در گندم تحت تنش کمبود آب. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تبریز، ۱۲٤ صفحه.

رخشانی ا، ۱۳۸۹. اصول سم شناسی کشاورزی. ویرایش سوم. انتشارات فرهنگ جامع. ۲۸۳ صفحه

Ayansina ADV and Amusan OA, 2013. Effect of higher concentrations of herbicides on bacterial populations in tropical soil. Unique Research Journal of Agricultural Science. 1: 1-5.

Baldani J, Krieg NR, Baldani VLD, Hartmann A and Do' Bereiner J, 2004. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 9th ed. Vol. 2. Baltimore (MD): Williams & Wilkins. p. 7-26.

Bashan Y, Holguin G and Bashan LE, 2004. *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). Canadian Journal of Microbiology. 50: 521-577.

Bergfield WA, Sasseville DN and Kremer RJ, 1996. Effect of benomyl treatments on marigold and indigenous rhizosphere bacteria. HortScience. 31: 680.

Burns RG and Audus LJ, 1970. Distribution and breakdown of paraquat in soil. Weed Research. 10: 49-58.

Ekundayo FO, 2010. Comparative influence of benomyl on rhizosphere and non-rhizosphere bacteria of cowpea and their ability to solubilise phosphate. Journal of Soil Science and Environmental Management. 1: 234-242.

Elslahi RH, Osman AG, Sherif AM and Elhussein AA, 2014. Comparative study of the fungicide benomyl toxicity on some plant growth promoting bacteria and some fungi in pure cultures. Interdisciplinary Toxicology. 7: 12-16.

Fawole OB, 1998. Studies on effects of benomyl (Bezimidazole) on non-target microflore of tomato cropped soil. Agrosearch. 4: 40-45

Jianyi M, Rongquan Z, Ligen X and Shufeng W, 2002. Differential sensitivity of two green algae, *Scenedesmus obliqnus* and *Chlorella pyrenoidosa* to 12 pesticides. Ecotoxicology and Environmental Safety. 52: 57-61.

Maqbul-Hossain AK and Alexander M, 1984. Enhancing soybean rhizosphere colonization by *Rhizobium japonicum.* Applied and Environmental Microbiology. 48: 468–472.

Okon Y and Gonzalez CAL, 1994. Agronomic application of *Azospirillum*: An evaluation of 20 years worldwide field inoculation. Soil Biology and Biochemistry. 26: 1591-1601.

Peterson E, Fairshter R, Morrison J and Cesario T, 1981. Effects of the herbicide paraquat dichloride on bacteria of human origin. Applied and Environmental Microbiology. 41: 327–328.

Shaad NW, Jones JB and Chun W, 2001. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. 3rd edition. APS Press. 374p.

Wheeler WB, 2002. Pesticides in agriculture and the environment. CRC Press. 360Pp.

Zhao DK, Reddy R, Kakani VG and Reddy VR, 2005. Nitrogen deficiency effects on plant growth, leaf photosynthesis, and hyperspectral reflectance properties of sorghum. European Journal of Agronomy. 22: 391-403

Effect of Benomyl and Paraquat on Bacterial Population Growth of *Azospirillum irakense*

N Sabourmoghaddam[1*], R Khakvar[2], N Mohammadnejad[3] and F Ansari[3]

[1]Assistant Professor, Department of Environment and Natural Resources, Payame Noor University, Iran.
[2] Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
[3]Former MSc Students of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
*Corresponding author: sabourmoghaddam@pnu.ac.ir

Received: 27 Aug 2014 Accepted: 11 Jan 2015

Abstract

All members of the genus *Azospirillum* are soil inhabitant and known to be incredibly efficient nitrogen fixers. High populations of these bacteria in the soil are important to increase plant growth. Various factors can affect the natural balance of the soil ecosystem, and reduce soil populations of beneficial bacteria, which indirectly reduces the growth and beauty of the plant. One of the major factors affecting soil microbial populations is agricultural pesticides. This study was conducted to evaluate the effect of five different concentrations of benomyl and paraquat (250-5000 mg/L) at various temperatures (25-45 Ċ) on indigenous bacterial strains of *Azospirillum irakense* as a nitrogen fixing bacteria in laboratory and glasshouse conditions. Experiment was performed in a factorial design with four replications. The results showed that both pesticides at a concentration of 5000 mg/L are completely lethal to the bacterium and caused complete cessation of growth. At lower concentrations, both pesticides could significantly reduce bacterial population growth but it didn't stop bacterial growth. In the glasshouse conditions, both pesticides at any concentration could not remove bacteria from soil but significantly reduced the population of bacterium in the soil. A strong correlation was observed between the temperature and inhibitory effects of pesticides and the rate of inhibition was significantly increased with increasing temperature.

Keywords: N-fixing Bacteria, Benomyl, Paraquat, Fungicide, Herbicide.