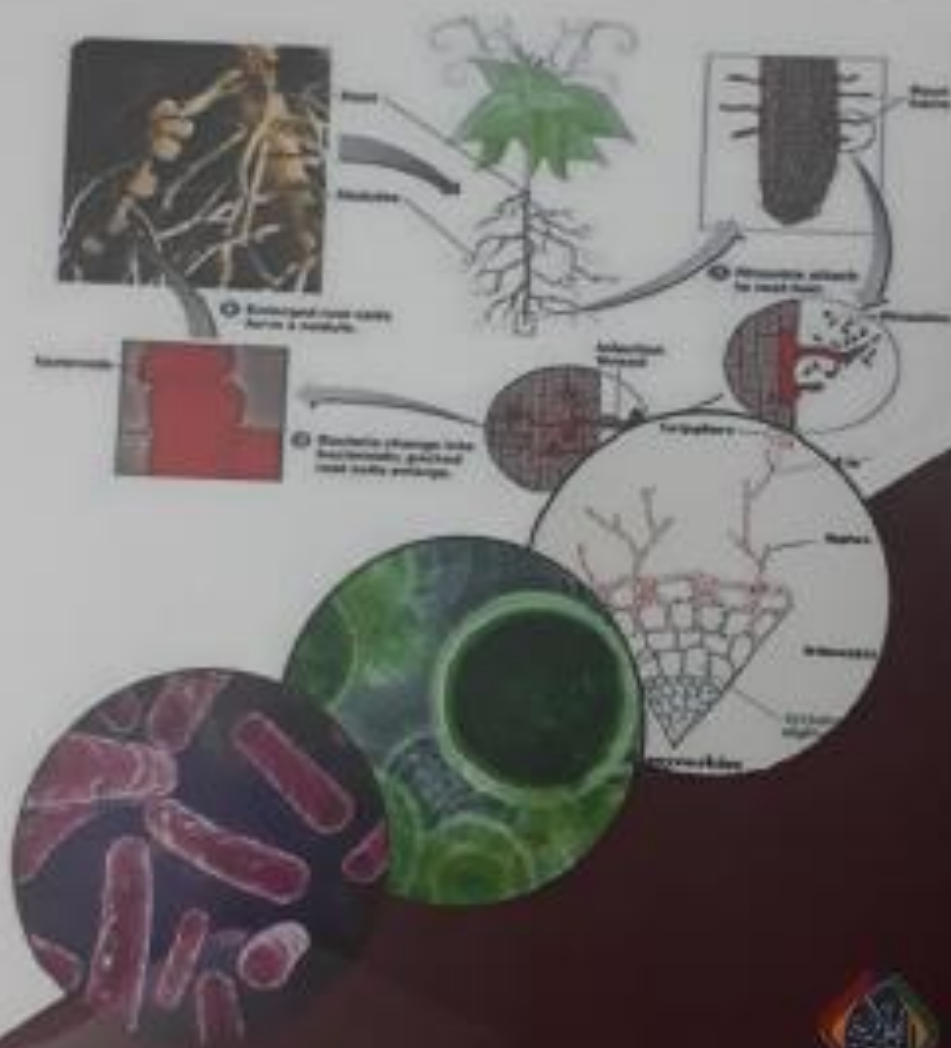


جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ديالى

مفاهيم وتطبيقات احياء التربة المجهرية



تأليف

أ.د. إسماعيل خليل السامرائي أ.د. فارس محمد سهيل التميمي



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ديالى

مفاهيم وتطبيقات أحياء التربة المجهرية

تأليف

الاستاذ الدكتور
فارس محمد سهيل التميمي

الاستاذ الدكتور
إسماعيل خليل السامرائي

2018

المطبعة المركزية / جامعة ديالى

العراق - ديالى طريق بغداد / بعقوبة القديم



اسم الكتاب: مفاهيم وتطبيقات أحياء التربة المجهرية

تأليف: الأستاذ الدكتور إسماعيل خليل السامرائي

الأستاذ الدكتور فارس محمد سهيل التميمي

عدد النسخ: ٥٠

تنفيذ: المطبعة المركزية / جامعة ديالى

سنة الطبع: ١٤٣٩ هـ - ٢٠١٨ م

الايمل: center.printer2009@gmail.com

جميع حقوق الملكية الأدبية والفنية محفوظة للمؤلف ويحظر
طبع أو تصوير أو ترجمة أو إعادة تنضيد الكتاب كاملاً أو مجزئاً
أو تسجيله على أشرطة كاسيت أو إدخاله على الحاسوب أو
برمجته على أسطوانات ضوئية إلا بموافقة المؤلف خطياً

رقم الإيداع في دار الكتب والوثائق الوطنية ببغداد (٤٨٣) لسنة (٢٠١٨ م)

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

بعد الاتكال على الله وتوفيقه اكملنا تأليف هذا الكتاب ليكون مرجعا علميا لطلبة الدراسات العليا والباحثين في دراسات العلاقة بين الاحياء المجهرية وتيسر المغذيات للنباتات الراقية .

اشتمل الكتاب احدى عشر فصلا يبدأ في دراسة الجذور وافرازاتها في التربة وعلاقتها بنمو النباتات والعوامل المؤثرة في نمو وانتشار الاحياء المجهرية في منطقة الرايزوسفير ، موضحين احدث الطرق والقياسات في المنطقة غير المرئية من النظام الجذري . ثم نتابع فصول الكتاب في شرح اهم المفاهيم والاستخدامات للاحياء المجهرية كمخصبات حيوية تقلل من الاعتماد على الاسمدة الكيماوية والحصول على بيئة اسمدة حيوية صديقة للبيئة .

تعرض الكتاب الى منظومة الاحياء البكتيرية والفطرية والعلاقة المايكورايزية واستخدامات الازولا ، مبينا احدث الطرق في عزل مفردات هذه المنظومة وطرق اضافتها الى وسط نمو النباتات الراقية بهدف تحسين اداء النباتات كما ونوعا ، ثم تناول الكتاب في فصله الاخير العلاقة بين المبيدات الكيماوية والاحياء المجهرية وتحلل تلك المبيدات مايكروبيا .

لا يسعنا هنا الا ان نقدم شكرنا وتقديرنا الى الدكتور عباس فاضل علي لمراجعته الكتاب وابداء ملاحظاته القيمة . نسأل الله القدير العليم ان يتقبل عملنا خالصا لوجه الله تعالى .

المؤلفان

المحتويات

الفصل الأول : إفرازات الجذور في منطقة الرايزوسفير وعلاقتها بفعالية الأحياء

الدقيقة .

نمو وشكل النظام الجذري وعلاقته بأحياء التربة المجهرية- مقدمة .
صفات المجموع الجذري وعلاقته بأحياء التربة المجهرية .
الرايزوسفير .

إفرازات الجذور في منطقة الرايزوسفير.

المادة الهلامية Mucigel أصلها وطبيعتها وتسميتها .

إفرازات الجذور وصفاتها وكميتها .

آليات تأثير إفرازات الجذور على جاهزية العناصر الغذائية .

وظيفة المادة الهلامية الـ Mucigel للنباتات النامية في التربة .

مكونات إفرازات الجذور.

طرق تحديد الكميات المتحررة من جذور النباتات في الرايزوسفير.

جاهزية الكربون العضوي والنشاط الجرثومي في الرايزوسفير .

التأثيرات الحيوية في منطقة الرايزوسفير.

الفصل الثاني : تقسيم أحياء التربة المجهرية والعوامل المؤثرة في نموها وانتشارها

في التربة .

مقدمة

اقسام أحياء التربة المجهرية

1- التقسيم البيئي

2- التقسيم حسب درجة الحرارة

3- التقسيم حسب الحاجة للأوكسجين

4- التقسيم حسب مصدر الطاقة والكربون

5- التقسيم بالنسبة إلى تكوينها للسبورات

6- التقسيم بالنسبة إلى صبغة كرام

العوامل المؤثرة في نمو وانتشار احياء التربة المجهرية

1- العوامل غير الحيوية

2- العوامل الحيوية

الفصل الثالث : دور الأحياء المجهرية في نمو وتغذية النباتات الراقية

مقدمة

دورة النتروجين في التربة

دورة الفسفور في التربة

دور الأحياء المجهرية في التوسط وتسهيل امتصاص العناصر الغذائية

جاهزية العناصر للأحياء المجهرية

التأثيرات على نمو النباتات العليا

1- تثبيت النتروجين واحتياجات الكربون

2- تأثيرات الهرمونات النباتية

3- الزيادة والنقصان في جاهزية الفسفور وعلاقتها بإفرازات

الجذور وأحياء التربة المجهرية .

الأحماض المحتملة في إفرازات الجذور

العلاقة بين طريقة العد وأعداد أحياء التربة المجهرية وأثرهما في تغير

جاهزية العناصر

الفصل الرابع : الأحياء المجهرية المثبتة للنتروجين الجوي

مقدمة

أحياء مثبتة للنتروجين تعايشيا

- 1- صفات بكتريا الرايزوبيوم
- 2- تصنيف ووراثة بكتريا الرايزوبيوم
- 3- بيئة الرايزوبيوم في الرايزوسفير
- 4- تأثير حامضية وقلوية التربة ومحتواها من الأملاح على الرايزوبيوم
- 5- تأثير درجة الحرارة والرطوبة على الرايزوبيوم
- 6- تأثير أحياء التربة على الرايزوبيوم

فعالية الرايزوبيوم ومعايشتها مع النباتات البقلية

- 1- حساسية العائل النباتي
 - 2- اختيار السلالة الرايزوبية الملائمة
 - 3- عملية تلقيح النباتات البقلية
 - 4- تكون العقد الجذرية ومظهرها الخارجي
- العناصر الغذائية المحددة لتثبيت النتروجين تكافليا في البقوليات .

- 1- طرق اختبارات العناصر المشتركة في تثبيت النتروجين حيويا
- 2- ديمومة العقد الجذرية
- 3- التغذية المعدنية للرايزوبيوم
- 4- تأثير العناصر الغذائية على الإصابة وتطور العقد
- 5- تأثير العناصر المعدنية على وظيفة العقد الجذرية
- 6- كيمياء حياتية تثبيت النتروجين تكافليا في البقوليات

التداخل بين حموضة التربة والعقد الجذرية في البقوليات

- 1- نمو الجذور في الترب الحامضية
 - 2- النبات البقلي المضيف وتحديد ظروف منطقة الرايزوسفير
 - 3- نمو بكتريا الرايزوبيوم في الترب الحامضية
 - 4- عملية الإصابة في الترب الحامضية
 - 5- تطور ووظيفة العقد الجذرية في الأوساط الغذائية الحامضية.
- الرايزوبيا

- 1- عزل الرايزوبيا
- 2- اللقاحات الرايزوبية

الفصل الخامس : مجموعة الأحياء المثبتة للنتروجين غير ألتعايشية او الترافقية
الأحياء التي ترافق النباتات في الرايزوسفير
الأحياء المثبتة للنتروجين حرة المعيشة

- 1- بكتريا الازوتوباكتري
- 2- بكتريا الازوسبيرلم

التداخل الثنائي بين بكتريا الازوتوباكتري وبكتريا الازوسبيرلم

الفصل السادس : الطحالب الخضراء المزرقة والسرخسيات المائية – الازولا

الطحالب الخضراء المزرقة
مقدمة

- 1- العوامل المؤثرة في وجود ونمو طحالب التربة
- 2- الطحالب الخضراء المزرقة
- 3- إنتاج الطحالب الخضراء المزرقة لاستعمالها حقليا
- 4- طريقة إضافة الطحالب الخضراء المزرقة في الحقل
- 5- طرق عد الطحالب الخضراء المزرقة في التربة
- 6- استخدام الطحالب الخضراء المزرقة كلقاح في مزارع الرز

السرخسيات المائية – الازولا

- 1- صفات الازولا
- 2- مشاتل السرخس المائي الازولا
- 3- طريقة إضافة السرخسيات المائية الازولا إلى الحقل
- 4- الزراعة المزدوجة للسرخسيات المائية الازولا والرز معا
- 5- اهم محددات تطبيق السرخسيات المائية الـ azolla

الفصل السابع : أحياء التربة المذيبة للفسفور

مقدمة

آلية عمل أحياء التربة المذيبة للفسفور

البكتريا المذيبة للفسفور في التربة

مقدمة

- 1- الية تأثير الاحياء في اذابة الفسفور
- 2- البكتريا المذيبة للفسفور وتشجيع نمو النبات
- 3- عزل البكتريا المذيبة للفسفور في التربة

الفطريات المذيبة للفسفور

مقدمة

- 1- الفطريات المذيبة للفسفور وتشجيع نمو النبات
- 2- عزل الفطريات المذيبة للفسفور

الفصل الثامن : بكتريا السيليكات

مقدمة

الاحياء المحللة للسيليكات

الاية عمل بكتريا السيليكات
تأثير بكتريا السيليكات في نمو النبات
عزل الاحياء المذيبة للبوتاسيوم

الفصل التاسع : تقنيات المايكورايزا في تحسين النمو والحالة التغذوية في النباتات

مقدمة

أنواع فطريات المايكورايزا
تكوين المايكورايزا الشجرية (الية الاصابة)
اجناس المايكورايزا ومواصفاتها
تركيب المايكورايزوسفير
بيئة المايكورايزا
وسائل انتشار المايكورايزا
التغيرات الفسيولوجية والمورفولوجية في العائل نتيجة الإصابة
بالمايكورايزا .

العوامل المؤثرة في نمو المايكورايزا
تأثير فطريات المايكورايزا في نمو النبات
1- تشجيع امتصاص العناصر الغذائية
2- التأثيرات غير التغذوية
الاعتمادية المايكورايزية

التداخل البايولوجي بين المايكورايزا والاحياء الاخرى

- 1- التداخل الثنائي بين المايكورايزا والبكتريا المثبتة للنتروجين تعايشيا
- 2- التداخل الثنائي بين المايكورايزا والبكتريا المثبتة للنتروجين لا تعايشيا .

تقدير النسبة المئوية للإصابة المايكورايزية

عزل سبورات المايكورايزا من التربة

الفصل العاشر : فطر الترايكوديرما

مقدمة

الظروف البيئية المناسبة لنمو الفطر

اهمية فطر الترايكوديرما

1- معالجة المسببات المرضية

2- نمو إنتاجية المحاصيل الزراعية

التداخل بين فطر الترايكوديرما وفطريات المايكورايزا

الفصل الحادي عشر : التحلل الميكروبي للمبيدات الكيميائية

مقدمة

الآثار المترتبة عن الاستعمال المفرط للمبيدات الكيميائية

العوامل التي تتحكم بمصير المبيدات في التربة

العلاقة بين المبيدات الكيميائية وأحياء التربة المجهرية

1- تأثير المبيدات في الكتلة الإحيائية

2- تأثير المبيدات في الفعاليات الحيوية لأحياء التربة المجهرية

تقانة التحلل الحيوي للمبيدات الكيميائية

1- دور البكتريا في التحلل الحيوي

2- دور الفطريات في التحلل الحيوي

الفصل الأول

إفرازات الجذور في منطقة الرايزوسفير وعلاقتها بفعالية الأحياء الدقيقة نمو وشكل النظام الجذري وعلاقته بأحياء التربة المجهرية مقدمة

يختلف نمو Growth وشكل المجموع الجذري roots morphology فيما بين الأنواع النباتية تحت الظروف الحقلية وتكون هذه الاختلافات أكثر تمايزا من الاختلافات في نمو وشكل المجموع الخضري. وعادة ما تنسب هذه الاختلافات الى تباين العامل الوراثي ، الظروف البيئية ونوع الوسط الغذائي. ومع تعمق المجموع الجذري تحت الظروف الحقلية في التربة فان تأثير عوامل التربة الفيزيائية والكيميائية سوف تختلف مع مرور الوقت وهو مع ذلك وعند اي فترة من فترات النمو لا يوازي تأثير نفس العوامل المذكورة انفا على المجموع الخضري للنبات. ان نمو وشكل المجموع الجذري سوف يتاثر بدرجة كبيرة في حالات التداخل بين احياء التربة والعوامل المؤثرة في صفات التربة ، وهذا التأثير سوف يكون كبيرا في منطقة نشاط احياء التربة وحبيبات التربة الملاصقة للشعيرات الجذرية وهو ما يعرف Soil-root interface ان هذا الحيز من تعايش الاحياء المجهرية مع المجموع الجذري في التربة كوسط للنمو يعتبر المفتاح الاساس في تطبيقات المخصبات الحيوية ودورها الاساسي في تعظيم الانتاج النباتي في الزراعة الحديثة .

ان تأثير احياء التربة قد يأخذ أشكال وأنماط مختلفة بحيث ان نوع الاحياء المؤثرة قد يغير من شكل الجذور كما هو الحال عند تعايش بكتريا العقد الجذرية مع النباتات البقلية وتكون العقد الجذرية او تكون الاغشية او ما يسمى بال sheath المحيطة بالشعيرات

الجزرية الملقحة بفطريات المايكورايزا الخارجية او اختراق هايفات فطريات المايكورايزا الداخلية قشرة الجذور وتكوين الحويصلات vesicular والشجيرات arbusculare داخل الجذر واحيانا احاطة الشعيرات الجزرية اضافة الى تكوين التراكيب المذكورة اعلاه معا كما هو الحال في الاصابة بفطريات المايكورايزا الخارجية والداخلية سوية . وقد يتغير شكل الجذر عند اصابته باكثر من نوع من احياء التربة المجهرية كما هو الحال في تقنية التلقيح المزدوج dual inoculation للنباتات البقلية بالرايزوبيا والمايكورايزا .

صفات المجموع الجذري وعلاقته بأحياء التربة المجهرية

إن وصف تراكيب المجموع الجذري قد نوقش مفصلا في الكثير من المراجع العلمية وسوف لن نعيد هذه الصفات ، إلا إن صفات أجزاء الجذر الأكثر أهمية من حيث تأثيرها بالمخصبات الحيوية (أحياء التربة) وقدرة وكفاءة امتصاص العناصر الغذائية عند تواجد الاثنين معا(الجذر وأحياء التربة) مما سوف نتناولها ضمن الموضوع .

لقد أوضحت العديد من الدراسات بان معدل النمو اليومي للجذر في التربة يقدر بحدود (2 - 5 سم / يوم) للنباتات الحولية وتحت ظروف الحقل وخلال مراحل النمو الاولى على ان معدل النمو اليومي للجذور يميل للانخفاض تدريجيا مع تقدم عمر النبات ، حيث نجد ان اطوال الجذر النسبية والمساحة السطحية للجذور والشعيرات الجزرية مختلفة باختلاف الانواع النباتية (الجدول 1- 1) . ان هذه المتغيرات من حيث العدد والطول والمساحة السطحية للجذر والشعيرات الجزرية والحيز الذي تشغله من التربة المحيطة بها سوف يؤثر بدرجة عالية على تواجد وكثافة وشدة اصابة المخصبات الحيوية المدخلة introduced كلقاحات من احياء التربة وهي بذلك سوف تختلف تاثيراتها على كل نوع من الانواع النباتية .

جدول 1-1: الطول والمساحة الورقية للجذر والشعيرات الجذرية لأنواع من النباتات .

نوع النبات	الجذور			الشعيرات الجذرية			نسبة حجم الجذور والشعيرات الجذرية الى حجم التربة (%)
	العدد	الطول (م)	المساحة السطحية (سم ²)	العدد بالالف	الطول (م)	المساحة السطحية	
Soyabeans	-	6.3	8.80	133	0.13	6.03	0.91
Oats	102	9.8	6.85	137	1.74	74.0	0.55
Rye	142	13.9	11.3	272	3.66	167	0.85
Poa pratensis	1840	83.5	25.0	1120	11.2	344	2.80

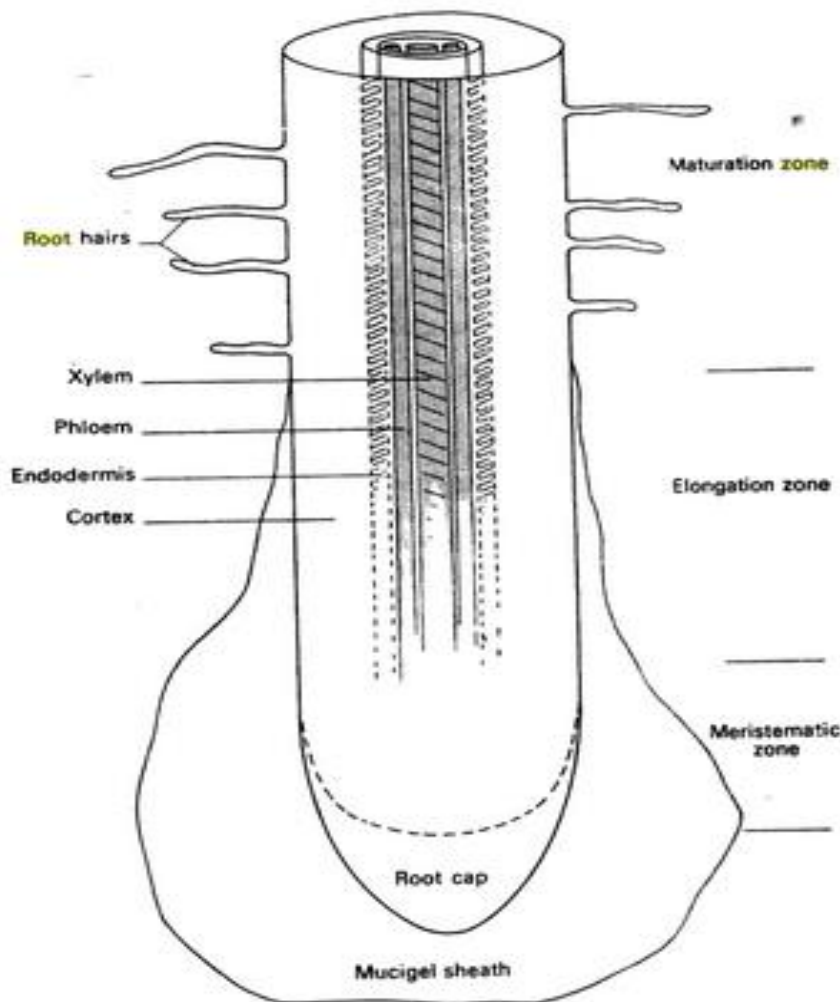
ان قياسات Lungley ، (1973) في تحديد قيم اجزاء الجذر لمحاصيل الحبوب تعتبر نموذجية ومقبولة الى حد كبير عند زراعتها في ظروف التربة الملائمة ، فقد قسم الجذر الى ثلاثة اجزاء رئيسية هي :

- 1- محور الجذر root axes ومعدل نموه 2 سم / يوم .
- 2- التفرعات الجانبية الأولية primary laterals ومعدل نموها 0.5 سم / يوم .
- 3- التفرعات الثانوية secondary laterals ومعدل نموها 0.1 سم / يوم .

إن منطقة الامتصاص العظمى للجذور تعتبر منطقة القمة apical zone وعليه سوف نتطرق لوصف أهم مكونات هذه المنطقة من الناحية التشريحية وهي :

1- تركيب قمة الجذر Root tip structure

ان خلايا الجذر تنشا من منطقة الأنسجة المولدة القمية apical meristem وهي اجزاء المليمترات بجانب قمة الجذر root tip وهي خلايا تنقسم في مقدمة النسيج المرستيمي وتكون مواد القلنسوة والتي عادة معرضة للانسلاخ في التربة وتكون جزء من مكونات الرايزوسفير . ان المادة الهلامية والتي تعرف mucigel تتكون في خلايا القلنسوة وتفرز هذه المادة اللزجة حول قاعدة القلنسوة، ان حجم القلنسوة يبقى ثابتا نسبيا مع تقدم النمو وباستمرار تنشا خلايا جديدة تكون تقريبا بنفس معدل انسلاخ الخلايا القديمة ومن وظائفها المهمة أيضا مسؤوليتها في تنظيم عملية Geotropic curvature of root وكذلك مسؤولة عن تكون حامض Absciscic (الشكل 1-1) .



شكل 1-1: مقطع طولي لقمة الجذر

Root hairs

2- الشعيرات الجذرية

تنشأ الشعيرات الجذرية من خلايا البشرة epidermal cells وتكون الشعيرات الجذرية متأثرة بالظروف البيئية ونوع التربة والمحتوى الرطوبي ، ففي الترب الرطبة تتكون الشعيرات الجذرية بكمية كبيرة ولكن شكل الشعيرات الجذرية مختلفا وقد قدر ان عددها يصل الى 10^{10} في المجموع الجذري الناضج لنبات winter rye اما طول الشعيرات الجذرية فانه قد يصل الى 1000 مايكرومتر واقطارها بحدود (10 – 15) مايكرومتر ، والشعيرات الجذرية تمتص الماء والعناصر الغذائية .

ان حجم وعمر الشعيرات الجذرية يعتمد أساسا على مجموعة عوامل اهمها تركيز ايون الكالسيوم والفسفور ، قيم تفاعل وسط النمو ، محتوى التربة الرطوبي، بناء التربة، نسجة التربة ، احياء التربة المجهرية . في الجدول (1- 2) نلاحظ النسبة المئوية لطول الجذر لنوعين من النباتات عند ارقام تفاعل pH مختلفة ، حيث نجد ان نسبة طول الجذر يحمل كتلة من الشعيرات الجذرية بلغت 84.2 % وعند رقم تفاعل 5.3 مع اضافة كمية قليلة من الفسفور .

جدول 1- 2 : النسبة المئوية لطول الجذور لنوعين من النباتات عند ارقام تفاعل

pH مختلفة.

	Cynosurus cristatus (soil PH 5.3)	Trifolium repens (soil limed to PH7.0)
Natural soil	41.6	44.9
Natural + P	62.5	75.1
r-irradiated soil	84.2	57.1
r-irradiated soil + P	84.0	72.4

وهي الطبقة الخارجية من الجذر وتتكون من صف واحد من الخلايا المتراسة الرقيقة الجدر والخالية من الكيوتين غالبا ، والشعيرات الجذرية تنشا كنتوء صغير من خلية البشرة ينمو بشكل انبوبي ويبطن الساييتوبلازم واثناء نمو النتوء تنتقل نواة الخلية الى الشعيرة الجذرية وتبقى قريبا من طرفها حيث يزداد تركيز الساييتوبلازم . ويلاحظ ان جدار الجزء الطرفي من الشعيرة الجذرية ارق من جدار الجزء القاعدي واخيرا تتصلب قمة الشعيرة الجذرية ويعتقد ذلك راجع الى تحول المركبات البكتينية الى بكتات الكالسيوم .

تتميز خلايا هذه الطبقة بوجود ترسيب لمادة السيوبرين يوزع على الخلية بشكل شريط يحيط بالجدر القطرية والعلوية والسفلية للخلية ويسمى شريط كاسبار Casparin strip وان الأدلة العلمية أظهرت أهميتها في تنظيم الحركة الشعاعية radial movement للعناصر الغذائية إلى الأنسجة المجاورة .

إن أول من استخدم كلمة الرايزوسفير Hiltner، (1904) وكان يعني بها منطقة التربة الملاصقة لجذور النباتات البقلية وان البكتريا ضمن هذه المنطقة تتأثر بالمركبات النتروجينية والتي تتحرر من الجذور بعد اصابتها ببكتريا العقد الجذرية الرايزوبيا . إما ألان فان مفهوم هذه الكلمة قد توسع بصورة كبيرة حيث يصف بيئة التربة ونشاط وفعالية الاحياء المجهرية وكذلك امتصاص العناصر الغذائية من قبل جذور النباتات ضمن هذه المنطقة بجميع تداخلاتها . ان هذه المنطقة من بيئة الجذر وأحياء التربة تختلف عن مناطق التربة Bulk soil الأخرى والتي هي عادة غير متأثرة بصورة مباشرة بنمو الجذر والاحياء المجهرية ماعدا تأثيرها في امتصاص الماء والعناصر

الغذائية ، وضمن منطقة الرايزوسفير هناك ما يعرف بالـ rhizoplane وهو عادة ما يستخدم لوصف احياء التربة المجهرية المتواجدة على السطح الخارجي للجذر والشعيرات الجذرية وهي تشكل جهة مقابلة معاكسة ملاصقة لمنطقة الرايزوسفير . ان انواع احياء التربة المجهرية قد لا تختلف في منطقة الرايزوسفير عن منطقة الرايزوبلين rhizoplane إلا ان أعدادها في منطقة الـ rhizoplane قد لا تكون متطابقة مع منطقة الرايزوسفير .

ان تطبيقات تقنية المخصبات الحيوية تهتم أساسا في تشجيع احياء التربة المجهرية ضمن منطقة الرايزوسفير ويتم ذلك بإدخال لقاحات من احياء التربة تعمل على تحسين أداء المحاصيل الزراعية من خلال مساعدتها في تهيئة وسط نمو أفضل وتوفير العناصر الغذائية بالصورة الملائمة للامتصاص او تخليق ظروف تعمل على منافسة او إضعاف المسببات المرضية المتواجدة أصلا في هذه المنطقة بما يحقق تحسين في النمو والإنتاج .

إفرازات الجذور في منطقة الرايزوسفير

Root exudates in rhizosphere

لقد ذكر Martin ، (1977) بأنه ليست جميع المواد المتحررة من الجذور النامية يصطلح على تسميتها بإفرازات الجذور root exudates ، تم تقسيم هذه الإفرازات الجذرية إلى ثلاث مسميات هي :

- 1- إفرازات جذور root exudates
- 2- المادة الهلامية اللزجة mucigel
- 3- جذور متحللة root lysates : وهي مركبات متحررة في عملية autolysis وهي المرحلة البدائية من عملية التفسخ .

لقد تناول العديد من الباحثين هذه المسميات حتى أصبحت في المراجع العلمية محيرة وقد اختلفوا على أصل وطبيعة وتسمية المواد المتحررة من الجذور إلا إن Rovira وآخرون، (1978) وخلال المؤتمر الذي عقد في انكلترا في مدينة أكسفورد حول موضوع The soil- root interface قد قسم إفرازات الجذور إلى خمسة مسميات محددا أصل origin وطبيعة nature وتسمية nomenclature المركبات العضوية الموجودة حول جذور النباتات وسوف نتناولها مفصلا.

1- Exudates : مركبات ذو وزن جزيئي منخفض وهي تنضح من جميع الخلايا إما إلى المسافات البينية ثم بعد ذلك إلى التربة بواسطة الخلايا الموصلة ، أو تفرز مباشرة من جدر خلايا البشرة إلى التربة وتحرر هذه المواد لا يرتبط بالعمليات الأيضية .

2- Secretions : المركبات ذات الوزن الجزيئي المنخفض وكذلك مادة الـ mucilages ذات الوزن الجزيئي العالي والتي تفرز نتيجة العمليات الأيضية .

3- Plant mucilages : توجد أربعة مصادر لهذه المادة تشترك في المواد العضوية لتكوينها في منطقة الرايزوسفير وهي :

a - Mucilage : تنشا في القلنسوة وتفرز بواسطة أجسام كولجي .

b - Hydrolysates : المواد المتحللة للسكريات المتعددة لجدر الخلية الأولية ما بين خلايا البشرة وخلايا القلنسوة المنسلخة .

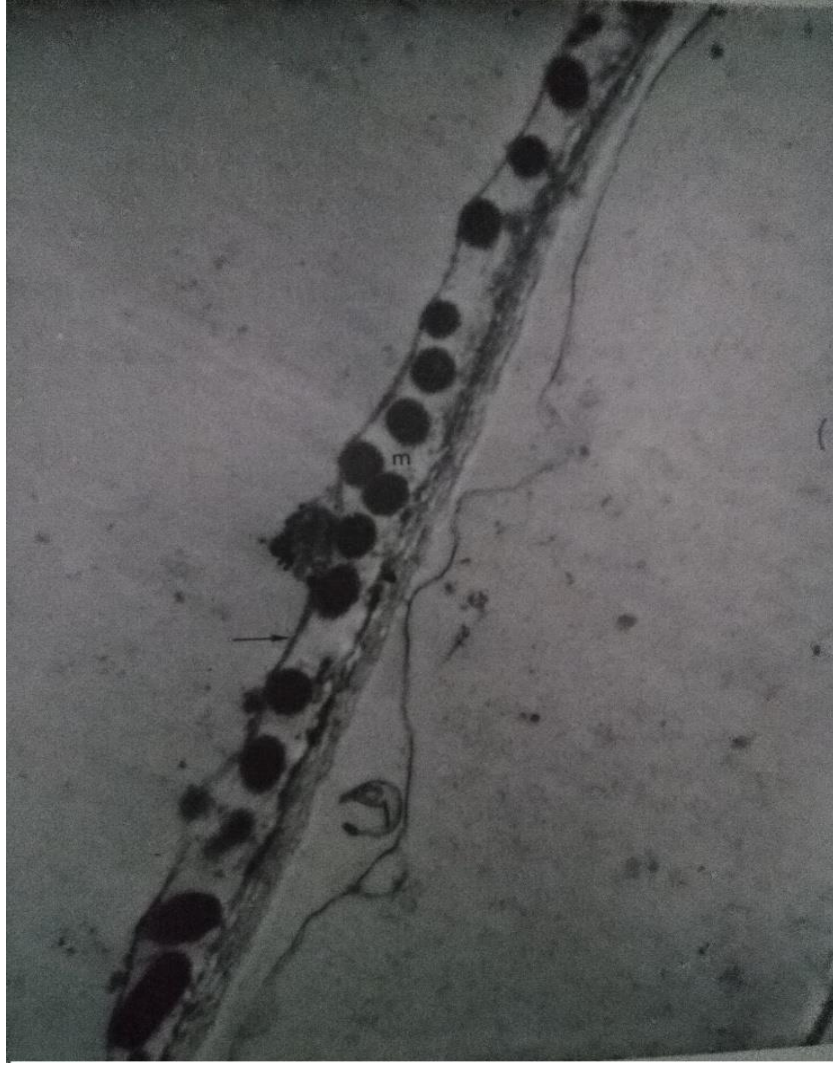
c - Mucilage : المادة المتحررة بواسطة خلايا البشرة والتي لا تزال تمتلك جدر أولية فقط . وهذه تتضمن مادة Mucilage المتحررة من الشعيرات الجذرية .

d - Mucilage : المادة المنتجة بفعل الهمد البكتيري لجدر الخلية الأولية من خلايا البشرة القديمة والميتة .

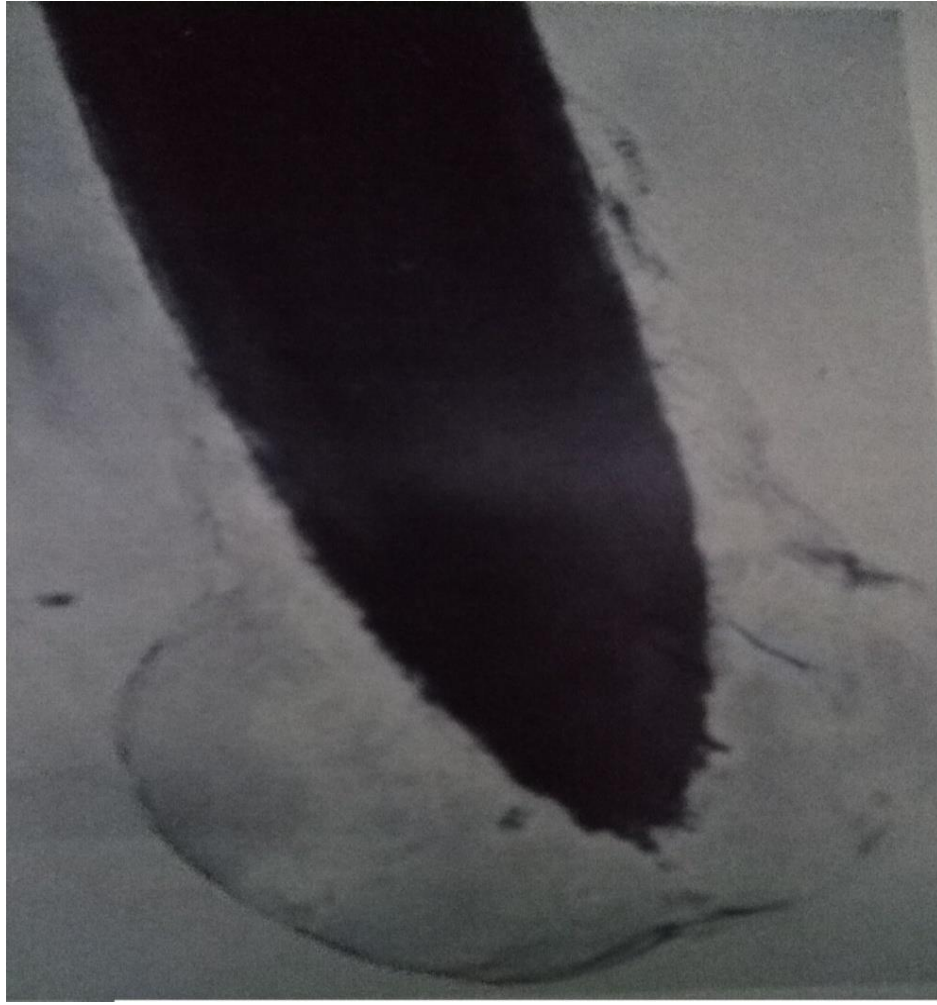
المادة الهلامية Mucigel أصلها وطبيعتها وتسميتها

بموجب ما أورده Rovira وآخرون، (1978) فان مادة الـ Mucigel هي المواد الجلاتينية gelatinous material التي تتواجد على سطح الجذور بحالة طبيعية وفي الترب غير المعقمة ، هذه المادة هي احد مكونات الإفرازات الجذرية root exudates في منطقة الرايزوسفير. إن اكتشاف تواجد المواد الهلامية mucilaginous أو المخاطية slime على السطوح الخارجية للجذور النباتية لأول مرة كان من قبل Schwarz ، (1884) حيث تنبأ هذا الباحث بوجود مثل هذه المواد الجلاتينية عندما لاحظ إن حبيبات التربة الملاصقة للجذور لا تمتلك بما يسمى بالحركة البراونية Brownian movement إلا إن علماء النبات وعلماء الفسلجة لم يهتموا كثيرا لهذه المواد لان اهتماماتهم كانت مركزة أساسا على البناء الخلوي والعمليات الخلوية في النبات ، ثم جاء Grossenbacher ، (1963) و أكد ما تنبأ به Schwarz ، (1884) مضيفا إن طرق الفحص والاستدلال على هذه المواد لم يكن ممكنا في تلك الفترة من الزمن . ثم جاءت دراسات مكثفة من قبل Greaves و Darby shire ، (1972) وذكروا بان هذه المادة تظهر على سطح الجذور وتحديدا منطقة Zone of differentiation على شكل غشاء رقيق يحيط بالشعيرات الجذرية وهي بالإضافة لذلك مغلفة بغشاء خارجي وغالبا ما يحتوي على البكتريا (الشكل 1- 3). إن مادة الـ Mucigel تنتج ضمن معقد مكون من ثلاثة مكونات هي (الجذر – التربة – الأحياء) يعرف root –soil –microbial complex .

إن تطور طرق الفحص واستخدام تقنية المجهر ألالكتروني مع استخدام طريقة ملائمة في التصبين staining كشفت عن ظهور مادة كروية gloubules أو غشاء sheath محيط بنهايات الجذور الطرفية . (الشكل 1- 4) .



شكل 1-3 : منطقة الشعيرات الجذرية للبصل النامية في المحلول المغذي غير معقم وتظهر المادة الهلامية mucigel (m) على السطح ومغلقة بغشاء خارجي وغالبا ما يحتوي على البكتيريا.



شكل 1-4 : غشاء المادة الهلامية Mucigel على جذور الشعير النامية في محلول .

تمتاز هذه المادة إنها ذات قطر يزيد قليلا عن قطر الشعيرات الجذرية حوالي (0.9 ملي متر) ، إما سمك المادة الهلامية فهو ينخفض بدرجة كبيرة عند تعرض الوسط للجفاف لفقد الرطوبة . إن تواجد هذه المادة يختلف كثيرا اعتمادا على الظروف البيئية وتواجد الأحياء المجهرية ولا توجد طريقة الى وقتنا الحالي تمكننا وبدقة من تقدير الكمية المنتجة منها من قبل الجذور أو حتى نسبة الماء الموجود ضمن تركيبها ، فلقد وجد بان الحجم الرطب من مادة الـ Mucigel في منطقة نهايات جذور نباتات الذرة والمزروعة في هكتار واحد قد يصل الى (1000 م³) إلا انه لم يذكر الطريقة التي اعتمدها في التقدير. هذه المادة وبحكم ظروف منطقة إنتاجها قد تكون مادة مفرزة طبيعيا من الجذور أو قد تكون مادة محررة من أصل نباتي عندها تعرف

natural and modified mucigel أو قد تكون نواتج العمليات الأيضية للبكتيريا metabolic products وان هذا المنتج يكون أوفر كميًا عند نمو الجذور النباتية مع أحياء التربة المجهرية مما لو زرعت النباتات بدون أحياء تربة وذلك باستخدام إحدى وسائل التعقيم المعروفة .

تنتج مادة الـ Mucigel من قبل القلنسوة root cap وتفرز بواسطة أجهزة كولجي Golgi apparatus بشكل مركب معقد من السكر ومواد أخرى أو نضوح على هيئة قطرات droplets secreted بواسطة الشعيرات الجذرية .

إن أداء الباحثين حول أهميتها الفسيولوجية مختلفة ، فهناك مجموعة تقترح بأن أغشية مادة الـ Mucigel توفر حماية لنهايات الجذور من التلف أو الجفاف desiccation عند احتكاكها في التربة منهم Leiser (1968) وهناك مقترح آخر يعتبرها بيئة محمية protected niche من نمو البكتيريا الكثيرة في منطقة الرايزوسفير أو منطقة تجمع لإفرازات الجذور الدائبة منهم Dart و Mercer ، (1964) ، أما Russell (1977) فإنه يقترح أهميتها البالغة في عملية نقل العناصر الغذائية من التربة إلى الجذور وكذلك تعتبر مادة غذائية لأحياء التربة المجهرية في منطقة الرايزوسفير .

إن هناك ثلاث نقاط مهمة قد توضحت من دراسة مادة الـ mucigel بواسطة المجهر الإلكتروني وهي :

1- إن المادة الهلامية تنتج موقعيًا من قبل الجذور أو الأحياء المجهرية وهي ربما لا تبعد عن مواقع إنتاجها وإن أهميتها إنها تدخل في الفراغات البينية وتكون في متناول أحياء التربة المجهرية .

2- إن السكريات المتعددة والتي هي أحد مكوناتها موجودة بهيئة gel أو fibrillae

3- إن مادة الـ mucigel مترافقة مع عملية تكون الكبسولات البكتيرية ومترافقة مع دقائق الطين .

إفرازات الجذور وصفاتها وكميتها

الجذور الحية تحرر كميات معتبرة من الكربون العضوي الى منطقة الرايزوسفير ، وهناك ثلاث مكونات رئيسية لإفرازات الجذور وهي :

1- مركبات عضوية ذات وزن جزيئي منخفض low- molecular weight

organic compounds وأحيانا تسمى إفرازات حرة Free exudates .

2- مواد جلاتينية ذات وزن جزيئي مرتفع high- molecular weight

gelatinous material وأحيانا تسمى mucilage .

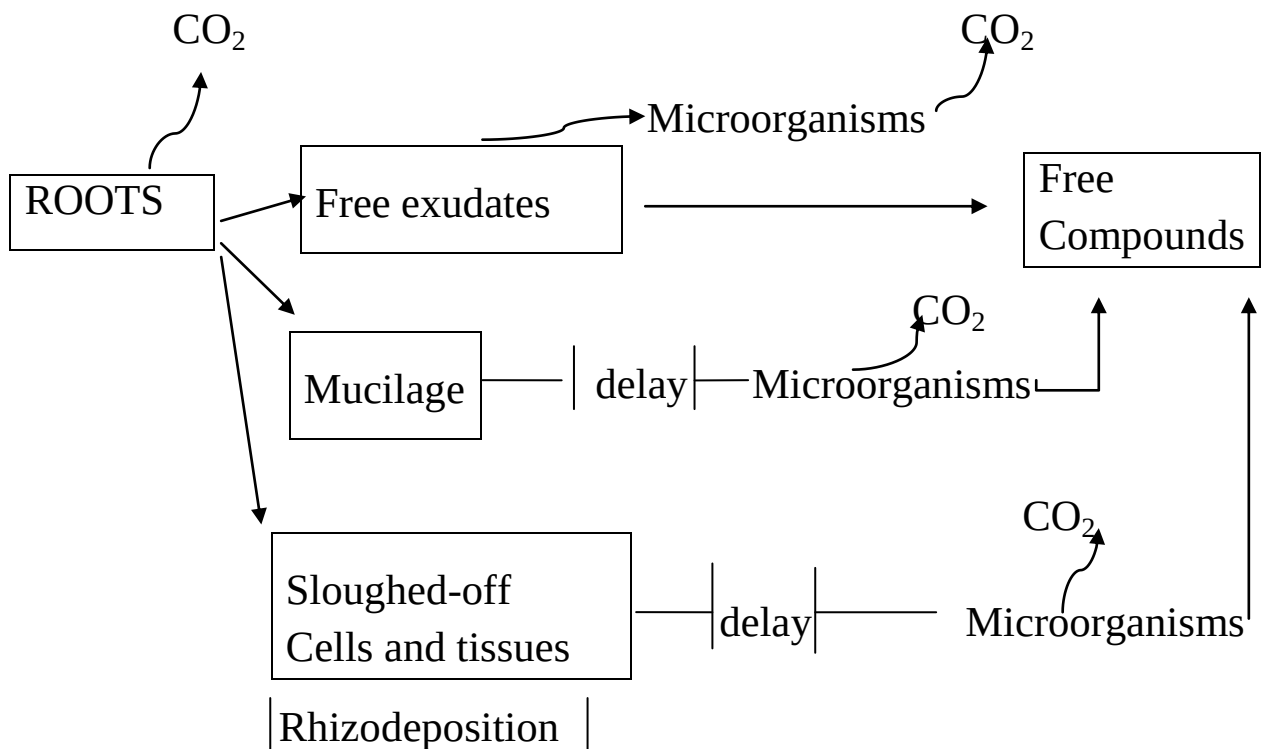
3- الخلايا والأنسجة المنسلخة مع جزئها المتحلل Slaughtered of cells and

tissues

ومما تجدر الإشارة إليه إن المكونات (الأولى والثانية) تتحرر من الجذور الصحية غير المصابة healthy roots وهي تكون بشكل إفرازات او تكون بهيئة نضوح leakage ، إما المكون الثالث فهو عادة يمثل انسلاخ الخلايا الميتة أو القديمة من الجذر وخاصة من منطقة القلنسوة root cap مع الأجزاء في بداية التحلل الأولي lysates .

إن اغلب الدراسات لم تضع حدود واضحة المعالم تفصل هذه المكونات الثلاثة ونجد إن أجزاء من الجذور وخلايا الأنسجة المتحللة والشعيرات الجذرية الميتة قد تعتبر ضمن مكونات الإفرازات الجذرية وازاء هذه الحالة فقد استعمل Marschner ، (1986) مصطلح سماه rhizodeposition حيث يكون أكثر واقعية وملائمة لهذه الإفرازات ضمن منطقة الرايزوسفير . ان وصف إفرازات الجذور تكون غاية في الصعوبة عند قيام احياء التربة المجهرية بقلب وتغير مستمرين للمواد العضوية في بيئة الأوساط الطبيعية غير المعقمة لاحظ الشكل (1-5) . كمية الكربون المتحرر الى منطقة الرايزوسفير يعبر عنه كجزء من إنتاج المادة الجافة الكلي للنباتات الفتية ، وهذه الكمية

مختلفة بدرجة واسعة وتتراوح من اقل من 1% الى أكثر من 30 % وان هذه الكمية تقل مع تقدم عمر النبات على سبيل المثال في نباتات الذرة تقل تقريبا من 7% الى 5 % خلال مدة 4 إلى 12 اسبوع من عمر النبات على التوالي . وهناك العديد من وسائل الجهد stress مثل نقص العناصر ، انخفاض الرطوبة ، انخفاض التهوية أو الاحتكاك الميكانيكي تزيد من كمية المواد المتحررة (راجع ذلك ضمن العوامل المؤثرة في الافرازات). وقد اعتبر Barber و Martin (1976) تواجد أحياء التربة المجهرية في منطقة الرايزوسفير من أكثر العوامل تأثيرا في زيادة كميات الكربون العضوي المتحرر حيث خلال فترة أكثر من 3 أسابيع حررت جذور بادرات الحنطة كمية تصل 7 – 13 % من الكربون العضوي في حالة غياب الأحياء المجهرية في حين وصلت الكمية المتحررة من الكربون العضوي (18 – 25 %) عند تواجد أحياء التربة مع الجذور في منطقة الرايزوسفير .



شكل 1-5: نموذج لتحرير الكربون الى منطقة الرايزوسفير .

1- المركبات العضوية ذات الوزن الجزيئي المنخفض

إن المكونات الأساسية لإفرازات الجذور والتي تسمى Free exudates هي السكريات ، الأحماض العضوية ، الأحماض الأمينية ، المركبات الفينولية phenolic compounds ومن الناحية الكمية فإن السكريات والأحماض العضوية تكون هي المركبات السائدة . إن هذه الأجزاء تختلف بدرجة كبيرة وهي تعتمد على نوع النبات والحالة التغذوية وعلى سبيل المثال فإن الأحماض العضوية تشكل أكبر نسبة في إفرازات جذور نبات الذرة تحت نقص عنصر البوتاسيوم ، في حين نجد أن الأحماض الأمينية هي السائدة في إفرازات جذور نباتات الحشائش تحت نقص عنصر الحديد . وإن ذلك لا يمنع من حدوث تغير في نسب تكون الإفرازات من هذه المكونات تحت ظروف التربة الطينية غي المعقمة بفعل أحياء التربة المجهرية . لاحظ الشكل (1-5) .

2- المواد الجلاتينية ذات الوزن الجزيئي العالي

سطوح الجذر وخاصة منطقة الـ apical zone مغطاة بمواد جلاتينية ذات وزن جزيئي عالي تسمى mucilage وهي مكونة أساسا من سكريات متعددة polysaccharides وأحماض polygalacturonic acids وهذه المواد تفرز من خلايا القلنسوة وكذلك من خلايا البشرة ، وقد ظهر إن إفراز هذه المواد يرتبط إيجابيا مع معدل نمو الجذور . حيث إن الأوساط غير المعقمة تحتوي على مواد تتكون بفعل الهدم لجدر الخلايا البكتيرية وهي ضمن هذه المواد وفي الترب التي تزرع بها النباتات فإن مادة الـ mucilage عادة ما تهاجم من قبل أحياء التربة المجهرية في منطقة الرايزوسفير .

إن أحياء التربة المجهرية في منطقة الرايزوسفير قد تعمل على تحفيز أو تنشيط نمو الجذر اعتمادا على نوع الأحياء المجهرية وعلى الظروف البيئية .

آليات تأثير إفرازات الجذور على جاهزية العناصر الغذائية

الآلية الأولى : تحرير اوكسيد المنغنيز MnO_2

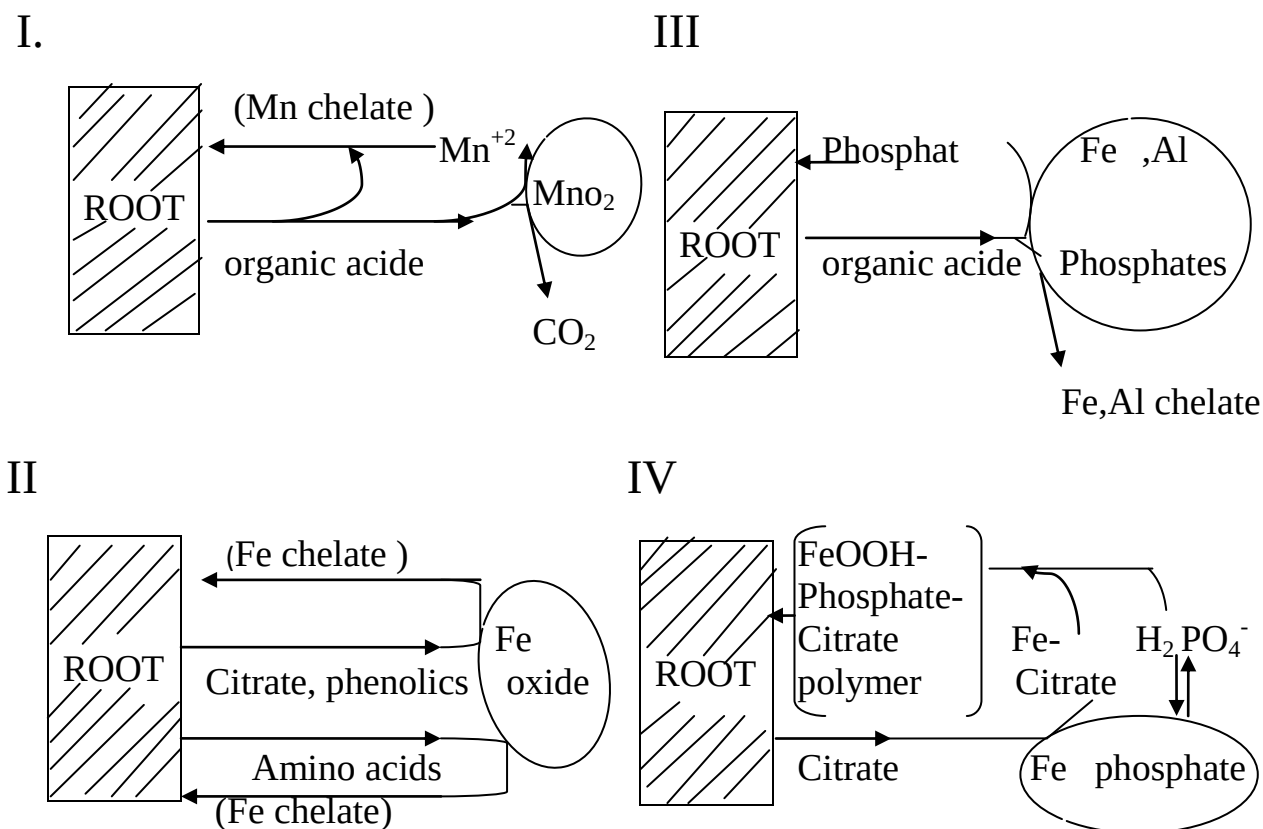
تعتبر السكريات من مكونات إفرازات الجذر ولكن يعتبر تأثيرها قليل جدا على عملية الـ Mobilization بالنسبة للعناصر الغذائية وهناك العديد من الآليات والتي من خلالها تؤثر إفرازات الجذر على جاهزية وتحرير العناصر ثم امتصاصها من قبل النبات . والشكل (1-6) يبين ذلك ويمكن توضيحه كما يأتي :

- 1- إن زيادة عملية الـ Mobilization لاوكسيد المنغنيز MnO_2 بواسطة إفرازات الجذر قد تكون بفعل الأحماض العضوية وخاصة حامض الماليك .
- 2- إن زيادة عملية Mobilization لا يمكن إن تفسر ببساطة نتيجة تأثير رقم التفاعل (pH) ولكن قد تحدث بفعل اختزال و لربما خلب متعاقب subsguent chelation .
- 3- عند رقم تفاعل (pH) معين تعمل إفرازات جذور الحنطة على إذابة (10 – 50مرة) أكثر من المنغنيز من اوكسيد المنغنيز MnO_2 مما يذاب بفعل تأثير رقم التفاعل .
- 4- إن تواجد حامض الـ malic acid مهم جدا ومن مكونات إفرازات الجذور وخلال أكسدة واحد مول من حامض الماليك إلى غاز ثاني اوكسيد الكربون على سطح اوكسيد المنغنيز MnO_2 يتحرر 6 مول من Mn^{2+} .
- 5- يخلب chelation المنغنيز Mn^{2+} وبذلك يمنع إعادة أكسدته reoxidization وبذلك يزيد من حركة المنغنيز المختزل في منطقة الرايزوسفير ، وبذلك تتحقق الآلية الأولى من تأثير إفرازات الجذور على جاهزية المنغنيز .

الآلية الثانية : الحديد Fe

عند دراسة هذه الآلية والتي تبين تأثير إفرازات الجذور على عملية Mobilization لاوكسيد الحديدك يتضح ما يلي :

- 1- إن اختزال اوكسيد الحديدك من قبل حامض الماليت malate acid لم يكن كبيرا كما هو الحال في تأثير حامض malic acid على اوكسيد المنغنيز .
- 2- إن عملية اختزال اوكسيد الحديدك تزداد بواسطة الحامضية والمستوى المنخفض من اوكسيد المنغنيز في التربة .
- 3- مركبات الـ phenolics تختزل اوكسيد الحديدك وذلك باعتبارها إحدى مكونات الإفرازات الجذرية .
- 4- في عديد من النباتات ذات الفلقتين فنقص الحديد يزيد من إفرازات الجذور لمادة الـ phenolics مما يؤدي إلى زيادة اختزال الحديدك في منطقة الرايزوسفير .
- 5- إن هذه العملية من اختزال اوكسيد الحديد بفعل الـ phenolics تتبعها عملية chelation مما يسهل انتقال الحديد إلى مواقع الامتصاص على غشاء البلازما plasma membrane (لاحظ الشكل 1 - 6 موضحا الآلية الثانية) .



شكل 1-6 : رسم التخطيطي للآليات المختلفة في الرايزوسفير لذوبان المركبات غير العضوية القابلة للذوبان بواسطة إفرازات الجذور لتحرير العناصر المعدنية

الآلية الثالثة : الحديد اللاعضوي No organic Fe

هذه الآلية تصف عملية solubilization لايون الحديد غير العضوي الموجود في مركبات الحديد اللاعضوية كما يلي :

- 1- إن إفرازات الجذور تحتوي على مركبات من الأحماض الامينية تدعى nonproteinogenic A.A حيث تعمل على خلب ايون الحديد وهي الآلية السائدة .

2- ان نباتات الفلقة الواحدة امثال grasses تزيد من عملية الإذابة بفعل إفراز nonproteinogenic amino acid والذي يساعد في امتصاص ايون الحديد تحت حالة نقص الحديد الذائب .

الالية الرابعة : الفوسفات Phosphate

هذه الالية توصف إذابة الفسفور غير العضوي وكما يلي :

1- الأحماض العضوية من إفرازات الجذر تعتبر مهمة جدا في إذابة الفوسفات غير العضوية .

2- ان إفرازات جذور نباتات الحنطة تحتوي على تراكيز عالية نسبيا من مادة 2-ketogluconic acid وهذه المادة تعتبر المسؤولة الأولى عن إحداث الحموضة في منطقة الرايزوسفير وكذلك تعتبر المسؤولة عن زيادة امتصاص الفوسفات من صخر الفسفور.

3- ان الطريقة التي تعمل بها الأحماض العضوية في زيادة عملية ال mobilize phosphate لا يعول عليها في تخفيض رقم تفاعل منطقة الرايزوسفير .

4- ان مادة ال citrate تمتاز بقدرتها العالية في إزاحة واستخلاص الفوسفات من على سطوح الاكاسيد sequioxide surfaces وذلك لفعل التبادل الانيني .

5- ان تأثير كلا العمليتين الازاحة deserption و الخلب chelation هما المسؤولتان عن استخلاص الفوسفات وتحريكه من مركبات الحديد أو الألمنيوم الفوسفاتية ، وهذا يمثل الالية الثالثة والرابعة .

وظيفة المادة الهلامية الـ mucigel للنباتات النامية في التربة

لقد اقترحت عدة وظائف تؤديها المادة الهلامية للنباتات المزروعة في التربة وهي تتضمن : ¹⁻ حماية الجذور من الجفاف ، ²⁻ تعمل كمواد تزييت lubricant ³⁻ تحسن من الاتصال بين الجذر والتربة خاصة في الترب الجافة . ان حالة التلامس بين سطح الجذر والتربة واحتواء سطوح الجذر على تراكيز عالية من أحماض galacturonic acids في مادة الـ mucigel قد تعتبر على غاية من الأهمية لتغذية النباتات تحت ظروف خاصة . ان حالة التقارب والتلامس مع حجم كافي من أجزاء التربة قد يؤدي إلى إذابة كميات كافية من العناصر الصغرى لتوفير الاحتياجات الغذائية للنباتات من هذه العناصر .

ومن الوظائف المهمة للمادة الهلامية دورها في امتصاص العناصر الصغرى من الترب الجافة عبر هذه المنطقة الانتقالية transition zone للطورين المهمين التربة والجذر وما يحدث من تفاعل بين سطح الجذر والتربة وبطريقة خاصة ، ولقد وجد ان جذور النباتات النامية في طبقة من التربة أكثر حفاظا من نقطة الذبول لتستطيع امتصاص كميات معتبرة من الزنك شريطة ان يقطع إي مصدر آخر لتجهيز الجذور بالماء كأن يكون من الطبقة تحت السطحية وعليه نجد ان في الترب الجافة تتحرر كميات اكبر من الـ mucilage كاستجابة لعمليات الاحتكاك الميكانيكي وان هذا لربما يسهل انتقال الزنك من جزيئات التربة مع مادة الـ mucigel إلى غشاء البلازما في خلايا الجذر. ومن الوظائف المهمة لمادة الـ mucilage في الترب المعدنية الحامضية انها تعمل على حماية الأنسجة المرستيمية للجذر من تأثير ايون الألمنيوم .

ان جميع العناصر التي تدخل الجذور لابد لها ان تمر من خلال Mucigel - mucilage ، ان سمك هذه الطبقة يزداد من الأعلى إلى منطقة الـ apical root zone وهو مكان انتاجها ، وضمن هذا السياق فقد لوحظ عند تعريض الجذور إلى ايون

الألمنيوم فان جزء كبير من الألمنيوم يتحد بصورة خاصة مع مادة الـ mucilage . وعلى أساس الوزن الجاف فان مادة الـ mucilage تحتوي تقريبا 8 مرات اعلي من الألمنيوم مما موجود في أنسجة الجذر (الجدول 1-3) وبموجب ذلك فان إزالة مادة الـ mucilage تجعل فرصة لتلامس الألمنيوم مع الأنسجة الجذرية مما تسبب في تثبيط شديد في استطالة الجذر .

جدول 1-3: تأثير المادة الهلامية الـ mucilage على نمو ومحتوى الألمنيوم لجذور نبات Cowpea صنف (c.v Tv354) زرعت في المحاليل الغذائية بوجود وعدم وجود الألمنيوم .

محتوى الألمنيوم في نهاية الجذر (صفر – 5 ملغم)				Root growth سم / يوم	Mucilage	المعاملات
جذور		جذور				
Mg Al/ g dry wt.		Mg Al / 25 tips				
-	-	-	-	6.3	+	- Al
-	-	-	-	5.6	- b	
16.6	2.1	16.6	12.4	4.8	+	+ Al c
14.5	3.2	3.6	20.6	2.1	- b	

وبعض المواد المحفزة والمثبطة للنمو، ان هذه المواد أصلا موجودة في الأنسجة النباتية (Rovira ، 1965) (جدول 1- 4) .

جدول 1- 4 : يوضح بعض مكونات افرازات الجذور root exudates

المادة	التفاصيل
Carbohydrates الكربوهيدرات	Glucose , fructose , sucrose ,xylose , maltose , rhamnose , arabinos , raffinose , oligosaccharide .
Amino acids الأحماض الامينية	Leucine/isoleucin , valine , r-aminobatyric acid , glutamine, &-Alanine , asparagines , serin , glumatic acid , aspartic acid , cystine / cysteine , glycine , phenylalanine , threonine , tyrosine , lysine , proline , methionine , tryptophane , homoserine , B-alanine , arginine .
Organic acids الأحماض العضوية	Tartaric , oxalic , citric , malic , acetic , propionic , butyric , valenic , succinic , fumaric , glycolic .
Enzymes الأنزيمات	Phosphatase , invertase , amylase , protease , polygalacturonase .
Other compound including : مركبات أخرى تتضمن	Biotin , thiamin , pantothenate , niacin , choline , inositol , pyridoxine , p-amino benzoic acid , n- methyl nicotinic acid , auxins . ومواد أخرى غير معروفة ذات التأثير المحفز أو المثبط للفطريات أو البكتريا أو النيماتودا .

ان مكونات إفرازات الجذور root exudates تختلف بدرجة كبيرة ما بين الأنواع النباتية ، فلقد وجد اختلافات في الأحماض الامينية لجذور نبات *Pisum sativum* ونبات الشوفان *Avena sativa* (جدول 1-5) . كمية المواد والتي تفرزها الجذور تتأثر بالعوامل التي تؤثر على نمو المجموع الخضري كاستجابة لزيادة أو نقصان جاهزية عنصر او عناصر غذائية ، ان نقص العناصر قد تعمل على زيادة إفرازات الجذر حيث يلاحظ ان نقص البوتاسيوم يزيد من إفرازات الجذور وعدد البكتريا وكمية استهلاك الاوكسجين في منطقة الرايزوسفير ، كما يمكن مشاهدتها في نباتات الرز ، ان هناك علاقة عكسية ظاهرة ما بين عدد البكتريا وتركيز الاوكسجين وبموجب ذلك فان تركيز الحديد المختزل يزداد مع زيادة أعداد البكتريا (جدول1-6) .

جدول 1-5 : الأحماض الامينية من افرازات جذور نباتات *Pisum sativum* والشوفان *Avena sativa* بعد مرور 21 يوما من النمو .

الاحماض الامينية	<i>Pisum sativum</i> (3)*	<i>Avena sativa</i> (20)*
Asparagin	+++	++
Aspartic acid	++	+
Serine	+++	+++
Glutamine	++++	+
Homoserine	++++	-
&-Alanine	++++	+
Leucine	+	++
Lysine	++	+++
Thronine	++++	+ / -
Glycine	-	+++

* عدد النباتات الأزمة لتوفير مادة نباتية لكل تحليل من (chromatogram , Rovira 1965)

جدول 6-1: حالة تغذية عنصر البوتاسيوم في أراضي الرز المغطاة بالمياه

جاهزية البوتاسيوم K^+	عدد البكتريا ($10^6 \times$)	تركيز الاوكسجين ملغرام / لتر	تركيز الحديد Fe^{+2} ملغرام / لتر
بوتاسيوم عالي	1244	17.0	1.0
بوتاسيوم واطئ	1686	8.6	2.4
* بوتاسيوم عالي / بدون بوتاسيوم	2036	0.5	10.6

* 55 يوم مع البوتاسيوم العالي ، ثم 20 يوم بدون بوتاسيوم

الجدول (7-1) يشير الى ان تعرض بادرات الصنوبر *Pinus radiate* الى نقص في جاهزية النتروجين في المحاليل الغذائية قد تسبب في تخفيض تراكيز الـ Amid والأحماض الامينية ، إما في حالة نقص جاهزية الفسفور في المحاليل الغذائية فان كمية المواد العضوية والمتحررة من الجذور والشعيرات الجذرية على هيئة Amides واحماض امينية تزداد بدرجة محسوسة . ومن العوامل الأخرى المؤثرة على إفرازات الجذور الرطوبة ، فعند تعريض النباتات الى شذوذ رطوبة تزيد من إفرازات الجذور بالاضافة الى تواجد أحياء التربة المجهرية قد يساعد في زيادة إفرازات الجذور. ان كمية الإفرازات الجذرية تختلف بدرجة كبيرة مع تقدم عمر النبات وان أعلى كمية من هذه المواد تفرز من منطقة root apex وكذلك عند بدء عملية تكون الجذور الجانبية lateral root . درجة الحرارة أيضا عامل مؤثر في تحديد الكمية المنطلقة من الجذور ، فقد لوحظ ان تخفيض درجة الحرارة لفترة قصيرة يشجع في إفراز هذه المواد بكمية اكبر.

جدول 1-7: يوضح تركيز الـ amids و الأحماض الامينية (مول $\times 10^{-9}$ / نبات)
من جذور نباتات بادرات الصنوبر *Pinus radiate* بعمر 2 و 4 أسابيع
والمزروعة في المزارع المائية .

Amino acid or amide الأحماض اللامينية أو الامايد	المحلل المغذي		
	كامل العناصر	نقص الفسفور	نقص النتروجين
Asparagin	10.9	32.5	3.0
Glutamine	23.6	52.0	2.8
r-Aminobutyric acid	5.2	13.8	1.0
&-Alanine	1.6	2.8	1.2
Aspartic acid	4.4	9.6	2.0
Glutamic acid	6.0	19.7	2.0
Glycine	7.3	14.0	3.4
Leucine	3.0	5.6	1.8
Serine	4.8	8.0	2.0
Threonine	1.4	2.0	-
Valine	1.8	4.0	0.1
Total amino nitrogen مجموع أمينات النتروجين	104.5	248.5	25.1

ومن العوامل الفيزيائية المؤثرة في إفرازات الجذور هو ما يسمى بالحك أو السحيج abrasiveness للغشاء المخاطي لجذور النباتات حيث نفذت تجربة تضمنت زراعة بادرات نباتات الحنطة في ثلاثة أوساط غذائية مختلفة في قدرتها على إحداث الاحتكاك مع الجذور وهي الزراعة في المحاليل المائية الغذائية ومزارع الرمل

واستخدام وسط آخر هو الكاربورادنيوم Sic هذه الأوساط ساعدت في تأثير عملية الاحتكاك على إفرازات الجذور وقد وجد ان زيادة الاحتكاك يزيد من كمية المواد المتحررة من الجذور وهذه المواد العضوية المتحررة تسببت في زيادة ذوبانية الفوسفات غير الذائب وهو هيدروكسيد اباتايت Hydroxy- apatite .

ان كمية المواد التي تفرز من الجذور تزداد عند زيادة أعداد احياء التربة في منطقة نمو الجذور وضمن هذا السياق، فعند دراسة إفرازات جذور محاصيل الحبوب في المزارع الغذائية المائية المعقمة وجد ان الكمية المتحررة في المحلول المغذي المعقم كانت منخفضة مقارنة بزراعة المحاصيل في الظروف الحقلية في التربة غير المعقمة (جدول 1-8) ، بالإضافة لذلك فان تحرر كمية تصل (20 %) من وزن النبات خلال عملية lysates تعتبر مهمة جدا في إحداث تغيرات في جاهزية العناصر ضمن منطقة الإفرازات في الاتجاه المعاكس عند تحديد الكمية المتحررة من الجذور فان Rovira قد اقترح قيمة وهي 7 – 10 % من وزن المادة الجافة لنباتات الشعير . من بين المواد التي تدخل في تركيب إفرازات الجذور هي الجزيئات الطبيعية الكبيرة natural macro moleueles ذات القوام الجلاتيني في التربة والتي تعرف بالسكريات المتعددة polysaccharides . ان المادة العضوية والتي تشكل الكربوهيدرات ربع كميته الكلية تحتوي السكريات المتعددة في الجذور وبقايا النباتات المتحللة ، ان السكريات المتعددة من الأصل النباتي تتصف بأنها ذات نسبة عالية من سكريات pontose sugars إما النسبة المتبقية فهي مادة هلامية من Mucigel وهذه المادة تغطي سطح الجذور او تتواجد مع احياء التربة المجهرية في منطقة الرايزوسفير.

جدول 1- 8 : إنتاج إفرازات جذور نباتات الشعير وقد زرع إما في المزارع المائية أو بطريقة Ballotini حجم 1 ملليمتر تحت ظروف التعقيم وبعمر 21 يوما .

1 ملليمتر طريقة Ballotini	المزرعة المائية فقط	
36.4	31.8	الوزن الجاف للنبات (ملغرام / نبات) الجذر
52.4	57.3	القمة
0.23	0.14	الافرازات (ملغرام / نبات) الأحماض الامينية
3.03	1.45	الكربوهيدرات
3.26	1.59	المجموع
9.0	5.0	النسبة المئوية لوزن الجذور
3.7	1.8	النسبة المئوية لوزن النبات الكلي

ان المادة الهلامية والتي تفرزها الجذور هي في الغالب إما من أصل نباتي أو من أصل ميكروبي وعلى هذا الأساس فلقد أشار Foster ان مادة الـ Mucigel التي تنتجها الفطريات تختلف من تلك التي تنتجها البكتيريا وان الطريق الذي يعتمد عليه لمعرفة أصل هذه المادة في التربة هو من خلال معرفة محتوى مادة الـ arabinose و xylose . ان البحوث التي تستخدم تقنية الكربون المشع-14 اظهرت بان احياء التربة المجهرية تمثل في الغالب المواد glucose , galactose و mannose و قليل من arabinose و xylose و عليه فان نسبة كل من mannose + galactose مقسومة على كل من xylose + arabinose تمثل اختصارا ($x + a / m + g$) فإذا كانت النسبة منخفضة وهي (اقل من 0.5) فان السكريات المتعددة هي من أصل نباتي ، أما إذا كانت النسبة عالية (اكبر من 2.0) فان السكريات المتعددة هي من أصل ميكروبي.

ان دراسة مكونات إفرازات الجذور باستخدام المجهر الالكتروني قد أوضحت بان هناك نوع من الاتحادات ما بين المادة الهلامية Mucigel وخلايا البكتريا و هايفات الفطريات وبعض المكونات المعدنية وهي عادة ما تظهر على هيئة دقائق من الطين الناعم fine clay platelets .

طرق تحديد الكميات المتحررة من جذور النباتات في الرايزوسفير

في السنوات الماضية كانت طرق تحديد الكميات التي تفرزها الجذور تعتمد أساسا على زراعة النباتات المختلفة في المزارع المائية الغذائية المعقمة ثم يتم تقدير المواد العضوية التي تفرز من الجذور في المحاليل الغذائية وكانت لا تتجاوز (0.1 – 0.4 %) من إجمالي عملية التركيب الضوئي التي تحدث في النباتات قيد الدراسة. وبتقدم طرق دراسة تحرر المواد العضوية وجد ان استخدام تقنية "Glass ballo tini" وجد ان جذور محاصيل الحبوب تفرز من السكريات والأحماض الامينية ما يكافئ قيمة تصل (5 – 9 %) من الوزن الكلي الجاف للنبات . ان استخدامات هذه التقنية شجعت عدد من الباحثين في القيام بدراسات مختلفة ونباتات عديدة وقد اجمع العدد الكبير منهم بان النباتات النامية في التربة غير المعقمة تحرر من المواد العضوية (بهيئة كربون) تقدر بأكثر من (20 %) من الوزن الكلي الجاف للنبات منهم Barber و Martin، (1976) ؛ Martin، (1977) وعليه فان كمية المواد المتحررة من الجذور الى منطقة الرايزوسفير تزداد بتواجد احياء التربة حيث تزداد من قيمة قدرها (5 – 10%) في الأوساط المعقمة الى قيمة تصل أكثر من (12 – 18 %) في الأوساط غير المعقمة . ان كمية المواد العضوية المتحررة مع غاز ثاني اوكسيد الكربون هو نتيجة التحلل الذي يحدث لجدر خلايا الجذور بدلا من ان تكون إفرازات خفيفة من جذر الخلايا الجذرية المتصلة intact cell walls .

جاهزية الكربون العضوي والنشاط الميكروبي في الرايزوسفير

في الأوساط الغذائية غير المعقمة فان سطوح الجذور تحتوي على أعداد كبيرة من أحياء التربة المجهرية خاصة في منطقة الـ Rhizoplane وكذلك الـ Rhizosphere وتكون هذه الأحياء اكبر عددا في المنطقة الأولى الـ Rhizoplane ولكنها لا تختلف كثيرا من حيث مكونات الأحياء بين الطبقتين . إن قيمة R / S (هي نسبة اعداد الميكروبات في وحدة وزن الموجودة في تربة الرايزوسفير R الى الاعداد الموجودة في وحدة الوزن من التربة البعيدة عن تأثير الجذور S) تختلف بدرجة واسعة اعتمادا على نوع النباتات السائدة وعمر هذه النباتات وهي تتراوح في مدى (5 - 50) . إن أعداد أحياء التربة تغطي بحدود 10 % من منطقة الـ Rhizoplane . في هذه المنطقة قد تهاجم الأحياء الجذر كما هو الحال مع بكتريا الـ Azotobacter وتكون بهذه الحالة ايجابية وصحية وفي أحيان أخرى تكون المهاجمة من قبل مسببات مرضية Pathogens . إن كثافة الأعداد من الأحياء المجهرية وخاصة البكتريا تعتمد على كمية الإفرازات الجذرية وكمية المادة الهلامية الـ mucilage وكذلك على كمية الخلايا المنسلخة sloughed- off cells . في النباتات المزروعة في الترب غير المعقمة فان الكمية الكلية من الكربون العضوي والتي تجهز الى أحياء التربة تتراوح ما بين (75 - 85 %) وهي تشكل غالبا من الخلايا و الأنسجة المنسلخة ، وعلى سبيل المثال فنباتات الحنطة المزروعة في الترب غير المعقمة وخلال فترة 3-8 أسابيع تحرر كمية من الكربون العضوي تقدر ما بين (20 - 40 %) وان اغلب هذا الكربون العضوي المتحرر قد استخدم من قبل أحياء التربة .

إن الكمية الكبيرة من الكربون العضوي والتي تتحرر بفعل أحياء التربة المجهرية في منطقة الرايزوسفير لها وظيفة على غاية من الأهمية لكل من موازنة الكربون بالنسبة للنباتات وعلاقة التغذية المعدنية في منطقة الرايزوسفير . وعند الوصول للنضج التام فان هناك جزء بسيط فقط من الجذور قادر على تكوين الكربون حيث يحتجز

ضمن النظام الجذري وان الغالبية من الكربون تفقد خلال عملية تنفس الجذور أو كإفرازات exudation أو في تحلل الجذور root decomposition .

التأثيرات الحيوية في منطقة الرايزوسفير

Biological effects in the rhizosphere

1- تكون المستعمرات الجرثومية في الجذور

لقد اقترح Rovira (1979) إيجاد نظام خاص يمكن من خلاله إجراء التقديرات اللازمة لمعدلات نمو الأحياء المجهرية على أو حول الجذور النباتية في منطقة الرايزوسفير وذلك لفهم آلية تكون المستعمرات من أحياء التربة في الجذور هذا النظام المقترح لابد أن يستبعد طريقة عد بالأطباق plate counting method والتي بها تقدر قيمة R/S . وفي ضوء هذا السياق استخدم Bowen و Rovira (1976) مصطلح سموه عمر الجيل Generation time للبكتريا كأساس لدراسة وفهم حركات Dynamic تكون المستعمرات في منطقة الرايزوسفير. أما Barber و Lynch (1977) فقد استخدموا مصطلح أسموه الزمن المضاعف Doubling time وفي دراستهم لأنواع مختلفة من البكتريا على جذور نباتات الشعير وجدوا إن الزمن المضاعف للأنواع البكتيرية كان (23.9 ، 29.7 ، 103.4) ساعة يقابلها فترات نمو هي (صفر - 4 ، 4 - 7 ، 7 - 16 يوم) على التوالي هذا يعني ان هناك أوقات مختلفة لتكون وظهور المستعمرات ، ثم قاموا بأخذ أجزاء من الجذور ولكن بأعمار مختلفة وتم زراعتها حسب تقنية exenically – grown roots في التربة وبعد ذلك تم حساب البكتريا على أوساط غذائية مختارة خلال فترات زمنية ، ولاحظوا بان البكتريا نوع *Pseudomonas spp* لها عمر جيل بلغ (77 ساعة) ، اما البكتريا نوع *Bacillus spp* لها عمر جيل بلغ (100 ساعة) . إن هذه الطريقة في وصف حركات وتكون

المستعمرات البكتيرية تساعد في حساب بعض المتغيرات أمثال معدلات النمو لأحياء التربة ، إشغال المواقع على أو حول الجذر أو المنافسة على العناصر أو التضاد .

2- استخدام المجهر الالكتروني في دراسة أحياء التربة المجهرية في

منطقة الرايزوسفير

إن إضافة المخصبات الحيوية الى الترب الزراعية تعني إدخال أحياء مجهرية بكثافة لقاحية معينة الهدف منها تحقيق تحسن في النمو وما يرافقه من زيادة الإنتاج ولكن وفي أحيان أخرى تدخل هذه الأحياء المضافة بنوع من التضاد مع أحياء تربة مجهرية أخرى قد تعمل على إضعافها أو منع نشاطها بما يحقق الهدف المضافة من اجله ولذا فان فهم التأثيرات الحيوية لمجموعة الأحياء في منطقة الرايزوسفير سوف تعطينا فهم واسع لما يحدث بعد إدخال هذه المخصبات الحيوية . ان دراسة توزيع المكونات من أحياء التربة المجهرية المختلفة في منطقة الرايزوسفير (أو حيز التربة - الجذر) Soil – root interface قد تطورت بدرجة كبيرة جدا من خلال استخدامات المجهر الالكتروني بطريقة transmission أو scanning . وفي مجموعة الاشكال نحاول دراسة وفهم التأثيرات الحيوية في منطقة الرايزوسفير . الشكل (1-7 و 1-8) يوضح مايلي :

1- جذور نباتات الحنطة غير المصابة مع ظهور المادة الهلامية

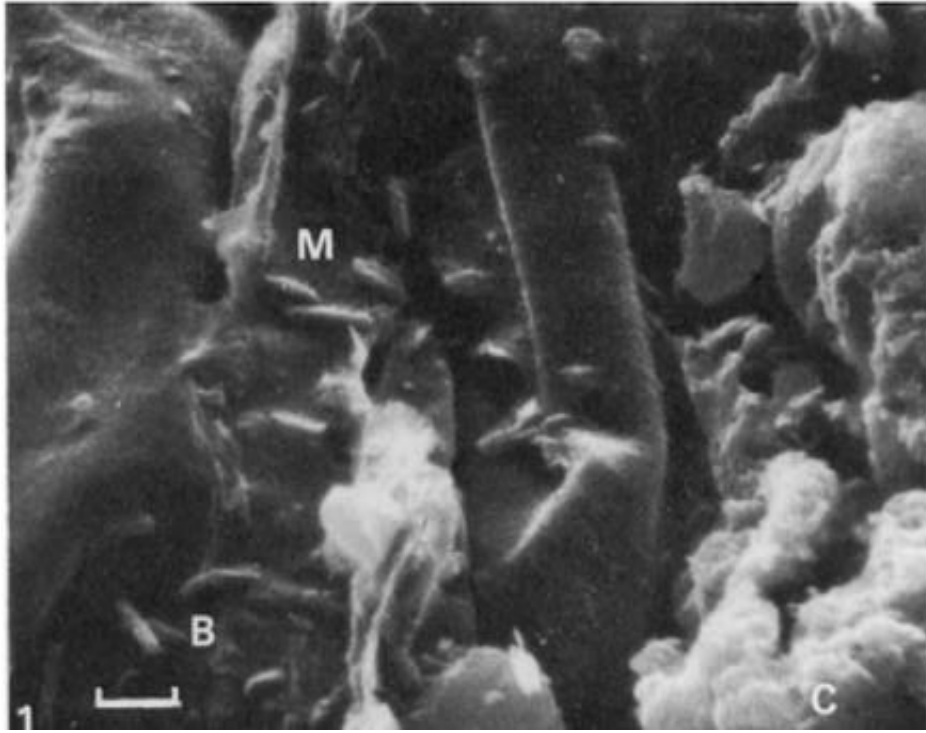
Mucigel (M) منتشرة على سطح الجذر وقد عملت غلاف حول

البكتريا (B) مع ظهور جزيئات من الطين (C) .

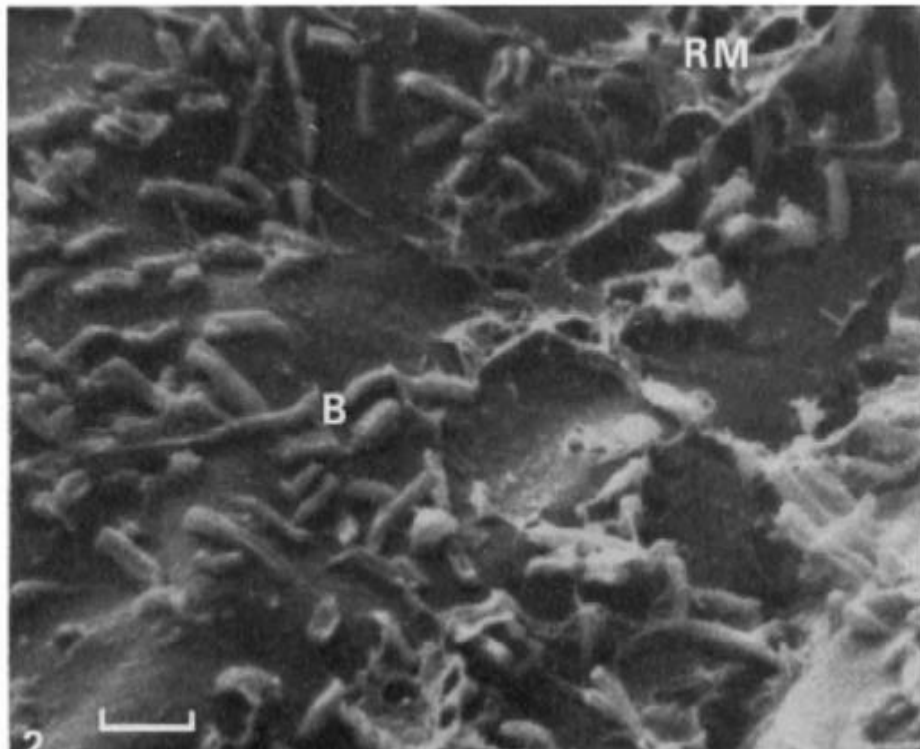
2- سطح جذور نباتات الحنطة مصابة بمرض Take-all والذي يسببه

الفطر *Gauemannomyces graminis* حيث يظهر اختفاء المادة

الهلامية الـ mucigel وان الجذور قد امتلأت بالمستعمرات البكتيرية .

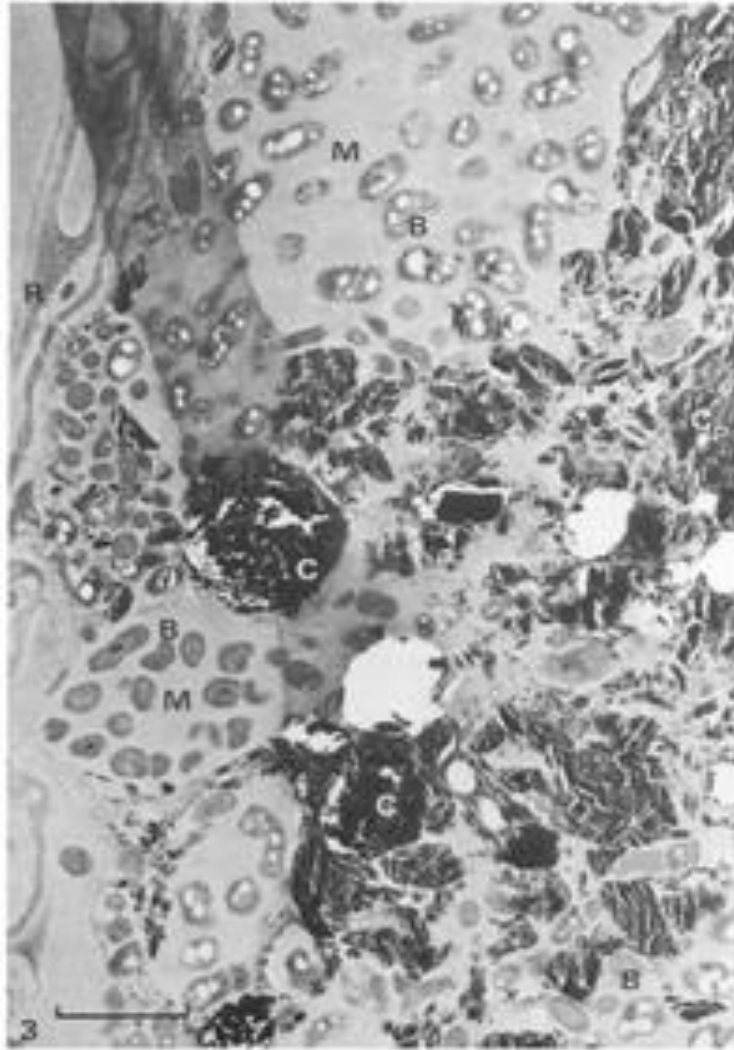


شكل 1-7: صورة مجهرية لجذور الحنطة تظهر الـ Mucigel (M),البكتريا (B) , الطين (C) .



شكل 1-8 : صورة مجهرية لجذور الحنطة مصابة بمرض Take-all. البكتريا (B) , بقايا الـ Mucigel (RM) .

اما الشكل (1- 9) فهو لجذور نباتات الكلوفر Sub- clover مع ظهور حزم كثيفة من البكتريا وبقياسات 10 -15 مايكروميتر ما بين الجذر والتربة مع أنواع من البكتريا بعضها كونت مستعمرات صغيرة . إن البكتريا البعيدة عن الجذر بمسافة قليلة من المنطقة التي تضم الجذر والتربة تظهر اما مفردة أو كأزواج وهي مغلفة بالكامل بالطين مقارنة بالبكتريا المتكونة بالقرب من الجذر . هنا مادة الـ mucigel المتكونة من الأصل البكتيري (M).



شكل 1-9: صورة مجهرية لجذور نباتات الكلوفر Sub- clover . الجذر (R) ، البكتريا (B) ، الطين (C) ، Mucigel (M) من اصل بكتيري .

ان منطقة الرايزوسفير كما يظهر من مجموعة الاشكال إنها مصدر إمداد أحياء التربة المجهرية وان هناك الكثير من التداخلات المتوقع حدوثها بين هذه الأحياء والأسمدة الحيوية المضافة بحيث تنشأ من حالات المعاشية التكافلية او غير التكافلية وسوف نتناول ثلاثة حالات من هذا النوع من المرافق وهي :

- 1- جذور النباتات ومرافقة أحياء التربة المسؤولة عن تثبيت النتروجين
- 2- جذور النباتات ومرافقة فطريات المايكورايزا في منطقة الرايزوسفير
- 3- التداخلات بين المسببات المرضية ووظيفة الجذر .

1- جذور النباتات وأحياء التربة المثبتة للنتروجين

في هذا الجزء من الفصل سوف نستعرض ببساطة عن حالات المرافقة ما بين أحياء التربة المجهرية المثبتة للنتروجين والجذور النباتية وسوف تكون لنا فصول من هذا الكتاب تهتم بأنواع احياء التربة لتثبيت النتروجين تكافليا وغير تكافلي .

لقد أوضحت الدراسات في غرب استراليا (Parker ، 1957) ثم من بعده Dobereiner و Campelo (1971) بان هناك نوع من التآلف والمرافقة ما بين جذور الحشائش *Paspalum spp* ونوع من البكتريا *Azotobacter paspali* وكذلك حالة من تثبيت النتروجين لبعض الحشائش في المنطقة الاستوائية مع نوع من البكتريا *Azospirium* وهي *Spinillum lipoforum* والتي تعيش داخل خلايا قشرة الجذور وان حالة تثبيت النتروجين تظهر عند دراسة حرارة مرتفعة ورطوبة ملائمة . إن هذا النوع من نظام تثبيت النتروجين غير التكافلي يبدو قابلا للتطبيق في ظل الزراعة الكثيفة وان النظام المختص بتثبيت النتروجين تكافليا ممكن التطبيق في الزراعة الحديثة باستخدام بكتريا العقد الجذرية .

2- جذور النباتات ومرافقة فطريات المايكورايزا الداخلية

ان موضوع المايكورايزا الداخلية وأهميتها في الزراعة الحديثة سوف يناقش مفصلاً في فصول الكتاب القادمة ولكن نستعرض موضوع المايكورايزا الداخلية وحالة التعايش التكافلي مع جذور العائل النباتي في منطقة الرايزوسفير، تعتبر هذه الفطريات ظاهرة حديثة اقامت انتباه المهتمين نتيجة التحسن الذي يطرأ على نمو النباتات بعد إصابتها بهذا النوع من الفطريات هذا بالإضافة الى تحسن أداء المحاصيل البقلية سوى الرعوية او محاصيل الحبوب الغذائية عند استخدام تقنية التلقيح المزدوج من المايكورايزا والرايزوبيا خاصة في الترب ذات المحتوى المنخفض من عنصر الفسفور.

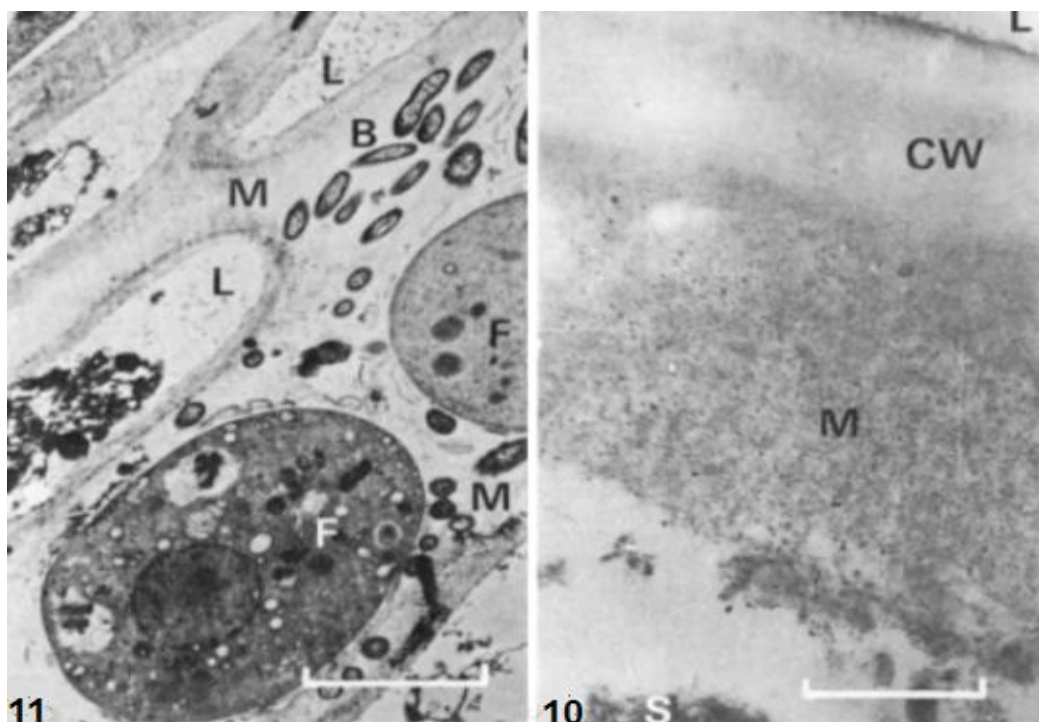
3- التداخلات ما بين مسببات الأمراض في الجذور ووظيفة الجذر في منطقة الرايزوسفير .

ان تواجد المسببات المرضية الجذرية في منطقة الرايزوسفير تشكل حضور دائم وهي متعارف عليها لدى جميع المهتمين بموضوع التداخلات بين المسببات المرضية والجذور . من المسببات المرضية الجذرية في محاصيل الحبوب والذي تعرف cyst mematode والذي يسببه الكائن *Heterodera avenae* هذا المسبب المرضي يؤثر على نسبة الجزء الخضري الى الجزء الجذري بالإضافة لتأثيره على استجابة النباتات للأسمدة الفوسفاتية (الجدول 1-9) وتتكون طبقة سميكة من المادة الهلامية mucigel تشكل مستعمرات لأعداد من احياء التربة من البكتريا والفطريات شكل (1-10 و 11-1) .

جدول 9-1:التداخل بين النيماتودا (*Heterodera avenae**) والاسمدة الفوسفاتية
في نمو نبات الحنطة .

نسبة الوزن الخضري / الوزن الجذري	الجزء الخضري		الجزء الجذري		Super- phosphate	Nematicide
	الوزن الجاف (ملغم)	المساحة الورقية (سم ²)	الوزن الجاف (ملغم)	الطول (سم)		
0.59	37	7	63	434	-	-
1.70	103	16	60	859	-	+
0.96	73	13	76	664	+	-
2.02	19	19	59	892	+	+

*580 بيضة / 100 غم تربة



شكل 10-1 و 11-1 : صورة مجهرية تظهر تكوين المادة الهلامية mucigel حول الجذر. تجويف النبات (L) ، جدار خلية النبات (C.W) ، mucigel (M) ، البكتريا (B) ، الفطريات (F) ، تربة (S).

ان الخسارة في كمية الإنتاج في محاصيل الحبوب نتيجة الإصابة بمرض يسمى Take-all صنفته الثاني من حيث الأهمية بعد مرض صدأ الساق stem rust واسع

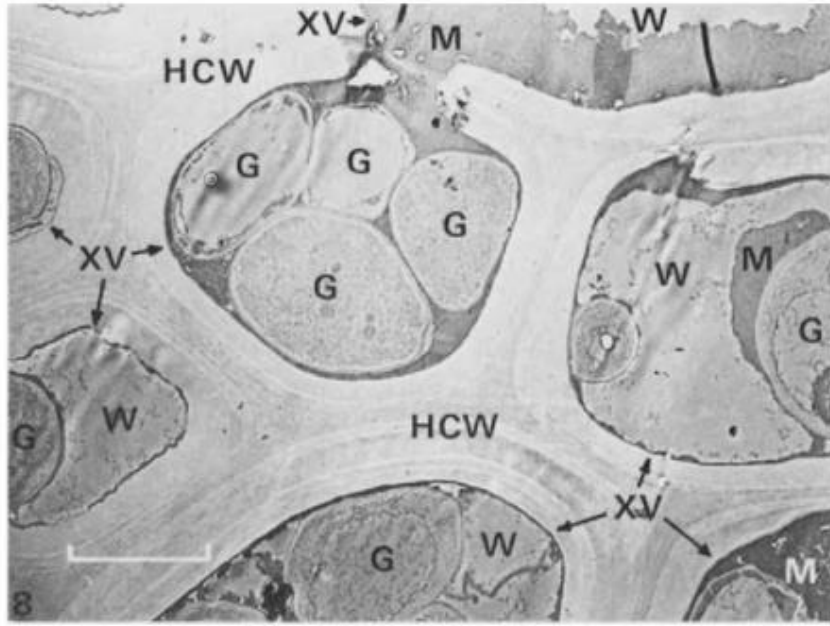
الانتشار في العالم ،ان مسبب هذا المرض هو الفطر *Gauemannomyces graminis* ومن أعراضه هو النضوج المبكر pre mature ripening وأحيانا يطلق على هذه الأعراض (haying off). فلقد وجد ان إصابة جذور نباتات الحنطة في كل من مرحلة البادرات seedling وخلال مرحلة الأزهار تزيد من جهد الماء water potential في الأوراق والجهد الازموزي في عصير الخلية النباتية (الجدول 10-1) . ووجد ان التغيرات التي تحدث على النبات المصاب قد تكون بسبب تأثير الفطر *G. graminis* على عمليات نقل المواد المصنعة في الأوراق الى الجذور وانسداد أوعية الخشب بواسطة هايفات الفطر بالإضافة الى الاصماغ التي تتواجد مع هايفات الفطر (الشكل 12-1). ان تأثير هذه المسببات المرضية على تركيز العناصر الغذائية في الأوراق لنباتات الحنطة يظهرها الجدول (1 - 11) .

جدول 10-1 : تأثير مرض Take-all (*G. graminis*) على الجهد الازموزي في عصير الخلية وجهد الماء وجهد الماء في اوراق الحنطة .

ورقة العلم عند الازهار		ثلاث اوراق		مرحلة النمو
مريضة	سليمة	مريضة	سليمة	
53 ± 1640 -	56 ± 1640 -	203 ± 1286 -	80 ± 554 -	الجهد المائي في الورقة
83 ± 1780 -	89 ± 1370 -	N.M	N.M*	الجهد الازموزي

± معدل الخطأ القياسي

not measured = N.M*



شكل 1-12: صورة مجهرية لمقطع العرضي للجذور الحنطة المصابة بمرض Take-all مسببه الفطر *G. graminis* . *G. graminis* (G) ، جدار خلية العائل (H.C.W) ، اوعية الخشب (XV) الفراغات المملوءة بالماء (W) .

جدول 1-11: تأثير النيماتودا (*H. avenae*) و (*G. graminis*) Take-all على محتوى العناصر على الجزء الخضري للحنطة .

أ - النيماتودا (*H. avenae*) .

محتوى العناصر (%) **							الوزن الجاف (g /m)	معاملات التربة
Mg	Cl	Si	Ca	K	S	P		
0.19	0.86	1.6	0.92	4.5	0.55	0.46	3	Nil
0.16	0.97	1.6	0.55	5.1	0.43	0.46	8	Nil
0.16	0.16	1.3	0.28	6.2	0.41	0.45	#22	Nil
0.16	0.16	1.4	0.31	5.8	0.40	0.49	32	Nematicide

ب- Take-all

محتوى العناصر (%) **					الوزن الجاف (g/plant)	*معاملات المرض
Si	Ca	K	S	P		
1.3	0.28	2.2	0.28	0.44	0.2	5
1.3	0.32	5.4	0.35	0.48	0.5	4
1.6	0.30	6.7	0.43	0.61	0.6	1 to 3
2.3	0.36	6.9	0.45	0.72	0.8	0

اضيف السوبر فوسفات بمعدل 200 كغم / هكتار .

*معاملات المرض : 0 = غير ممرضة no disease ,

1 الى 3 = light infection confined to lesions on the seminal roots ,

heavy infection extending from seminal roots to crown = 4,5

** التحليل بعد 8 اسابيع

Roots with light infestation #

الفصل الثاني

تقسيم أحياء التربة المجهرية والعوامل المؤثرة في نموها وانتشارها في التربة

مقدمة

نتناول في هذا الفصل جزأين مهمين لأحياء التربة المجهرية ، الجزء الأول : يتضمن اقسام احياء التربة المجهرية ، فبالإضافة الى التقسيم المعتمد على الاسس التصنيفية والذي يدخل في تفاصيل الرتب وتحت الرتب والعوائل والانواع ، فيمكن تقسيم احياء التربة المجهرية الى مجاميع وفق بعض الصفات والخواص العامة ، ومنها التقسيم البيئي ، التقسيم حسب الحرارة ، التقسيم حسب حاجة الاوكسجين اضافة الى التقسيم حسب الطاقة والكربون ، وكذلك تقسيمها حسب تكوينها للسبورات وصبغة كرام .

اما الجزء الثاني : فيشمل العوامل المؤثرة في نمو وانتشار احياء التربة المجهرية ، حيث ان التربة هي خليط من المادة المعدنية والمادة العضوية والماء والهواء اضافة الى الكائنات الحية ، فهي من اكثر البيئات تعقيدا لنمو جميع الاحياء وبذلك يتطلب دراسة فعالية الاحياء وبيئتها وحركة توزيعها في التربة ، وهذا بطبيعة الحال يتاثر بمجموعة من العوامل الغير حيوية والتي تشمل العوامل الكيميائية والفيزيائية والعوامل الحيوية التي تمثل العلاقات المتداخلة بين احياء التربة ومحيطها ، حيث توجد كثير من الاحياء المجهرية بالتربة متقاربة مع بعضها او مع النباتات وتتعايش بطرق مختلفة مما يؤدي الى تعرضها لانواع عديدة من التفاعلات والعلاقات (التداخلات) التي ترتبط بها الانواع المختلفة من احياء التربة المجهرية ، وهذه العلاقات اما ان تكون ايجابية حيث تكون تعاونية ونافعة لواحد او اكثر من مجاميع احياء التربة المتفاعلة او تكون سلبية حيث يكون بعضها تنافسيا او محددا للمجاميع المتفاعلة ، وبذلك تتحقق كل من التأثيرات

الضارة والنافعة وينشأ نتيجة عنها المجتمع المايكروبي المتوازن (microbial equilibrium population) .

اقسام أحياء التربة المجهرية

قسمت احياء التربة المجهرية الى مجاميع اعتمادا على بعض الصفات والخواص العامة وهي كما يلي :

1- التقسيم البيئي Ecological classificatoion : قسمت أحياء التربة المجهرية حسب طبيعة وجودها في التربة إلى مجموعتين من قبل العالم الروسي وينوكرادسكي Winogradsky (1925) وهي :

أ- أحياء التربة المجهرية المستوطنة (الأصلية) (Indigenous)

Autochthonous microorganisms

وهي التي تتكون من عدد كبير من احياء التربة المجهرية الاصلية في التربة أي موطنها الأصلي والدائم هي التربة وتحصل على موادها الغذائية من الجزء العضوي بالتربة ولا تحتاج الى مواد غذائية او مصادر طاقة خارجية ولذلك يبقى عددها ثابتا تقريبا . وتوجد في كل أنواع الترب ولها دور أساسي في التغيرات الكيميائية الحيوية التي تحدث في التربة وقد توجد هذه الأحياء في أطوار ساكنة كالسبورات أو قد تكون موجودة على هيئة خلايا خضرية فعالة في التربة .

ب- أحياء التربة المجهرية الدخيلة (Invaders) Allochthonus

microorganisms

وهي احياء التربة المجهرية التي تضاف الى التربة عند زراعة البقوليات كبكتريا العقد الجذرية لرفع كفاءة التثبيت الحيوي للنتروجين او عن طريق معاملة التربة ببقايا النباتات الخضراء أو مواد معدنية او مخلفات الانسان والحيوان أو عن طريق تلوث التربة بمياه المجاري ومياه الامطار.

2- تقسيم أحياء التربة المجهرية اعتمادا على المتطلبات الحرارية

تعد الحرارة عاملا مؤثرا لمعظم الفعاليات الحيوية ، فهي تؤثر في النشاطات الانزيمية في الخلية . فكل نوع درجة حرارة ملائمة له فاذا تغيرت عن هذه الدرجة بالزيادة او النقصان فانها تؤثر في نموه وتكاثره ، اذ توجد قيمة صغرى (دنيا) لا يحدث فيها نمو ، وعند ارتفاع الحرارة تزداد سرعة النمو بسبب زيادة فعالية الانزيم حتى تصل الى اقصاه عند درجة الحرارة المثلى (Optimum growth temperature) ، و هي درجة الحرارة التي تسمح بالنمو بأسرع ما يمكن ويصحب ذلك أعلى إنتاج للخلايا . وعند ارتفاعها قليلا عن المثلى فان سرعة النمو تنخفض انخفاضا حادا بسبب مسخ الانزيمات الضرورية مما يؤدي الى موت الخلايا (شكل 2-1) .

وقد وضعت أحياء التربة المجهرية في ثلاثة مجاميع رئيسية تبعا لدرجة الحرارة المثلى والمدى الحراري الذي يمكن أن تنمو فيه :

أ- المحبة للحرارة المتوسطة Mesophiles

أن معظم أحياء التربة المجهرية هي **Mesophiles** وهي مجموعة البكتريا التي تنمو في مدى بين (15 - 45 م⁰) وفضل نمو لها بين 25 - 35 م⁰ . معظم بكتريا وفطريات التربة من هذا النوع .

ب- المحبة للبرودة Psychrophiles

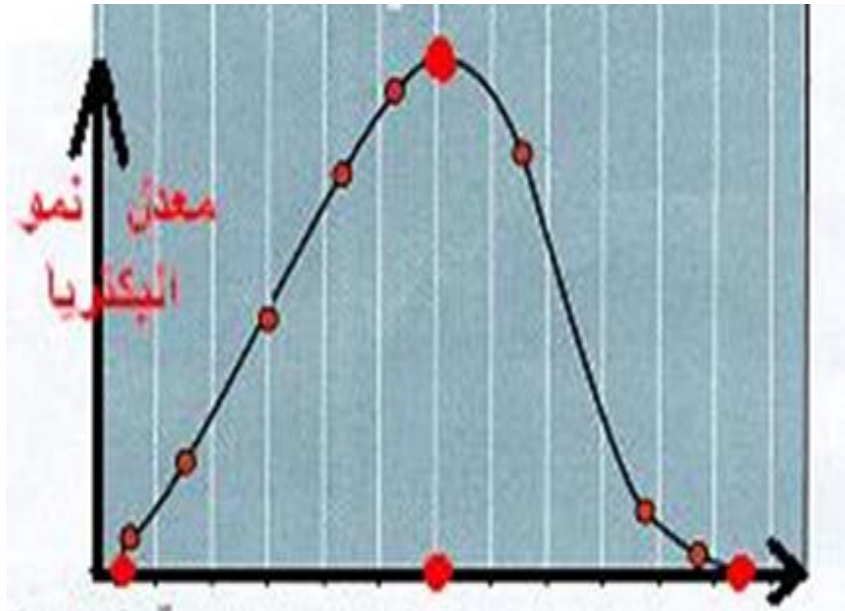
وهي الأحياء التي تنمو بصورة أفضل في درجات الحرارة التي تقل عن 20 م⁰ (درجة الحرارة المثلى 15 م⁰ والعظمى 20 م⁰). وهذا النوع من الأحياء شائع الوجود في التربة. وهناك العديد من أحياء التربة لها القدرة على النمو في درجات الحرارة المنخفضة التي تقع ما بين درجة الانجماد و 5 م⁰ . بعض انواع البكتريا يكون افضل نمو لها عند اقل من 20 م⁰ . ويمكن ان تنمو بعض انواع الفطريات في الاطباق المحضنة

على درجة 6 م° كالانواع التابعة للجناس *Cylindrocarpon* , *Penicillium* , *Mucor*.

جـ- المحبة للحرارة العالية Thermophiles

تنمو في مدى حراري بين (45 – 65 م°) وحرارة مثلى (45 م°). قسم من البكتيريا والفطريات تفضل درجات الحرارة المرتفعة. ومن اجناس البكتيريا تحسب ضمن هذا النوع هي *Thermomonospora* , *Thermoactinomyces*.

ان احياء التربة المجهرية اكثرها من النوع الذي يحب الحرارة المعتدلة Mesophiles، والتي تحب الحرارة الواطئة تأتي بالدرجة الثانية، اما المحبة لدرجات الحرارة العالية فتكون اعدادها واطئة جدا. تكون اعداد احياء التربة المجهرية في فصل الربيع عالية مقارنة بفصلي الصيف والشتاء لان المواد العضوية التي تتجمع شتاءا تبدأ بالتحلل في الفصول الدافئة كالربيع على العكس من فصلي الصيف والشتاء حيث الحرارة العالية صيفا والبرودة القارسة شتاءا تقلل اعداد احياء التربة المجهرية.



الدرجة العظمى الدرجة المثلى الدرجة الصغرى

شكل 1-2 : تأثير الحرارة على معدل نمو البكتيريا

3- تقسيم أحياء التربة المجهرية بالنسبة لحاجتها للأوكسجين

أن وجود الأوكسجين أو عدم وجوده يقسم أحياء التربة المجهرية إلى مجاميع رئيسية وهي :

أ- هوائية إجبارية **Obligate aerobes**

لا تستطيع النمو إلا بوجود الأوكسجين، أن أغلب أحياء التربة المجهرية هوائية إجبارية ومنها البكتريا *Thiobacillus* و *Nitrosomonas* و *Nitrobacter* و الاعفان ومعظم الطحالب.

ب- اللاهوائية الاختيارية **Facultative anaerobes**

تستطيع النمو بوجود الأوكسجين أو عدم وجوده ، ويكون نموها أكثر في الظروف الهوائية . ومن أمثلتها البكتريا *Bacillus* و *Pseudomonas* .

ج- اللاهوائية الإجبارية **Obligate anaerobes**

وهي الأحياء المجهرية التي لها نظام إنتاج الطاقة الذي لا يحتاج إلى الأوكسجين وعلى الرغم من أن الأوكسجين يعد مستقبلا شائعا وكفوءا للالكترونات فإن بعض الكائنات ذات النواة البدائية لها القدرة على الاستفادة من بعض مستقبلات الإلكترون اللاعضوية (المعدنية) بعملية تعرف بالتنفس اللاهوائي ، إذ تختزل النترات إلى أمونيا وثاني أكسيد النتروز وغاز النتروجين بواسطة البكتريا اللاهوائية الإجبارية *Pseudomonas dentrificans* حيث تعد النترات أحد مصادر مستقبلات الالكترونات لهذه البكتريا أو يمكن أن تكون الكبريتات (SO_4) مستقبل للالكترونات ، إذ تختزل إلى كبريتيدات بواسطة البكتريا اللاهوائية الإجبارية *Desulfovibrio desulfuricans* أو يمكن أن يكون غاز ثاني أكسيد الكربون مستقبل للالكترونات إذ يختزل إلى غاز الميثان بواسطة البكتريا اللاهوائية الإجبارية جنس *Methanobacterium* . ومن أمثلتها أيضا *Clostridium* .

د- المحبة لقليل من الاوكسجين **Micro aerobes** :

تعيش بوجود كميات ضئيلة جدا من الاوكسجين ، لاتستطيع ان تتحمل المستوى الطبيعي للاوكسجين في الهواء ، منها بكتريا *Azotobacter* , *Lactobacillus*

4- تقسيم أحياء التربة المجهرية بالنسبة لمصدر الطاقة والكربون

أ- بالنسبة لمصدر الكربون :

تصنف أحياء التربة المجهرية بالنسبة لمصدر الكربون إلى :

1- أحياء ذاتية التغذية **Lithotrophs or Autotrophs** تستعمل غاز ثاني

او كسيد الكربون مصدرا للكربون.

2- أحياء التربة المتباينة التغذية **Heterotrophs** : تستعمل المركبات العضوية

مصدرا للكربون . الفطريات والاكثينومايسيتات والبروتوزوا ومعظم

البكتريا كائنات متباينة التغذية .

ب- بالنسبة لمصدر الطاقة :

تصنف أحياء التربة المجهرية بالنسبة لمصدر الطاقة إلى :

1- أحياء ضوئية **Phototrophs** : تستعمل الضوء مصدرا للطاقة .

2- أحياء كيميائية **Chemotrophs** : تؤكسد المركبات المعدنية لتحصل على الطاقة.

كذلك قسمت أحياء التربة المجهرية بالنسبة للتداخل بين مصدر الكربون والطاقة

إلى أربعة أقسام هي :

1- أحياء ذاتية التغذية ضوئية **Photoautotrophs**

تستعمل ثاني او كسيد الكربون كمصدر للكربون والضوء مصدر للطاقة وهذه تضم

جميع الطحالب وقسما من البكتريا مثل جنس *Rhodospirillum* وكذلك البكتريا

الأرجوانية *Purple bacteria* والبكتريا الخضراء *Green bacteria* .

2 - أحياء ذاتية التغذية كيميائية Chemoautotrophs

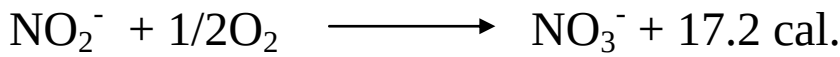
تستعمل ثاني اوكسيد الكربون مصدرا للكربون وأكسدة المركبات المعدنية مصدر للطاقة. و تقسم الى :

أ- Nitrifying Bacteria

وهي البكتريا التي تؤكسد ايونات الامونيوم إلى نترت للحصول على الطاقة مثل جنس *Nitrosomonas* كما في المعادلة الآتية :

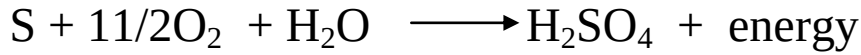


والبكتريا التي تؤكسد ايونات النترت إلى النترات للحصول على الطاقة مثل جنس *Nitrobacter* كما في المعادلة الآتية :



ب- Sulfur- oxidizing bacteria

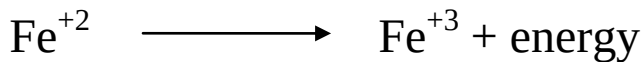
وهي البكتريا التي تؤكسد مركبات الكبريت إلى حامض الكبريتيك للحصول على الطاقة مثل جنس *Thiobacillus* ، *Thiooxidans* كما في المعادلة الآتية:



ج- Iron- oxidizing bacteria

وهي البكتريا التي تؤكسد ايونات الحديدوز المضافة للتربة على شكل كبريتات الحديدوز إلى راسب من هيدروكسيد الحديد للحصول على الطاقة مثل جنس

Ferrobacillus , *Ferroxidans*



3- أحياء متباينة التغذية كيميائيا Chemoheterotrophs

مصدرا الكربون والطاقة هي المركبات العضوية والكيميائية وتشمل جميع الفطريات والابتدائيات ومعظم البكتيريا وجميع الاكتينيومايستات ومن الأجناس البكتيرية لهذه المجموعة تقسم الى قسمين :

أ- البكتيريا التي تستعمل النتروجين كغاز وتحوله الى امونيوم ومن ثم الى بروتين ومنها :

1- Symbiotic Nitrogen fixers : مثل (*Rhizibium*)

2- Non- Nitrogen fixer : مثل (*Azotobacter, Clostridium*)

ب- البكتيريا التي تحتاج الى مركبات نتروجينية جاهزة

1- البكتيريا المحللة للوريا Urea –decomposing bacteria : مثل

(*Micrococcus ureae*)

2- بكتيريا عكس النتزجة Denitrifying bacteria :البكتيريا تختزل النترات إلى

غاز النتروجين (*Pseudomonas denitrificans*)

3- البكتيريا المحللة للسليولوز Cellulose - decomposing bacteria : مثل

(*Cytophage , cellovibrio*) .

4- أحياء متباينة التغذية ضوئية Photoheterotrophs .

الضوء كمصدر للطاقة واكسدة المركبات العضوية كمصدر للكربون .

5- التقسيم بالنسبة إلى تكوينها للسبورات :

أ- مكونة للسبورات Spore- formers : مثل (*Clostridium , Bacillus*)

ب- غير مكونة للسبورات Non spore formers : معظم البكتيريا غير مكونة للسبورات .

6- التقسيم بالنسبة لصبغة كرام :

عند استعمال أكثر من صبغة واحدة لصبغ البكتريا تسمى عملية التصبغ بالتصبغ التفاضلي ، إذ تأخذ البكتريا احد الصبغتين وتترك الأخرى وتستعمل هذه الطريقة للتمييز بين أنواع البكتريا أو بعض أجزائها . وتعتبر صبغة كرام من أهم الصبغات التفاضلية المستعملة ، واقترح هذه الطريقة لتصبغ البكتريا طبيب دنماركي يدعى Christian Gram سنة 1884، وهي تعريض الغشاء البكتيري المثبت لمحاليل الصبغة بالتتابع التالي :الصبغة البنفسجية ، محلول اليود ، كحول(عامل مزيل للصبغة)، والسفرانين أو أي صبغة مضادة (شكل 2-2) وعلى اساس هذه الصبغة قسمت البكتريا الى مجموعتين رئيسيتين هما :

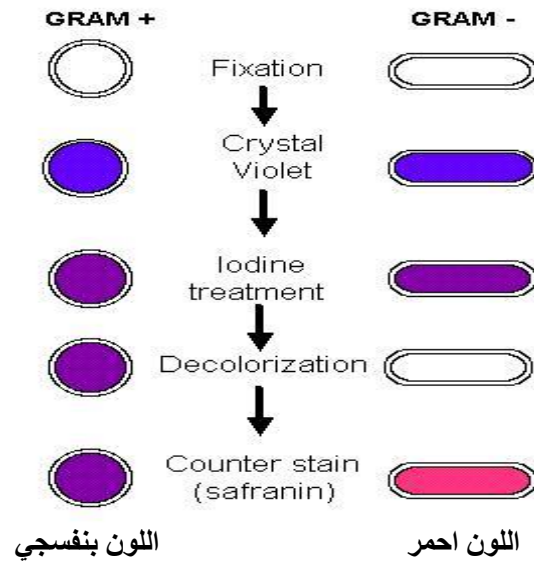
أ- بكتريا موجبة لصبغة كرام *G+Ve bacteria* : وهي البكتريا التي تحتفظ بالصبغة الاولى (البنفسجية القاعدية Crystal Violet) فتظهر بلون بنفسجي غامق. مثل : *Clostridium* , *Bacillus* , *Corynebacterium* , *Actinomycetes*

ب- بكتريا سالبة لصبغة كرام *G-Ve bacteria* : وهي البكتريا التي احتفظت بالصبغة الثانية (السفرانين Safranine الحمراء) فتظهر حمراء اللون (لا تحتفظ بالصبغة الأولى) مثل : *Rhizobium* , *Azotobacter* , *Nitrosomonas* . والشكل (2-3) يبين اشكال البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام . لقد اختلفت الآراء حول تفسير ميكانيكية هذه الصبغة ، وإحدى هذه النظريات تتحدث عن اختلاف التركيب الكيميائي للجدار البكتيري ، هناك تفسيران تفسير فيزيائي وآخر كيميائي ، يتلخص التفسير الفيزيائي بالاتي :

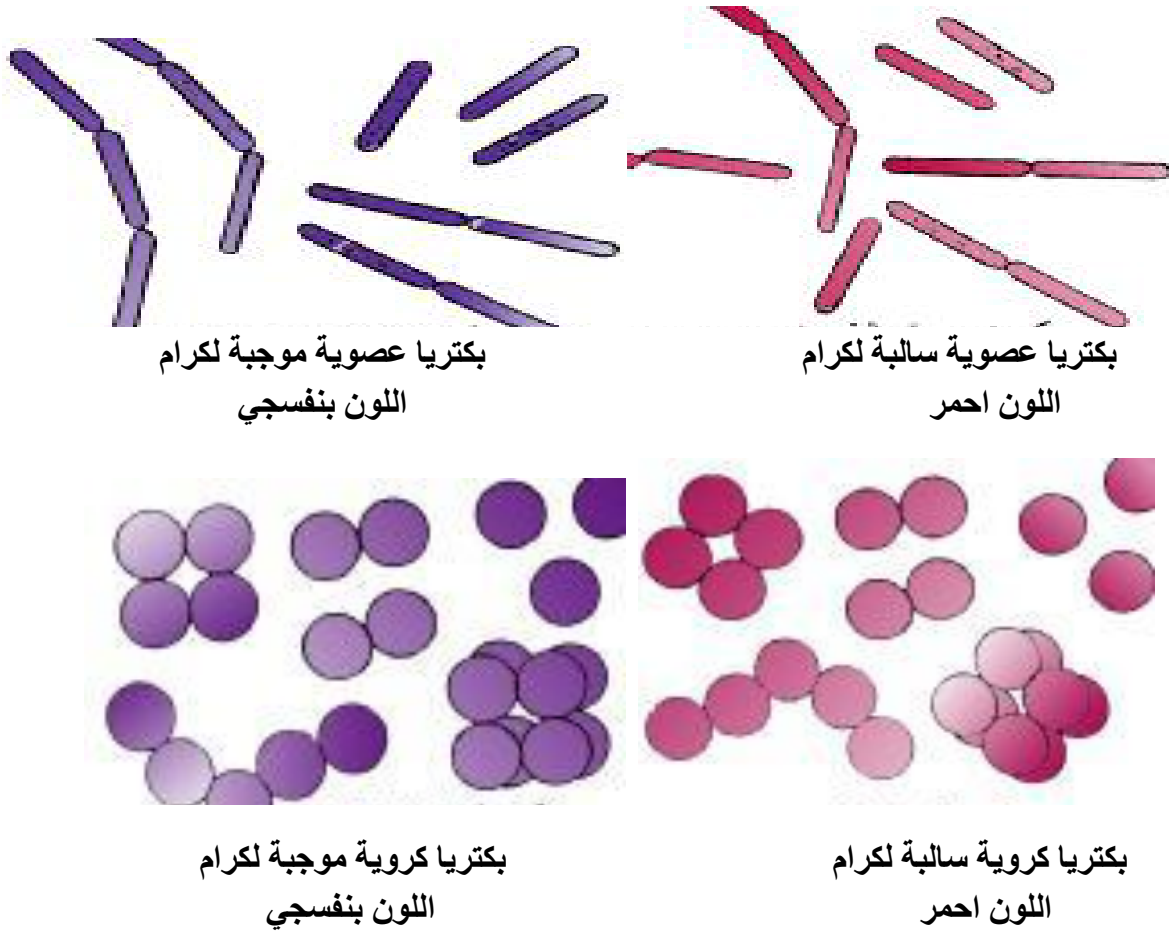
- 1- سمك جدار البكتريا الموجبة لصبغة كرام اكثر من جدار السالبة لصبغة كرام.
- 2- يحتوي الجدار البكتريا السالبة لصبغة كرام على نسبة دهن اعلى (11-22% من الوزن الجاف للجدار) من البكتريا الموجبة ، ولذلك فاضافة الكحول تزيل

الدهن الموجود في جدار البكتريا السالبة مما ينتج زيادة في عدد الثقوب في جدار الخلية ،ولهذا فان المركب المعقد (البنفسجية - اليود) يزال اثناء عملية اضافة الكحول وتصبح البكتريا عديمة اللون ومستعدة للاصطباغ بصبغة السفرانين الحمراء اللون . اما جدار البكتريا الموجبة لصبغة كرام المحتوي على نسبة اقل من الدهن (لا تتعدى 4 %) يحتفظ بمركب الصبغة البنفسجية - اليود ولا يمكن ازالته بالكحول . ولهذا تبقى الخلية محتفظة باللون النفسجي .

3- يحتوي الجدار الخلوي للبكتريا الموجبة لصبغة كرام على نسبة اعلى من مركب ببتيدوكلايكان Peptidoglycan (50% من الوزن الجاف للجدار) ، بينما يحتوي جدار السالبة على نسبة قليلة جدا (10% من الوزن الجاف للجدار) من هذا المركب ، ولهذا المركب دور في تكوين الشبكة اللازمة لحجز المركب المعقد (البنفسجية - اليود) كما في حالة البكتريا الموجبة لصبغة كرام . اما التفسير الكيميائي فيعتقد ان البكتريا الموجبة لكرام تحتوي بالقرب من جدار خلاياها على ملح المغنيسيوم وحامض نووي ريبوزي فإذا عوملت بصبغة الكريستال البنفسجية القاعدية واليود فإنه يتكون داخل الخلية مركب معقد كبير الحجم (هذا المركب لا يمكن استخلاصه بالكحول فتحفظ البكتريا بلون صبغة الكريستال البنفسجية). أما البكتريا السالبة لكرام فلا تحوي بجدرانها على هذا الملح وبذلك لا يتكون معقد فيسهل استخلاص الصبغة بالكحول، حينئذ تكون البكتريا شفافة غير ملونة ولكي نراها تحت الميكروسكوب نصبغها بصبغة السفرانين الحمراء.



شكل 2-2 : يبين مراحل التصبغ لصبغة كرام



شكل 3-2 : اشكال البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام

العوامل المؤثرة في نمو وانتشار احياء التربة المجهرية

1- عوامل غير حيوية Abiotic factors :

يتأثر نمو وانتشار أحياء التربة المجهرية بمجموعة عوامل فيزيائية وكيميائية وهي :

أ- توفر العناصر المعدنية

أي كائن حي بحاجة إلى العناصر المعدنية الضرورية اللازمة للنمو ، فجميع الاحياء المجهرية تحتاج لجميع العناصر الغذائية التي تحتاجها الكائنات الحية الراقية كالكربون والهيدروجين والاكسجين والنيتروجين والفسفور والكالسيوم والبوتاسيوم والكبريت والمغنيسيوم وغيرها ، والاختلافات في الاحياء المجهرية تكون في نوعية المركبات التي تحتاجها . ان الاحياء تحتاج للعناصر الغذائية لوظيفتين مهمتين هما :

1- الحصول على الطاقة اللازمة للعمليات الحيوية المختلفة .

2- الحصول على العناصر اللازمة لبناء الخلية .

ان الاحياء المجهرية التي ليس لها القدرة على التمثيل الضوئي فيستعمل معظم الغذاء في عملية الطاقة ،بينما الاحياء المجهرية التي لها القدرة على التمثيل الضوئي يستعمل الغذاء في النمو وبناء البروتوبلازم. جميع الاحياء تحتاج الى النيتروجين بصورة مختلفة لبناء الخلية .هناك انواع من البكتريا قادرة على استغلال النيتروجين الجوي (N_2) ، وبعضها يستهلك المركبات النتروجينية غير العضوية مثل النتريت والنترات واملاح الامونيا (NH_4^+) . وبعضها الاخر يمكنه استعمال النيتروجين العضوي كالاحماض الامينية ، فهو يدخل في تراكيب مختلفة في الخلية مثل الحامض DNA , RNA , TAP, وفي الدهون الفسفورية .

كذلك تحتاج الاحياء الى عنصري الكبريت والفسفور : فهي تستغل الكبريت العضوي او اللاعضوي او عنصر الكبريت تبعا لنوعها ، فهو يدخل بتركيب البروتين في الخلية. اما الفسفور فيستغل بشكل املاح لحامض الفوسفوريك ($H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-}).

يستعمل الفسفور بالشكل غير العضوي كاملاح الفوسفات المعدنية في الاوساط الصناعية ، والاحماض النووية مصدرا رئيسا للفسفور في الاوساط الطبيعية .

ب- توفر المادة العضوية

معظم بكتريا التربة وجميع الاكتيوميسيتات هي متباينة التغذية اي تستعمل المادة العضوية كمصدر للكربون والطاقة وكذلك جميع الفطريات هي-Chemohet erotrophs والفطريات بحاجة الى الاسمدة العضوية كمصدر للكربون والطاقة لذلك فان زيادة المادة العضوية تؤدي إلى زيادة اعداد البكتريا وأعداد الفطريات في التربة اولا ثم الاكتيوميسيتات .ولذلك نلاحظ قلة أعداد الأحياء كلما تعمقنا في التربة ومن اسباب ذلك هو وجود المادة العضوية ، اذ انها تتركز في الطبقة العليا من التربة وتعد مصدر الطاقة للأحياء الدقيقة كما تعد من مصلحات لخواص التربة الفيزيائية ، لذلك تقل الاعداد كلما تعمقنا في التربة. فقد وجد ان أعداد البكتريا وكتلتها الحية في التربة المعدنية تتناسب طرديا مع محتوى المادة العضوية فالترب الغنية تحوي أعدادا كبيرة من البكتريا ولذلك يلاحظ زيادة أعداد البكتريا في الطبقات السطحية من التربة (منطقة الرايزوسفير) Rhizosphere ويعود ذلك إلى كثرة المادة العضوية وكثرة إفرازات الجذور من أحماض امينية ومنظمات نمو وفيتامينات وإفرازات أخرى وبصورة عامة أن أي عملية تزيد من المصدر العضوي في التربة سوف تزيد من أعداد احياء التربة.

ج- ملوحة التربة

لزيادة ملوحة التربة تأثير سلبي على الأحياء المجهرية فان التأثيرات السلبية للاملاح في الاحياء المجهرية قد تعزى الى سمية ايونات الاملاح ورفع الضغط الازموزي مما يؤثر على فلسجة الخلية والمسارات الايضية فيها . حيث ان ارتفاع الضغط الازموزي يسبب تغيرات مختلفة منها :

2- تقليل حركتها

1- يقلل انقسام الخلايا

3- تغير في كثير من الفعاليات الايضية كنقص في اختزال NO_3 , NO_2

4- صعوبة في الحصول على العناصر الغذائية اللازمة لبناء جسم الخلية .

ان البكتريا يمكن أن تتحمل تراكيز عالية من الملوحة نوعا ما حتى 8 ديسي سمنز/ م من التوصيل الكهربائي، اما الاكتينوميسيتات فتتغلب على البكتريا عند زيادة ملوحة التربة . فهناك بعض الاحياء المجهرية لها القدرة على النمو في المحاليل الملحية العالية التركيز ويطلق عليها Osmophilic ويعزي السبب في ذلك الى ان الغشاء الساييتوبلازمي لهذه الاحياء له القدرة على التحكم في النفاذية في المحاليل عالية التركيز او ان الخلايا محاطة بغلاف دهني او تتكون داخل الخلايا طاقة كبيرة تمنع دخول الاملاح الى داخل الخلايا ، وقد أهتم بدراسة البكتريا المحبة للملوحة Halophilic حيث تنمو في تراكيز عالية من الملوحة وتحتاج من 17 - 23 % ملح لنموها ، وعند عدم توفر التراكيز العالية من الاملاح فان جدرانها تتحلل وتنساب محتوياتها الداخلية وتموت . وتختلف احياء التربة فيما بينها في تحملها للملوحة حتى على مستوى النوع ، فقد وجد ان سلالات بكتريا الرايزوبيا سريعة النمو (المنتجة للحامضية) تكون عموماً اكثر تحملاً للملوحة من السلالات بطيئة النمو (المنتجة للقاعدية) . اما تاثير الاملاح فيختلف تأثيرها على الاحياء المجهرية ، حيث وجد ان الاملاح تختلف في تأثيرها في نمو وبقاء بكتريا الرايزوبيا اذ ان ملح CaCl_2 يكون اكثر ضرراً من ملح NaCl ، وان ايونات الكلوريدات تكون اكثر سمية من ايونات الكبريتات ، وان تأثير الاملاح في النمو يعزى الى تثبيط فعالية الانزيمات، لكن وجد ان الرايزوبيا التي تقع تحت الاجهاد الملحي تقوم بتراكم نواتج معينة مثل glutamate التي تقوم بحماية الخلايا من التأثيرات الضارة للاملاح . حيث ان هناك علاقة ارتباط بين تحمل الملوحة وتراكم glycine betaine ، glutamic acid و Trehalose ، وان هذه المواد تساعد على ادامة عمل الخلية وتقلل من الضرر الناتج من الاملاح. فان آليات الحماية الازموزية Osmoprotection تكون من خلال افراز مواد خاصة مثل Choline و

Glycinebetaine التي تحسن نمو البكتيريا في ظروف الاجهاد الملحي ، كما تشترك
الفعاليات الانزيمية في تصنيع الـ Glycinebetaine من Choline ويمكن للبكتيريا
استعمال الـ Betaine ومشتقاته كمصادر للنيتروجين والكربون .

د- تركيز ايون الهيدروجين (الـ PH)

ان الافعال الحيوية تكون على اشدها عندما يكون الـ PH بين (5 – 8) ، تقسم
الاحياء حسب الـ PH الى :

- 1- الحامضية Acido philic : الـ PH = 5.5 تتغلب الفطريات على البكتيريا .
- 2- المتعادلة Neutro philic : الـ PH = 7 او اكثر قليلا هي الملائمة لنمو معظم
البكتيريا فهي تتغلب على الفطريات .
- 3- القاعدية Baso philic : الـ PH = (8- 9) يصل عدد الاكتينومايسيتات الى
95 % في الترب القاعدية .

هـ رطوبة التربة

يجب توفر الرطوبة لنمو الاحياء المجهرية في الترب الزراعية ، فتحتاج الاحياء
المجهرية للماء لحمل الغذاء الى داخل الخلايا في صورة محاليل ونقل المواد التالفة الى
خارج الخلايا ، فهو ضروري لانه يمثل 70 - 90% من وزن الخلية ، ثم ان التفاعلات
الحيوية التي تحدث داخل الخلايا تكون في وسط مائي . وعموما ان الفطريات و
الاكتينومايسيتات تتحمل نسبة اقل من الرطوبة عن البكتيريا ، فان زيادة الرطوبة عن
السعة الحقلية تقلل من اعداد البكتيريا الهوائية وتزيد من اعداد البكتيريا اللاهوائية
الاجبارية والاختيارية وان أفضل رطوبة ملائمة لنمو البكتيريا الهوائية ونشاطها يكون
ما بين 50 – 70% من السعة التشبعية للتربة و نقصان الرطوبة عن السعة الحقلية يقلل
ايضا من اعداد البكتيريا . ان أحسن رطوبة ملائمة للفطريات هي السعة الحقلية ، اذ ان
زيادة الرطوبة لحد التشبع او نقصانها تؤدي إلى تقليل أعداد الفطريات بالتربة . يجب
ان يكون الماء حر وغير مرتبط بحبيبات التربة حتى تستفيد منه الاحياء المجهرية .

و- التهوية

يعتبر توفر الاوكسجين من العوامل التي تؤثر على نمو ونشاط الاحياء المجهرية فكل الفطريات و الاكتينومايسيتات ومعظم البكتريا هي هوائية Aerobic ، وبعض البكتريا لا هوائية Anaerobic ولا هوائية اختيارية Facultative aerobic وهذه الانواع تنمو وتنشط بغياب الاوكسجين وتوجد في الترب سيئة الصرف ، وتحت هذه الظروف تتجمع المركبات الوسطية مثل كبريتيد الهيدروجين وغيرها . وعموما أن اغلب احياء التربة المجهرية هوائية اجبارية ، فالتربة الجيدة التهوية تكون فيها اعداد الاحياء اكبر بكثير من التربة رديئة التهوية.

ز- العمليات الزراعية

ان العمليات الزراعية لها دور كبير في التأثير على محتوى الترب من الاحياء المجهرية ، فالزراعة تؤدي الى زيادة احياء التربة المجهرية ، حيث ان النشاط البيولوجي في الترب المزروعة يكون معدله افضل كما ونوعا عن الترب غير المزروعة . من العمليات الزراعية التي لها تأثير مباشر أو غير مباشر في نمو احياء التربة وأعدادها هي حراثة التربة فهي تحسن تركيب التربة ونفاذيتها وبذلك تساعد على توفر ظروف هوائية تساعد على زيادة أعداد البكتريا الهوائية ، وكذلك تعمل على قلب بقايا النباتات والأدغال داخل التربة فتوفر مصدرا غذائيا جيدا للبكتريا وعموما تكون أعداد البكتريا أكثر في التربة المحروثة وكذلك الترب المزروعة. الدورة الزراعية وتعاقب المحاصيل لها تأثير كبير على احياء التربة المجهرية لاختلاف التركيب الكيميائي لافرازات الجذور للنباتات المختلفة ولهذا تختلف نوعية الاحياء المجهرية تحت النباتات المختلفة . التسميد بالاسمدة العضوية يمد الاحياء بالغذاء اللازم ومصادر الطاقة اللازمة لنموها ونشاطها ويساعد في تحسين خواص التربة الفيزيائية والكيميائية .

ح- فصول السنة

يختلف عدد احياء التربة المجهرية من فصل لآخر واكثرها يكون في فصل الربيع والخريف ، فتزداد أعداد البكتريا في فصلي الربيع والخريف بسبب درجة الحرارة الملائمة ووجود الرطوبة وبقايا المحاصيل التي تقلب في التربة وتصبح فيما بعد غذاء جاهزا للأحياء المجهرية وعلى العكس من ذلك ففي فصلي الشتاء والصيف تبقى البكتريا حية ساكنة أو قليلة النشاط لتقاوم فترة البرودة أو الانجماد أو الحرارة العالية. ففي الشتاء تنخفض الحرارة ويتوقف نشاط الاحياء المجهرية ، وفي الصيف يقف النمو والتكاثر لفترة من الوقت بعدها يتناقص العدد ويتوقف ذلك على :

أ- رطوبة التربة ب- النباتات المزروعة ج- طريقة الزراعة

وخلاصة القول ان الاختلاف في عدد الاحياء المجهرية من فصل الى اخر يعزى للمناخ ، اما الاختلاف من يوم الى اخر فيعزى للتنافس بين الافراد .

2- عوامل حيوية biotic factors :

وتتضمن هذه العوامل نوعين من التداخلات :

أ- التداخل ما بين الاحياء المجهرية

ب- التداخلات ما بين الأحياء المجهرية والنظام الجذري في النباتات الراقية

أ- التداخل ما بين الاحياء المجهرية

هناك العديد من التداخلات interactions التي قد تحدث ما بين نوعين من الاحياء

المجهرية فمنها العلاقات التالية :

1- التداخلات المفيدة (Beneficial associations) : وفيها يستفاد كلا الكائنين

المتداخلين أو احدهما من التداخل ومن نواحي مختلفة .

2- التداخلات الضارة (Harmful associations) : وفيها يحصل ضرر لكل

الاحياء المتداخلة او لاحدها , وتختلف طبيعة ودرجة الضرر حسب نوع الاحياء

المتضادة .

جـ- التداخلات الحيادية (Neutralism associations) : وفيها تتداخل الاحياء مع بعضها دون ان يحصل تأثير ضار او نافع بينها ، اي يسلك كل كائن حي مسلكا مستقلا عن الآخر .

1- التداخلات المفيدة

ان طرق التداخل التي يمكن للاحياء المجهرية ان تفيد احدها الاخر متعددة ومتغيرة بتغير الظروف البيئية ومن هذه التداخلات المفيدة هي :

أ- علاقة التعايش (التكافل Symbiosis) + +

اول من اطلق المصطلح (Symbiosis ويعني العيش معا) على الاحياء غير المتشابهة والتي تعيش معا وبغض النظر عن كون العلاقة مفيدة او ضارة هو DeBary (1879) وبتقدم الوقت اقتصر هذا المفهوم عند علماء البيئة على العلاقات الترابطية المفيدة بين الاحياء ، وفي هذه العلاقة يعتمد كل من الكائنين المتعايشين احدهما على الآخر وكلاهما يستفيد وتكون مهمة لبقاء كلا النوعين . ومن امثلة هذا النوع من العلاقات هي الاشنيات (Lichens) والتي هي عبارة عن كائنات مركبة تتكون من علاقة ترابط ما بين فطر (Fungus) وطحلب (Algae)، اذ ان الغزل الفطري تنغمس فيه خلايا طحلبية ويعود الجزء الطحلي الى احد اجناس الطحالب الخضراء او الخضراء المزرقة ويمكنها ان تعيش بصورة مستقلة ، اما الجزء الفطري فانه يعود الى اجناس الفطريات الكيسية او البازيدية ولا يمكن ان يعيش مستقلا وحده ، والاثنان مع بعضهما يعيشان تكافليا ، اذ يقوم الطحلب (الجزء العلوي) بتكوين الكربوهيدرات بعملية التركيب الضوئي لكي يوفرها للفطر (الجزء السفلي) والذي تمتد هايفاته الى أسفل التربة ويقوم بتزويد الطحلب بالعناصر المغذية الضرورية من التربة. ومن الامثلة الاخرى لمثل هذا النوع هي العلاقة التعايشية بين بكتريا العقد الجذرية *Rhizobium* وجذور

النباتات البقلية (راجع الفصل الرابع) وعلاقة التعايش بين فطريات المايكورايزا وجذور العديد من النباتات .

ب- علاقة الموائلة او المعايشة (Commensalism) + -

وتسمى أيضا بعلاقة المنفعة من جهة واحدة وفي هذا النوع يحصل الكائن الحي على الفائدة الضرورية لنموه بينما لا يتأثر الكائن الحي الآخر وهذا ما نلاحظه في عملية النترجة , اذ تقوم بكتريا الـ (Nitrosomonas) باستعمال الامونيا كمصدر للطاقة وتؤكسدها الى (nitrite) ثم تقوم بكتريا الـ (Nitrobacter) باكسدة الـ (nitrite) لكونه مصدر للطاقة وفي هذه الحلقة الغذائية فان الـ (Nitrosomonas) قامت بتحويل المادة الاولى الأساسية الى مادة مفضلة للـ (Nitrobacter) . كما ان هذه العلاقة قد تشمل قدرة بعض الاحياء على افراز بعض المواد التي تعمل على تغيير الظروف البيئية بحيث تجعلها اكثر ملائمة لحياء اخرى, اذ قد تسمح الكائنات ذات التنفس الهوائي بنمو غير الهوائيات اجبارا عن طريق استهلاك الاوكسجين الموجود في البيئة , كما تظهر هذه العلاقة بوضوح في الترب الحامضية , اذ تعيش الكائنات الحساسة للحموضة في المناطق الملاصقة تماما للكائنات الاخرى التي تعمل على تقليل الحموضة (قاسم وعلي, 1989).

ج- علاقة التعاون الاولى (Protocooperation) + 0

وهي علاقة منفعة متبادلة بين نوعين من الاحياء , لكنها ليست اجبارية او للقيام ببعض الفعاليات وهذا النوع له بعض الأهمية في الدراسات المتعلقة بالبكتريا المثبتة للنيتروجين, اذ قد تسهم أنواع من الازوتوباكتر بتثبيت النيتروجين الحر ولكنها تحتاج الى مركبات عضوية بسيطة كمصدر للكربون ومع ذلك يمكن ان يثبت النيتروجين بوساطة الازوتوباكتر في وجود السليلوز كمصدر للطاقة شريطة وجود كائن حي محلل للسليلوز يقوم بتحويل السكريات المتعددة الى بسيطة او أحماض عضوية . نجد العديد من

الميكروبات في التربة لا تنمو الا اذا توفر واحد او اكثر من الفيتامينات في حين العديد من الميكروبات الاخرى لها القدرة تخليق مثل هذه المواد , ويعد الثيامين من اكثر الفيتامينات المطلوبة اضافة للبايوتين وفيتامين (B₁₂) والتي تعد مواد اساسية لنمو العديد من انواع البكتريا , وتلاحظ مثل هذه العلاقات في المزارع المايكروبية , فقد بين Alexander (1971) أن بعض المواد الطبيعية والمبيدات الحشرية تتحلل بطريقة أسرع في وجود المزارع المختلطة مقارنة بالمزارع النقية , وقد يعزى السبب الى التخلص من بعض النواتج المثبطة لنشاط الميكروبات الاساسية. ومن الامثلة الاخرى على هذا النوع العلاقة بين بكتريا الـ (*Proteus Vulgaris*) وبكتريا الـ (*Bacillus Polymyxa*) , اذ تحتاج الاولى الى حامض الـ (Nicotinic acid) وتحتاج الثانية الى الـ (Biotin) في نموها ولا يستطيع الكائنات النمو في مزارع تفتقر لوجود هذه المواد , ولكن الميكروبين ينموان عند وجودهما معا في المزارع الفقيرة لمثل هذه المواد, اذ يستطيع كل منهما ايجاد ما يحتاجه الاخر من هذه المواد (الراشدي, 1987) .

2- التداخلات الضارة

اذا مزجت لقاحات ثنائية بما فيها من علاقات بسيطة مع نظام التربة المعقد الذي يحتوي على احياء متعددة , فلا بد وان تظهر مجموعة متباينة من العلاقات الضارة , لذلك يوجد صراع دائم من اجل البقاء في التربة وتعيش فقط تلك الانواع التي اكثر تطبعا لهذه البيئة الخاصة . ومن هذه العلاقات الضارة هي :

أ- التنافس المايكروبي (Competition) — —

يعد التنافس احد العلاقات بين المجاميع السكانية لنوعين او اكثر والذي يؤثر عكسيا في نموها وبقائها , ويكون التنافس على نوعين :

1- التنافس على المغذيات : يحدث هذا النوع من التنافس عندما تحتاج مجموعة من الاحياء العائدة لنوع واحد او لاناوع مختلفة الى نفس المغذيات والتي تكون عادة متوفرة في التربة بكميات قليلة .

2- التنافس المتداخل : يحدث هذا النوع من اجل المغذيات وتنافس مضادات الحياة اوالتنافس على الضوء ، ان التفاعل التنافسي كثيرا ما يتضمن الغذاء والمكان والضوء والتعرض للمفترسات .

قد يحدث التنافس بين نوعين او اكثر فيسمى التنافس البينوعي (غير متماثل) Interspecific competition او قد يحصل بين افراد النوع الواحد فيسمى التنافس الضمنوعي (المتماثل) Intraspecific competition . ان أكثر التنافس في التربة يكون على الكربون والمواد المعدنية والاكسجين . وقد يحدث تغير للوسط المحيط باتجاه الاضرار بمجاميع ميكروبية معينة من خلال تكوين نواتج ايسية نشيطة التي تثبط الاحياء الاخرى أو من خلال استهلاك جميع الاوكسجين الموجود في الوسط مما يؤدي الى انخفاض اعداد الكائنات الهوائية أو تكوين حامضي النتريك والكبريتيك بواسطة الاحياء ذاتية التغذية مما يؤثر في نمو الاحياء الحساسة للحموضة . ومن امثلة هذا النوع من العلاقات هو التنافس على بعض العناصر المعدنية الموجودة بكمية محدودة او نادرة في الوسط الغذائي كتنافس بين بكتريا (*Bacillus subtilis*) وبكتريا (*Aerobacter aerogenes*) على عنصر المغنيسيوم (Mg^{++}) في الوسط ، كذلك حالة التنافس بين سلالات البكتريا المثبتة للنروجين (*Rhizobium*) المستوطنة اصلا في التربة والسلالات الملقحة بها البذور تعد ذات أهمية تطبيقية كبيرة , حيث يقوم أكثرها مقدرة على التنافس بتكوين العقد الجذرية بنسبة أكبر .

ب- التضاد المايكروبي (Microbial Antagonism) + -

يقوم كائن حي بإنتاج مادة ايضية بوصفها ناتجا عرضيا تكون سامة لكائن اخر، أي يوقف احد النوعين نمو الآخر نتيجة لإنتاج المواد المثبطة , هذه المواد تسمى المضادات الحيوية (Antibiotics) وان هذا المصطلح لا يطلق فقط على المضادات الحيوية وانما على أية مادة تنتج من قبل الاحياء المجهرية والتي قد تكون مؤذية لاحياء اخرى مثل الكحوليات, الاحماض العضوية, بيروكسيد الهيدروجين وثاني اوكسيد الكربون. وهذه الحالة يمكن ملاحظتها في المزارع الغذائية الصناعية للفطريات والاكثينومايسيتات, اذ تتمثل بظهور هالة حول مستعمرات الاحياء المجهرية كدليل على خلو المنطقة من النمو الاحيائي ويمكن أن تعزى الى أن المستعمرة المحاطة بطبقة شفافة تنتج مضادا حيويا (antibiotic). وان كثير من البكتريا والفطريات والاكثينومايسيتات تنتج مضادات حيوية ولكن الاكثينومايسيتات تعد أنشطها ومنها الاجناس (*Nocardia*, *Streptomyces*) والتي تنتج المضادات (*Streptomycin*, *Chlorotetracycline*, *Cycloheximides*) كما تتصف اغلب البكتريا المنتجة للمضادات الحيوية بكونها هوائية مكونة للسبورات كائنا من الجنس *Bacillus* ، حيث وجد ان بكتريا *B. cereus* تنتج مضادات حيوية (phenazine-e-carboxylic acid and phenazine-1-carboxamide), 2,4- , (*zwitermicin A*) ، (*pyoluteorin*) ، (*diacetyl phloroglucinol (phl)*) ، (*gluconic acid*) ، (*2-hexyl-5-propyl resorcinol*) ، إضافة الى الجنس *Pseudomonas* التي تفرز *Pyocyanine* كما ان الفطريات التابعة للاجناس *Fusarium* و *Aspergillus* و *Trichoderma* تقوم بإنتاج بعض المضادات الحيوية (Alexander, 1971). فقد وجد عدد من المضادات الحيوية في رواشح الفطر *Trichoderma spp* منها *Trichodermin* (1 و 2 و 3 و 4) *Acetaldehyde*

Demodinas ; Viriden ; Gliotoxin ; Sesquiterpena ;
مضادات اخرى مثل pyron و Polyketides ; Isonitrites ; و Peptaibals ;
Diketopiperazines ; Steroide . والجدول (1-2) يبين الاحياء المنتجة للمضادات
الحيوية .

جدول 1-2: انتاج مضادات الحيوية بواسطة الاكتينومايسيتات والفطريات والبكتريا (Alexander، 1971) .

الاحياء المنتجة للمضادات *	الاحياء الحساسة
1.7 % من الاكتينومايسيتات	<i>Sclerotium rolfsii</i>
21 % من جنس <i>Streptomyces</i>	<i>Escherchia coli</i>
12.2 % من الاكتينومايسيتات	<i>Streptomyces scabis</i>
16 % من الفطريات	<i>Pythium arrhenomanes</i>
3.5 % من الفطريات	<i>Sclerotium rolfsii</i>
3.6 % من البكتريا	<i>Pythium arrhenomanes</i>
0.2 % من البكتريا	<i>Sclerotium rolfsii</i>

*النسبة المئوية من العزلات المنتجة للمضادات الحيوية الفعالة ضد الكائن المختبر .

جـ- التطفل (Parasitism) والافتراس (Predation) – –

ان التطفل يعني كائن حي يعيش بداخل او على جسم كائن حي اخر بحيث يستمد
غذائه منه مما يسبب له ضررا قد يصل الى الموت ، اما الافتراس فيعني اقتناص كائن
حي لكائن حي اخر من اجل الغذاء ، ان الافتراس غالبا ما يشمل كائن حي اقوى واشد
خطورة كمهاجم والمفترس يقتل ، بينما في حالة التطفل يكون المهاجم اضعف ويتغذى
على حساب الكائن الاكبر وان المتطفل يبقى على قيد الحياة . تعد البكتريا من أهم
الاحياء المجهرية في التربة تعرضا لفعل الافتراس وتمثل البروتوزوا أهم مفترسات
البكتريا ، اذ تتغذى على الملايين من البكتريا مؤثرة بذلك في وجودها وانتشارها في
التربة ، وتحصل عملية الافتراس أيضا بالبكتريا الهلامية (Myxobacteria)

والفطريات الهلامية (Slime molds) وغالبا ماتقوم البكتريا بالافتراس عن طريق افراز بعض الانزيمات الخارجية التي تعمل على تدمير الخلايا ، بينما تقوم الفطريات الهلامية باستهلاك خلايا الفريسة كاملة ، هذا فضلا عن النيماتودا التي تفترس العديد من الفطريات والبكتريا وبعض الاحياء الاخرى ، كذلك تتعرض المجاميع الرئيسية للبكتريا للاصابة ببعض الطفيليات التي تعيش خارج خلاياها ، تعد الفايروسات (Viruses) من احد اهم المتطفلات واصغرها فهي طفيليات غير خلوية إجبارية داخلية تحتاج الى خلية المضيف لكي تعيش (تتضاعف)، واستطاع كل من Luria،(1962) و Champe،(1963) اكتشافها على البكتريا لأول مرة ، والفايروس الذي يصيب البكتريا يسمى البكتريوفاج Bactriophage . وهناك البكتريا الضمية (Bdellovibrio) التي تنتشر في معظم الاراضي وتقوم خلاياها بمهاجمة بعض الاجناس البكتيرية وذلك عن طريق افرازها للانزيمات الخارجية المحللة ، كما أن مجاميع كبيرة من الفطريات تتعرض أيضا لتطفل بعض الفطريات الاخرى ، اذ تهاجم الهيافات والكونيديات والجراثيم المختلفة وتؤدي الى تحللها ومن هذه الفطريات المتطفلة الـ (Rhizoctonia) والـ (Penicillium) .

ب- التداخلات ما بين الأحياء المجهرية والنظام الجذري في النباتات الراقية

تعد بيئة الجذور في منطقة الرايزوسفير على درجة متناهية من التعقيد بسبب طبيعة المركبات المنتجة من قبل جذور النباتات والتأثيرات الكيميائية والفيزيائية الحاصلة في السطح الفاصل بين التربة وجذور النبات . إن أعداد الأحياء الدقيقة تزداد بدرجة عالية في هذه المنطقة بسبب ارتفاع تركيز المواد العضوية الناتجة عن انسلاخات الجذور (slough cell) وافرازاتها (mucigel). فقد اظهرت نتائج احدى التجارب ان البكتريا المتباينة التغذية يزداد تواجدها في منطقة سطح الجذور مقارنة بالمنطقة البعيدة عن الجذور وعزيت هذه الزيادة الى وجود المادة الهلامية (mucigel)

المحيطة بسطح الجذر والى وجود كميات كبيرة من المركبات العضوية والانسجة المتحللة والجذور المتخذشة التي تحرر منها المركبات العضوية كالاحماض العضوية والكربوهيدرات والاحماض الامينية والهرمونات التي تحسن من نمو وتكاثر البكتريا المتبائية التغذية في هذه المنطقة .

1- التأثيرات المفيدة للأحياء المجهرية للنبات

تسبب أحياء الرايزوسفير المجهرية العديد من التأثيرات المفيدة في النباتات وذلك من خلال تأثيرها في الحالة التغذوية للنبات والتأثيرات المتعلقة بتصنيع المواد المنظمة للنمو ومقدرتها على إيقاف أو الحد من انتشار الامراض النباتية للأحياء المتوالدة في التربة ومنها :

أ- زيادة جاهزية المغذيات

معظم المغذيات ودورات العناصر وتنشيط المسببات المرضية للنباتات تحدث في منطقة الرايزوسفير ، فقد تعد منطقة رايزوسفير جذور النباتات المنطقة الأكثر فاعلية في تحديد الاحتياجات الغذائية ، ولذلك فإن رفع كفاءة النبات لامتصاص العناصر الغذائية ومقدار الاستفادة منها سوف يتأثر بدرجة كبيرة بتواجد احياء التربة المجهرية حرة أو تكافلية المعيشة في هذه المنطقة ، وذلك من خلال اليات عديدة ، أهمها هي عملية تثبيت النتروجين بنوعيه التعايشي واللاتعايشي ، ويعد التعايش بين البقوليات وبكتريا الرايزوبيا من أهم مصادر تجهيز النبات بالنتروجين ، إذ يسهم الشريكان بتثبيت ما يعادل (100-200) باوند من النتروجين.هكتار¹-سنة¹. هذا فضلا عن التأثيرات المهمة للتثبيت اللاتعايشي للعديد من الأحياء الحرة المعيشة المثبتة للنتروجين مثل بكتريا الازوتوباكتر والازوسبيرلم والاسيتوباكتر ، فقد بين العديد من الباحثين ان هناك انواع من بكتريا *Bacillus* , *Azospirillum* , *Azotobacter* , *Pseudomonas* المتواجدة في رايزوسفير الجذور لها تأثيرات ايجابية في نمو النبات وان هذه الانواع

من البكتريا تسمى بالبكتريا المشجعة لنمو النبات ، ان الاليات الرئيسة التي تشجع نمو النباتات الملقة بهذه البكتريا هي مقدرتها على تحسين جاهزية المغذيات الصغرى والكبرى .

اما دور احياء الرايزوسفير في زيادة جاهزية عنصر الفسفور فقد اشارت العديد من البحوث الى الدور المهم للاحياء المذبية للفوسفات وفطريات المايكورايزا من حيث مقدرتها على زيادة جاهزية ومعدل امتصاص الفسفور . وتعتبر فطريات المايكورايزا والبكتريا المثبتة للنتروجين المستوطنة او المدخلة كمخصبات حيوية من احياء التربة التي تلعب دورا مهما في تحسين اداء النبات لامتصاص العناصر الغذائية من الفسفور والنتروجين ، حيث ان التأثير المتداخل بين فطريات المايكورايزا وبكتريا الازوتوباكتري يساهم في رفع كفاءة امتصاص النتروجين والفسفور والبوتاسيوم لنباتات الحنطة وتقليل كميات الاسمدة الكيميائية المضافة ، واوضحت نتائج السامرائي وآخرون ، (2007) ان الاضافة المزدوجة من بكتريا *A.brasilienses* والمايكورايزا *G.mosseae* اعطت اعلى محتوى من NPK في نباتات الذرة الصفراء، وان اضافة بكتريا *A.brasilienses* اعطت اعلى محتوى من النتروجين، بينما وجد ان الفطر *G.mosseae* اعطى اعلى محتوى من الفسفور ، ان هذه النتيجة تشير بوضوح الى ان معاملة بذور الذرة الصفراء ببكتريا *A.brasilienses* قد زادت من جاهزية النتروجين في التربة من خلال تواجد احياء مع جذور نباتات الذرة الصفراء وقيامها بتثبيت كمية من النتروجين بطريقة غير تعايشية ، اما فطر *G.mosseae* فقد ساهم في زيادة محتوى الفسفور الممتص وفي حالة عدم اضافة اي نوع من الاسمدة الفوسفاتية .

وللأحياء المجهرية في منطقة الرايزوسفير دور مهم في زيادة تجوية المعادن وتحليل المواد العضوية ومعدنتها اذ تكون العملية أسرع على سطح الجذور بسبب زيادة نشاط وكثافة الأحياء من بكتريا وفطريات واكتينومايسيتات. وإن زيادة جاهزية الحديد والمنغنيز على سطح الجذور يمكن ان يعزى الى ازدياد نشاط وأعداد الأحياء

المجهرية. ووضح السامرائي، (2002) ان من خلال تكوين المعقدات العضوية المعدنية فان الاحياء في منطقة الرايزوسفير يمكن ان تحقق وظيفتين اهمها تكوين معقدات وخلق المعادن وبذلك تضمن بقاءها ملاصقة لسطح الجذور فضلا عن دورها المهم في تسهيل دخول العناصر المغذية الصغرى مثل الزنك والنحاس والحديد بشكل مركبات مخلبية الى داخل الجذر. ولمعرفة تاثير اضافة السماد البكتيري والفطري في محتوى الحديد والزنك والنحاس الممتص في اوراق الذرة الصفراء اكد السامرائي وآخرون، (2007). ان محتوى الحديد والزنك والنحاس ازداد معنويا عند اضافة بكتريا *A.brasilienses* وفطر *G.mosseae* بصورة منفردة او مختلطة مقارنة بالمقارنة وقد تفوق محتوى هذه العناصر عند الاضافة المزدوجة من الفطر والبكتريا مقارنة بالاضافة المنفردة .

ب- إفراز المواد المحفزة للنمو

تنتج الأحياء الدقيقة العديد من المواد المنشطة للنمو , وأول ما ظهرت هذه التأثيرات المنشطة بوضوح من قبل احياء الرايزوسفير في نبات الحنطة وعزي تأثيرها الى انتاج هذه الأحياء للاوكسين المنشط (IAA). ان تحسين نمو النبات من خلال التلقيح بأنواع من البكتريا الترافقية *Azospirillum brasilense*, *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus megaterium* تأتي من حيث انتاج هذه الاحياء لمنظمات النمو مثل الاوكسينات والجبرلينات والسايكوكينينات وليس بسبب تجهيزها للمغذيات من خلال عمليات المعدنة وتثبيت النتروجين. ان العديد من انواع الاحياء التي تستوطن الرايزوسفير لها المقدرة على تشجيع نمو النبات عندما تضاف الى البذور والجذور والأوراق وذلك من خلال افرازها للعديد من المواد المنشطة للنمو وهذه الانواع من البكتريا تسمى (PGPR) (Plant Growth Promoting) وتشمل الانواع الاساسية الاتية : *Bacillus* , *Pseudomonas* , *Rhizobacteria* , *Acetobacter* , *Azotobacter* , *Azospirillum* , *Enterobacter*

Herbaspirillum، فقد وجد Tien وآخرون (1979) أن الهرمون الأساسي الذي تنتجه بكتريا *Azospirillum brasilense* هو الـ (IAA)، أما الهرمونات التي تنتجها بكميات قليلة لكنها معنوية التأثير فهي (Indol lactic acid (ILA و (IBA و Indol-3-butyric acid و Indol-3-ethanol و Indol-3-methanol وعدد من الجبرلينات والسايبتوكاينينات وهذه الهرمونات تحسن من نمو الجذور وتكوين الشعيرات الجذرية وبالتالي يتحسن نمو النبات. كما تشير العديد من الدراسات إلى الدور المهم لفطريات المايكورايزا من حيث مقدرتها على زيادة السعة الامتصاصية والخزنية للجذور من خلال إفرازها للأوكسينات والجبرلينات والمركبات المتعلقة بها إذ تؤدي هذه المواد دوراً مهماً من حيث تأثيرها في معدل انبات البذور، تطور المجموع الجذري وزيادة معدل امتصاص المغذيات.

ج السيطرة البايولوجية Biocontrol

لقد رافق التطور في أساليب الزراعة اهتمام وتنام في استعمال طرائق متنوعة ومتعددة في مكافحة الآفات ومنها مكافحة مسببات المرضية، ونتيجة لمخاطر التلوث الذي يسببه سوء وخطورة استعمال المبيدات الكيميائية وحصول طفرات وراثية وظهور سلالات مقاومة من الآفات المرضية وعدم توفير مبيدات بديلة محلها، بدأ الاهتمام ينصب نحو إيجاد بدائل للمبيدات لمكافحة الآفات الزراعية أقل خطراً على البيئة، فبرز مفهوم المبيدات الحيوية في هذا المجال كوسيلة من وسائل السيطرة الحيوية (Biocontrol) التي تعني (استعمال كائنات حية في تثبيط أو قتل أو منع تكاثر كائن حي آخر غير مرغوب فيه من خلال عدد من اليات تمتلكها تلك الأحياء).

إن مكافحة بالطرق الحيوية تتميز عن غيرها من الطرق بتأثيرها بعيد الأمد، إضافة إلى أن الأعداء الحيوية عموماً لها القدرة على النمو والتكاثر والبحث ذاتياً عن عوائلها ولا تحتاج تكرار المعاملة كطرق المكافحة الأخرى لذلك تعد مكافحة الحيوية

ركن اساسي في برامج مكافحة . عرفت المبيدات الحيوية في بداية القرن العشرين ، اذ اشار Potter (1908) الى دور تراكمات المنتجات الايضية للفطريات الممرضة في تثبيط نشاطها، ولكن هذا لم يلق اهتماما كافيا حتى عام 1926 عندما نجح Sanford بمكافحة مرض جرب البطاط الذي يسببه الفطر (*Streptomyces Scabie*) بالسماذ النباتي الاخضر، اذ عزيت مكافحة الى بكتريا رمية تكاثرت اعدادها في المادة العضوية للسماذ الاخضر مما اثر في المسبب الممرض. واستمرت الدراسات حتى عقد الثمانينات عند ظهور اول مبيد حيوي في العالم مادته الفعالة ابواغ الفطريات لمكافحة مسببات مرضية فطرية او الديدان الثعبانية (نيماتودا) ونتيجة لتوالي الدراسات فقد انتجت العديد من المستحضرات التجارية الحيوية لمقاومة امراض النبات المختلفة ومنها المستحضر Biocan اول مبيد حيوي استعمل على نطاق واسع المادة الفعالة لهذا المبيد هي الفطر *P.lilacinus* ويستعمل لمقاومة الديدان المتطفلة على النبات ومنها *Meloidogyne spp; Globodera spp; Tylenchulus spp; Nacobbus spp* بعدها توالى المستحضرات التجارية الحيوية وكما في الجدول (2-2).

وتشير اغلب الدراسات السابقة الى اهمية استعمال الكثير من الاحياء في مجال السيطرة الحيوية وخاصة الفطرية منها والتي تنتمي معظمها الى صنف (*Hyphomycetes*) مثل *Trichoderma spp; Gliocadium spp* ; *Penicillium spp* وانواع من البكتريا مثل *Bacillus spp ; Pseudomonas* ; *Streptomyces spp* ، فقد استعملت بكتريا *Pseudomonas aureofaciens* للسيطرة على مرض تعفن البطاطا *Erwinia carotovora* من خلال إنتاج المضادات الحيوية (2,4-diacetylphloroglucinol (DAPG) وايضا استعملت هذه البكتريا (*Pseudomonas aureofaciens*) كاحد عوامل مكافحة الحيوية ضد الفطر *R.solani* وادت الى استحثاث خمسة بروتينات ذات علاقة بالامراضية تراوحت اوزانها الجزيئية من 27 – 59 كيلو دالتن في نبات فول الصويا لتثبيط نشاط

الفطر الممرض وذلك بتنشيط انزيماته كاحد اليات الدفاع ضد المسببات المرضية لدى النبات ، فضلاً عن دور انواع عديدة من البكتريا حرة المعيشة (*Azospirillum*, *Azotobacter*) في مجال السيطرة الحيوية من خلال افرازها للهرمونات النباتية والسايكروفورز ، وهذان الجنسان من البكتريا يعدان من البكتريا المحفزة للنمو (PGPR) *Plant Growth Promoting Rhizomicroorganism* المعروفة بقدرتها التضادية العالية ضد المسببات المرضية ولاسيما المستوطنة في التربة ، حيث ان اضافة بكتريا PGPR في منطقة الرايزوسفير لنبات لبطاطا قللت الدليل المرضي لمرض تعفن الساق وتكوين الاجسام الحجرية للفطر *R.solani* بنسبة 73.9 % (Leammli ، 1970). واكدت نتائج حسن واخرون ،(2013) ان استعمال بكتريا *Azotobacter chroococcum* وفطر *T.harzianum* بصورة مختلطة للحد من تاثير الفطر *Rhizoctonia solania* الذي يسبب القشرة السوداء على محصول البطاطا اعطت افضل النتائج حيث انها اثرت معنوياً في خفض دليل الامراضية وشدة الاصابة في السيقان والدرنات والتي كانت (0.71 % ، 0.71) مقارنة بالمقارنة التي كانت (90.30 % و 3.60) على التوالي . معظم الدراسات اشارت الى اهمية دور فطريات المايكورايزا والترايكودرما في السيطرة او الحد من الاصابة بالامراض النباتية ، فقد استعمل لقاح المايكورايزا المكون من خليط لانواع من جنس *Glomus* والفطر الاحيائي *Trichoderma harzianum* لمكافحة المعقد الممرض المكون من نيماتودا تعقد الجذور *Meloidogyne javanica* (Treub)Chit. والفطر *Rhizoctonia solania* (Kuhn) وادى تداخل المايكورايزا مع فطر الترايكوديرما الى خفض الاصابة بنيماتودا تعقد الجذور بصورة معنوية حيث بلغت (70%) وبفطر الرايزوكتونيا (85.1 %) (اسطيفان واخرون ، 2009) ، وبينوا هؤلاء الباحثون ان فطريات المايكورايزا اسهمت في وقاية المجموع الجذري من الاصابة بالمسببات الممرضة والنيماتودا ، وانخفضت النسبة المئوية للاصابة بفطر الرايزوكتونيا ونيماتودا

تعقد الجذور بحوالي (78.7 % و 44.6 %) على التوالي بصورة معنوية وعزي السبب لافرازها منظمات النمو مثل Auxins , Cytokinins , Gibberellins المعروفة بسميتها للمسببات الممرضة والنيماتودا. ووجد ان استعمال الفطر *Trichoderma harzianum* لمقاومة الفطر *R. solania* على نبات البطاطا ادى الى استحداث نوعين من الانزيمات تقوم بتنشيط انزيمات الفطر الممرض وهي -1,3-β Glucanase Chitinase .

جدول 2-2: المستحضرات الحيوية ومادتها الفعالة واستعمالاتها لمقاومة المسببات المرضية .

اسم المستحضر	المادة الفعالة	الاستعمال	النوع النباتي المعامل
Binab-T	Trichoderma spp	لمقاومة الفطريات chondros terem pupuren ; Endothio parasitica ; Verticillium mathonsei	جروح الاشجار الناتجة عن التلقيح واشجار الكستناء والمشروم
P.g.suspension	الفطر phiebiagigantea	لمقاومة الفطر <i>Heterobasidium annosum</i>	الاشجار
Mycostop	الفطر <i>Sterptomyces</i> spp	لمقاومة الفطر <i>Alternaria brassicicola</i>	الاشجار
Dagger	البكتريا <i>P.fluorescens</i>	لمقاومة الفطرين <i>P.ultimum</i> ; <i>R.solani</i>	القطن
Norbac 84-c	البكتريا <i>Agrobacterium radiobacter</i>	لمقاومة البكتريا <i>Atumifacient</i>	الاشجار
Galltrol	البكتريا <i>Agrobacterium radiobacter</i>	لمقاومة البكتريا <i>Atumifacient</i>	الصليبيات

محاصيل الباقلاء والبازاليا والذرة	لمقاومة مرض سقوط البادرات المتسببة عن الفطريات المستوطنة في التربة	<i>Trichoderma spp</i>	F-step
	لمقاومة فطريات التربة	G-virens	Gliogard
تعفن الجذور	لمقاومة الفطرين R.solani ,Pythium spp	G-virens	GI-21
	لمقاومة فطريات التربة الممرضة	Gliocladium	Soilgard
	لمقاومة فطريات التربة الممرضة	العزلة T-22 للفطر <i>T.harzianum</i>	Rootshield
	تعامل لاستحثاث المقاومة ضد مرض الذبول وتعفن الجذور	<i>T.viride</i>	Trichoderma viride
التربة	يستعملان لمقاومة المسببات المرضية المستوطنة في التربة وكذلك الديدان الثعبانية	<i>T.harzianum</i>	التحدي

2- التأثيرات الضارة للأحياء المجهرية للنبات

تظهر أحياء الرايزوسفير المجهرية تأثيرات ضارة في النباتات النامية الى الحد الذي تتنافس به هذه الاحياء على الكميات المحدودة للمغذيات المعدنية, الاوكسجين ومن ثم تشجع من إصابة الجذور بالأمراض او قد تؤثر بشكل آخر من خلال إنتاجها للمواد المثبطة للنمو او ذات التأثيرات السامة .

أ- التنافس على المغذيات وتقليل جاهزيتها

تتنافس العديد من أحياء الرايزوسفير بتفوق مع جذور النباتات النامية على نيتروجين التربة، فقد وجد ان كمية النيتروجين الممعدنة في الترب البور تصل الى (30) ملغم .كغم⁻¹ تربة خلال (13) اسبوعاً وتنخفض الى (14) ملغم .كغم⁻¹ في الترب المزروعة , وان هذا الانخفاض يتعلق بشكل موجب مع الوزن الكلي للجذور في الترب المزروعة ومن ثم مع العدد الكلي للبكتريا المترابطة مع النظام الجذري, وعزيت هذه النتائج الى التمثيل الحيوي للنيتروجين من قبل احياء الرايزوسفير. ووجد ان معدل

امتصاص النبات للفوسفات والكبريتات والبيكاربونات يمكن ان يثبط بشدة من قبل الفطريات المنتشرة على الجذور في منطقة الرايزوبلين. وان هناك حالة تنافس شديدة على الفسفور الذائب ما بين بكتريا التربة وجذور النباتات ، كما تتأثر جاهزية العديد من المغذيات بعمليات الأكسدة والاختزال الحاصلة بتأثير الأحياء الرايزوسفيرية وبذلك تتحول كثير من صور العناصر الجاهزة الى صور غير جاهزة وكننتيجة لنشاط الأحياء تفرز بعض المواد مثل السكريات المتعددة الخارجية والتي ترتبط بعناصر معينة وتكون معقدات تمنع امتصاصها من قبل النبات مثل المعقدات المتكونة مع الموليبيدنيوم.

ب- التأثيرات المثبطة والسامة للأحياء

تؤثر أحياء الرايزوسفير تأثيرات ضارة وخطيرة بسبب افرازها لبعض المواد المثبطة للنمو مثل الاوكسينات و المضادات الحيوية وغيرها من المواد الفعالة بايولوجيا مثل التأثير المثبط للاثيلين (ethylene). حيث وجد ان فطريات التربة *Acremonium falciforms* تنتج الاثلين الذي له تأثير على نمو شتلات البزاليا، فقد لوحظ ان هناك انخفاضاً في معدل نمو وتكوين الشعيرات الجذرية لنبات الجت بسبب تأثير الأحياء المجهرية من حيث افرازها للمواد المثبطة للنمو. ان الأحياء المجهرية تفرز العديد من المواد السامة لجذور النباتات مثل (HCN) و (NH₃) وبعض الأحماض العضوية وحتى (CO₂) الذي يعد وجوده في منطقة الرايزوسفير بتركيز عالية مثبط احيانا لانبات سبورات الفطريات او قد يؤثر فيها بطريقة اخرى . وتنتج الأحياء المجهرية مركبات عضوية كثير منها تكون منشطة للنبات عندما توجد بتركيز منخفضة غير انها قد تتحول الى مواد مثبطة او سامة عند ارتفاع تراكيزها في التربة .

ج- التأثيرات الممرضة لجذور النبات

تكون الاحياء الممرضة في منطقة الجذور جزءاً هاماً من الكتلة الحية في منطقة الرايزوسفير ومن امثلتها البكتريا المتطفلة (Parasitic bacteria) والبروتوزوا (Protozoa) والنيماطودا (Nematodes) وغيرها . ان اغلب امراض جذور النباتات هي فطرية من النوع المتوالدة في التربة (Soil born fungi) وبعضها تكون رمية (Saprophytes) والآخرى تكون متعايشة على انسجة النبات العائل. ان افرازات جذور النبات قد تؤثر في انبات سبورات فطريات الرايزوسفير ومن ثم تؤثر في الاصابة بالامراض الفطرية، كما ان البكتريا يمكن ان تتطفل على النبات وتسبب بعض الامراض النباتية ومن امثلتها البكتريا المتطفلة (*Bacillus bacteriovorus*) ، ومن الانواع الاخرى للبكتريا الممرضة الـ (*Agrobacterium*) والـ (*Pseudomonas*) والـ (*Xanthomonas*) .

وتسبب بعض انواع بروتوزوا التربة الاضرار والتلف للنبات وبكتريا التربة المفيدة , وتوجد ادلة على ان بعض احياء التربة في منطقة الرايزوسفير والتي لاتكون بحد ذاتها ممرضة يمكن ان تسبب تلف للنباتات اذا ما ادخلت معها احياء اخرى, اذ يكون الضرر شديداً جداً في حالة تأثيرها بصورة متداخلة. ومثال على ذلك ان المسبب المرضي (*Thanatephorus cucumeris*) يكون تأثيره بسيطاً في نباتات الحنطة النامية في الترب المعقمة بينما تنتشر الاصابة بشدة وتتضرر النباتات النامية في الترب غير المعقمة بشكل واسع . ودرست الاصابة بالامراض الفطرية (*Phythium ultimum*) و(*Fusarium oxysporum*) وتبين ان أي من الفطرين قد يسبب ضرراً بسيطاً في حالة وجودها لوحدها ولكنها تسبب ذبولا شديدا لنبات الفاصولياء في حالة وجودهما معا .

الفصل الثالث

دور الأحياء المجهرية في نمو وتغذية النباتات الراقية

Role of Microorganisms in soil and plant nutrition

مقدمة

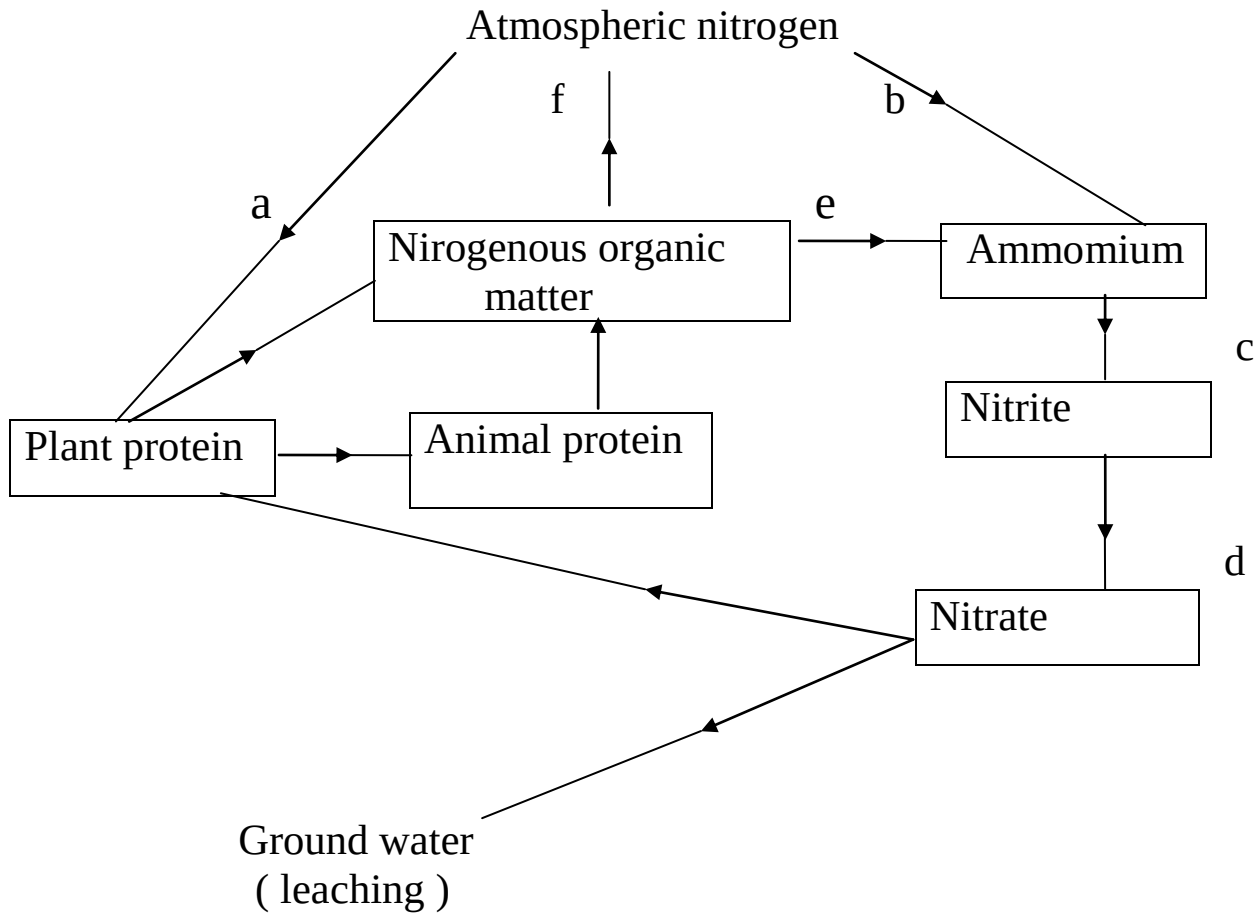
تحتاج النباتات لغرض نموها وتحقيق الهدف الرئيسي من زراعتها الى مجموعة من العناصر الغذائية الضرورية ، وتشارك التربة بأكثر عدد من هذه العناصر على الرغم من إن الهواء المحيط بالأرض يشارك بعدد معلوم من هذه العناصر ، وفي جميع دورات العناصر نجد نوع من التداخل ما بين الكمية المضافة الى التربة وبين الكمية المفقودة منها وهذا التداخل محكوم بحالة من التوازن بحيث تكون المحصلة توفر ذلك العنصر أو تلك العناصر في وسط نمو النبات في الهيئة الملائمة للامتصاص من قبل الجذور النباتية وضمن حدود التركيز والذي لا يؤثر سلبا على أداء الأنواع النباتية المختلفة . كثيرة هي العوامل التي تؤثر على جاهزية العناصر ولكننا وفي سياق هذا الموضوع وبما يخص دور المخصبات الحيوية وتعظيم الحاصل فسوف نتكلم عن العناصر الكبرى ذات التأثير المعنوي في تطبيقات الزراعة الحديثة وهي عنصري النتروجين والفسفور ، إن هذين العنصرين وما تتطلبه الاحتياجات الغذائية للمحاصيل الزراعية منهما كانا هدفا لعدد كبير من الباحثين في دراسة إيجاد بدائل لمصادر تجهيزهما ، ومن أهم هذه المصادر هو استخدامات تقنيات المخصبات الحيوية من خلال إضافة اللقاحات والتي هي أساسا أنواع من أحياء التربة المجهرية ذات التأثير المباشر أو غير المباشر في تحسين أداء الأنواع النباتية مع اقل محتوى أو إضافة للأسمدة المعدنية الى التربة هذا من جانب ، ومن جانب آخر إن استخدام تقنية المخصبات الحيوية من شأنها إن تحسن أداء النباتات من خلال السيطرة أو إضعاف الأحياء المجهرية الأخرى ذات التأثير المرضي مما ينتج عن ذلك تحفيز نمو النباتات

عند اقل مستويات من العناصر الغذائية . إن جاهزية العناصر الغذائية في التربة وقدرة النباتات لامتصاصها ثم الاستفادة منها ضمن عملياتها الحيوية تتأثر بدرجة كبيرة بتواجد الأحياء المجهرية خصوصا في منطقة نشاطها العظمى والتي تعرف Rhizosphere zone ، ولغرض فهم دور الأحياء المجهرية في التأثير على جاهزية عنصري النتروجين والفسفور فلا بد لنا أن نتكلم في البداية عن دور هذين العنصرين وكيف تؤثر أحياء التربة المختلفة على مراحل ومكونات الدورة لكل منهما .

دورة النتروجين The nitrogen cycle

عنصر النتروجين المحيط بالأرض يخضع لدورة موضحة في الشكل (1-3) وهذه الدورة ذات مراحل ومكونات مختلفة ولكن اغلب الأجزاء في هذه الدورة تتبع طريقين رئيسيين، الأول: يتضمن تبادل غاز النتروجين ما بين التربة والمحيط الخارجي وذلك من خلال فقد النتروجين عبر عملية التطاير Volatilization ثم عودته الى التربة عبر عملية التثبيت Fixation . إن تثبيت النتروجين يحدث بفعل تفاعلات حيوية في التربة منها النوع التعايشي ومنها النوع غير التعايشي مع أحياء التربة بلاضافة الى كمية مثبتة في الجو تعود الى التربة مع الأمطار لها من خلال البرق والرعد . **والطريق الثاني :** يظهر في دورة النتروجين متمثلا في تحولات كيميائية حيوية Biochemical transformation والذي بها يتحول النتروجين غير العضوي الى نتروجين عضوي داخل في بناء أجسام النباتات والحيوانات والأحياء المجهرية في التربة ثم عودته الى الدورة بهيئة نتروجين غير عضوي من خلال عملية المعدنة Mineralization وعملية النترجة Nitrification . وعند اعتماد أساس قاعدة الأمد الطويل لابد من القول بأنه لا النتروجين غير العضوي ولا النتروجين الخاضع للتبادل ما بين التربة ومحيطها الخارجي ذو تأثير معنوي كبير على معدل مستويات النتروجين الكلي في التربة . وإن أهم مؤثر على مستوى النتروجين الكلي في التربة هو

مقدار إزالة عنصر النتروجين من خلال عمليات الفقد بواسطة الغسل أو التعرية أو عمليات حصاد المنتجات النباتية (ثمار وحبوب) . إن المفقود من هذا العنصر ضمن دورته يعاد إليها عن طريق إضافة الأسمدة النتروجينية أو اعتماد تقنيات احيائية من شأنها تعزيز المخزون منه لسد احتياجات النباتات .



شكل 3-1 : دورة النتروجين . تثبيت النتروجين بالرايزوبيا (a) ، تثبيت النتروجين بالاحياء حرة المعيشة (b) ، النتجة ببكتريا Nitrosomonas (c) ، النتجة ببكتريا Nitrobacter (d) ، المعدنة (e) ، عكس النتجة (f) .

إن أحياء التربة تلعب دورا هاما في تحديد جاهزية النتروجين وتعتبر عمليات تثبيت النتروجين ألتعايشي بفعل بكتريا العقد الجذرية Rhizobi وكذلك تثبيت النتروجين غير ألتعايشي بفعل أحياء التربة حرة المعيشة Free-living soil organism المصادر الممولة للنتروجين في التربة ما عدا النتروجين الذي يضاف الى التربة على

شكل أسمدة نتروجينية مختلفة . إن مدى توفر المصادر البديلة لعنصر النتروجين خارج نطاق الإضافات السمادية النتروجينية الجاهزة يختلف اختلافا واسعا اعتمادا على نوع التربة ، الظروف البيئية السائدة ، نمط الزراعة المستخدم ، بالإضافة لذلك فإن كمية النتروجين المضاف الى الدورة عن طريق التثبيت كمصدر بديل يختلف بدرجة كبيرة من بلد الى بلد آخر في العالم وقد تعزى هذه الاختلافات الى عدة أسباب منها : القدرة الإنتاجية للتربة productivity land ، نوع أحياء التربة المجهرية السائدة سوى منها بكتريا العقد الجذرية أو الكائنات حرة المعيشة ، تواجد المحاصيل البقلية المتأقلمة مع مناخ المنطقة ، الحمولة الرعوية وموازنة وفرة المراعي وأعداد الماشية خاصة مع نباتات المحاصيل البقلية الرعوية .

تحدث عملية تثبيت النتروجين ألتعايشي متوافقة ما بين أحياء التربة والنباتات وان هناك أكثر من عشرة عوائل نباتية من النباتات العليا قادرة على تثبيت النتروجين إلا إن العائلة البقلية Leguminosae هي الأكثر أهمية من الناحية التطبيقية في الزراعة الحديثة . إن مشاركة وكمية النتروجين المثبت تعايشيا مع أحياء التربة يفوق كمية النتروجين المثبت بفعل أحياء التربة حرة المعيشة . (وسوف نتطرق بالتفصيل الى هذين النظامين في تثبيت النتروجين في الفصول القادمة من الكتاب) .

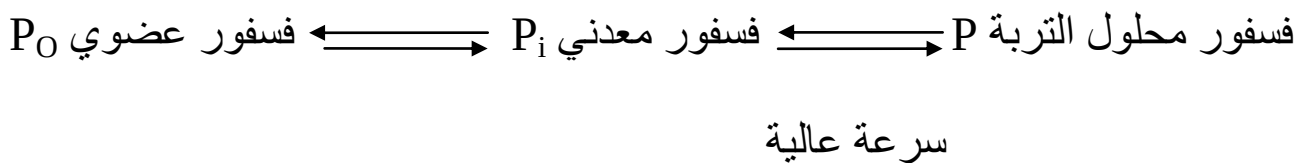
تتشارك الأحياء حرة المعيشة في التربة في عمليات مهمة وهي معدنة النتروجين mineralization وفي هذه العملية يحول النتروجين العضوي الى آمونيا وقد يتعرض لعملية الأكسدة ويحول الى نترت nitrite ونترات nitrate ، تحدث عملية تحول النتروجين العضوي الى آمونيا بفعل عدد محدد من البكتريا ومن ثم تقوم بكتريا Nitrosomonas باكسدة الامونيا الى نترت والبكتريا الأخرى Nitrobacter حيث تشارك في أكسدة النترت الى نترات، والجدير بالذكر إن هناك أنواع من الفطريات قادرة على القيام بعملية معدنة النتروجين .فقد وجد ان هناك ما يقارب 20

جنسا من الأحياء حرة المعيشة وأنواع من الطحالب (الخضراء المزرقه) قادرة على القيام بعملية تثبيت النتروجين ولكن تعتبر الأنواع الرئيسة هي : Azotobacter ,

Beijerinckia , Clostridium وان النوعان الأول والثاني من البكتريا الهوائية aerobes والنوع الثالث من البكتريا اللاهوائية anaerobe . ووجد ايضا إن هناك نوع من البكتريا الهوائية المثبتة للنتروجين متواجد على الأجزاء الخضرية للنباتات folige في المناطق الاستوائية الرطبة . ومن الجدير بالذكر انه عند سيادة الظروف غير الجيدة من حيث توفر الهواء والمادة العضوية للغذاء فان أعداد البكتريا مثل Nitrosomonas قد تتسبب في حدوث عملية عكس النترجة Denitrification حيث تختزل النترات الى نترت ثم الى غاز النتروجين . هذه أهم مراحل ومكونات دورة النتروجين ويلاحظ ان الأحياء المجهرية في التربة تلعب دورا هاما في تحديد جاهزية هذا العنصر .

دورة الفسفور في التربة The phosphorus cycle

إن دورة الفسفور في التربة على غاية من الأهمية بالنسبة للنبات وأحياء التربة المجهرية ، وان جزء مهم من هذه الدورة يمكن أن يمثل بالتوازن الآتي :



يجدد فسفور محلول التربة من خلال الإذابة السريعة للفسفور المعدني P_i لسد متطلبات النباتات والأحياء المجهرية الموجودة في التربة ، إلا انه في النظام البيئي الطبيعي (عدم وجود نشاط للزراعة) وعندما يكون الفسفور المعدني قليل جدا وان مكونات دورة الفسفور متقاربة من بعضها فان اغلب الفسفور والذي يمتص من قبل النباتات يجهز من دورة الفسفور عند تحلل البقايا النباتية من خلال نشاط أحياء التربة

المجهرية . إن ذلك كان هو السبب الذي ادعى Cole وآخرون (1977) باعتماد النظام البيئي الطبيعي في المناطق شبه الجافة لوضع تصميمه model عن دورة الفسفور في التربة . حيث أشار ضمن التصميم المقترح إن الفسفور العضوي P_0 يشارك بجزء كبير في سد نقص فسفور محلول التربة عبر عملية معدنة الفسفور وان أحياء التربة تلعب دورا هاما في معدلات التحول ما بين أقطاب الفسفور ضمن دورة الفسفور في التربة .

إما في الأنظمة الزراعية (وجود نشاط بشري كثيف في الزراعة) فان دورة الفسفور تكون مفتوحة لان الفسفور يتعرض وباستمرار لعمليات فقد من خلال إنتاج المحاصيل الزراعية والجريان السطحي وعمليات التعرية وبذلك تنشأ الحاجة لإضافة الأسمدة الفوسفاتية المختلفة لسد هذا المفقود من الفسفور وكذلك للوصول بالإنتاج الزراعي الى أعلى من الحدود الطبيعية . إن هذه التغيرات في أجزاء ومكونات دورة الفسفور في النظام الزراعي خلقت صعوبات كبيرة عند إجراء دراسات لتقييم دورة الفسفور في التربة ومع ذلك وفي كلا النظامين البيئي الطبيعي والنظام الزراعي المفتوح فان مشاركة المخلفات النباتية والحيوانية ودور الأحياء المجهرية (سوى منها ما هو فوق أو تحت التربة) يكون كبيرا في تجهيز الطاقة اللازمة لديمومة واستمرارية المحافظة على دورات العناصر ومنها عنصر الفسفور ثم عودة دخوله الى الدورة من خلال عملية معدنة الفسفور mineralization . إن عمليات رعي الحيوانات تسرع من دخول الفسفور الى دورته في التربة بالرغم من إن الكثير من الفسفور المتحرر من المخلفات الحيوانية يكون بحالة غير ميسورة Immobilised وان الجزء المتحرر الى التربة سيتعرض للفقد بفعل عمليات الغسل . ان عملية معدنة الفسفور العضوي P_0 تعتمد بالدرجة الأساس على نشاط أحياء التربة المجهرية وعلى بعض من الكائنات الحية اللاقصرية أمثال ديدان الأرض earth worm . إن وظيفة هذه الكائنات تنظيمية في أداء عمليات التحول وعلى سبيل المثال فان ديدان الأرض تستطيع زيادة جاهزية

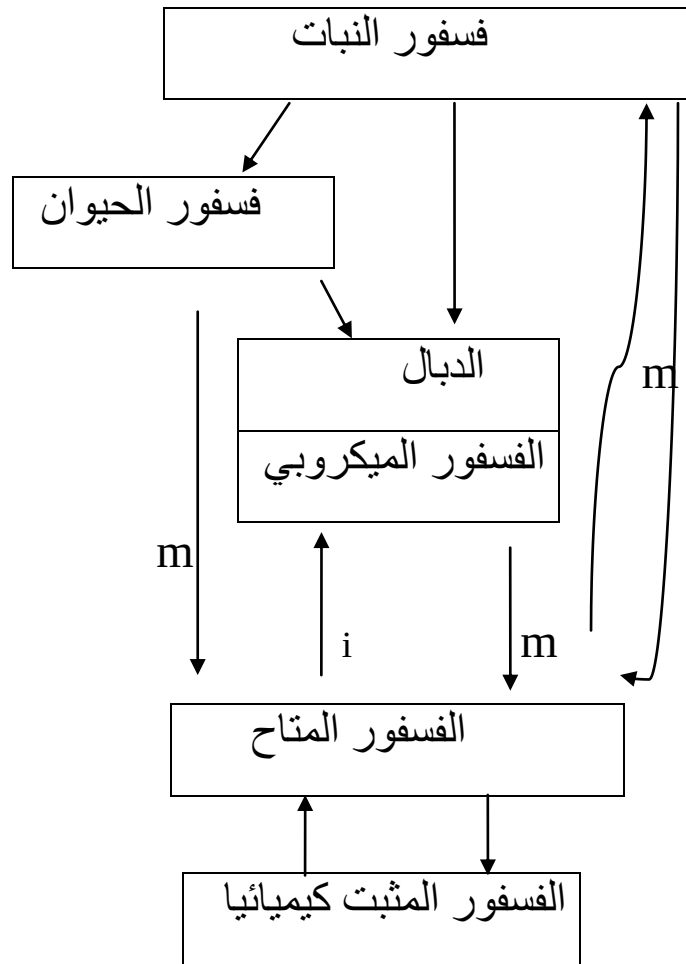
الفسفور وضمن فترة زمنية قصيرة في البقايا النباتية بمعدل (2-3) مرات وذلك من خلال تحرير الفسفور المعدني P_i وذلك بواسطة الآلية الاستشارية الفيزيائية للتربة وخاصة في الترب ذات المحتوى المنخفض من الفسفور.

من هذا يمكن القول إن الاحياء المجهرية تشكل وسيلة لتحرر وتحول المهم من العناصر الغذائية ومنها عنصر الفسفور وهي بدون منافس تعتبر الوسيط الأول في إحداث التغيرات في جاهزية العناصر الغذائية . إن حالة التنافس على الكمية القليلة من فسفور محلول التربة سوف تكون شديدة في منطقة نشاطها العظمى الـ Rhizosphere خاصة عندما تكون المواد من إفرازات الجذور exudate وخلايا الجذور المنسلخة sloughed-off root cells والأنسجة الميتة Debris والمادة الهلامية mucigels قليلة ومحدودة مع تواجد أعداد كبيرة ونشطة من الاحياء المجهرية ، ومع إن الاحياء المجهرية في منطقة الرايزوسفير تستفيد من نمو النباتات إلا إن الآلية التي تعمل بها هذه الاحياء غير مفهومة بدرجة كاملة . إن التأثير قد يكون غير مباشر وذلك من خلال إنتاج بعض الهرمونات من قبل أحياء التربة وتكون محفزة للنمو بدلا من التأثير على جاهزية العنصر من المصادر غير الميسرة . إن الاحياء المجهرية قد تعمل على تغيير رقم تفاعل منطقة الرايزوسفير وذلك من خلال إنتاج أحماض عضوية أو إفراز ايونات الهيدروجين أو البيكاربونات ، وإن الفسفور المعدني في دورة الفسفور قد يتحرر من بعض المركبات العضوية مثل (ester-p) وذلك خلال عملية extracellular phosphohydrolases إن مثل هذه المواد تتحرر استجابة لطلب الفسفور من قبل النبات . لقد استخدم نشاط أنزيم الفوسفاتيز phosphatease وخليط من عينات الفسفور العضوي P_o في دراسة عملية معدنة الفسفور إلا إن الصعوبات التي ترافق هذا المحور من الدراسة كبيرة وأولها إن الطبيعة الكيميائية لمادة الفسفور العضوي في التربة غير معروفة بدرجة واضحة تماما ، وثانيهما إن العلاقات الداخلية ما بين أقطاب الأنزيم لا يزال فهمها محدودا. وخلاصة القول فإن حالة التوازن في تركيز عنصر الفسفور في

محلول التربة وقدرة التربة في المحافظة على هذا التركيز ضد الفقد المستمر الذي يتعرض له نتيجة امتصاصه من قبل النباتات ، أو الأحياء المجهرية قد حكم باليات معقدة جدا من التأثيرات الفيزيائية والكيميائية والحياتية . وفي سياق نوعية الآليات فقد استخدم McGill و Cole ، (1981) مصطلح خاص هو Biochemical mineralisation (المعدنية الكيميائية الحيوية) لكي يميز الآلية والتي يتحرر بها الفسفور من المركب العضوي ester-p بواسطة أنزيم extracellular من الآلية الخاصة بمعدنة الكربون والنيتروجين و أصرة الفسفور – كربون وهي ما تسمى Biological mineralization عند احتياج أحياء التربة للطاقة الموجه . إن استخدام هذه الأفكار قد تقرب عن اختلافات بين نسب الكربون العضوي : الكبريت : النيتروجين : الكربون وكذلك إلى اختلافات كبيرة في قيم الفسفور العضوي في المادة العضوية في التربة بلاضافة لذلك فإنها تمنحنا نسب تمكننا من فهم استمرارية الفسفور العضوي في الترب المختلفة . إن الموازنة ما بين عمليتي المعدنية mineralisation وعملية عكس المعدنية Immobilisation تعتمد على نسبة الكربون : الفسفور للمواد المتحللة بدلا من الاعتماد على نسبة المادة العضوية او نسبة المواد المتبقية بشكل عام . وعلى هذا الأساس فان النسبة الحرجة من الكربون : الفسفور قد تم حسابها من حاصل النمو الميكروبي وقد كانت بحدود (50-70) .

إن فوسفور التربة وضمن دورته يظهر بأنواع مختلفة لاحظ الشكل (2-3) منها الفسفور المعدني ومنها الفسفور العضوي . إن الفسفور المعدني يوجد بالدرجة الأساسية متحدا مع اكاسيد وهيدروكسيدات الألمنيوم والحديد أو معادن الطين أو مع الكربونات الصلبة ، وكذلك يوجد في المادة العضوية بكميات قليلة على هيئة بايروفوسفات pyrophosphates أو بولي فوسفات polyphosphate خاصة المواد العضوية من الأصل الميكروبي . أما الفسفور العضوي فانه يظهر أساسا mono- este يعني (Ro) PO_3H_2 أو Diesters $(RO)(R'O)PO_2H$. إن الفسفور العضوي من الأصل النباتي

Inositol hexakis phosphates و pentakis phosphates وهذين يشكلان 60 % من الفسفور العضوي في التربة مع ظهور كميات صغيرة من phospholipids و nucleotides واثار قليلة من glycerophosphate و phosphonates .



شكل 2-3 : دورة الفسفور . m = المعدنية mineralization ،
i = التمثيل immobilization (Alexander ، 1977)

دور الأحياء المجهرية في التوسط وتسهيل امتصاص العناصر الغذائية من التربة

The role of microorganism in mediating and facilitating the uptake of plant nutrients from soil .

لا يوجد نظام من الغطاء النباتي الطبيعي أو الصناعي معقم تماما وعليه فان العالم الحقيقي لتغذية النبات يظهر دائما في نظام معقد يتكون من ثلاثة مكونات هي : النبات والمادة الغذائية وكم هائل من أحياء التربة المجهرية . وان الهدف الرئيسي لهذا الموضوع هو تسليط الضوء على الطرق التي بواسطتها تستطيع أحياء التربة المجهرية التأثير على تغذية النبات ضمن مفهوم المخصبات الحيوية واستخداماتها في الزراعة الحديثة ، ثم بعد ذلك نستطيع القول ما هو المهم والقابل للتطبيق العملي في الزراعة الحديثة وتعظيم الإنتاج .

إن من أهم المميزات بين النظام التعايشي symbiotic والنظام غير التعايشي nonsymbiotic إن الأحياء المجهرية في النظام الأول تكون في بعض المراحل من نموها معتمدة بالكامل على العائل النباتي ، أما النظام الثاني غير التعايشي فان الأحياء المجهرية تكمل دورة حياتها بعيدة عن النبات . إن أحياء التربة المجهرية في النظام غير التعايشي قد يزداد أعدادها بدرجة كبيرة في وجود النظام الجذري للنباتات ولكنها عادة تعيش بشكل كائنات حية مجهرية رمية saprophytic organisms في التربة . إما أحياء التربة في النظام التعايشي فهي تعيش بحالة تكافلية مع جذور النباتات في منطقة الرايزوسفير . أن استخدامات هذه الأحياء في الزراعة الحديثة قد توسعت بشكل كبير وأصبحت في أحيان كثيرة لا يمكن الاستغناء عنها في نجاح أو إدخال محصول معين إلى منطقة معينة . هذه المجموعة من الأحياء المجهرية تضم أحياء مسؤولة عن تثبيت النتروجين تعايشيا مثل بكتريا العقد الجذرية الـ Rhizobium وبعض من أحياء Actinomycetes والأحياء المسؤولة عن زيادة امتصاص الفسفور من الترب الفقيرة

بهذا العنصر مثل فطريات المايكورايذا الداخلية Endomycorrhiza . إن العلاقات ما بين هذه الأحياء جدا قوية في تأثيرها على تغذية النبات .

جاهزية العناصر للأحياء المجهرية

يميز النظام التعايشي عن النظام غير التعايشي هو إن الأحياء المجهرية في النظام الأول تحصل على الكربون كمصدر للطاقة من العائل النباتي المضيف ، أما أحياء النظام الثاني فإنها تحصل على الكربون كمصدر للطاقة من منطقة الرايزوسفير وهي عادة ما توصف إجبارية أو متغيرة التغذية hetrotrophic . هذه الإحياء عادة ما تعيش في بيئة تكون جاهزية العناصر جيدة نوعا ما ولو بصورة مؤقتة وهي تتأقلم بسرعة في ضوء تحسين جاهزية العناصر وقد توصف بأنها r- type organism كما وصفها Newman ، (1978) . وتلعب إفرازات الجذور root exudates دور كبير في نموها وتطورها بالإضافة إلى اعتمادها على مصادر أخرى في الحصول على الكربون ضمن منطقة الرايزوسفير .

من المهتمين بدراسة العناصر الغذائية في منطقة الرايزوسفير الباحث Rovira وآخرون ، (1979) حيث أوضح إن جذور النباتات غير المصابة (جذور سليمة) تفرز مواد تسمى exudates هذه الإفرازات تحتوي على مواد مختلفة هي بالأساس سكريات ، أحماض عضوية ، أحماض امينية وان كمية ومركبات هذه الإفرازات تختلف باختلاف ظروف النمو (راجع الفصل الأول من الكتاب) ونوع النبات وبهذا فانه من الصعب إن نحدد ما هي المواد الغذائية الجاهزة في منطقة الرايزوسفير للبكتريا أو الفطريات أو للاحياء المجهرية الأخرى. وقد طرح Tinker ، (1980) سؤالا مهما حول الموضوع هو " ما هي الكمية الكلية من الكربون المجهز للأحياء المجهرية إذا افترضنا بان النتروجين والفسفور وعناصر أخرى يمكن الحصول عليها بهيئة ايونات غير عضوية وان الكربون متحدا مع هذه العناصر " . وفي سياق الموضوع وضع

Tinker (1980) ثلاثة نقاط رئيسية حدد بموجبها صعوبة تحديد الكمية الكلية من الكربون المجهز وهي :

1- إن نمو الجذور وفقدان الكربون يتأثران بدرجة كبيرة بالوسط الذي تنمو به الجذور وإن الكمية الكلية الحقيقية من الكربون يمكن أن تحدد من الجذور النامية في وسط التربة فقط .

2- إن كمية الكربون المفقودة من الجذور المعقمة هي في الغالب اقل من الكربون المفقود من الجذور غير المعقمة ، وعليه فإن استخدام تقنية axenic culture سوف تعطي نتائج مضللة وغير واقعية .

3- صعوبة فصل تنفس الجذور root respiration من عملية نواتج التنفس للاحياء المجهرية نفسها respiratory Co_2 produced .

وعليه يمكن القول إن الكمية الكلية من الكربون المجهز للاحياء المجهرية من قبل جذور النباتات النامية ضمن منطقة الرايزوسفير مختلفة بدرجة واسعة وإن الموضوع لا يزال مدار نقاش من قبل العديد من الباحثين إلا إن استخدام تقنية الكربون المشع C^{14} في وسط التربة الغذائي قد تساهم في إعطاء نتائج يمكن اعتمادها ومع ذلك فإن السؤال المطروح هو إن استخدام مثل هذه التقنية لا تمكنا من التفريق بين كمية ثاني اوكسيد الكربون المنتج من قبل البكتريا أو أحياء تربة أخرى أو الكمية من نفس الكربون المنتج من قبل جذور النباتات. ومن خلال تجارب Newman (1978) استنتج بان إفرازات الجذور root exudate الذائبة تشكل حدود (1- 10 %) من إجمالي عملية التركيب الضوئي من قبل العائل النباتي ، إما إفرازات الجذور في الأوساط المائية المعقمة تشكل (1 - 2 %) وقد تزداد بدرجة بسيطة في التربة المعقمة . ولكن هناك كمية كبيرة من أجزاء الجذور الصلبة Solid root debris تتكون ، لأنه تقنية الكربون المشع اقترحت بان كمية الكربون تساوي تقريبا 25 % من صافي عملية التركيب الضوئي والتي قد

تفقد من الجذور . ولذا يمكن القول إن جاهزية وكمية الطاقة الكلية من الكربون سوف تؤثر على أعداد الأحياء المجهرية بدرجة كبيرة في منطقة الـ Rhizosphere .

التأثيرات على النباتات العليا

هناك ثلاث تأثيرات رئيسة سوف نتناولها ضمن سياق التأثيرات على النباتات الراقية وهي :

- 1- تثبيت النتروجين واحتياجات الكربون
- 2- تأثير الهرمونات النباتية
- 3- الزيادة والنقصان في جاهزية الفسفور وعلاقتها بإفرازات الجذور والأحياء المجهرية .

1- تثبيت النتروجين واحتياجات الكربون

مما لا شك فيه إن منطقة الرايزوسفير تضم بعض الأحياء المجهرية المثبتة للنتروجين مثل Azotobacter و Azospirillum وان هذه الأحياء تثبت كمية مهمة لا يستهان بها من النتروجين في منطقة الرايزوسفير أو حتى في خلايا قشرة الجذر root cortex . إن كمية الكربون التي تحتاجها هذه الأحياء لأداء وظائفها في عملية تثبيت النتروجين تعتبر على غاية من الأهمية لان أي نقص في كمية الكربون المجهز لهذه الأحياء سوف يؤثر سلبا على العمليات التي تقوم بها . وسوف تكون مناقشتنا لاحتياجات الكربون لنوعين من الأحياء وهما الأحياء المجهرية حرة المعيشة وبكتريا الرايزوبيا .

بالنسبة لبكتريا الرايزوبيا فقد أشارت الدراسات بان احتياجات الكربون بحدود (6.5 غم كربون /غم من النتروجين المشع-54) وان أهم عملية هو نقل زوج من الالكترونات إلى مادة أنزيم nitrogenase أما dinitrogen أو استلين بلاضافة لذلك لا بد من إنتاج كمية إضافية من الكربون لاختزال النتروجين بلامكان حسابه من

التغيرات التي تطرأ على إنتاج غاز ثاني اوكسيد الكربون والمرافق لعملية الاختزال وهي (2-5) مول من غاز CO_2 / مول من غاز C_2H_2 المختزل . وبالنسبة لعنصر النتروجين فانه يساوي (3.5-9) غم كربون / غم نتروجين . وان ذلك يعتمد على العائل المضيف وعلى سلالة الرايزوبيا . إن جميع الأدلة العلمية تؤكد إن تثبيت النتروجين بمقدار يصل 30 كغم نتروجين / هكتار / سنة مهم جدا بالنسبة للغطاء النباتي الطبيعي ، ولكن هذه الكمية المتواضعة ليس لها تأثير مهم في نمط الزراعة الكثيفة . إن اعتماد تقييم تثبيت النتروجين على أساس اختزال الاستلين قد لا يكون الوسيلة الأكثر دقة في التحقق من قيمة النتروجين المثبت ، فلقد وجد بان هناك أربعة أنواع من أحياء التربة المجهرية تختزل الاستلين بقوة ولكن لم يجد أي كمية من النتروجين مثبتة في النباتات .

أما بالنسبة لتثبيت النتروجين غير ألتعايشي من قبل أحياء التربة المجهرية فانه بدون شك حقيقة علمية مثبتة ولكن إلى الوقت الحاضر لا توجد أدلة علمية انه ذو قيمة اقتصادية عالية بالنسبة لزراعة المحاصيل .

2- تأثيرات الهرمونات النباتية

إن تواجد البكتريا في بيئة نمو النباتات قد يؤثر في إحداث تغيرات في الصفات النباتية وكذلك في شكل المظهر الخارجي للنبات ، حيث لوحظ إن تواجد البكتريا على سطوح الجذور قد تحقق تحسن في معدلات نمو النباتات بقيمة تصل أكثر من 10 % ، إن الآلية المسؤولة عن إحداث هذا النوع من التحسن قد لا تفسر على أساس استجابة النبات لتحسن حالة التغذية المعدنية ، ولكن قد تعزى إلى تأثير بعض المركبات الهرمونية النباتية النشطة مما ينعكس ذلك على حالة الاستجابة الايجابية في تحسين حالة تضاد antagonistic مع بعض المسببات المرضية pathogen الأمر الذي يؤخر أو يعيق تأثيرها على النباتات وتستفاد النباتات من هذا النوع من المنافسة في

تحسين أدائها. إن تحفز نمو النباتات سوف يعمل على زيادة حجم النباتات وهذا يعني ضمنا إن النباتات تحتوي على وفرة من العناصر الغذائية الضرورية وعلى ضوء ذلك فإن التأثير الهرموني سوف يعكس تأثير فعل حالة بدلا من إن يكون سببا فيها . إن التغيرات التي تحدثها الهرمونات النباتية على المظهر الخارجي للجذور وعلى التغيرات الحاصلة في صفات الجذور وقوتها الامتصاصية قد درست من قبل (Tinker ، 1984) حيث أشار إلى إن أهم التأثيرات المميزة على المظهر الخارجي للشعيرات الجذرية هي إن الشعيرات الجذرية تكون اقل طولا وعددا في الأوساط الغذائية غير المعقمة ،ولكن دراسة Asamuna وآخرون ، (1979) حول تأثير الأحياء المجهرية على المظهر الخارجي لجذور نباتات الرز أظهرت نتائج معاكسة لما وجده Bowen و Rovira ، (1966) ، وبذلك نستطيع القول إن أحياء التربة المجهرية ذات تأثير كبير في أحداث تغيرات في الصفات النباتية العامة على أساس الاستجابة الايجابية وتحسين الحجم والأداء وكذلك تحدث تغيرات معنوية في صفات الجذور وقوتها الامتصاصية مما ينعكس ايجابيا على تركيز العناصر في الأنسجة النباتية .

3- الزيادة والنقصان في جاهزية الفسفور وعلاقتها بإفرازات الجذور والأحياء المجهرية

إن دور الجذور النباتية والأحياء المجهرية ضمن منطقة الرايزوسفير على إحداث تغير في جاهزية عنصر الفسفور قد درست من قبل العديد من الباحثين، إلا إن الآلية التي تحكم هذا التأثير لا تزال مدار نقاش بين عدد كبير من الباحثين (Tinker، 1980)، وفي سياق هذا الموضوع وعلاقته بالمخصبات الحيوية وتعظيم الإنتاج سوف نتناول طرح جميع الأفكار ثم نحاول إن نجد الأدلة العلمية التطبيقية بما يخدم تحسين جاهزية هذا العنصر المهم للنباتات .

عند تقدير كمية الفسفور الممتصة من قبل جذور نباتات (القرع ، فول الصويا ، الحنطة ، الشعير) في حالة وضعها في كأس مع مصدر الفسفور قليل الذوبانية وهو fluor-apatite وجد إن كمية الفسفور الممتص كان أعلى بكثير مقارنة بوضع نفس المصدر من الفسفور بعيدا عن الجذور ، إن هذا التأثير قد يعزى إلى إن إفرازات الجذور root exudates قد ساهمت بإذابة مصدر الفسفور قليل الذوبانية بفعل الأحماض العضوية الداخلة في مركبات إفرازات الجذور معا وجعلت هذا الفسفور أسهل امتصاصا لجذور هذه النباتات ، أيضا قد فسر استجابة نباتات الترمس لمصدر الفسفور الاباتايت في الترب الحامضية إلى تأثير الأحياء micriflora وإذابته وجعلته أسهل امتصاصا .

وفي سياق الأدلة غير المباشرة وتأثير أحياء التربة في منطقة الرايزوسفير قد جعل الفسفور أكثر جاهزية للنبات فقد استخدم الـ Desorption iso therms حيث وجد إن كمية الفسفور المستخلصة Desorbed في حالة تواجد النباتات كان اكبر بكثير من تلك الكمية المستخلصة بطريقة الاستخلاص البسيطة بدون تواجد النباتات . إن هذه النتائج تفسر أهمية نشاط الأحياء المجهرية خلال فترة الموازنة بعد نمو النباتات ولا بد أن نشير إن عملية استخلاص الفوسفات أيضا تتأثر بدرجة كبيرة بالكاتيونات ، تركيز ايون الكالسيوم ، القوة الانيونية ولذا فان التغير الحاصل في تركيز الكاتيونات أو القوة الانيونية حول الجذور النامية على درجة كبيرة من الأهمية في تقدير كمية الفسفور الممتص من التربة . ومن الدراسات المهمة في هذا المجال دراسة Bhat وآخرون ، (1976) حيث اقترحوا إن هناك مواد محفزة لاستخلاص الفسفور من التربة غير تلك المعروف دورها في تغير رقم التفاعل أو الانتشار. إن هذه النتائج تؤيد ما توصل إليه لاحقا Moghimi وآخرون ، (1978) حيث ذكروا بان إفرازات الجذور في منطقة الرايزوسفير لنباتات الحنطة قد زادت من إذابة فوسفات الكالسيوم ولكن لم يكن لها تأثير على فوسفات الحديد أو الألمنيوم .

من بين الأفكار المطروحة حول الموضوع فكرة المنافسة المباشرة ما بين الجذور و الأحياء المجهرية في امتصاص عنصر الفسفور هذا النوع من المنافسة يكون ذو درجة عالية من الأهمية فقط عندما تكون جاهزية الفسفور محدودة جدا كما يحدث ذلك في المزارع المائية ذات الحجم المحدد من المحلول الغذائي أو حتى في الترب التي تعاني من نقص عنصر الفسفور ، فلقد اقترح Barber و Lynch ، (1977) قيمة تبلغ 210 مايكوغرام وزن جاف بكتريا لكل ملغرام من الوزن الجاف للجذور، و إذا كانت البكتريا تحتوي 15 فسفور كمعدل فذلك يعني إن هناك 0.21 % فسفور للجذور الجافة ، وبما إن المجموع الخضري للنباتات عادة ما يكون 2-10 مرات أعلى من المجموع الجذري فان ذلك يعني إن ليس هناك كمية عالية من الفسفور متحررة للنبات ، هذا بالإضافة بان الكتلة الحيوية البكتيرية Bacterial biomass تتحلل بسرعة كبيرة ، لذا فان موضوع طرح فكرة المنافسة المباشرة ما بين الأحياء المجهرية والنبات غير محتملة الحدوث فان ما توفره من فسفور لا يكون ذو أهمية كبيرة لنمو النباتات الراقية .

ومن الآراء المطروحة حول دور الأحياء المجهرية والجذور النباتية في تغير جاهزية الفسفور فكرة قدرة أحياء التربة المجهرية في تغير صفات الجذور الامتصاصية ، والمقصود هنا طول وعدد الشعيرات الجذرية و تأثيرهما على كفاءة الجذور لامتصاص العناصر، ومن الباحثين الذين درسوا هذه الفكرة Barber و Martin ، (1976) عند تفحصهم تحرر المواد العضوية من جذور محاصيل الحبوب ، ثم ذكروا بان هناك شك في إمكانية قيام البكتريا بصورة مباشرة في إحداث تغيرات في صفات الجذور وكفاءتها الامتصاصية للفسفور خاصة في تجارب الامتصاص قصيرة الأمد short time study وان مثل هذه التغيرات ممكن إن تحدث خلال فترات زمنية طويلة وهذا يعني حدوث تغير بمعدل النمو النسبي للنبات أو حدوث تغير في تركيبه المعدني وهو ما معروف بموجب المعادلة المقترحة من قبل Nye و Tinker ، (1977) وهي :

$$I = W / L \cdot P \cdot R_w$$

عندما I يمثل الامتصاص ، W = الوزن الجاف للجذور ، L = طول الجذور ،

P = محتوى العنصر ، R_w = معدل النمو النسبي ، وعلية فان أي تأثير على معدل نمو النبات أو على احد مكوناته يمكن إن نلاحظ على انه تغير في الطلب على العنصر وهذا يعني التأثيرات على عمليات امتصاص العنصر .

إن جميع هذه الآراء المطروحة تبين وبوضوح مدى الاختلافات في تفسير النتائج وتؤكد حقيقة علمية مفادها إن هناك أكثر من آلية تعمل منفردة أو معا تؤثر على تغير جاهزية الفسفور بفعل الأحياء المجهرية في التربة أو جذور النباتات . وسوف نتناول طرح ثلاث آليات نجدها تشمل اغلب الأفكار المطروحة حول الموضوع وهي :

1- الآلية الأولى : لقد اقترح Barber وآخرون ، (1968) إن تحرر الفسفور من فوسفات الكالسيوم و الألمنيوم والحديد غير الذائبة قد ازداد من خلال تكوين مركبات معقدة ذائبة ما بين هذه الايونات الفلزية ونواتج العمليات الايضية metabolite وهذه إما أن تكون من الأحياء المجهرية في التربة في منطقة نشاطها الفعال الرايزوسفير أو تكون من اصل نباتي مفرز من الشعيرات الجذرية في التربة . في هذه الآلية نجد إن Barber قد اخذ بافرازات الجذور النباتية والإفرازات من الأحياء المجهرية في التربة ولم يضع أي نوع من المفاضلة ما بين الاثنين ولم يعطي هذا المقترح كيف يحدث التغير في الجاهزية عند استخدام المزارع المعقمة وغياب دور أحياء التربة المجهرية .

2- الآلية الثانية : يعتبر Nagorajak وآخرون،(1970) دعاء هذه الآلية حيث ذكروا ان الأحماض العضوية والتي تم تقديرها في تحليلات إفرازات الجذور exudates قادرة على تكوين معقدات امتزاز adsorption complexes وخصوصا كمواد خالبة وهي فعالة جدا في المنافسة على امتزاز الفسفور من قبل معادن الطين بلاخص معادن الـ Kaolinite و اكاسيد الحديد ولكن درجة المنافسة لهذه المواد الخالبة اقل

نوعا ما من قبل معدن goethite . ثم أضافوا بان جذور النباتات تنتج مثل هذه المواد الخالبة وهي قد تساهم في تحقيق الفائدة من صخر الفوسفات كمصدر للفسفور . هذه الآلية أكدت تواجد مثل هذه المواد من مصدرين هما : أحياء التربة المجهرية وجذور النباتات وقد برزت أهمية إفرازات الأحياء المجهرية .

3- الآلية الثالثة : هذه الآلية تقترح إن التأثير يأتي من خلال إحداث تغير في رقم تفاعل التربة في منطقة الرايزوسفير ، حيث يلاحظ إن عندما يزداد امتصاص الكاتيونات على حساب امتصاص الانيونات فان رقم تفاعل (pH) منطقة الرايزوسفير يميل باتجاه الحامضية . إن مثل هذا التغير في رقم الـ pH في الرايزوسفير قد يؤثر بدرجة كبيرة في زيادة أو نقصان جاهزية الفوسفات ، ومما يدعم هذه الآلية هو بان الأنواع النباتية تختلف فيما بينها في قدرتها في الحصول على الفوسفات من التربة وان هذه الاختلافات قد تعزى إلى اختلاف قدرة الأنواع النباتية في إحداث التغير برقم التفاعل في منطقة الرايزوسفير ، وتأكيدا لهذه الآلية أيضا إن حجم الجذور يلعب دورا مهما في إحداث التغير في جاهزية الفسفور حيث لوحظ إن نباتات الحنطة والتي جعلت منطقة الرايزوسفير أكثر حامضية وامتصت اكبر كمية من الفوسفات كانت تمتلك بنفس الوقت اكبر مجموع جذري من باقي النباتات قيد الدراسة .

الأحماض المحتملة في إفرازات الجذور

لقد أشارت الآليات الخاصة بتغير جاهزية الفسفور ان إفرازات الجذور لها دور هام في إحداث هذه التغيرات ، وقد اقترح عدد من الباحثين بان هذه الإفرازات تغير البيئة الكيماوية لمنطقة الرايزوسفير بطريقة يستفاد منها النبات وان الاحتمال الأكثر قبولاً ان مجموعة الأحماض العضوية تزيح الفوسفات من مواقع الادمصاص في التربة او تكون مواد مخلبية ذائبة مع بعض العناصر مثل الفسفور والعناصر الصغرى وبذلك تزيد تراكيز هذه العناصر في محلول التربة . ان مثل هذه المركبات العضوية قد تكون

إفرازات جذرية مباشرة او نواتج للأحياء المجهرية تكونت من تمثيل إفرازات الجذور .
إن أكثر المركبات قدرة في إزاحة الفوسفات هي الأحماض التالية :

- 1- حامض الكربوكسلك Carboxylic acid
- 2- حامض هيدروكسي كربوكسلك hydroxy - Carboxylic acid
- 3- حامض الستريك citric acid

هذه الطائفة من الأحماض قوية في منافستها لإزاحة الفوسفات. إن تحاليل افرازات الجذور قد اظهرت بان مجموعة الـ polybasic acids تشكل أكثر من نصف الكمية الكلية لإفرازات الجذور وان هذه الأحماض تتحرك ببطء شديد في التربة البعيدة عن الجذور ولكنها جدا فعالة ضمن اسطوانة حبيبات التربة المحيطة بالجذر وان أعلى فعالية لها ضمن الشعيرات الجذرية وهي التي تقوم بنقلها من محور الجذر الرئيسي root axis الجدول (1-3) .

جدول 3-1: المواد المتحررة من جذور الأشجار ملغرام / غرام وزن جاف في عشرة أيام (Smith ، 1969).

Pinus species			
Compound	Monterey radiata	Sugar lambetiana	Black locust Robinla pseudoacacia
Acetic acid	31	34	15.4
Glycolic acid	1.6	-	-
Malonic acid	-	1	1.4
Oxalic acid	56	21	1.4
Sucinic acid	-	0.3	1.4
Carbohydrates	3.6	3.5	2
Amino acids and amids	41	31	10
Root length (cm .mg ⁻¹)	1.1	0.6	1.2

العلاقة بين طريقة العد وأعداد أحياء التربة المجهرية وأثرهما في تغير جاهزية العناصر .

لقد أثبتت الدراسات إن جميع الجذور النباتية وتحت الظروف الطبيعية تحتوي على أعداد كبيرة من أحياء التربة المجهرية وهي عادة ما تكون على السطوح الخارجية للجذور وتعرف هذه المنطقة (rhizoplane) وكذلك على غشاء التربة الرقيق المجاور والملاصق إلى سطوح الجذور والذي يعرف (rhizospher). إن انواع أحياء التربة المجهرية في منطقة الرايزوسفير لا تختلف كثيرا عن انواعها في جسم التربة Bulk

soil ، إلا إن أعداد هذه الأحياء المجهرية في منطقة الرايزوسفير اكبر بكثير من تلك الأعداد من أحياء التربة المجهرية المتواجدة في الـ Bulk soil . إن الزيادة النسبية في أعداد أحياء التربة المجهرية عادة ما يعبر عنها R/S حيث تكون قيم R و S ممثلة لأعداد أحياء التربة المجهرية في غرام واحد من التربة مأخوذ من منطقة الرايزوسفير إلى أعداد أحياء التربة المجهرية من Bulk soil .

إن الطريقة المستخدمة في حساب الأحياء المجهرية تؤثر بدرجة كبيرة على أعداد الأحياء المجهرية وغالبا ما تكون ارقام الاعداد للأحياء المجهرية مؤلفة من تلك الموجودة في الرايزوسفير وتلك الموجودة في الرايزوبلين ويتعارف على تسميتها Root surface microorganisms ، وكذلك فإن أرقام أعداد أحياء التربة المجهرية والتي يستحصل عليها بواسطة التخفيف Dilution method أو بواسطة عد الأطباق plate a counting هي الأخرى مختلفة . وقد أشارت الدراسات إن استخدام طريقة العد المباشر Direct counting techniques تعطي أعداد عالية من أحياء التربة المجهرية في حين تسجل أرقام منخفضة عند حساب نسبة R/S . ولذا فإن أعداد الأحياء المجهرية والمنشورة في المراجع العلمية مختلفة بدرجة كبيرة. وقد وجد إن الحالة الأكثر واقعية لأعداد أحياء التربة المجهرية هي تلك المحسوبة في جذور بادرات نبات الترمس lupin وباستخدام plate counting (الجدول 2-3) حيث يتضح من الجدول بان أعداد الفطريات لا تزيد بنفس الدرجة التي تزداد بها أعداد البكتريا ولكن أعداد الفطريات التعايشية وغير التعايشية كانت متماثلة إلى درجة مقبولة جدا .

جدول 2-3 : أعداد الأحياء المجهرية متواجدة بمسافات مختلفة من الجذر لبادرات

نبات الترمس وقد استخدمت طريقة عد الأطباق plate count .

المسافة من الجذر ملي متر	الأحياء المجهرية (1000 / غرام من التربة الجافة بالفرن)			الفطريات / غرام من التربة الجافة بالفرن		
	Bacteria	Strepto- mycetes	Fungi	Aspergill- usustus	Cylinadroc- arpon radicicola	Paecilomyc- es Marguandil
* صفر	159000	46700	355	5650	4940	9000
صفر - 3	49000	15500	176	3360	صفر	2800
3 - 6	38000	11400	170	2920	صفر	1600
9 - 12	37400	11800	130	2880	صفر	1500
15 - 18	34170	15100	117	2270	صفر	صفر
** 80	27300	9100	91	1000	صفر	صفر

* Rhizospher

**control soil

إن إعداد أحياء التربة المجهرية تؤثر بشكل كبير على جاهزية العناصر الغذائية خصوصا في منطقتي الـ rhizospher و rhizoplan وخاصة العناصر محدودة الحركة في التربة مثل عنصر الفسفور وبعض العناصر الصغرى . وقد اقترح Nye و Tinker (1977) خمسة آليات تقوم أحياء التربة المجهرية منفردة أو مجتمعة في التأثير على نمو النبات عبر تأثيرها على جاهزية العناصر . ولو إننا نرى إن هذه الآليات قد طرحت من قبل باحثين آخرين في بداية الفصل وكانت نتائج بحوثهم متضمنة لأكثر من آلية مقترحة هنا ومع ذلك نجد من المفيد ذكرها في هذا السياق من الموضوع وهي :

- 1- التغيرات في المظهر الخارجي أو صفات النظام الجذري أو الجذر المنفرد .
 - 2- التغيرات التي تطرأ في طور الموازنة للعناصر الغذائية كان تصلح (أكثر سهولة في امتصاصها أو أكثر انتقالا إلى الجذر من خلال تغير رقم التفاعل أو الأكسدة والاختزال أو المواد الخالصة)
 - 3- تغير التركيب الكيميائي للتربة مثل (معدنة المادة العضوية أو التحولات العكسية لمعادن الطين) .
 - 4- عمليات التعايش التكافلي ونقل العنصر مباشرة إلى النبات بواسطة أحياء التربة المجهرية .
 - 5- حجز سطح الجذر أو الدخول في المنافسة على مواقع السطح من قبل الأحياء المجهرية .
- إن جميع هذه الآليات مقترحة وليست استنتاجات ثابتة .

إن دور أحياء التربة المجهرية في التأثير على جاهزية العناصر (خصوصا عنصري النتروجين والفسفور) كبيرا ومهما بالإضافة لتأثيرات هذه الأحياء على فسلفة النبات وما يمكن أن تلعبه من دور بالغ الأهمية في مساعدة النبات على العيش بظروف غير ملائمة مثل التعرض للشدود الرطوبة أو تأثير الأملاح أو الموازنة الهرمونية أو خلق نوع من المقاومة الحيوية ضد بعض المسببات المرضية . فهي تستطيع إحداث تغيرات في المظهر الخارجي للنظام الجذري ككل والشعيرات الجذرية ، وقد اقترح Brown (1972) بان هذه التغيرات ربما تحدث بفعل انتاج ايض الهرمونات النباتية Growth hormones مما ينتج عن ذلك اختلافات في امتصاص العناصر الغذائية . ولكن لا بد من الإشارة ان مثل هذا الاستنتاج يحتاج الى دراسات معمقة قبل اقراره بصيغة نهائية وقد طرحت بدائل عن دور البكتريا في امتصاص العناصر وان هذا التأثير هو تأثيرا مباشرا حيث يحدث نوع من المنافسة بين البكتريا والعناصر الغذائية خاصة في تراكيز المحلول المنخفض مما يجعل البكتريا قد شغلت

جميع المواقع على سطح الجذور ، ان هذا المقترح ايضا يبدو قليل الاحتمالية اذا ما قورنت مع نتائج (Barber و Rovira ، (1975) والذي وجد ان (7-13%) من سطوح الجذر كانت مغطاة بواسطة البكتريا والفطريات فقط في الانواع من الحشائش . ان المنافسة المباشرة لدور الاحياء المجهرية قد تكون ملائمة لتفسير نتائج Barber ، (1969) عند مقارنة كمية الفسفور الممتص من قبل نباتات الشعير حيث وجد ان النباتات المعقمة تفوق النباتات غير المعقمة في التراكيز المنخفضة في الوسط ، ولكن الصعوبة تكمن في معرفة كم من البكتريا قد فقد من الجذر في منطقة الـ Rhizoplane وكم هي الأعداد المتبقية على الجذور ومن هي الكمية التي تضمنت عند إجراء التحاليل إن مثل هذه التساؤلات المطروحة تجعل من قبول آلية المنافسة المباشرة للبكتريا على سطوح الجذور موضع شك وعدم قبول كلي. ، والجدول (3-3) يظهر بان نباتات الشعير غير المعقمة قد اظهرت كمية اتحاد عالية للفسفور في كل من الفوسفوليبيد phospholipid والأحماض النووية . وعليه يمكن القول إن البكتريا تؤثر على امتصاص العناصر بدرجة عالية ولكن أصل ومدى هذا التأثير لا يزال غير محدد تماما .

جدول 3-3: تأثير الأحياء المجهرية على امتصاص الفسفور من قبل بادرات الشعير بأعمار مختلفة عندما كان مصدر الفسفور KH_2Po_4 بتركيز 0.005 ملي مول (Barber و Rovira ، 1975) .

12		8		6		العمر (يوم)
غير معقمة	معقمة	غير معقمة	معقمة	غير معقمة	معقمة	حالة النبات
الجزور						
8.8	10.4	6.7	7.5	5.5	6.0	الوزن الجاف (ملغم)
908	584	1004	631	1045	559	الفسفور الممتص (P) مول/ ملغم وزن رطب (
القمة						
26.9	27.0	19.6	17.5	15.1	13.2	الوزن الجاف (ملغرام)
12	15	31	21	40	19	الفسفور الممتص (P) مول/ ملغم وزن جاف (
8.33	6.51	7.23	5.06	6.34	3.64	الكمية الكلية للفسفور الممتص (نومول)
3.8	6.2	8.3	7.3	9.1	7.0	النسبة في القمة

إن ما تستطيع تحقيقه التطبيقات العملية للمخصبات الحيوية لا يقتصر على توفير عنصر أو عناصر معينة في وسط النمو في حالة جاهزة للامتصاص من قبل النظام الجذري للنبات ، فحسب وإنما قد تؤثر بشكل فعال في التأثير على عمليات النمو و الإنتاج كما ونوعا وكذلك تقلل من الأضرار الناتجة من الاستخدامات المفرطة من الأسمدة الكيماوية مما يؤثر سلبا على صحة الإنسان وتلوث البيئة . إلا إن استخدام هذا النوع من المخصبات الحيوية يجب أن يكون مدروسا بعناية فائقة وخاضعا للمراقبة المستمرة من حيث خلوها من مسببات المرضية حتى تحقق الهدف من استخدامها في الزراعة الحديثة . إن استخدامات المخصبات الحيوية قد يكون سببا في نشر الأمراض

النباتية الوبائية في حالة غياب التدقيق والمراقبة المستمرة ، ونظرا لأهمية الدراسات المنشورة حول مواضيع أحياء التربة المجهرية في زيادة الإنتاج فإننا سوف نتناول في الفصول القادمة من الكتاب الحديث عن أحياء التربة المجهرية المسؤولة عن جاهزية النتروجين وهي بكتريا الرايزوبيا Rhizobium وأحياء التربة حرة المعيشة Free living – microorganism والطحالب الخضراء المزرققة ثم نتكلم بصورة مفصلة عن أهمية فطريات المايكورايزا الداخلية في الزراعة الحديثة وعلاقتها بفسفور التربة وفسلجة النبات ثم نتطرق إلى بعض الأحياء ذات القيمة الاقتصادية في الزراعة الحديثة منها البكتريا المذيبة للفسفور والبوتاسيوم .

الفصل الرابع

أحياء المجهرية المثبتة للنتروجين الجوي

مقدمة

هذه المنظومة الاحيائية تشتمل على نوعين رئيسيين من الاحياء :

اولا : أحياء مثبتة للنتروجين تعايشيا

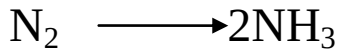
ثانيا : أحياء مثبتة للنتروجين غير التعايشية او الترافقية

وسوف نتكلم بالتفصيل عن كل الاحياء ضمن هذه المنظومة مبينين صفاتها ومناطق

تواجدها ودورها في تعظيم الانتاج النباتي وطرق تحضير اللقاحات واستخداماتها التطبيقية .

أحياء مثبتة للنتروجين تعايشيا Symbiotic nitrogen fixation

تعد بكتريا الرايزوبيا من اكثر انواع هذه المنظومة وقد تناول دراستها عدد كبير من الباحثين، إن أهمية بكتريا الـ *Rhizobium* كأحد أنواع المخصبات الحيوية يكمن في دورها الكبير في تثبيت النتروجين عند تعايشها تكافليا مع أفراد العائلة البقولية . إن ما يثبت من نتروجين حيويا يقدر ما يقارب من 17.2×10^7 طن سنويا ، أما ما يثبت من النتروجين الجوي صناعيا فهو يبلغ 5×10^7 طن سنويا ، هذا يعني إن أحياء التربة تستطيع إن تثبت من النتروجين بالطرق الحيوية ما يقارب 3-4 مرات أكثر من تثبيت النتروجين صناعيا . ويكون لبكتريا العقد الجذرية الحظ الأوفر في المشاركة في تثبيت النتروجين حيويا على باقي أنواع أحياء التربة . إن تحولات النتروجين الجوي N_2 إلى NH_3 أو NO_3 أو غيرهما من أشكال النتروجين والتي يستفاد منها النبات كعناصر معدنية تحدث إما بطريقة الاختزال إلى امونيا NH_3 أو بطريقة الأكسدة إلى نترات وان هذا النوع من التحولات يحتاج إلى صرف طاقة كبيرة ، ولابد من الإشارة إلى إن تثبيت النتروجين حيويا أو صناعيا يكون ضمن التفاعل الآتي :



وهو التفاعل السائد ضمن عمليات تثبيت النتروجين . إن الطلب المستمر على الأسمدة النتروجينية والتكاليف الباهظة في توفير مصادر الطاقة خلق اهتمام واسع وكبير من قبل الباحثين للتفكير جديا باتجاه مصادر بديلة أو مكملة لسد الطلب على الأسمدة النتروجينية من استخدامات المخصبات الحيوية بلاضافة إلى توجهات العالم في المحافظة على عدم تلوث البيئة من مصادر مختلفة منها على سبيل المثال النترات واليوريا وتأثيرهما على الصحة العامة ، ولذا فان استخدامات تقنية المخصبات الحيوية لسد حاجة النبات من عنصر النتروجين جعل من بكتريا الـ *Rhizobium* من بين أحياء التربة الأخرى إن تكون في المرتبة الأولى من حيث إمكانية التطبيق والكمية المضافة من النتروجين وتحسين أداء المحاصيل البقلية ذات الاستخدامات الواسعة للإنسان والحيوان . وفي هذا الفصل سوف نتكلم مفصلا عن بكتريا الـ *Rhizobium* وأهميتها في تثبيت النتروجين حيويا .

1- صفات بكتريا الـ *Rhizobium*

إن أهم الأجناس التي تثبت النتروجين بصورة تكافلية هو جنس الرايزوبيوم *Rhizobium* وهي تنتمي إلى عائلة *Rhizobiaceae* ولها القدرة على تكوين عقد جذرية على جذور النباتات البقلية (الشكل 4-1) هذه البكتريا تصنف بأنها صغيرة إلى متوسطة الحجم وبقياسات (0.5 إلى 0.9 × 1.2 إلى 3.0) مايكروميتر ، وهي عبارة عن خلايا عصوية سالبة لصبغة كرام ، لا تكون سبورات ، متحركة وعادة ما تتحرك بواسطة الاسواط من نوع *peritrichous* أو *singl flagellum* ، تبدو في التربة ظاهرة على شكل عصيات *rods* أو كريات *cocci* مع أو بدون اسواط وهي متغيرة مع تغير الظروف المحيطة وهذا التغير من احد مكونات حياتها . وكون الـ *Rhizobium* هوائية المعيشة *Aerobic hetrotroph* فهي تنمو بسهولة في الأوساط الغذائية

وتستخدم مصادر من الكربون العضوي مثل المانتول والكلوكوز ومصدرا نتروجينا كالامونيا والنترات ، أما في حالة خلو الوسط من أي مصدر نتروجيني فإنها تستخدم النتروجين الجوي وعادة ما تستخدم وسط Actidione للأوساط لمنع التلوث بالفطريات أو congo red ويمتاز بان امتصاصه بطيئا مما يساعد في حدوث التسطح . تنمو هذه البكتريا على شكل مستعمرات شفافة مخاطية يتحول لونها بالتدرج إلى اللون الأبيض (راجع طريقة عزل بكتريا الرايزوبيوم من هذا الفصل) .

تحتاج الرايزوبيوم كميات قليلة جدا من الكالسيوم ، المغنسيوم ، الزنك والكوبلت وهي متحملة جيدة للتراكيز العالية من الكروم والمنغنيز (سوف نناقش احتياجاتها الغذائية في جزء اخر من الكتاب) . تعيش الرايزوبيوم في درجات الحرارة المنخفضة ويمكن إن تجمد بطريقة التجميد الجاف ولكنها غالبا ما تقتل وخلال ساعات عند ارتفاع درجة الحرارة إلى (50 م⁰) أو الجفاف . تعتبر الرايزوبيوم حساسة جدا للمضادات البكتيرية أو مواد مكافحة الأدغال أو المواد المضادة للفطريات fungicides أو المواد المعقمة Soil fumigant . إن الوسط الملائم لهذه الأحياء المجهرية هو الوسط المتعادل أو الحموضة الخفيفة ، اغلب السلالات تنتج حامضا في وسط النمو كما تنتج بعض مواد النمو مثل مشتقات الاندول indol derivative والساييتوكاينين cytokinin وكميات قليلة جدا من حامض الجبرلين ، إلا إن هذه المواد تنتج في العقد الجذرية بكمية اكبر مما في أوساط النمو . بعض السلالات تفرز فيتامينات B وكذلك بعض المواد المسببة للذبول كما تنتج مركبات Bacteriocins و porphyrins كما تنتج بعض الأنواع من السكريات المتعددة على شكل اصماغ وتسمى extracellular polysaccharide gums وهي مختلفة فيما بين السلالات من حيث التركيب ، وكذلك تنتج الـ cellulose fibrils .

أما حركة بكتريا الـ *Rhizobium* في التربة فإنها محكومة إلى درجة كبيرة بدرجة رطوبة التربة حيث تتوقف عن الحركة عندما يكون غشاء الماء الرقيق ما بين حبيبات التربة والفراغات غير متصلا وتظهر هذه الحركة عند تعرض التربة لحالات الشد الرطوبي ، أما سرعة الحركة فهي (2 - 20 مايكروميتر/ساعة) عند أحسن مستوى من الرطوبة في الرمل أو التربة .



شكل 4-1 : العقد الجذرية على جذور النباتات البقلية

2- تصنيف ووراثة بكتريا الرايزوبيوم

إن عدد وحجم المصادر العلمية والتي تعرضت لدراسة بكتريا الرايزوبيوم يعتبر كبيرا مقارنة بأحياء التربة الأخرى . لقد عزل الـ *Rhizobium* عام 1888 على أساس إنها *Bacillus radicicola* . إن علماء الأحياء المجهرية يختلفون في أسس تصنيف هذه البكتريا ، فهناك مجموعة من الباحثين يؤكدون في تصنيفهم لها على قدرتها في تكوين حالة التعايش التكافلي مع النباتات البقلية ، بينما نجد آخرين لا

يضعون هذه الصفة في مقدمة تصنيفها . إن تصنيف بكتريا الرايزوبيوم على أساس العائل النباتي المضيف host- based classification تقسم إلى جنس واحد وستة أنواع وهي مبينة في الجدول (1-4) .

جدول 1-4 : يبين تصنيف بكتريا الرايزوبيوم حسب العائل النباتي .

أنواع الرايزوبيا Rhizobium	المجاميع النباتية التي تصاب بها	اسم من عزلها
<i>R.leguminosarum</i>	مجموعة البازلاء Pea	Frank
<i>R. trifolii</i>	مجموعة البرسيم Clover	Dang
<i>R. meliloti</i>	مجموعة الجت Alfalfa	Dang
<i>R. lupine</i>	مجموعة الترمس Lupin	Schrod
<i>R. phaseoli</i>	مجموعة الفاصوليا Bean	Dang
<i>R. japonicum</i>	مجموعة فول الصويا Soybean	Kirch

ان تقسيم بكتريا الرايزوبيوم الى مجاميع حسب العائل النباتي الذي تصيبه يعتبر غير ناجح تماما وذلك لاحتمالية حدوث الاصابة من قبل نوع معين لأكثر من عائل نباتي ضمن مجاميع نباتية أخرى ، الا انه التقسيم الأكثر انتشارا . هناك ما يقارب (25) مجموعة نباتية الا ان الذي درست ستة مجاميع منها بصورة مفصلة وكما موضحة في الجدول أعلاه .

لقد اعتمد الباحثين على أسس مختلفة للتمييز بين المجاميع منها على سبيل المثال الاعتماد على عمر الجيل Generation time أو مقدار إنتاجها للحموضة وعدد الاسواط وترتيبها ، فمثلا الأنواع الأربعة الآتية :

R. phaseoli -1

R. leguminosarum -2

R. meliloti -3

R. trifolii -4

تمتلك عمر جيل ما بين (2 - 4) ساعات وتكون منتجة للأحماض في وسط النمو وهي تتحرك بواسطة (2- 6) اسواط محيطية . أما عمر الجيل للأنواع الأخرى وهي : *R. japonicum* و *R. lupine* بين (6 - 8) ساعات ويجعلان الوسط قلويا ويتحركان بسوط واحد طرفي .

وكذلك فقد اعتمد عدد من الباحثين على الدراسات الوراثية حيث سلطت هذه الدراسات الضوء على تصنيف بكتريا الرايزوبيوم وكذلك على آليات انتقال ألجين Gene transfer، فلقد أظهرت الدراسات على الـ *Rhizobium* و *Agrobacterium* وباستخدام ثلاثة طرق لتهجين الحامض النووي بان النوع *R. trifolii* و *R. leguminosarum* يمكن التمييز بينهما بواسطة تهجين الـ DNA وهو DNA hybridization بينما *R. meliloti* و *R. phaseoli* أظهرت وجود علاقة بينهما ، كذلك فان نسبة فاعلية تحلل الـ DNA وتهجين الـ DNA أظهرت بان *Agrobacterium tumifaciens* متقاربة جدا للبكتريا *R. leguminosarum* ، واعتمادا على صبغة Carotenoid pigment وعلى نسبة Deoxyribonucleic acid وجد إن العقد البكتيرية لنباتات المراعي الاستوائية *Lotononis bainesii* تختلف بدرجة كبيرة من أنواع أخرى من الرايزوبيوم وإنها تحتوي نسبة عالية غير طبيعية من مادتي (Cytosine + Gauanine) هذا ولم تقتصر دراسة العلماء باستخدام الدراسات الوراثية على تصنيف الرايزوبيوم بل تمكنوا من تطبيق تقنيات الجينات الميكروبية والبايولوجيا الجزيئية moleoularbiology على الدراسات المتعلقة بتثبيت النتروجين حيويا . فقد تمكن العالم Streicher وآخرون، (1971) من إثبات إن الـ Coliphage P₁ يمكن أن يتكاثر في الـ *Klebsiella pneumonia* M5a 1 وهي بكتريا مثبتة للنتروجين ، وان ذلك يؤدي الى تحفيز تكوين الجينات المثبتة للنتروجين . ومن المؤمل زيادة تثبيت النتروجين تكافليا بين النبات والرايزوبيوم بمساعدة الجينات بما يؤدي الى

ازدياد أهمية المخصبات الحيوية في زيادة انتاج المحاصيل . لقد اختلف الباحثين حول وجود الجين المتحكم في تثبيت النتروجين وقد اعتقد البعض انه يوجد في النباتات البقلية واعتقد البعض الاخر انه موجود في بكتريا الرايزوبيوم . الا انه في عام 1975 اعلن عدد من الباحثين ان بعض انواع من الرايزوبيوم البطيئة النمو اظهرت فعالية انزيم النتروجيناز nitrogenase عندما نمت كمزرعة بكتيرية نقية مما يشير الى ان الجينات المسؤولة عن تثبيت النتروجين موجودة في البكتريا وليس في النبات المضيف . وفي مجال الهندسة الوراثية Genetic engineering تم نقل جينات تثبيت النتروجين من بكتريا *Klebsiella pneumonia* الى بكتريا *Escherichia coli* والتي عادة لا تثبت النتروجين .

3- بيئة الرايزوبيوم في الرايزوسفير *Rhizobium ecology*

بكتريا الرايزوبيوم من أحياء التربة المجهرية المميزة في هذه المنطقة حيث تتكاثر على سطح الجذر والمناطق المحيطة بالجذر وكذلك في طبقة المادة الهلامية الـ Mucigel لجذور النباتات البقلية وغير البقلية . ان الأنواع والسلالات المختلفة من بكتريا الرايزوبيوم تتحفز بدرجة قليلة ومتباينة بالعائل النباتي الذي تصيبه ويكون التحفيز في أعلى درجاته في أماكن تفرع الجذور الجانبية وعادة ما تمتد إلى (10-20 سم) من سطح الجذر في التربة وهي تختلف حسب المواسم ولكنها قليلة التأثير بدرجة الحرارة ، الضوء ، التسميد الورقي . وهناك أحياء تربة أخرى تشارك في هذا التحفيز خاصة في منطقة الرايزوسفير ولكن تعتبر البكتريا السالبة لملون كرام الهوائية أكثرها مشاركة في هذا التحفيز . كذلك فان الفطريات والأحياء المحللة لمادة السليلوز تشارك في هذا التحفيز. إلا إن البكتريا اللاهوائية وأنواع الاكتينومايسيتس Actinomycetes لا تؤثر كثيرا في عملية تحفيز بكتريا الرايزوبيوم في منطقة الرايزوسفير.

إن زيادة نمو الرايزوبيوم في منطقة الرايزوسفير هي استجابة لنضوح العناصر الغذائية وإفرازات الجذور وما تحتويه من مركبات مثل مصادر الطاقة من السكريات والكربوهيدرات والأحماض الامينية ومنظمات النمو وكذلك مجموعة فيتامين B والأنزيمات . إن الاستجابة في نمو بكتريا الرايزوبيوم في منطقة الرايزوسفير هو بفعل خليط معقد من المواد المعروفة في إفرازات الجذور (راجع الفصل الأول) ، فلقد أشار Rovira (1956) بأنه لم يستطع تحقيق تحفيز بكتريا الرايزوبيوم وذلك من خلال إبدال خليط إفرازات الجذور باستخدام خليط من الكلوكوز ومستخلص التربة والأحماض الامينية ومنظمات النمو التي متعارف على وجودها في إفرازات الجذور . Root exudate .

4- تأثير حامضية وقلوية التربة ومحتواها من الأملاح على الرايزوبيوم

إن أنواع وسلالات الرايزوبيوم يختلف تأثيرها بحامضية أو قلوية ظروف التربة . معظم السلالات من *R. trifolii* لا تنمو عند رقم تفاعل اقل من (5) أو أعلى من (7) ولكن السلالة *R. meliloti* تستطيع إن تتحمل ولفترة محدودة رقم تفاعل اقل من (3.5) وأعلى رقم (8.7). وعلى ما يبدو إن كل من *R. meliloti* و *R. leguminosarum* اقل حساسية للظروف القلوية مما هو في *R. japonicum* . إن النوع *R. trifolii* تستطيع ان تتحمل رقم التفاعل المنخفض (3.5) وان صفاتها تبقى لا تتغير حتى ولو بقيت ضمن هذا الرقم لمدة طويلة . لقد درس نوعين من بكتريا الرايزوبيوم هما *R. trifolii* و *R. leguminosarum* في ثلاثة أنواع من الترب وتحت نظام زراعي مكثف حيث استلمت هذه الترب معاملات كيميائية مختلفة والتي تضمنت إضافة الكبريت ، الكبريتات أو الكربونات ولمدة 40 سنة والذي خلالها تغير تركيز الملح ورقم التفاعل بين (4.8 - 8) وقد وجد إن هذين النوعين من بكتريا الرايزوبيوم قليلة التواجد جدا .

لقد أظهرت الدراسات إن بكتريا الرايزوبيوم غير متحملة للملوحة خاصة المتأتية من تركيز ملح بيكاربونات الصوديوم عند تركيز 0.4 % ، ان كل من ايونات البوتاسيوم والصوديوم والكبريتات والكلور اقل ضررا وان كلوريد الصوديوم اقل ضررا من أملاح سلفات الصوديوم او كلوريد البوتاسيوم . فلقد انخفض نمو الـ *R. japonicum* بشدة عندما كان وسط النمو يحتوي على كلوريد الصوديوم بتركيز 0.008 مول وقد توقف النمو عند تركيز 0.16 مول من نفس الملح, إن تأثير الأسمدة النتروجينية اقل ضررا لبكتريا الرايزوبيوم من أملاح كلوريد الصوديوم ، وضمن هذا السياق فلقد وجد Bhardwaj ، (1972) بان السلالات من *Sesbania cannabina* والتي نمت في الترب الملحية القلوية أكثر تحملا لمثل هذه الظروف من السلالات في الترب الاعتيادية . كما وجد بان بكتريا *R. meliloti* أكثر تحملا للملوحة من مضيف هذه البكتريا .

5- تأثير درجة الحرارة والرطوبة على الرايزوبيوم

في تجارب الترب المعقمة والتي تتعرض لعملية التجفيف البطيء فان بكتريا الرايزوبيوم بإمكانها أن تعيد نموها بعد مرور عدة عقود من الزمن .فقد تم إعادة عزل كل من *R. meliloti* و *R. japonicum* والتي تنمو في مزارع أضيف لها 0.5 % منتول بعد مضي 45 و 19 سنة على تركها معرضة للتجفيف على التوالي . إن نسبة الرطوبة ذات تأثير على بكتريا الرايزوبيوم فلقد لوحظ ان نسبة الرطوبة 60 % أكثر ضررا على الرايزوبيوم مما لو كانت عند صفر او 20 % بالاضافة إلى إن البكتريا التي تتعرض للجفاف من المزارع ثخينة القوام Broth culture او تتعرض للجفاف ضمن أوساط عضوية تعيش لفترة قصيرة وان التعرض لأشعة الشمس يسارع في الضرر والتلف الذي يصيبها.

إن سلالات بكتريا الرايزوبيوم تختلف فيما بينها في قدرة تحملها على البقاء حية ضمن حدود معينة من الرطوبة ، حيث وجد إن بكتريا الرايزوبيوم أكثر حساسية للجفاف من بين أحياء التربة المجهرية والتي لا تكون سبورات وان اقل احتياج بحيث تبقى نشطة هو ما بين (a_w 0.993 – 0.990) وان التعرض للجفاف او الحرارة يكون أفضل من حيث معيشتها في الترب الثقيلة او العضوية مقارنة بالترب الخفيفة . ويتحسن نموها تحت مثل هذه الظروف في الترب المعاملة بمعادن المونتمورلايت او الالاييت حيث يعتقد إن الطين يتفاعل مع البكتريا وبذلك يقل فقد الماء .

6- تأثير أحياء التربة على الرايزوبيوم

إن أنواع وسلالات بكتريا الرايزوبيوم تختلف من حيث حساسيتها للمواد المضادة لنمو البكتريا ، ويعتقد إن اغلب هذه المواد من أصل ميكروبي في التربة ، وان الباحثين أشاروا إلى إن هناك أدلة علمية مؤكدة بان الرايزوبيوم تتأثر بحالة التضاد وتعتبر أحياء الاكتومايسيتس من أكثر أحياء التربة تضادا مع الرايزوبيوم حتى يصل هذا التضاد أكثر من التضاد بين أنواع أخرى من البكتريا وان هناك بعضا من الاكتومايسيس مثبتة لتكون العقد الجذرية في أفراد العائلة البقلية . وفي دراسة اختبار لاستجابة عدة سلالات من بكتريا *R. trifolii* وبصورة منفصلة ولأكثر من 1000 عزلة بكتيرية أو فطرية من منطقتي الرايزوسفير او Rhiziplane لجذور نباتات الكلوفر في جنوب إفريقيا وجد إن هناك 8% من العزلات كانت في تضاد مع الرايزوبيوم و 16% من العزلات كانت في حالة تحفيز مع الرايزوبيوم ، وفي غرب استراليا وجد ان 16% من عزلات البكتريا او الفطريات كانت في حالة تضاد مع نوع الرايزوبيوم *R. trifolii* والتي يعرف عنها بصعوبة نموها في الترب الرملية في غرب استراليا وحتى ان مستخلص الماء من هذه الأراضي كان ساما لهذا النوع من الرايزوبيوم . ومن بين أحياء التربة ذات تأثير المضاد لنمو الرايزوبيوم بالرغم إنها غير مؤثرة على جميع البكتريا السالبة لصبغة كرام ما عدا بكتريا الرايزوبيوم هي

Bacillus subtilis حيث تنتج هذه الأحياء نوع من الببتيدات المضادة وتدعى rhizobacidin ، وفي دراسة موسعة اشتملت مقارنة تأثيرات الفطريات والبكتريا في التربة على الرايزوبيوم وجد بان قسم من هذه الأحياء مفيد وإيجابي على حالة التعايش والبعض الآخر كان ضارا عند تنمية الرايزوبيوم في المزارع النقية ، ومن بين الأحياء ذات التأثير الضار او المحفز لنمو الرايزوبيوم وجد إن *Pseudomonas* و *Achromobacter* ذات تأثيرات متباينة على نمو *R. trifolii* .

من الأحياء التي تهاجم وتلتهم الرايزوبيوم والتي تظهر في اغلب الترب هي ما تسمى بالـ Bacteriophages والتي اعتقد إنها تسبب في حالات ظهور أمراض الترب في نبات lucerne وأنواع أخرى من النباتات البقلية وذلك من خلال تقليل أعداد الرايزوبيوم اللازمة لحدوث الإصابة مع العائل النباتي .

فعالية الرايزوبيوم ومعاشيتها مع النباتات البقلية Effectiveness of rhizobium – legume associations

من المواضيع المهمة في دراسة وتطبيقات بكتريا الرايزوبيوم في الزراعة الحديثة موضوع فاعلية Effectiveness هذه الأحياء وتعايشها تكافليا مع نباتات العائلة البقلية ، إن نجاح فاعلية المعاشية المرغوبة بين الرايزوبيوم وأفراد العائلة البقلية يعتمد على حساسية العائل البقلي لتكوين العقد الجذرية وعلى إحداث الإصابة بفعل سلالة strain من الرايزوبيوم ملائمة للعائل المضيف وعلى الظروف الملائمة لنمو النبات المضيف ، وإن مقياس فاعلية بكتريا الرايزوبيوم يتأثر باختلافات الأنواع النباتية البقلية وباختلاف مزارع بكتريا الرايزوبيوم وبعدد البكتريا اللازمة لأحداث الإصابة واحتياجات الرايزوبيوم من العناصر الغذائية وعمليات التمثيل الضوئي والتي يمكن أن ندرسها من خلال إنتاج المادة الجافة في النبات ، وعليه فإن اختيار نوع معين او سلالة محددة

وإدخالها ضمن برنامج التسميد الحيوي للنباتات البقلية لابد أن يأخذ بنظر الاعتبار هذه المواضيع بغية الوصول إلى الهدف المنشود من تحقيق زيادة الإنتاج .

ان المحاصيل البقلية قد تظهر كفاءة نموها بدون اضافة للأسمدة النتروجينية او الاعتماد على نتروجين التربة فقط في حالة تكون عقد جذرية فعالة عند تلقيحها بنوع مناسب وملائم من بكتريا الرايزوبيوم . ان هذه البكتريا على درجة عالية من الأهمية وهي جزء مشارك ومهم من النباتات البقلية والتي تجهز النباتات بالنتروجين بطريقة تثبيت النتروجين الجوي تكافليا. وان أي قصور في اختيار سلالة ملائمة من الرايزوبيوم سوف ينتج عنه فشل في نجاح استخدام المخصب الحيوي وكذلك فشل في نجاح إدخال وزراعة المحاصيل البقلية الجديدة . بعض المهتمين بإدخال محاصيل بقلية جديدة إلى منطقة ما لابد ان تكون أهمية تأقلم هذه المحاصيل البقلية للمنطقة وعلاقة هذا التأقلم مع تواجد او فاعلية بكتريا الرايزوبيوم مما ينتج عن ذلك فشل في نشر محاصيل بقلية جديدة . إن النباتات البقلية الطبيعية أيضا تستفاد من إضافة المخصبات الحيوية (بكتريا الرايزوبيوم) عند اختيار سلالة ملائمة .

1- حساسية العائل النباتي

ليست جميع أفراد العائلة البقلية تكون عقد جذرية ، فهناك أنواع غير قابلة على تكوين عقد جذرية مثل نبات *Cercis Canadensis redbud* او نبات شجرة القهوة الكنتانكية *Gymnocladus dioica* . وان هناك نباتات بقلية لا تكون عقد جذرية فاعلة حتى عند اختيار نوع وسلالة بكتريا الرايزوبيوم الملائمة. ان النباتات البقلية القادرة على تكوين عقد جذرية قد تصبح نباتات بقلية غير قادرة على تكوين عقد جذرية تحت ظروف معينة ، فهناك بعض الخطوط الوراثية من نباتات فول الصويا *Glycine max* وبعض البقلات ليست لها القدرة على تكوين عقد جذرية ، وعلى ما يعتقد ان السبب في ذلك يعود الى السيطرة من قبل عامل جيني بسيط ، وان هذه المقاومة من قبل نباتات فول الصويا على عدم تكوين عقد جذرية قد تنشأ بواسطة جين مفرد متتحي

asingle recessive gene يسمى سابقا (no) وحاليا اصبح يسمى (rj1). هذه الخطوط الوراثية من نباتات فول الصويا مفيدة جدا في تقديرات النتروجين الجوي المثبت بواسطة الخطوط الوراثية من نباتات فول الصويا القادر على تكوين العقد الجذرية وكذلك مفيدة في دراسة عمليات تكون العقد الجذرية ، وانه لايمكن اعتبار عمليات تثبيت النتروجين الجوي كبيرة لكون ان النباتات النامية في الأراضي الزراعية هي نباتات بقلية .

النباتات البقلية والتي يظهر نموها استجابة جيدة لاضافة الأسمدة النتروجينية قد تعاني من قصور في قابليتها لكي تكون عقد جذرية فاعلة لتثبيت النتروجين الجوي او تعاني من عدم قدرتها على الاستفادة من النتروجين المثبت في العقد الجذرية ، ولذا نجد في المراجع العلمية مصطلحات مختلفة لوصف استجابة النباتات البقلية لعملية تكون العقد الجذرية . ان النظام المستخدم في الجدول (4-2) يقارن الاستعمالات من قبل الباحثين لمجموعة المصطلحات حيث نلاحظ وبوضوح ان كلمة (effective) قد استخدمت لكي تعني قدرة كل من الرايزوبيوم والبقلات المكونة للعقد الجذرية من تثبيت النتروجين الجوي ، بينما الكلمة (infective) تصف قدرة الرايزوبيوم لكي تكون عقد جذرية ، اما كلمة (efficient) فهي تعني بكمية النتروجين الجوي المثبت لكل وحدة من كتلة العقد او احيانا لكل وحدة من الكربوهيدرات المستغلة .

ان حالة المعاشية التكافلية في العقد الجذرية تعتمد بالاساس على حالة القبول الثنائي mutual accept a bility لسلالة البكتريا والنبات المضيف . وعلى هذا فان كل درجة من الاختيارية لوجود النبات المضيف من الانواع النباتية البقلية سوف تتقبل سلالة واحدة من البكتريا. ان النظام المكون من الرايزوبيوم والعائل المضيف من النباتات البقلية والذي يكون العقد الجذرية ولكن يفشل في تجهيز كمية كافية من النتروجين للنبات المضيف يعتبر من الانظمة التي تستدعي الدراسة المعمقة في مجال المخصبات الحيوية لان المشاهدات لجذور النباتات البقلية وتكون عقد جذرية جيدة قد

تسبب في الوقوع في الخطا ان اضافة المخصب الحيوي قد يساعد في زيادة جاهزية النتروجين للنباتات وهي في الحقيقة غير ذلك ، وعلى سبيل المثال فان الصنف peking من نبات فول الصويا وعند تلقيحه بالمخصب الحيوي *R. japonicum* قد تكون عقد كبيرة الحجم مع لون وردي (احمر فاتح) ولكن ما تثبت من النتروجين الجوي كان قليلا جدا حتى ان نباتات فول الصويا قد طورت اعراض نقص النتروجين. نفس الحالة تكررت مع نباتات بقليّة رعوية هي *Trifolii subterraneum* لقحت بالمخصب الحيوي *R. trifolii* وقد كون النظام من العائل والرايزوبيوم حالة جيدة من التعايش التكافلي ولكن كمية النتروجين المثبتة كانت منخفضة جدا. وعليه فان لاجل الحصول على كمية كافية من النتروجين المثبت حيويا فانه من المهم جدا ان تختار النبات البقلي الملائم مع سلالة فاعلة وكفاءة من الرايزوبيوم عندها قد تنجح في اضافة المخصب الحيوي بهيئة بكتريا الرايزوبيوم بما يحقق كفاءة في التثبيت وتحسين في اداء المحاصيل البقلية .

جدول 4-2: وصف لاستجابة النباتات البقلية لعملية تكون العقد الجذرية

Classification	Description*
I- Non-nodulated { or Non-infective }	No nodules, no external evidence on root that nodule formation has been initiated . plants small and chlorotic symptoms typical of N deficiency .
II- Nodulated { or Infective }	Roots show that nodule formation has been initiated .
A-Ineffective	Roots bear cortical proliferation and /or small nodular-like structures with white, green or pink interiors . plant is small and chlorotic . symptoms typical of N deficiency .
B- Effective	Roots are nodulated .
1- Inefficient. { or Low Effectiveness }	Nodules have green or white interior, sometimes pink. Plant is small to medium, with degree of chlorosis depending on degree of inefficiency.
2- Efficient { or High Effectiveness }	Nodules have pink-red interior . plant is dark green and healthy in appearance .

* Description are of plants grow in N limiting medium .

2- اختيار السلالة الرايزوبية الملائمة

ان اختيار السلالة الرايزوبية الفاعلة كان من اهم المواضيع والتي اكدتها الكثير من البحوث والدراسات منذ اكتشاف العلاقة التكافلية بين بكتريا الرايزوبيوم والنباتات البقلية . ان الدراسات الوراثية والمتعلقة بالرايزوبيوم لم تستطيع الى وقتنا الحاضر من انتاج سلالة متفوقة او ما تسمى Super – strain وكذلك لم تعطينا المفتاح لكي نوشر وبوضوح عن اكبر حالة نجاح من الفاعلية وبالرغم من الكم الكبير من المعلومات الوراثية عن الرايزوبيوم بحيث لا تزال قياسات نمو النباتات وكمية النتروجين الممتص هي المعتمدة في تحديد الفاعلية وان ذلك بسبب الكثير من التداخلات ما بين العوامل الوراثية في العائل النباتي المضيف وسلالة البكتريا.

ان اهم الاعتبارات والمتضمنة اختيار سلالة فاعلة من الرايزوبيوم يمكن ان نلخصها بالنقاط التالية وهي :

- 1- السلالات المختارة من بكتريا الرايزوبيوم والتي تستعمل كمخصبات حيوية في النباتات البقلية يجب ان تكون فاعلة مع النبات المضيف .
- 2- قدرة على التكاثر multiply وتكون عقد جذرية في الحقل .
- 3- سهولة النمو لانتاج لقاحات من هذه السلالات .
- 4- قابلة للعيش على الحوامل اللقاحية Carrie وعلى البذور .
- 5- ومن النقاط المستحبة ضمن هذه السلالات ان تكون عقد جذرية كثيفة لان زيادة الكثافة من العقد الجذرية يحتاج جهد كبير لعمليات التركيب الضوئي مما قد يقلل عملية التركيب المتوفرة للمجموع الخضري وانتاج البذور جراء حالة التنافس في النبات المضيف .

ان اختبارات السلالات وفعاليتها في تثبيت النتروجين الجوي قد تبدو بسيطة حيث تعتمد على قياسات النتروجين الممتص وكمية انتاج المادة الجافة في النبات ، ولكن

هناك كثير من الامور تفقدها هذه القياسات قدرتها في اختبار السلالة ولذا غالبا ما نجد ان القياسات الحقلية ليست متطابقة دائما مع قياسات البيوت الزجاجية .

من النقاط التي تستحق دراستها بعناية سوى في اللقاحات البكتيرية او الفطرية عند استخدامها كمخصبات حيوية هي كثافة اللقاح potential of inoculum ، ان اعداد بكتريا الرايزوبيوم في اللقاحات المستخدمة قد تؤثر على كمية النتروجين الجوي المثبت في نظام الرايزوبيوم والنبات البقولي ، فلقد وجد ان استخدام نوعين من السلالات مع نباتات فول الصويا والمزروعة لمدة سبعة ايام في البيت الزجاجي بان النمو يزداد مع زيادة عدد الخلايا البكتيرية في لقاحات الرايزوبيوم بحيث يصل عدد الخلايا الرايزوبية 10^6 / بذرة . الا انه في تجارب البيوت الزجاجية يلجا الباحثين الى استخدام لقاحات رايزوبية بكميات عالية وهي في الغالب عالق مستحلب من الاكار، لذا نجد ان عامل اعداد الخلايا الرايزوبية لا يكون محددا لنجاح فاعلية السلالة ، هذه الحالة تبرز بوضوح عندما توضع اللقاحات مباشرة على البذور ، اذ ان الدرجة الحيوية للخلايا الرايزوبية منخفضة فان فاعلية السلالة البكتيرية سوف يكون مؤثرا مالم تاخذ الاحتياطات اللازمة لتأمين عدد مناسب من الخلايا الرايزوبية.

وقد اقترح بان اللقاحات التجارية والمجهزة للمزارعين لغرض الاستعمال حقليا لابد ان تحتوي بما لا يقل عن 18000 خلية رايزوبية لكل بذرة ونرى ان هذه الاعداد منخفضة خاصة في تربنا العراقية . ان اهمية جاهزية الكربوهيدرات من عملية التمثيل الضوئي لا يمكن تجاهلها بحيث يكون الضوء كافيا ومتناسقا خلال عملية الاختبارات لسلالة رايزوبية معينة بلاضافة الى اهمية تجهيز كمية كافية من غاز ثاني اوكسيد الكربون ، وضمن تاثير هذا العامل فوجد ان بادرات النباتات البقلية والمزروعة في انبوبة اختبار زجاجية قد انخفض نموها نتيجة نقص غاز ثاني اوكسيد الكربون ولم تسجل اي نوع من القياسات الدقيقة لفاعلية السلالة المستخدمة . بالاضافة لذلك فان الجو الغني بغاز ثاني اوكسيد الكربون والمحيط بنباتات فول الصويا قد زاد من معدل تثبيت

النتروجين تكافليا بمقدار 4 مرات مع زيادة مضاعفة في حجم العقد الجذرية وزيادة في فعالية ونشاط انزيم النتروجينيز لكل وحدة وزنية من العقدة. ان هذه النتائج تشير الى ان عملية التركيب الضوئي من اهم العوامل المحددة في نجاح تثبيت النتروجين حيويا وان الظروف التي تشجع نمو النبات البقلي هي الاخرى تشجع حدوث تثبيت النتروجين حيويا . وقد اقترح باهمية زيادة جاهزية غاز ثاني اوكسيد الكربون لكي تزيد شدة الجهد على عملية تثبيت النتروجين عند عمليات البحث عن السلالات الفاعلة مع بقاء العوامل الاخرى في حالة الكفاية لكي نتجنب التداخلات في النتائج المستحصلة.

ان خلو ونقاوة المزارع للسلالات تحت الاختبار تعتبر من العوامل المهمة في تحديد اخيار السلالة الفاعلة فلقد اوضحت الدراسات بانه ليست السلالة المستحصل عليها من مصادر مختلفة فقط هي التي اظهرت اختلافات ولكن عدد العزلات من نفس المزرعة قد تعطي اختلافات تصل الى 8 مرات في اوزان المادة الجافة للنباتات البقلية ، الجدول (3-4) يبين اختلافات كبيرة في حجم العقدة وكذلك في كفاءة العقدة . وان هذه النتائج تظهر وبوضوح الى اهمية الاختبارات المنتظمة لفاعلية السلالة والى خطورة استعمال مستعمرة مفردة لعدد من العزلات واعتبارها المزرعة الام mother cultur في انتاج اللقاح الرايزوبي .

جدول 3-4: نمو النبات الملقح بـ 17 مزرعة من CB756 الناتجة من مصدر واحد.

السلالة CB756	متوسط وزن العقدة* (ملغم)	متوسط وزن النبات* (ملغم)	الزيادة - ملغم عقدة (ملغم)
1	15	209	12.1
2	11	156	11.6
3	11	138	10.0
4	9	135	11.9
5	10	126	9.8
6	8	119	11.4
7	8	119	11.4
8	8	106	9.8
9	9	102	8.2
10	7	93	9.3
11	6	72	7.3
12	3	65	12.3
13	6	65	6.2
14	6	57	4.8
15	6	58	5.0
16	2	37	4.5
17	-	26	-
Uninoculated	0	28	-

*متوسط 10 مكررات .

3- عملية تلقيح النباتات البقلية

ان عملية تقييم حاجة اللقاح للنباتات البقلية مستمرة منذ زمن طويل وان العلاقات ما بين الرايزوبيوم بوجود النبات العائل عادة ما تستخدم من قبل عدد كبير من الباحثين وان الحاجة قائمة لاستخدام اللقاح الرايزوبي مع النباتات البقلية التي تزرع لأول مرة في الحقل او عند ادخال محصول بقلي لأول مرة في منطقة زراعية وان ما يزيد الحالة تعقيدا عندما يكون المحصول البقلي مزروع في المنطقة لعدة سنوات . فلقد وجد ان اجراء المسح على ثلاثة عشر حقلا معروفة بعدم زراعتها بنباتات فول الصويا وجد ان عشرة من هذه الحقول تحتوي في تربتها اقل من 10^3 خلية رايزوبيا / 1 غم من التربة . وفي دراسة مسحية اخرى لاربعة وثلاثون حقل والتي تعرف بزراعة نباتات فول الصويا في فترات سابقة وجد 3 حقول تحتوي تربتها اقل من 100 خلية بكتيرية / غم تربة وان خمسة حقول تحتوي تربتها ما بين 10^2 — 10^4 خلية بكتيرية / غم تربة وان 26 حقلا تحتوي تربتها على اكثر من 10^4 خلية بكتيرية / غم تربة ولذا فان البكتريا الموجودة في التربة والتي تسبب تكون العقد في النباتات البقلية قد تسبب في مشكلة عند محاولة ادخال سلالة من بكتريا الرايزوبيوم متفوقة superior strain.

ان الاختلافات قد تظهر على مستوى الحقل الواحد فعلى سبيل المثال لو ان هكتار واحد من اصل حقل مساحته 10 هكتارات يستجيب لاضافة اللقاح فان السؤال المهم والمطروح هو اي هكتار من هذه العشرة هكتارات هو ؟. وعليه فان المزارعين الرواد غالبا ما يلجؤون لاستخدام اللقاحات البكتيرية وذلك للتأكد بانه لا يوجد جزء من حقولهم غير مجهز بكفاية من الرايزوبيوم الفاعلة ، واضعين في حساباتهم ان كلفة اللقاح من بكتريا الرايزوبيوم غالبا ما يشكل 10/1 قيمة الزيادة المتحققة من الحاصل . ان الاداء غير الجيد بعد اضافة اللقاح قد يعزى الى اما عدم كفاية اعداد الخلايا البكتيرية من الرايزوبيوم في التربة او الى الفاعلية المنخفضة لسلالات الرايزوبيوم المتواجدة في

التربة . فقد وجد بانه من الصعوبة الحصول على استجابة في نمو نبات فول الصويا للقاح عندما تكون الرايزوبيوم في التربة اكبر من 10^3 خلية بكتيرية / 1غم تربة . الجدول (4-4) يبين ان سلالات التلقيح قد تنجح في تكوين العقد الجذرية مقابل منافستها للرايزوبيوم المستوطنة في التربة ولكن تحتاج الى اعداد كبيرة من الخلايا البكتيرية. ان عدد الرايزوبيوم لكل بذرة قد يصل 1000 مرة اكبر من اعداد الرايزوبيوم الموجودة في التربة لكي تصل الى 50 % من ما تحققه اللقاحات المضافة في عملية تكون العقد الجذرية ، وبهذا يمكن القول ما هو عدد الرايزوبيوم لكل بذرة تحتاج لتأكد من فاعلية تكون العقد الجذرية ؟ ان هذه النتائج تشير بوضوح الى اهمية اجراء المزيد من الدراسات واستخدام لقاحات ذات نوعية عالية الجودة مع اجراء اختبارات مستمرة على الرايزوبيوم المستوطنة .

من النقاط المهمة في نجاح تثبيت النتروجين حيويًا هي كمية النتروجين من الاسمدة المعدنية التي قد تضاف دفعة اولية بسيطة عند بداية مراحل نمو النبات المضيف . ان اداء الباحثين مختلفة حول الموضوع فمنهم من يقدر الكمية بحدود 30 كغم من النتروجين في الهكتار مع محصول فول الصويا والبعض الاخر قد يصل الى 220 كغم من النتروجين في الهكتار مع نباتات الفاصوليا . ان هذا الفرق الواسع بين الاضافات الاولى من جرعات الاسمدة النتروجينية قد يعزى الى عوامل بيئية او احتياجات غذائية للعائل المضيف والى شدة المنافسة عند تكون نسبة عالية من العقد الجذرية على الكربوهيدرات الواجب وصولها الى المجموع الخضري واحتياج الجذر والعقد الجذرية . ومع كل ذلك فان اضافة كميات كبيرة من الدفعات الاولى لا ينصح به لان سوف يرجح كفة القول بضرورة اضافة الاسمدة النتروجينية مع النباتات البقلية . ولقد اقترح عدد كبير من الباحثين اضافة كميات قليلة من الاسمدة النتروجينية بحدود (20 - 50 كغم نتروجين / هكتار) وذلك لمساعدة النمو الاولي والجدول (4-5) يبين اضافة

مستويات مختلفة من السماد النتروجيني على حاصل نبات فول الصويا في حالة التلقيح وعدم التلقيح بالرايزوبيوم الملائمة .

جدول 4-4 : تأثير معدلات التلقيح على عدد العقد الجذرية للرايزوبيا والسلالات الملقحة .

Initial soil soybean Rhizobia / g soil	Location 1 10^2	Location 2 10^4	Location 3 10^5
Inoculum – rhizobia / seed	Rhizosphere- rhizobia / g soil		
0	10^2	10^4	10^5
$10^2 \times 5$	10^2	10^4	10^5
$10^4 \times 5$	10^2	10^4	10^5
$10^6 \times 5$	10^3	10^4	10^5
$10^8 \times 5$	10^5	10^5	10^5
0 $10^2 \times 5$ $10^4 \times 5$ $10^6 \times 5$ $10^8 \times 5$	Nodules /plant at 30 days		
	2	8	20
	2	8	20
	2	8	20
	7	11	20
	10	12	20
0 $10^2 \times 5$ $10^4 \times 5$ $10^6 \times 5$ $10^8 \times 5$	Inoculant stain Recovery - % nodules		
	0	0	0
	10	1	0
	15	5	0
	70	40	10
	90	50	50

Liquid cultures of *R.japonicum* were applied in rows at planting with soybean seeds to cool , moist Mollisols .

جدول 4-5: اضافة مستويات مختلفة من السماد النتروجيني على حاصل نبات فول الصويا في حالة التلقيح وعدم التلقيح بالرايزوبيوم الملائمة .

مستويات النتروجين (كغم / هكتار)		حاصل فول الصويا
		التلقيح
		عدم التلقيح
0		1140
30		1700
60		1800
120		2010

4- تكون العقد الجذرية ومظهرها الخارجي The formation and morphology of nodules

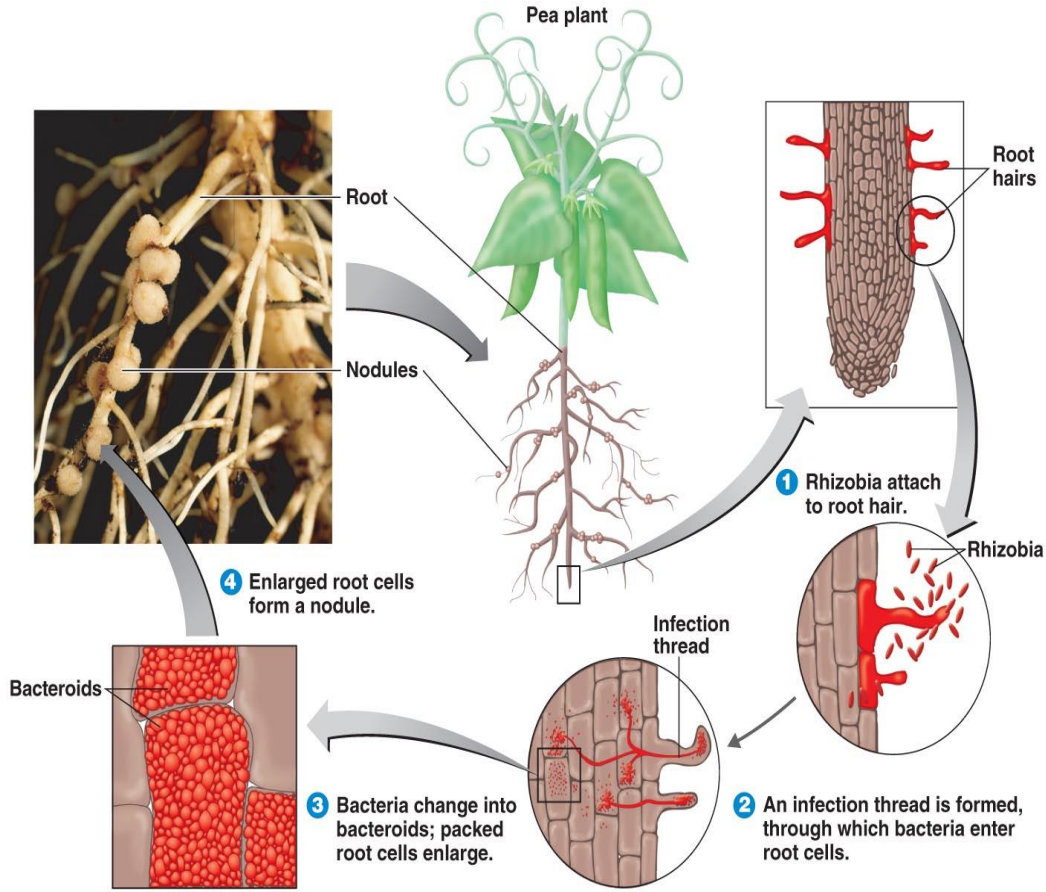
على الرغم من البحوث الكثيرة التي تناولت دراسة هذا الموضوع ، الا انه لا تزال هناك بعض النقاط غير المفهومة تماما. تبدأ عملية اصابة بكتريا الرايزوبيوم لجذور النباتات البقلية بعملية تميز النبات المضيف والتي تدعى recognition of the host plant حيث تفرز جذور النباتات البقلية مادة هي في الغالب lectins وهي سكر متحد مع البروتينات تفرز من السطح الخارجي للشعيرات ثم تتفاعل وتتحد مع الكربوهيدرات الموجودة على سطح بكتريا الرايزوبيوم الموافقة للنبات المضيف. ان بكتريا الرايزوبيوم هي الاخرى بدورها تنتج مادة يعتقد انها B-indol acetic acid في الغالب مشتقة من مادة التربتوفان الذي افرزته جذور النباتات البقلية . ان هذه المواد المتحررة تسبب في جعل جزء من الشعيرات الجذرية للنبات البقلي ان تكون مكورة وخشنة Curl واذا ما صادفتها بكتريا الرايزوبيوم الملائمة مع النبات المضيف فانها سوف تدخل هذا الجزء من الشعيرات الجذرية يعتقد انه هناك نوع من التفاهات بين البكتريا والعائل المضيف Comuncation .

تنمو البكتريا داخل هذا الجزء من الشعيرات الجذرية بشكل خيط اصابة رفيع fine infection thread يتكون من خيط رفيع من الخلايا البكتيرية حتى تخترق الخلايا الداخلية لمنطقة cortical cells وبعد عملية الاختراق تبدأ عملية التضخم وتكون الخلايا ممتلئة بخيط الاصابة ويكون اتجاهه نحو النواة والتي تظهر زيادة في فعاليتها في هذا الوقت حتى تصل الى حدود الخلية ومن هذا الموقع الجديد يتحفر تكوين خيط اصابة جديد يمر الى الخلية التالية وهذا الخيط يستمر حتى يصل الى لحاء الجذر ، في منطقة اللحاء cortex تكون الخلايا التي هي ضعف المحتوى الطبيعي من الكروموسومات Tetraploid (رباعية المجموعة الكروموسومية) بعد ذلك ينفجر خيط الاصابة وتحرر بكتريا الرايزوبيوم الى سايتوبلازم الخلية ، وهذه الخلية والخلايا المجاورة لها تنقسم بعد ذلك باستمرار حتى تكون العقد الناضجة.

ان عملية الاصابة من قبل الرايزوبيوم للشعيرات الجذرية تختلف حسب نوع النباتات البقلية على سبيل المثال فان الاصابة في فستق الحقل تعتمد على تكون شعيرات جذرية كثيفة ، بينما في الباقلاء فان الاصابة تعتمد على طول الشعيرات الجذرية وتعتبر هذه المرحلة من الاصابة حساسة للظروف البيئية غير الملائمة مثل الملوحة او الحموضة (سوف تناقش مفصلا في مكان اخر من الكتاب).

خلال نمو العقد الجذرية فان البكتريا تتحول الى الـ bacteroids والتي هي اكبر بعدة مرات من البكتريا الاصلية وان عملية التحول مرتبطة في تمثيل الـ hemoglobin وانزيم النتروجينيز وانزيمات اخرى يحتاجها النظام في عملية تثبيت النتروجين . ان ما بين عملية الاصابة وفترة تثبيت النتروجين هناك فترة تقدر 3 - 5 اسابيع خلالها يكون تجهيز الكربوهيدرات والعناصر الغذائية والاحماض الامينية من قبل النبات المضيف بدون اي فائدة للنبات المضيف ، وعليه لابد ان تعتمد النباتات البقلية على مصادر الاسمدة النتروجينية خلال هذه الفترة وذلك لكي تكون الاوراق

لتجهيز النباتات بالمواد الغذائية اللازمة لنمو العقد .ان خلايا الـ Bacteriod قد تفقد قابليتها على التكاثر وكذلك تفقد اغلب مادة Ribosomes من الخلايا الاصلية والتي نشأت منها اصلا عند عملية الاصابة . ويحتوى الـ Bacteriod على مادة حبيبية هي poly-B-hydroxybutyric acid ويعتقد انه خزين غذائي للخلايا . ان الدراسات في المجهر الالكتروني اوضحت ان الـ Bacteriod تكون محاطة بافرع والتي هي جزء من خلايا العائل النباتي المضيف ، وان عدد الـ Bacteriod داخل الغشاء يعتمد اساسا على نوع النبات البقلي المضيف ، حيث وجد ان عدد الـ Bacteriod يكون واحد في النباتات البقلية منها البرسيم والباقلاء والحبث وفسنق الحقل ، في حين نجد العدد يصل 4-6 في كل غشاء وان هناك 10^5 من المجاميع في الخلية الواحدة كما هو الحال مع نباتات فول الصويا . ان خلايا الـ Bacteriod داخل الاغشية تكون سباحة في محلول يحتوي على مادة hemoglobin وتستطيع القيام في عملية التمثيل ولكن بتركيز منخفضة جدا من الاوكسجين لا يتجاوز $(10^{-8}$ مول) في محلول السباحة . وقد افترض ان هناك عملية تبادل للعناصر الغذائية ما بين السائل في داخل الظرف envelop والغشاء المحيط بالخلايا وان الغشاء يفرز مواد طاقة يحتمل انها Succinate او Fumarate وكذلك حامض Glutamic . الشكل (2-4) يبين عملية تكوين العقد الجذرية .



شكل 2-4 : تكوين العقد الجذرية

ان المظهر الخارجي للعقد الجذرية يختلف باختلاف انواع النباتات البقلية المضيفة ، فالعقد الجذرية قد تكون كروية او اسطوانية او مسطحة وهي غالبا ما تكون عنقودية الشكل (الشكل 3-4) وفي احيان كثيرة تاخذ اشكال غير منتظمة وهذه الاختلاف في المظهر الخارجي قد يعزى كاستجابة لظروف التربة السائدة او جزئيا الى حالات التداخل ما بين السلالة الرايزوبية والعائل النباتي المضيف . اما حجم العقدة فهو ايضا مختلف ويتراوح من بعض المليمترات الى الحجم الاكبر من ذلك بكثير ولكن وبصورة عامة فان العقدة الواحدة تحتوي على سلالة مفردة من بكتريا الرايزوبيوم . مع تقدم الوقت فان العقد الجذرية يتغير لونها من اللون الاحمر الفاتح عندما تكون العقد فتية وفاعلة الى اللون البني الداكن وتفقد مادة hemoglobin مع ظهور فجوة في كل عقدة بعدها تزدهم خلايا الـ Bacteriod بحيث تتحول محتويات الخلية الى كتلة كثيفة

مقابلة لجدار الخلية المتضخمة ثم تتكسر خلايا الـ Bacteriod الى بكتريا تلتهم بقايا مكونات الخلية ومنها جسم جدار الخلية عند هذه المرحلة تصبح العقدة متييسة necrotic ثم تنطلق البكتريا الى التربة . ان تكون العقد الجذرية والتي وضحت اعلاه تتكون في حالة قدرة سلالة الرايزوبيوم مع العائل النباتي المضيف من تكوين نظام تثبيت ناجح للنتروجين حيويا. واعتمادا على دراسات نباتات الكلوفر الحمراء وضعت عدد من النقاط التي قد تؤدي الى فشل تكون نظام تثبيت نتروجين ناجح وهي تبعا :

- 1- قد يكون الفشل بسبب الإصابة الأولية primary infection في الشعيرات الجذرية .
- 2- وقد يكون بسبب عدم نمو خيط الإصابة الرفيع fine infection thread
- 3- أو بسبب تحرر البكتريا من خيط الإصابة .
- 4- أو بسبب عدم تكاثر الخلايا مع الساييتوبلازم في الخلية النباتية المضيئة .
- 5- أو عدم تكون الـ Bacteriod .
- 6- أو عدم استمرارية الـ Bacteriod في الحيوية .
- 7- أو فشل الـ Bacteriod بالقيام بوظيفته .



شكل 3-4 : اشكال العقد الجذرية

العناصر الغذائية المحددة لتثبيت النتروجين تكافليا في البقوليات

Mineral nutrients limiting symbiotic fixation in legumes

العناصر الغذائية المعدنية قد تحد من تثبيت النتروجين تكافليا وذلك بالتاثير على نمو وحيوية بكتريا الرايزوبيوم او التاثير على الاصابة وتطور العقد البكتيرية في الجذور او التاثير على وظيفة العقد بلاضافة الى تاثيرها على نمو العائل النباتي المضيف . ولجل تسليط الضوء على تاثير هذه العمليات بجاهزية العناصر الغذائية المعدنية لابد من معرفة الاحتياجات الخارجية والتي تعنى باضافة العنصر مع معدل النمو النسبي للنبات المضيف عند كل اضافة من العنصر وكذلك معرفة الاحتياجات الداخلية والتي تعنى بتركيز العنصر في النسيج النباتي مع معدل النمو النسبي للنبات المضيف . ان العناصر الغذائية قد تحد من كمية النتروجين المثبت حيويا عندما تؤثر على اي واحد من الاطوار الاربعة والمهم في ذلك معرفة اي طور من هذه الاطوار اكثر حساسية لكل عنصر من العناصر الغذائية لان ذلك سوف يقيم الحساسية لجميع عملية التثبيت النتروجين حيويا ، والاطوار المقترحة هي :

- 1- الطور الاول : تاثير نقص العناصر الغذائية على نمو النبات البقلي المضيف .
- 2- الطور الثاني : تاثير نقص العناصر الغذائية على نمو وحيوية بكتريا الرايزوبيوم .
- 3- الطور الثالث : تاثير العناصر الغذائية على احداث الاصابة وتطور العقد البكتيرية .
- 4- الطور الرابع : تاثير العناصر الغذائية على وظيفة العقد البكتيرية في جذور النبات المضيف .

ولجل معرفة حساسية كل طور من هذه الاطوار لعنصر معين او عناصر محددة لابد من دراسة وتحديد العناصر التي يكون تواجدها مهما جدا لانجاح نظام التثبيت النتروجيني تكافليا . ولذا فلا بد من فهم الطرق المتبعة في تحديد هل ان العنصر مشترك

في عملية التثبيت الحيوي ام لا وعند اي طور من هذه الاطوار يكون محددا لنجاح عملية التثبيت النتروجيني تكافليا .

1- طرق اختبارات العناصر المشتركة في تثبيت النتروجين حيويا

هناك العديد من العناصر الغذائية الضرورية لنمو النبات المضيف (او اي نباتات أخرى) البقلي وهي ايضا مطلوبة في واحد او اكثر من الاطوار المذكورة اعلاه وعليه لابد معرفة هل ان الاحتياجات الخارجية او الداخلية لعملية التثبيت النتروجيني تكافليا اكبر ام اقل من احتياجات النبات المضيف. لقد اظهرت الدراسات بان هناك اربعة محاور رئيسية يمكن استخدامها لاختبارات الاحتياجات العناصر الغذائية للنبات المضيف وتثبيت النتروجين تكافليا ، وهذه المحاور هي :

المحور الاول : معرفة طبيعة التداخل بين جاهزية العنصر والاسمدة النتروجينية المضافة .

المحور الثاني : فحص تاثير جاهزية العنصر على تركيز عنصر النتروجين في انسجة النبات المضيف .

المحور الثالث : اختبار تاثير جاهزية العنصر على حجم ، وزن وعدد العقد في الجذور .

المحور الرابع : قياسات تاثير العنصر على تثبيت النتروجين باستخدام طريقة اختزال الاستلين acetylene reduction .

المحور الاول : طبيعة التداخل بين جاهزية العنصر والاسمدة النتروجينية المضافة

ان فكرة هذا المحور تأتي بالدرجة الاساس من اقتراحات ونتائج دراسات Anderson ، (1956) حيث اشار الى ان اي معاملة مع اضافة الازمدة تنتج استجابة موجبة على النبات ، فان كانت حالة التداخل بين المعاملة والاسمدة المضافة سالبا فان كلاهما يصححان نفس النقص . وعليه فان التداخل السالب negative interaction ما بين جاهزية العنصر والاسمدة النتروجينية المضافة على نمو

النباتات البقلية تقترح وحسب فكرة Anderson، (1956) فان كل من العنصر المضاف والاسمدة النتروجينية المضافة سوف تصحح نقص العنصر وذلك من خلال زيادة الامتصاص والنقل . ان التداخل السالب ما بين العنصر والسماذ النتروجيني يوضح بان تثبيت النتروجين يحتاج كمية اكبر من العناصر بما يحتاجه النبات المضيف من نفس العناصر وبموجب هذا التفسير فان التداخل السالب ما بين جاهزية النتروجين المضاف وجاهزية كل من عنصر الكالسيوم ، الموليبيديوم ، النحاس والكوبلت على نمو النبات البقلي والذي اكدته نتائج عدد كبير من الباحثين بان هذه المجموعة من العناصر (Ca , Mo , Cu , Co) لها دور مباشر في الاشتراك ضمن عمليات تثبيت النتروجين تكافليا ، وضمن هذا المحور سوف نناقش اهمية كل من الكالسيوم والنحاس والفسفور.

عنصر الكالسيوم :

ان من بين مجموعة العناصر يعتبر عنصري Mo , Co احتياجاتهما في عملية تثبيت النتروجين اكبر من احتياجاتهما للنبات البقلي المضيف ولا توجد ادلة مقنعة بان النباتات تحتاج الى عنصر الكوبلت لنموها في حالة وجود النتروجين. ولكن حالة التداخل السالب غير الكامل قد لوحظت مع العناصر والتي تكون احتياجات النبات المضيف واحتياجات عملية تثبيت النتروجين متساوية كما هي الحالة بين عنصري الكالسيوم والنحاس ، ولكي نسلط الضوء على طبيعة هذا التداخل نجد ان هناك تأثير لتركيز العنصر في النسيج النباتي والذي يعرف بالـ nutrient status كما هو الحال مع عنصر الكالسيوم . فعندما تكون النباتات تحت حالة من النقص الحاد لعنصر الكالسيوم فان طبيعة التداخل ما بين عنصر الكالسيوم والنتروجين موجبة ولكن عندما تكون النباتات تحت حالة من النقص المتوسط لعنصر الكالسيوم فان نمو النباتات يمكن زيادته باضافة اما عنصر ما او عنصر الكالسيوم هذا يعني ظهور حالة من التداخل

السالب مما يشير بان هناك تخصصية في اشتراك عنصر الكالسيوم في عملية تثبيت النتروجين وهو ما يعرف بالـ involvement in symbiotic nitrogen fixation
عنصر النحاس :

لقد اظهرت الدراسات العديدة بان حالة التداخل بين عنصر النحاس والنتروجين المضاف تاخذ انماط مختلفة حيث مرة يكون التداخل موجبا وفي احيانا اخرى سالبا ومرات عدم وجود اي نوع من التداخل بين هذين العنصرين . ان هذه الاختلافات في طبيعة التداخل بين عنصر النحاس والنتروجين قد تعزى الى وقت اضافة السماد النتروجيني حيث ان وقت اضافة النتروجين مهم جدا في دراسة التداخل لانه هناك ما يسمى بتباطا الطور time lag قبل بدا عملية التثبيت النتروجيني وان اضافة النتروجين عند الزراعة ربما تحفز النمو حتى في البقليات التي كونت عقدة جذرية فعالة من خلال جاهزية عنصر اخر غير عنصر النتروجين . وعند اعادة فحص النتائج لانماط هذا التداخل وجد ان في نمط التداخل الموجب كان وقت اضافة النتروجين عند زراعة البذور، اما في نمط التداخل السالب فان وقت اضافة النتروجين بعد تكون العقد في جذور النبات المضيف. ان هذا التأثير قد يفسر عدم قدرة النتروجين المضاف الى النباتات البقلية التي سبق لها تكوين عقد جذرية من ازالة اعراض نقص النحاس في نبات فستق الحقل .

عنصر الفسفور :

عنصر الفسفور قد يعتبر ذو اهمية خاصة في تثبيت النتروجين تكافليا وذلك بسبب حالة التداخل الموجب ما بين عنصر الفسفور والنتروجين على نمو النباتات البقلية وعند اضافة النتروجين في وقت الزراعة. الا انه هناك نتائج اخرى تشير الى ان نمو النباتات البقلية Vicia و Phaseolus كانت اقل حساسية للتاثير لهذا العنصر عند اضافة الاسمدة النتروجينية مما لو اعتمدت النباتات على اخذ النتروجين من عملية تثبيت النتروجين فقط .

المحور الثاني : تاثير جاهزية العنصر على تركيز النتروجين في المجموع الخضري

عدد من الباحثين اشاروا ان عناصر مثل الفسفور والنحاس تشترك بصفة خاصة في عملية تثبيت النتروجين عند ملاحظتهم ان اضافة تلك العناصر الى وسط النمو قد زادت من نمو النباتات البقلية بلاضافة الى زيادة تركيز النتروجين في المجموع الخضري لتلك النباتات. الا ان هذه الملاحظات قد انتقدت من قبل Robson ، (1978) حيث ذكر ان زيادة النمو وتركيز النتروجين ربما تعكس عن تغيرات في التركيب النباتي مثل النسبة العالية من الورقة / الساق او تاخير عملية النضج او مشيرة الى تاثيرات العنصر على عملية تثبيت النتروجين او البقلية الايضية الاخرى . عند مناقشتنا للعناصر والتي اظهرت تداخل سالب مع اضافة عنصر النتروجين على نمو النباتات البقلية وهي (الكوبلت ، موليبيديوم ، الكالسيوم والنحاس) وان تصحيح نقصها يزيد من تركيز النتروجين في الاوراق نجد ان عنصر الكوبلت قد غاب تاثيره على تركيز النتروجين في اوراق عدد من النباتات البقلية مثل *T. subterraneum* و *L. angustifolius* وذلك بسبب ان اخذ القياسات الورقية كانت عند قرب مرحلة النضوج .

وعناصر اخرى تزيد من تركيز النتروجين في الاوراق وكذلك تزيد نمو النباتات البقلية منها (الفسفور ، الكبريت والزنك) والتي لم يلاحظ ظهور حالة التداخل السالب مع الاسمدة النتروجينية على النمو ، هذه العناصر اقترح انها لا تشترك في عملية تثبيت النتروجين، اما عنصر الكبريت فان نقصه يتسبب في تخفيض تركيز النتروجين بوضوح في النباتات البقلية والتي تخضع الى عملية تثبيت النتروجين ولكن هناك نفس الاتجاه في التأثير حيث يقل تركيز النتروجين في النباتات غير البقلية. ان هذه الاختلافات تشير بان نقص الكبريت يؤثر على العمليات الايضية للنتروجين بدلا من تاثير النتروجين على عملية تثبيت النتروجين . نستنتج من خلال النتائج ان هناك

تضارب في تأثير النتروجين على حالة التداخل سوى السالب او الموجب منها وان احتياجات كل من عنصر الفسفور والكبريت والمولبيديوم لانتاج اعلى كمية من النتروجين من خلال عملية التثبيت النتروجيني الحيوي كانت اعلى من تلك الاحتياجات لنفس العناصر لانتاج اعلى كمية من المادة الجافة .

المحور الثالث: اختبار تأثير جاهزية العنصر على حجم ، وزن وعدد العقد في الجذور
هذا المحور سوف يعادل أهمية ودور العناصر المعدنية في عملية التثبيت النتروجيني من وجهة نظر كيفية توزيع العقد وحجمها ووزنها وعددها عند ازالة نقص العنصر من النبات المضيف .ان نقص العناصر والتي تشترك بصفة خاصة في وظيفة العقد الجذرية وهي (مولبيديوم ، كوبلت ، نحاس والكالسيوم) قد تؤدي الى زيادة عدد وحجم العقد الجذرية ، وضمن هذا السياق فقد وجد بان النباتات البقلية الرعوية *T. subterraneum* تمتلك عدد ووزن اكبر من العقد الجذرية في النباتات التي تعاني من نقص المولبيديوم مقارنة بالنباتات تحت مستوى كافي من المولبيديوم . وكذلك فان النباتات مثل الترمس *L. angustifolius* تمتلك عقد جذرية اعلى عند نقص الكوبلت مقارنة بالنباتات تحت مستوى كافي من الكوبلت. وكذلك فان نقص النحاس يزيد عدد العقد الجذرية ولكن يقلل حجم العقدة الواحدة في نبات *T. subterraneum* ، وعليه فان تأثيرات نقص العناصر (Ca , Cu , Co , Mo) على عدد ووزن العقد ربما يتزامن مع نقص النتروجين في النبات مما يؤدي الى موازنة الزيادات في تطور العقد .

المحور الرابع : قياسات تأثير العنصر على تثبيت النتروجين باستخدام طريقة اختزال

الاستلين acetylene reduction

هناك عدد من الدراسات استخدم طريقة اختزال الاستلين لمعرفة تأثيرات العناصر الغذائية على تثبيت النتروجين في النباتات البقلية جميع هذه الدراسات قدرت معدلات اختزال الاستلين بعد استجابة نمو النبات ، ولذا فانه من المفضل اجراء القياسات قبل حدوث الاستجابة في نمو النبات وذلك لتحديد الاحتياجات المختصة specific

requirement من العناصر في تثبيت النتروجين . هذا بلاضافة الى ان نتائج طريقة اختزال الاستلين يستحصل عليها كمعدلات تثبيت مطلقة absolute fixation rates وهذا يعني عدد مولات الاستلين المنتجة / نبات / دقيقة وعليه فان هذه المعدلات المطلقة سوف لا تعطينا دليل هل ان الاختلافات في النبات المضيف ام في عملية تكوين العقد او في وظيفة العقدة والمسؤولة عن المعدلات العالية لتثبيت النتروجين .

2- ديمومة العقد الجذرية The longevity of nodules

ان كمية النتروجين المثبت من قبل النباتات البقلية تعتمد بدرجة كبيرة على فترة بقاء العقد على الجذور وان هناك اربعة عوامل تؤثر على ديمومة العقد الجذرية هي :

أ- الحالة الفسيولوجية للنبات المضيف ب- المحتوى الرطوبي

في التربة

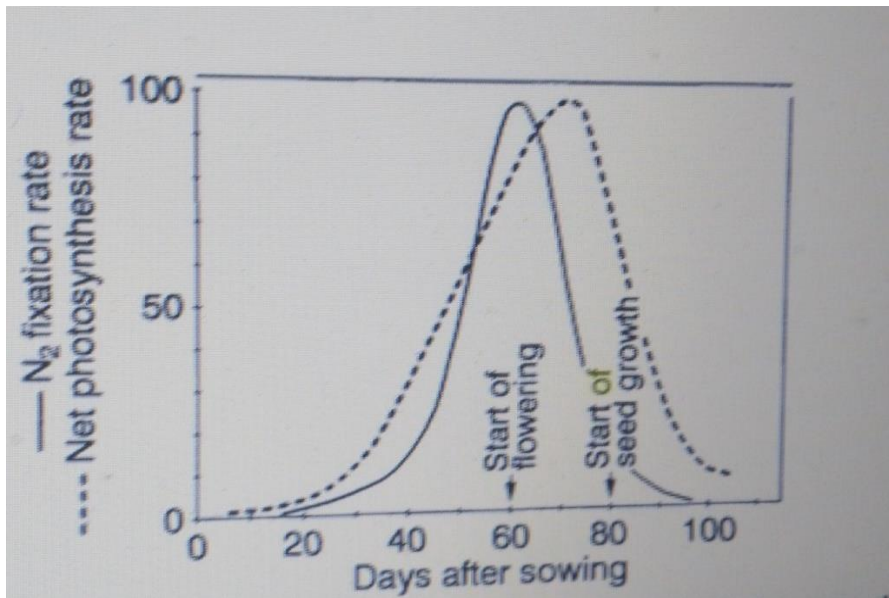
ج- التطفل الذي قد يحدث على العقد المتكونة د- سلالة بكتريا

الرايزوبيوم المكونة للعقد .

أ- الحالة الفسيولوجية للنبات المضيف

من المتوقع بان هناك علاقة ارتباط قوية بين معدل تثبيت النتروجين وصافي معدل عملية التركيب الضوئي كون ان عملية التثبيت النتروجيني تحتاج الى طاقة كبيرة . وعند تكون نظام تثبيت تكافلي بين النبات البقلي المضيف وسلالة بكتريا الرايزوبيوم فان على النبات المضيف ان يجهز بكمية اضافية من الكربوهيدرات لنمو العقد وكذلك لتنفسها . ان معدل التنفس لكل وحدة من الوزن الجاف في النباتات البقلية اعلى تقريبا مرتين من معدل التنفس في النباتات غير البقلية وعلى هذا الاساس فقد وجد بان 78 % من نواتج عملية التركيب الضوئي تخصص للتنفس و 10 % تستخدم لنمو العقد الجذرية وان 12 % تحجز كمركبات امينية للمجموع الخضري . ان هذا يعني بان هناك منافسة كبيرة على مصدر الكربوهيدرات في النبات المضيف . في محاصيل

الحبوب البقلية واحيانا مع بعض النباتات البقلية الرعوية مثل الكلوفر يكون اعلى معدل لتثبيت النتروجين في بداية مرحلة التزهير بعدها يبدأ معدل تثبيت النتروجين بالانخفاض السريع ، اما صافي معدل التركيب الضوئي فقد يأخذ وقت اطول بعد مرحلة التزهير ثم يبدأ بالانخفاض لاحظ الشكل (4-4) ان هذه المنافسة بين النموات الجديدة في المجموع الخضري والعقد الجذرية على الكربوهيدرات وما يرافقها من الانخفاض في معدل تثبيت النتروجين بالامكان ايقافها وذلك بازالة الازهار والبراعم . ان العلاقة المهمة بين جاهزية الكربوهيدرات للعقد الجذرية ومعدل تثبيت النتروجين قد اثبتتها تجارب Haystead و Sprent ، (1981) حيث لاحظ ان وضع النباتات البقلية المكونة للعقد الجذرية في الظلام او تحت ضوء منخفض لعدة ايام ليس فقط سيؤدي الى انخفاض معدل تثبيت النتروجين وانما سوف يحول جزء كبير من العقد الجذرية من العقد الوردية اللون الفعالة والحاوية على الهيموكلوبين الى عقد صفراء غير مثبثة للنتروجين .



شكل 4-4: التغير في صافي معدل التركيب الضوئي وتثبيت النتروجين في نمو النبات

أ- المحتوى الرطوبي في التربة

ان العقد الجذرية في النباتات البقلية قد تبقى مع الجذور فترة اطول عندما تكون التربة محتفظة بنسبة جيدة من الرطوبة واول تاثير لانخفاض الرطوبة تم تعقبه للوصول الى الجفاف يكون في اختفاء العقد الجذرية من على الجذور ومن الملاحظات المهمة ما وجد مع العقد الجذرية لنبات فول الصويا حيث توقفت هذه العقد من تثبيت النتروجين عندما انخفض وزنها الرطب الى اقل من 80 % . يمكن الرجوع الى تاثير الرطوبة في الجزء الاول من هذا الفصل .

ج- التطفل على العقد الجذرية

يعتقد ان العقد الجذرية قد يقصر عمرها وبقاءها على الجذور عندما تتطفل عليها يرقات Larva الحشرات حيث وجد ان العقد لنباتات الباقلاء تهاجم بشدة من قبل يرقات *Sitona lineate* peaweevil ، وان ايقاف هذا التطفل يمكن ان يحدث من خلال اعطاء ريات في فترة انخفاض الرطوبة.

د- سلالة البكتريا المكونة للعقدة

راجع موضوع اختيار السلالات الرايزوبية الملائمة من هذا الفصل .

3- التغذية المعدنية للرايزوبيوم

ان دراسات الاحتياجات النوعية Qualitative requirement للعناصر الغذائية لنمو النباتات البقلية المضيفة وبكتريا الرايزوبيوم قد تناولتها بحوث عدد كبير من الباحثين والتي تضمنت العديد من العناصر منها (Fe , Mn , Co , Mo , Ca , Mg , K , P). وقد كانت هناك عدد من الاحتياجات الكمية Quantitative requirement سوف نتناولها تباعا وهي :

أ- عنصر الكالسيوم

ان الاحتياجات الخارجية external requirements لبكتريا الرايزوبيوم من عنصر الكالسيوم قد درست في عدة انواع من الرايزوبيوم وهي (*Rhizobium spp* , *R. meliloti* , *R. trifolii*) حيث ادت زيادة تركيز ايون الكالسيوم في المحلول من 2.5 الى 350 مايكرومول الى تقصير من فترة طور التباطؤ Lag phase واطالت فترة طور exponential phase مع عدم ظهور اي تاثير على معدل النمو خلال تلك الفترة من النمو . وفي دراسة اخرى وجد ان زيادة تركيز ايون الكالسيوم في المحلول من 6 الى 16 مايكرومول قد زاد من معدل نمو الرايزوبيوم نوع *R. trifolii* وخلال فترة الـ exponential phase الى اعلى حد دون ان يؤثر على طور التباطؤ Lag phase وان تركيز ايون الكالسيوم 31 مايكرومول مطلوب للحصول على اعلى معدل نمو كلي بعد 100 ساعة .

ب- عنصر المغنيسيوم

لقد وجد ان تركيز المغنيسيوم اعلى من 7 مايكرومول لا يؤثر على كل من معدل النمو او طور التباطؤ Lag phase ولكن هناك احتياج يصل الى 100 مايكرومول من المغنيسيوم للحصول على اعلى نمو كلي بعد 100 ساعة ، وان هذه النتائج تشير على اساس بان *R. trifolii* تحتاج تراكيز منخفضة من المغنيسيوم في المحلول بغية الحصول على اعلى معدلات نمو ولكن انخفاض التركيز يظهر بسرعة نتيجة الاحتياجات الداخلية internal requirements .

ج- العناصر الصغرى

من العناصر الاخرى والتي تم تحديد احتياجاتها الكمية لاعلى نمو كلي لبكتريا الرايزوبيوم هي الكوبلت ، الزنك ، المنغنيز . ان اعلى نمو كلي لعنصر الكوبلت كان 0,002 مايكرومول ولعنصر الزنك كان 0.1 مايكرومول وبالنسبة لعنصر المنغنيز ما بين (0.1 – 1) مايكرومول .

4- تأثير العناصر الغذائية على الإصابة وتطور العقد

أ- عنصر الكالسيوم

تكون العقد الجذرية في النباتات البقلية يحتاج الى تراكيز من الكالسيوم في المحاليل متوسطة الحامضية اعلى مما يحتاجه النبات المضيف . ان المرحلة الحساسة لعنصر الكالسيوم تظهر خلال ثلاثة ايام من بعد عملية التلقيح وحالما تنتهي عملية اضافة اللقاح فان تطور العقد الجذرية يبدأ حتى في التراكيز المنخفضة من الكالسيوم والتي تبدو اقل بكثير من احتياجات عنصر الكالسيوم من قبل النبات المضيف وعلى ما يبدو تأثير ايون الكالسيوم قد يبدأ عمله من خلال التأثير على اعداد بكتريا الرايزوبيوم في منطقة الرايزوسفير ، فان زيادة تركيز ايون الكالسيوم اعلى من احتياجات النبات البقلي المضيف مع اضافة الاسمدة النتروجينية يؤدي الى زيادة اعداد بكتريا الرايزوبيوم نوع *R. trifolii* في منطقة الرايزوسفير والتي تحتوي على جذور نباتات *T. subterraneum* خصوصا في المحاليل المنخفضة الحموضة. وان تأثير الكالسيوم في زيادة اعداد الرايزوبيوم عادة يتحفر في المستويات المنخفضة من اعداد الرايزوبيوم في اللقاحات المستخدمة . مما تجدر الاشارة اليه بان تأثير الكالسيوم على عملية تكون العقد الجذرية يرتبط بحموضة التربة (راجع التداخل بين حموضة التربة والعقد الجذرية في البقلات) .

ب- عنصر الفسفور

وجد ان اضافة مستويات مناسبة من الاسمدة الفوسفاتية تزيد من معدل نمو النباتات البقلية المضيئة وهي كذلك تزيد من عدد وحجم ووزن العقد الجذرية . ان التأثير قد يفسر على اساس اهمية عنصر الفسفور على عملية تكون العقد الجذرية والتي تترافق مع استجابة النباتات البقلية لاصابة الفسفور . ومن الدراسات المهمة في هذا الموضوع دراسة اجريت حول التداخل بين الفسفور والنتروجين على نمو وتركيز العناصر وعملية تكون العقد الجذرية في النبات الرعوي البقلي *Stylosanthes*

humilis حيث وجد ان العقد الجذرية قد تكونت قبل 3 ايام في النباتات المزروعة تحت مستوى كافي من الفسفور مقارنة بالنباتات المزروعة تحت مستوى منخفض من الفسفور الا ان الاختلافات في حجم النبات قد ظهرت قبل 4 ايام من مشاهدة تكون العقد في النباتات المزروعة تحت مستوى كافي من الفسفور هذا يعني ان التأخر الذي حصل في تكون العقد الجذرية في النباتات المزروعة تحت مستوى منخفض من الفسفور كان بسبب محدودية عنصر الفسفور لنمو النبات المضيف . ومن الدراسات المهمة جدا وجد ان التلقيح بفطريات المايكورايزا قد تسبب في زيادة تكون العقد الجذرية وكمية النتروجين المثبت للنباتات البقلية في التربة الفقيرة بعنصر الفسفور . ان التأثير قد يفسر على اساس ان فطريات المايكورايزا قد حسنت من تغذية عنصر الفسفور للنباتات المضيفة وسوف يناقش الموضوع في فصول قادمة .

ج- عنصر البورون

لقد اظهرت الدراسات ان نقص عنصر البورون يثبط تطور Vascular strands من الجذور الى العقد في نبات Vicia كما وجد ان عملية تكون ال-Bacteriods في تطور عملية الاصابة قد تتوقف عند نقص عنصر البورون وان جميع الانسجة المرستيمية حساسة جدا لنقص البورون خلال مراحل تطورها .

5- تأثير العناصر المعدنية على وظيفة العقد الجذرية

هناك العديد من العناصر الغذائية تلعب دور متخصص specific roles في عملية تثبيت النتروجين في العقد الجذرية الا انه اغلب العناصر الغذائية احتياجاتها منخفضة لاداء وظيفة العقد مقارنة بالاحتياجات من العناصر الغذائية في العمليات الايضية في النبات .

أ- عنصري الموليبيديوم والكوبلت

تعتبر هذه العناصر من حيث احتياجاتها في وظيفة العقد الجذرية اكبر بكثير من احتياجاتها في اي جزء نباتي اخر . حيث يعتبر عنصر الموليبيديوم من مكونات انزيم

النيتروجينيز وان دور هذا العنصر في انزيم النيتروجينيز يترافق مع مواد الاختزال substrate reduction وكذلك يعتقد انه في نظام الـ dinuclear Fe- Mo أما دور عنصر الكوبلت في العقد اقل وضوحا، ولكن يعتقد ان يترافق بان يكون من مكونات الـ Combamid- Co- enzymes ان هذه الـ Co- enzymes مطلوب في اقل تقدير في ثلاثة أنظمة أنزيمية وهي :

1- methyl malonyl- Co A mutase

2- ribonucleotide reductase

3- methionine synthetase

لقد اظهرت الدراسات بان العقد الجذرية في نبات *L. angustifolius* والتي تحت جهد نقص الكوبلت تحتوي على عدد قليل من الـ Bacterioids / غم عقد وتحتوي قليل من DNA لكل Bacterioids هذا يعني وبوضوح ان وظيفة الكوبلت في العقدة تعمل من خلال التأثير على ribonucleotide reductase ، وبسبب ان عنصر الكوبلت مطلوب في تمثيل مادة leghemoglobin ولذلك فان هناك علاقة ارتباط قوية في النباتات البقلية بين جاهزية عنصر الكوبلت وعملية تثبيت النيتروجين وكذلك محتوى العقد الجذرية من مادة leghemoglobin كما في الجدول (4-6) .

جدول 4-6: احتياجات الكوبلت في عملية تثبيت النيتروجين تكافليا في نباتات الجت.

المعاملات	الوزن الجاف للأوراق	النيتروجين المثبت	لون العقد	Leghemoglobin
	غم / نبات	ملغم / نبات		ملغم / سم ³ عقدة
- Co	3.5	صفر	بيضاء	آثار
+ Co	4.5	30.5	وردية	0.73

حيث يلاحظ في نبات الترمس *Lupins* ان إضافة الكوبلت زاد ليس فقط محتوى النتروجين ولكن ايضا عدد وشكل الـ *bacteroids* في العقد مشيرا بان الكوبلت له تاثير على عملية انقسام الخلايا في بكتريا الرايزوبيوم جدول (4-7).

جدول 4-7: تأثير عنصر الكوبلت على نمو العقد ومكوناتها في نبات الترمس *Lupinus angastifolius* زرعت في ترب تعاني نقص الكوبلت وقد لقت النباتات بالرايزوبيوم نوع *Rhizobium lupine*.

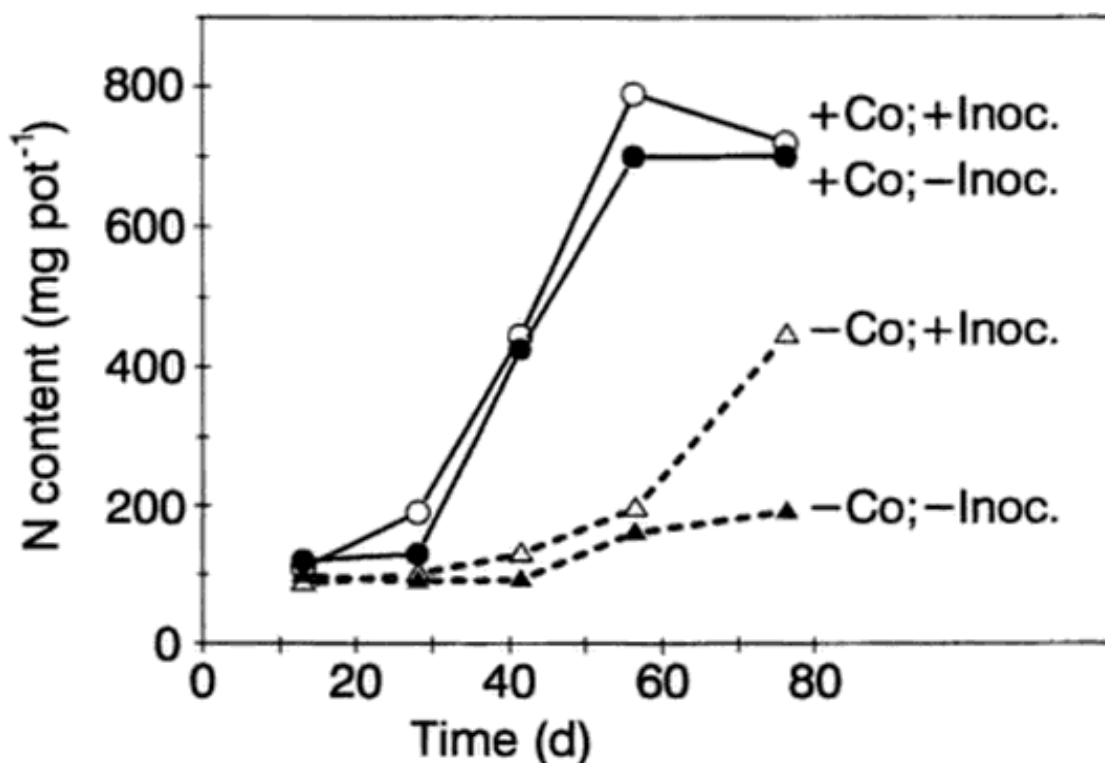
معاملات الكوبلت	الوزن الرطب للعقدة النامية غم / نبات	محتوى الكوبلت نونو غرام / غم وزن جاف للعقدة	عدد الـ <i>Bacteroids</i> 10×10^9 غم من الوزن الرطب للعقدة	كوبلمين نونو غرام / غم وزن رطب للعقدة	Leghemoglobin ملغم / غرام وزن رطب للعقدة
- Co	0.1	45	15	5.9	0.71
+ Co	0.6	105	27	28.3	1.91

اضيف الكوبلت من مركبات كبريتات الكوبلت بمقدار 0.19 ملغرام / سدانة والحصاد بعد 6 اسابيع .

حيث تبين ان تاثير الكوبلت على العقد الجذرية في الاسبوع السادس حيث نلاحظ ان وزن ومحتوى الكوبلت في العقد الجذرية يزداد وكذلك عدد الـ *bacteroids* وكمية الكوبلمين وكذلك الـ *Leghemoglobin* لكل وحدة من الوزن الرطب للعقدة . ان اهم نقطة مثيرة للجدل والتي تتفق مع نتائج اخرين في هذا الجدول ، ان هناك تقريبا 12% من الكوبلت الكلي في العقدة كان متحدا كالكوبلمين *Cobalamin* وفي النباتات تحت نقص الكوبلت ولا يعرف اي شيء عن موقعه واتحاده الكيميائي ووظيفته المحتملة .

اما الشكل (4-5) يظهر ان التلقيح بالرايزوبيوم مع اضافة عنصر الكوبلت سجل اعلى قيمة من محتوى النتروجين لنبات الترمس مقارنة بالمعاملات الاخرى خاصة الملقحة بالرايزوبيوم ولكن بدون كوبلت . وان التركيز الحرج لعنصر الكوبلت في العقد الجذرية تختلف بدرجة كبيرة بين الانواع النباتية وهو غير معروف في العقد الجذرية ،

اما تركيز الكوبلت والذي يظهر حالة النقص فهو ما بين 0.02 – 0.17 ملغم / غم من العقد الرطبة .



شكل 4-5 : تأثير الكوبلت والتلقيح بالرايزوبيوم على محتوى النتروجين في نبات الترمس النامي في تربة منخفضة الكوبلت .

ان معاملة البذور مع عنصر الكوبلت تعتبر طريقة فعالة وذلك لزيادة كمية النتروجين المثبت وكذلك نمو النباتات البقلية في الترب التي تعاني من نقص الكوبلت كما يظهر في الجدول (4-8) ، كما يظهر ان التسميد الورقي بعنصر الكوبلت كان فعالا في زيادة تثبيت النتروجين ولكنه اقل كفاءة من المعاملة للبذور مع التسميد الورقي بعنصر الكوبلت .

جدول 8-4 : تأثير الكوبلت على نبات فستق الحقل Peanut

الحاصل كغم / هكتار	النتروجين الكلي عند النضج % وزن نبات	عدد العقد / نبات	معاملات الكوبلت
1232	2.38	91	المقارنة (Co -)
1687	2.62	150	معاملة البذور
1752	3.14	123	رش الاوراق (مرتين)
1844	3.38	166	معاملة البذور + رش الاوراق (مرتين)

كما هو متوقع فان نمو النباتات المعتمدة على تثبيت النتروجين يتحضر بدرجة معتبرة عند اضافة عنصر الموليبيديوم الى التربة التي تعاني من نقص العنصر جدول (4-9) حيث يظهر الاستجابة المعتبرة في الوزن الجاف للعقد الجذرية عند اضافة الموليبيديوم وان ذلك يعكس التأثير غير المباشر في زيادة قدرة التثبيت النتروجين والذي حصل بفعل استخدام الموليبيديوم .

جدول 9-4: تأثير الموليبيديوم على نمو ومحتوى النتروجين لنباتات *Alnus glutinosa* والمزروعة في التربة التي تعاني من نقص الموليبيديوم .

الأوزان الجافة (غم / سندانة)				كمية Mo المضاف مايكروغرام / سندانة	المتغيرات
عقد	جذور	سيقان	أوراق		
0.007	0.38	0.59	1.79	صفر	الوزن الجاف (غم)
0.132	1.24	2.20	5.38	150	
2.77	1.79	0.92	2.29	صفر	محتوى النتروجين (%)
3.26	1.83	1.17	3.58	150	

ان اضافة الموليبيديوم قد تتأثر بشكل الاسمدة النتروجينية المضافة حيث يلاحظ في التربة ذات الجاهزية المنخفضة بعنصر الموليبيديوم فان تأثير اضافة الموليبيديوم للنباتات البقلية يعتمد على شكل النتروجين الجاهز كما يلاحظ في الجدول (4-10)،

حيث ان اضافة الموليبيديوم لنبات فول الصويا الذي يطور العقد nodulating والاصناف التي لا تظهر عليها العقد non nodulating قد تسبب زيادة في محتوى النتروجين وحاصل البذور في الاصناف القابلة لتطوير العقد فقط في حالة عدم اضافة النتروجين او اضافة كمية قليلة من النتروجين . ان ذلك يظهر بشكل واضح جدا الاحتياجات الكبيرة لعنصر الموليبيديوم في عملية تثبيت النتروجين مما هو في اختزال النترات . وكذلك يوضح ان في الترب ذات المحتوى المنخفض من الموليبيديوم من الممكن ابدال اضافة الاسمدة النتروجينية للنباتات البقلية وذلك باضافة اسمدة الموليبيديوم مع استخدام لقاح بكتيري ملائم للمضيف النباتي .

جدول 4-10 : تاثير جاهزية الموليبيديوم والنتروجين على محتوى النتروجين في الاوراق وحاصل البذور لنباتات فول الصويا القابلة لتكوين عقد جذرية وغير قابلة لتكوين عقد جذرية .

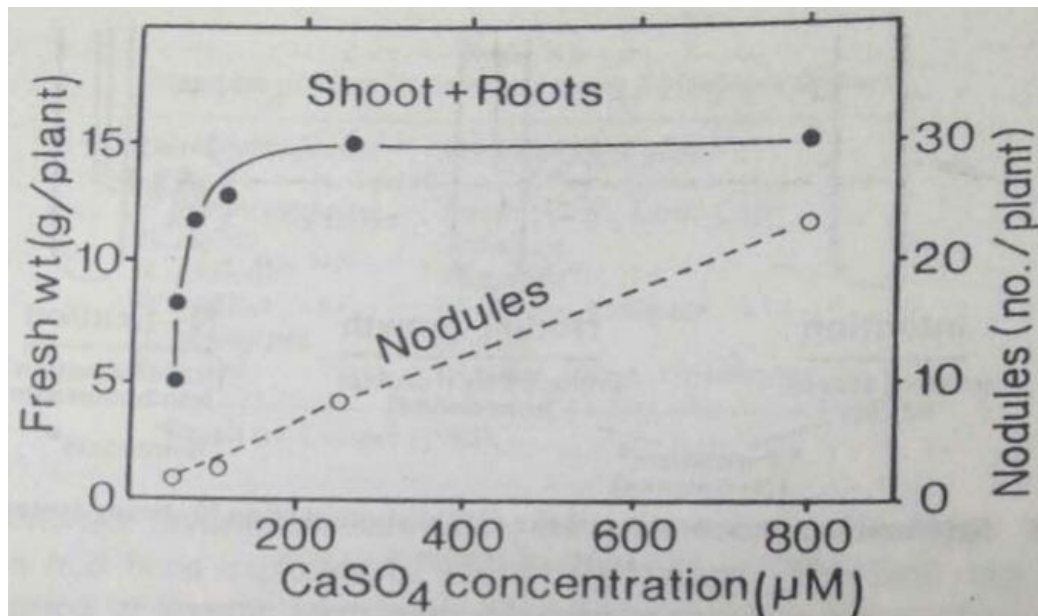
الصنف القابل لتكوين العقد كغم N / هكتار				الصنف غير القابل لتكوين العقد كغم N / هكتار				معاملات عنصر Mo غم Mo / هكتار
201	134	67	صفر	201	134	67	صفر	
النتروجين % وزن جاف								صفر
5.6	5.4	5.1	4.3	5.6	5.3	4.6	3.1	
5.6	5.6	5.5	5.7	5.6	5.3	4.7	3.6	34
حاصل البذور طن / هكتار								صفر
3.11	3.08	2.76	2.51	3.15	3.00	2.66	1.71	
3.13	3.23	3.11	3.05	3.16	2.94	2.67	1.62	34

لقد كان الـ pH 5.6.

ب- عنصري النحاس والكالسيوم في اشتراك فيتامين B_{12} في تمثيل الـ

Leghemoglobin

عند مقارنات العقد الجذرية لنباتات البرسيم في حالة نقصها او عدم نقصها للنحاس وجد ان العقد الجذرية تحت جهد نقص النحاس تمتلك عدد قليل من الـ bacteroids وقليل من Cytochrome C oxidase وكمية كبيرة من النشا مقارنة بالعقد التي لم تتعرض لجهد نقص النحاس (Hallsworth و Cartwright ، 1970). ان الالية والتي من خلالها نقص الكالسيوم المتوسط يقلل تثبيت النتروجين في العقد الجذرية لنباتات *T. subterraneum* غير معروفة . ومن المعروف ان نقص الكالسيوم لا يحد من عملية تثبيت النتروجين بناءا على اعاقا انتقال الكربوهيدرات الى العقد الجذرية بل على العكس فان نقص الكالسيوم ذو تاثير طفيف على تركيز الكربوهيدرات الذائبة وهو في حقيقة الامر يزيد من تركيز النشا في العقد . ويلاحظ من الشكل (4-6) اصابة الجذور ، نشوء العقد تحتاج كميات من الكالسيوم اعلى من احتياجات نمو الجذور والاوراق للنبات المضيف .



شكل 4-6: تاثير تراكيز من الكالسيوم في محلول مغذي (pH = 5) على الوزن الجاف (●) وعدد العقد (○) .

ج - عنصر الفسفور

ان تركيز عنصر الفسفور في العقد الجذرية يفوق ما موجود في الاوراق والجذور حتى مع النباتات المجهزة بكمية زائدة من عنصر الفسفور ولكن وظيفة العقد لم يلاحظ انها تحتاج كمية كبيرة من الاحتياجات الداخلية لعنصر الفسفور اكبر من احتياج المضيف ، ففي نبات فول الصويا وجد ان اقل تركيز من الفسفور يلزم لعملية تكون العقد هو تقريبا 0.5 مايكروغرام / لتر في المحلول الخارجي . وان زيادة التركيز من 200 الى 500 مايكروغرام / لتر تسبب في زيادة كبيرة نسبيا في وزن العقد الجاف وليس مع الاوراق او الجذور كما يلاحظ في الجدول (4-11).

جدول 4-11 : العلاقة بين جاهزية الفسفور والوزن الجاف للاوراق والجذور والعقد في نبات فول الصويا .

الوزن الجاف			كمية الفسفور المضاف مايكروغرام / لتر
غم / نبات			
جذور	عقد	قمة	
0.60	0.07	1.21	0.5
0.76	0.10	1.55	20
0.79	0.16	1.86	50
1.23	0.35	4.22	200
1.35	0.64	6.57	500

6- كيمياء حيائية تثبيت النتروجين تكافليا في البقوليات

Biochemistry of nitrogen fixation in legumes

في كلا النظامين الصناعي والحيوي لتثبيت النتروجين الجوي هناك حاجة كبيرة لدرجة حرارة عالية وضغط عالي وان المهم في ذلك انه كيف يحدث هذا التفاعل في الخلايا النباتية الحية وتحت حرارة منخفضة وضمن الضغط الجوي الاعتيادي . في

جميع الكائنات الحية المثبتة للنيتروجين تحتاج الى طاقة تقدر 355 كيلو جول / مول NH_3 وكذلك الى تفاعل الـ $\text{N}_2 \longrightarrow 2 \text{NH}_3$. لاحظ الشكل (4-7) .

ان انزيم النيتروجينيز مع بعض ما يساعده من reactants يختزل الـ N_2 الى NH_3 ويعتبر هذا الانزيم على غاية من الاهمية بالنسبة للكائنات المجهرية الحية المثبتة للنيتروجين على سبيل المثال في انواع البكتريا الهوائية واللاهوائية وفي الطحالب الخضراء – المزرقة وللعقد الجذرية في النباتات البقلية . ان انزيم النيتروجينيز يتكون من بروتينين هما Fe- protein و Mo-Fe protein وهذين البروتينين حساسين للاوكسجين . ان الوزن الجزيئي للـ Mo-Fe protein تقريبا 222000 ويحتوي الحديد والمولبيديوم بنسبة 24-26 : 2 لكل جزيئ ، اما الثاني Fe- protein فله وزن جزيئي تقريبا 60000 وهو خالي من المولبيديوم ويحتوي على اربع ذرات لكل من الحديد والكبريت لكل جزيء (4S -4Fe) . ان البروتين ذو الوزن الجزيئي المنخفض يجهز الالكترونات وذلك لاختزال الـ N_2 من قبل البروتين ذو الوزن الجزيئي العالي والذي يحتوي على المولبيديوم والحديد . بالنسبة لتفاعل انزيم النيتروجينيز فانه من الضروري ان يحتاج الى توفير الطاقة بهيئة reductant مثل ATP (الشكل 4-7) . ان الطاقة من الـ ATP والالكترونات من حامل الالكترون (وغالبا هو الفرودوكسين Ferredoxin) يتسبان في احداث تغير في بروتين الحديد ويحوله الى reductant قوي جدا قادر على نقل الالكترونات الى بروتين المولبيديوم – الحديد والذي بدوره يختزل الـ N_2 . ان اختزال الـ N_2 الى NH_3 يحتاج ما بين (15 – 30) جزيئ من ATP لكل جزيئ من N_2 المختزل .

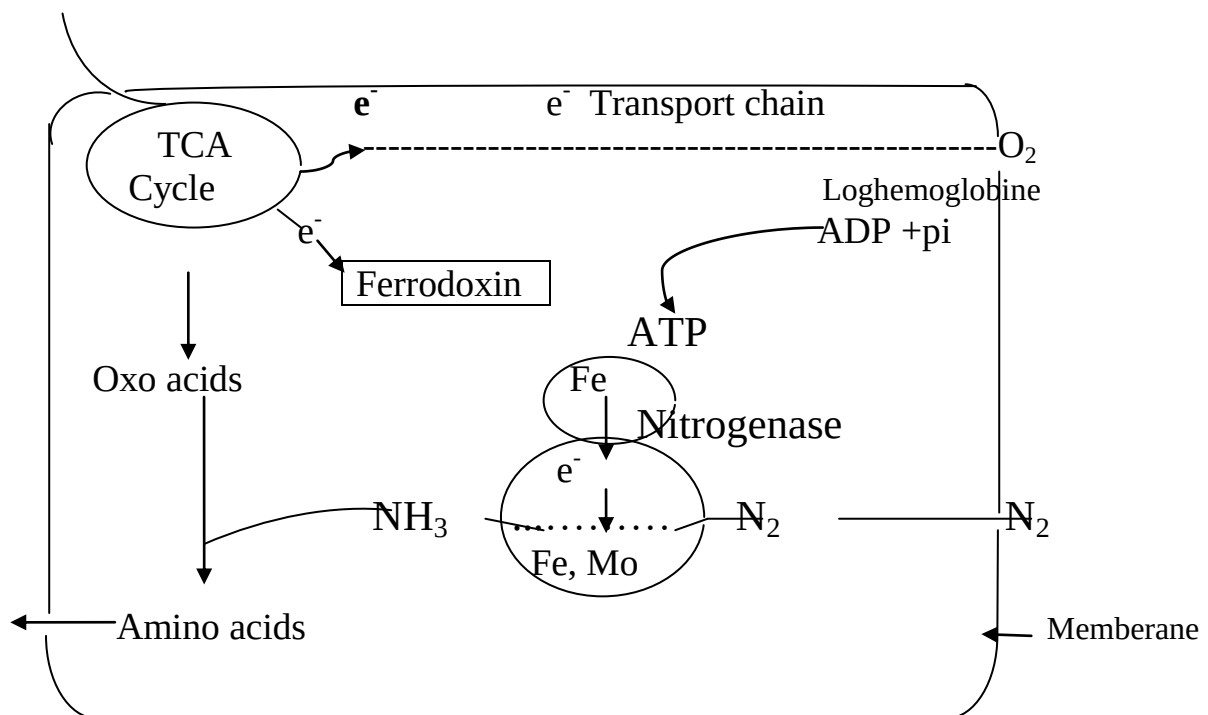
ان الشكل (4-7) يوضح بان هناك عدد من الـ substrates تشمل بروتونات والاستلين (C_2H_2) بإمكانها ان تعمل ضمن تفاعل انزيم النيتروجين كبدل للـ N_2 .

ولذا فانهما سوف يتنافسان مع الـ N_2 على الالكترونات من انزيم النتروجينيز ويعملان على تقليل كفاءة تثبيت النتروجين .

في بكتريا الرايزوبيوم ما بين (30 – 60 %) من الطاقة المجهزة الى انزيم النتروجينيز تتحرر على شكل H_2 ، كما ان سلالات بكتريا الرايزوبيوم هي الاخرى قادرة على تحرر Splitting الـ H_2 بواسطة انزيم الهيدروجيناز hydrogonase ولكن هذا يعيد دورة الالكترونات لاختزال متعاقب للـ N_2 . ان هذه الاعداد في الدورة تكون مهمة خلال فترة الظلام حيث تسمح بالمحافظة على نفس مستويات التثبيت النتروجيني وتصدر النتروجين المثبت الى الجذور بالرغم من الانخفاض المميز في مستوى الكربوهيدرات للعقد وعليه فان اختيار سلالات من الرايزوبيوم مع قدرة عالية في اعادة دورة الالكترونات من الـ H_2 قد تكون مهمة للحصول على كفاءة عالية في تثبيت النتروجين . ان الاستفادة من الـ substrate كبديل في تفاعل انزيم النتروجينيز قد تمنحنا وسيلة ممتازة لقياس فعالية ونشاط انزيم النتروجينيز وكذلك قياس معدل تثبيت النتروجين حيويًا . حيث يمكن قياس غاز الاثلين (C_2H_4) وبتركيز قليلة جدا بواسطة الـ Gaschromatography ، او تجهز غاز الاستلين ثم قياس غاز الاثلين المتحرر او ما يسمى acetylene reduction assay وتعتبر طريقة بسيطة وقد حققت الكثير من التقدم في مجال تثبيت النتروجين حيويًا .

ان تفاعل انزيم النتروجينيز يثبط بشدة بواسطة غاز الاوكسجين وعند التراكيز العالية من الاوكسجين فان الانزيم قد يهدم تماما. ومن الجانب الاخر فان هناك احتياج للطاقة على شكل ATP والذي ينتج بصورة وبنسبة خلال عملية التنفس ولذا فان الاحياء المجهرية المثبتة للنتروجين قد طورت عدة اليات وذلك للسيطرة على صعوبة دور غاز الاوكسجين في عملية تثبيط انزيم النتروجينيز ، وهذه الاليات هي :

- 1- العيش تحت الظروف اللاهوائية . مثال Clostridium .
- 2- الحماية التنفسية respiratory protection وذلك باستهلاك اغلب الاوكسجين خلال عملية التنفس المتزايدة . مثل Azotobacter .
- 3- العيش في مستعمرات مغطاة بغشاء مخاطي يمنع انشاء غاز الاوكسجين .
- 4- السيطرة على انشاء غاز الاوكسجين انزيميا بواسطة leghemoglobine مثل (في عقد الجذور للنباتات البقلية) .



شكل 4-7 : ميكانيكية تثبيت النتروجين .

التداخل بين حموضة التربة والعقد الجذرية في البقوليات

Interaction between soil acidity and nodulation in legume plants

تكلما في بداية هذا الفصل عن تأثير حموضة وملوحة التربة على بكتريا الرايزوبيوم ضمن العوامل المؤثرة على نموها ضمن بيئة الرايزوبيوم ، اما في هذا الجزء سوف نتكلم عن جميع المراحل والعمليات المؤثرة على تكون العقد ووظيفتها

عندما يكون نظام التثبيت النتروجيني (سلالة ملائمة من بكتريا الرايزوبيوم مع عائل نباتي مضيف) معرضا الى درجات مرتفعة من الحموضة مع مناقشة جميع عوامل الحموضة مثل (الهيدروجين ، الكالسيوم ، المنغنيز والالمنيوم) ومعرفة اداء السلالات والنباتات البقلية المضيفة ومعدلات النتروجين المثبت تحت هذه الظروف .

1- نمو الجذور في الترب الحامضية Root growth in acid soils

لقد اوضحت العديد من الدراسات بان جذور النباتات البقلية عموما اقل حساسية لحموضة التربة وقد جاءت هذه الدراسات من استخدام تجارب المزارع المائية solution culture وتأثير رقم التفاعل pH والكالسيوم على نمو عدد من النباتات البقلية الرعوية . ان هذه الدراسات اظهرت بان كل من الكالسيوم والمنغنيز ورقم التفاعل pH غير مؤثرة بدرجة كبيرة على تطور ونمو الشعيرات الجذرية ما عدا عنصر الكالسيوم عند المستويات المنخفضة والتي يعتبر ضروريا لتكون العقد الجذرية.

اما عنصر الالمنيوم فانه قد يثبط عملية تكون العقد nodulation وذلك من خلال تثبيطه لنمو الجذور ولكن هذه النتائج جاءت من تجارب التربة والذي قد تسبب تثبيط تكون العقد بسبب الحامضية او نقص في عنصر الكالسيوم . ان عنصر الالمنيوم يحتاج رقم تفاعل (5) او اقل لكي يصل الى التركيز الحيوي المؤثر عندها يكون هذا التركيز مهما في حالة التكافل التي تتحمل قيم منخفضة لرقم التفاعل . وبغية معرفة تأثير ايون الالمنيوم بنفس وضوح تأثير رقم التفاعل وتركيز ايون الكالسيوم على عملية تكون العقد الجذرية فان ذلك يحتاج عاملين رئيسيين هما السيطرة على رقم التفاعل وتركيز ايون PO_4 بمستويات منخفضة والآخر تركيز عالي وفعال من الالمنيوم وان ذلك بلامكان تحقيقه في انواع المزارع المائية المتحركة flowing ولكن المشكلة التي تواجه هذا التطبيق هو ان البقلات المتحملة للحموضة العالية لا تكون عقد جذرية ناضجة في المزارع المائية الغذائية. ان التقنية البديلة لمعرفة تأثير ايون الالمنيوم على نمو الجذور وتكون العقد الجذرية هو استخدام تقنية مزارع الرمل كما استخدمت من قبل باحثين

لدراسة تأثير الالمنيوم على التعايش غير التكافلي مع البقليات وهذه التقنية قد لا تكون صالحة لكي تطبق على التعايش التكافلي مع البقليات لتحديد سمية الالمنيوم لاختلاف طبيعة نظام المعاشة مع الكائن الحي .

2- النبات البقلي المضيف وتحديد ظروف منطقة الرايزوسفير

النباتات البقلية المضيضة لا بد لها ان تغير في صفات حموضة التربة خاصة في منطقة الرايزوسفير وبعد ذلك ومن خلالها تؤثر على عملية تكون العقد الجذرية nodulation ، ان التأثير النباتي للعائل البقلي غالبا ما يعيق او يلغي تأثير بكتريا الرايزوبيوم ، وان التعايش التكافلي للنباتات البقلية وامتصاص ايون النترات بكمية قليلة بهدف موازنة امتصاص الكاتيونات قد يتسبب في تخفيض رقم تفاعل التربة pH حيث لوحظ انخفاض رقم التفاعل بعد ثلاثة اشهر من النمو في تجارب السنادين في التربة متوسطة النسجة بقيمة قدرت بوحدة واحدة . وقد اقترح اعتماد طريقة قياس رقم التفاعل في منطقة الرايزوسفير مباشرة مع وجود جذور النبات البقلي المضيف وذلك لمعرفة العلاقات بين عملية تكون العقد الجذرية ورقم تفاعل التربة ومن خلال تجاربه لاحظ انخفاض رقم تفاعل منطقة الرايزوسفير عند تواجد جذور نبات Cowpea بعمر (2- 6 يوم) في التربة الطينية الغرينية من 0.3 الى 0.1 مقارنة برقم تفاعل الـ bulk soil وذلك باستخدام الـ electrode ذو حساسية ونهاية طرفية تقدر بـ (50 مايكروميتر) .

اما ايون الكالسيوم في منطقة الرايزوسفير فان هناك ادلة علمية تشير الى ان الترب الحاوية على تراكيز عالية من ايون الكالسيوم يتوقع فيها تجمع لهذا الايون على جذور النباتات البقلية كما لوحظ ذلك مع *Trifolium subterraneum* او مع نباتات فول الصويا ويرافق هذا التجمع ارتفاع في رقم التفاعل ونسبة البايوكربونات . اما في الترب الضعيفة والفقيرة في محتواها من الكالسيوم فان مشاهدات صور تقنية العناصر المشعة radioautography اظهرت انخفاض شديد قرب جذور نباتات

. *T. subterraneum*

3- نمو بكتريا الرايزوبيوم في الترب الحامضية

بكتريا الرايزوبيوم عند اصابتها العائل النباتي الملائم فانها تؤثر على عملية الـ colonization تكون المستعمرات البكتيرية وعملية ابداء المقاومة persistence وعلى عناية تكون العقد الجذرية nodulation ومع ذلك فان البحوث المنشورة تعتبر قليلة بما يخص تحمل الرايزوبيوم لحموضة التربة والعوامل المؤثرة عليها ما عدا عامل رقم التفاعل فقد درس مفصلا في بحوث عديدة . وان سبب قلة البحوث المنشورة يعزى الى الصعوبات في الحسابات تحت نظام ملائم في الظروف غير المعقمة . وهناك تقنيتين بديلة لتشجيع ومساعدة اجراء البحوث ضمن هذا الموضوع هما :

1- تعليم marking بكتريا الرايزوبيوم مع مضادات حيوية مقاومة لطريقة عد ملائم للبكتريا المضافة كلقاح introduced bacteria .

2- استخدام تقنية التصبيغ والمعروفة immunofluorescent staining وذلك للمشاهدات الميكروسكوبية لاعداد numbers وتوزيع distribution البكتريا المضافة .

ومن الدراسات المهمة والتي تضمنت مسح اكثر من 79 سلالة رايزوبية زرعت في الاوساط السائلة من yeast mannitol مع قيم اولية مختلفة لرقم التفاعل الشكل (4-8). بالامكان استنتاج النقاط المهمة التالية :

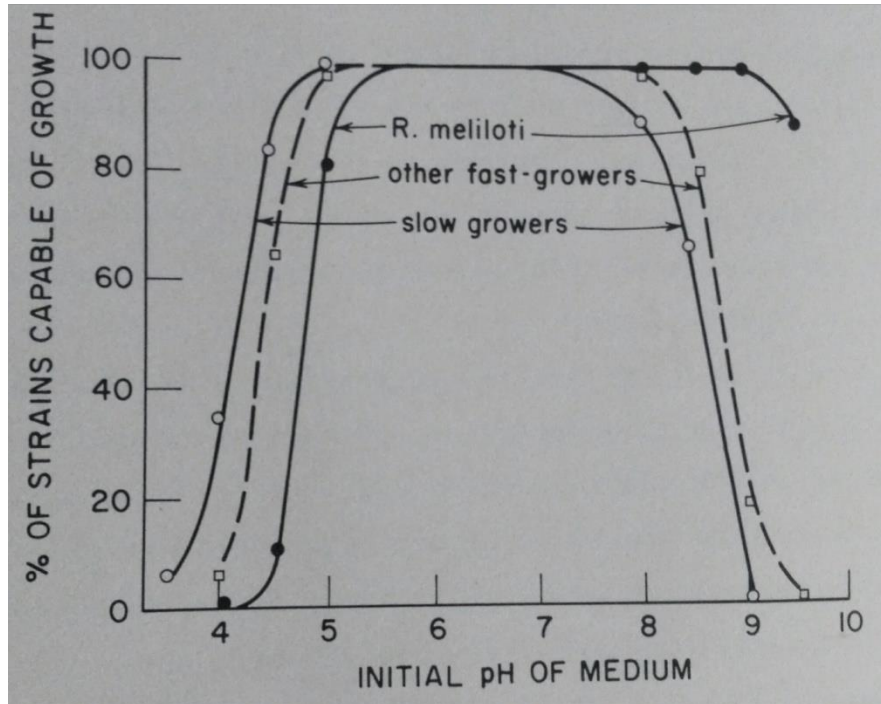
1- وجود تنوع في قدرة تحمل الحموضة مع مجاميع رئيسية للرايزوبيوم وقد اكدت هذه التنوعات في قدرة التحمل للحموضة مع بكتريا *R. japonicum* .

2- ان المجاميع الرئيسية هي الاخرى مختلفة من بعضها البعض .

3- ان تحمل الحموضة غير سائد في نوع *R. meliloti* ولكنه سائد في انواع الرايزوبيوم بطيئة النمو slow-growth rhizobia .

ولا بد الاشارة هنا بان هذه النتائج حصلت في الاوساط الغذائية الصناعية ذات الـ buffered الضعيف وقد لا تكون متطابقة مع ما يحصل في الترب الحامضية ذات الـ

buffered القوي مع تواجد ايونات الالمنيوم والمنغنيز . ولكن تعتبر مفيدة جدا وذلك لتقييم اداء السلالات الرايزوبية في الترب الحامضية . ولقد ذكر Munns (1978) حول العلاقة بين رقم التفاعل وعملية تكوين العقد الجذرية نصا يفيد انه ” لاغلب السلالات المفيدة من بكتريا الرايزوبيوم فان احتياجات الـ pH للنمو ربما تكون متشابه تقريبا لعملية تكون العقد الجذرية في المضيف النباتي الملائم “ .



شكل 4-8 : التباين في قدرة نمو الرايزوبيا في وسط مستخلص الخميرة السائل لدرجات pH مختلفة .البيانات تمثل اختبارات 11 سلالة من *R. meliloti* و 37 اخرى سريعة النمو (*R. trifolii* , *R. leguminosarum* , *R. phaseoli*) و 31 بطيئة النمو (*R. lipini* , *R. japonicum* , *R. spp*) .

ايون الكالسيوم يقوم باداء وظائف غاية الاهمية بالنسبة للرايزوبيوم فهو ذو وظيفة مهمة لجدر الخلايا الرايزوبية ، وان نقصه او غيابه يتسبب في ظهور اشكال غير طبيعية في شكل العقدة الجذرية ، ويزيد من امتصاص المضادات الحيوية وكذلك يزيد من عملية النضوج خارج الخلية . ان احتياجات ايون الكالسيوم في الاوساط الغذائية الصناعية منخفضة وهي بحدود 25 مايكرومول شريطة ان يكون التركيز الكلي لايوني الكالسيوم والمغنيسيوم عاليا ما فيه الكفاية حيث يقدر 500 مايكرومول . وان المقارنات

ما بين انواع الرايزوبيوم سريعة النمو اظهرت عدم وجود اختلافات فيما بين السلالات وذلك لاحتياجه المنخفض وعليه فان نقص الكالسيوم من غير المتوقع ان يحدد نمو الرايزوبيوم الا في منطقة الرايزوسفير ، اذا تعرض لانخفاض حاد عندها سوف يكون محددا لنمو الرايزوبيوم في هذه المنطقة . ومن التجارب على عدد من النباتات البقلية وجد ان عملية تكون العقد الجذرية في الترب الحامضية تتاثر بصورة مباشرة او غير مباشرة بتركيز ايون الكالسيوم اضافة الى العديد من العوامل المؤثرة على هذه الظاهرة حيث يمكن ملاحظة الشكل (4-6) ان كل من اصابة الجذور root infection وكذلك تكون العقد في المرحلة الاولى من نموها nodule initiation تحتاج الى تراكيز عالية من ايون الكالسيوم وهي في كل الاحوال اعلى من احتياجات الجذور والقمم للكالسيوم في النبات المضيف .ومن النقاط التي تسترعي الانتباه هو بانه بعد تكون العقد فان نمو العقد الجذرية لاحقا لا تتاثر بانخفاض تركيز ايون الكالسيوم موضحا بذلك انه في المراحل الاولى من تكون العقد فقط تكون عملية تكون العقد حساسة لتركيز الكالسيوم ، ومن التطبيقات المهمة في زيادة عملية تكون العقد الجذرية اضافة كاربونات الكالسيوم الى الترب الحامضية عند زراعة النباتات البقلية الرعوية مثل انواع من الجت او فول الصويا .

ايون المنغنيز واحد من الايونات السائدة في ظروف الترب الحامضية ومن المشاهدات المختبرية وجد ان التراكيز العالية من هذا العنصر والتي قد تصل الى 100 مايكرومول ولم تثبط نمو مجموعة من السلالات النامية في الاوساط الغذائية الصناعية. ولكن الاستمرار في بقاء المزارع في الوسط الحامضي والذي يحتوي على تراكيز عالية من المنغنيز قد يزيد من نسبة العزلات غير الفاعلة لبكتريا الرايزوبيوم *R. trifolii* وقد تاكدت هذه المشاهدات عند ملاحظة فاعلية العزلات الرايزوبية من الحقول المعاملة بكاربونات الكالسيوم ومن ثم فقد هذه الفاعلية في العزلات الرايزوبية عندما اعيد تنميتها في مزارع ثانوية تحتوي تراكيز عالية من ايون المنغنيز .

من بين التطبيقات المستخدمة عند ادخال الرايزوبيوم الى بيئة الجذور للنباتات البقلية تلويث البذور بكاربونات الكالسيوم وذلك بهدف تحسين عملية تكون العقد الجذرية في الترب الحامضية وخاصة مع انواع الرايزوبيوم سريعة النمو ، ولكن هذه التطبيقات تكون محدودة التأثير مع انواع الرايزوبيوم بطيئة وخاصة مع النباتات البقلية الاستوائية . الا انه هناك بعض من الادلة العلمية تؤكد موت بكتريا الرايزوبيوم عند تلويث بذور النباتات البقلية بها وخاصة بطيئة النمو مثل *R. trifolii* ولكن لم يظهر هذا التأثير مع *R. meliloti* اما سبب موت الرايزوبيوم هو بسبب القاعدية والتي تصل الى اكثر من (9) .

4- عملية الإصابة في الترب الحامضية

لقد اشار عدد من الباحثين بان زيادة حجم اللقاح قد يؤدي الى الحد من التأثير المثبط لعملية تكون العقد الجذرية ولكن حتى عند تواجد اعداد كبيرة من الرايزوبيوم في منطقة الرايزوسفير نتيجة استخدام كميات كبيرة من اللقاحات فان عملية تكون العقد الجذرية حساسة جدا للحامضية ولنقص الكالسيوم .

ان التأثير الاساسي لنقص عنصر الكالسيوم على عملية تكون العقد الجذرية في نباتات *T. subterraneum* ربما يتعلق بتكون المستعمرات البكتيرية الرايزوبية في منطقة الرايزوسفير وضمن هذا السياق فان النبات البقلي *Vigna radiate* فشل في تكوين عقد جذرية عند رقم تفاعل (5) مع عدد من بكتريا الرايزوبيوم والقادر على النمو بصورة جيدة عند هذا الرقم من الـ pH، بينما نجد ان نفس الانواع من الرايزوبيوم قد كونت عقد جذرية فاعلة مع نوع اخر من نفس النبات وهو *Vigna unguiculata* ضمن رقم تفاعل 4.6 . ان هذه النتائج تؤكد حقيقة بان الإصابة حالة مميزة لحساسيتها للحموضة وعند ظروف معينة تفشل الإصابة حتى عندما تستطيع بكتريا الرايزوبية ان تنمو بصورة جيدة ضمن رقم تفاعل منخفض. في عدد من النباتات البقلية الرعوية مثل (*Trifolium* , *Medicago* , *Pisum*) فان عملية الإصابة

الابتدائية والتي قد تستغرق يوم واحد قد تثبط بصورة خاصة عند رقم التفاعل المنخفض ومستوى الكالسيوم المنخفض وقد يكون ذلك بسبب عدم حدوث ظاهرة التكور curling في الشعيرات الجذرية في هذه المرحلة خصوصا يكون الطلب عاليا على ايون الكالسيوم مع ارتفاع في رقم التفاعل (انظر الشكل 4-6) والذي يبين الطلب العالي على تركيز ايون الكالسيوم لاحداث عملية الاصابة وتكون العقد الابتدائية . حيث نجد ان 200 مايكرومول من كبريتات الكالسيوم اعطت اعلى حاصل للوزن الرطب في مجموع الجذر والقمة ، بينما ما تطلبه عملية تكون العقد الجذرية اعلى من 600 مايكرومول لتحقيق اعلى عدد من العقد الجذرية لكل نبات. بلاضافة لتاثير ايون الكالسيوم هناك عوامل اخرى منها افراز المادة الهلامية الـ mucigel في منطقة الرايزوسفير (راجع الفصل الاول) وكذلك افراز مادة الـ lectin من جذور النباتات البقلية لتحقيق المرحلة الاولى في إحداث الإصابة والتي تعرف بالـ recognition .

ان ايون الكالسيوم ورقم التفاعل يتداخلان من حيث تاثيرهما على عملية الاصابة وعلى عملية تكون العقد الجذرية وعليه فان رقم التفاعل المنخفض قد يمكن تحمل تاثيره اذا كان تركيز ايون الكالسيوم مرتفعا والعكس بالعكس . ان هذا النوع من التداخل قد يظهر عدد من النباتات البقلية مثل فول الصويا ومع نبات الترمس او نبات الجت ولكن قد لا يكون ذو تاثير معنوي مع نباتات بقلية اخرى مثل *Macroptilium lathyroids* و *Lotononis bainesii* . وعليه يمكن القول ان ايون الكالسيوم والحامضية ربما يعملان معا ضمن عملية واحدة ، فقد وجد ان الحامضية تثبط امتصاص ايون الكالسيوم . ومن النقاط الجديرة بالذكر ان ايون الكالسيوم قد يخفف التاثير الضار من التركيز

العالي لايون المنغنيز وضمن هذا التاثير فقد وجد عند زراعة نبات *Trifolium repens* في المزارع المائية ان زيادة تركيز ايون الكالسيوم من 400 الى 2000 مايكرومول قد خفف التاثير الضار من تركيز ايون المنغنيز والبالغ 200 مايكرومول على عدد العقد وحجم العقد ونمو النبات المضيف . ان تاثير ايون المنغنيز في التراكم

العالية على عملية تكون العقد الجذرية لا يمكن تمييزه عن تأثير هذا الايون على نمو النبات المضيف . وعليه فان سمية المنغنيز عادة ما تحدد وتعيق تكون العقد واداء وظيفة العقد ونمو النبات العائل في ان واحد وليس جميع هذه الصفات تتاثر بسمية المنغنيز بنفس الدرجة.

5- تطور ووظيفة العقد الجذرية في الأوساط الغذائية الحامضية

من خلال مناقشتنا السابقة في هذا الفصل يمكن القول بان هناك ادلة علمية مؤكدة لاهمية الدور المباشر لايون الكالسيوم ورقم التفاعل على اداء وظيفة العقد الجذرية وتطورها ضمن النبات المضيف. ان هذه الادلة العلمية جاءت من خلال التجارب الحقلية او البيوت الزجاجية والتي استخدمت طرق متعددة لقياس نشاط تثبيت النتروجيني حيويا . لقد تم زيادة معدل تثبيت النتروجين دون احداث اي تاثير في كتلة العقدة عندما رفع تركيز ايون الكالسيوم من 300-3000 مايكرومول لنباتات *Trifolium subterraneum* المزروعة في المزارع الغذائية المائية والتي قد كونت عقدا جذرية مسبقا في المحلول الغذائي الخالي من اي مصدر للنتروجين وبنفس الاتجاه فان هناك عدد من النباتات الرعوية البقلية والمزروعة في المزارع الرملية قد ازداد معدل تثبيت النتروجين مع تحسن في النمو وذلك عند زيادة رقم التفاعل ضمن الحدود اللازمة لتكوين العقد. اما نبات فول الصويا في المزارع الغذائية المائية فان تخفيض تركيز ايون الكالسيوم من 500 الى 100 مايكرومول قد تسبب في تخفيض معدل تثبيت النتروجين بدرجة كبيرة في حين كان التأثير قليلا على عدد ووزن العقد الجذرية. ان هذه النتائج تؤكد وبوضوح بان حموضة التربة ذات تاثير كبير ومهم على وظيفة العقدة الجذرية وان هذا التأثير يعتمد اساسا على الاتحاد لنظام العائل البقلي والرايزوبيوم وبدرجة اقل على توفر الظروف الملائمة للنمو وتثبيت النتروجين.

الرايزوبيا Rhizoba

ان البكتريا العائدة للجنس Rhizoba تهاجم وتكون العقد البكتيرية في جذور النباتات البقولية ، ان حالة التعايش المتكونة بين البكتريا والعائل النباتي تمكن العائل من تثبيت النتروجين الجوي. ان كل من البكتريا والعائل النباتي غير قادرين على تثبيت النتروجين في حالة نموها بمفردهما (اي بمعزل عن الاخر). اما في حالة نموها مع بعضهما فقد تصل نسبة النتروجين المثبت بحدود 100 - 200 باوند لكل اكر في السنة . ان تثبيت مثل هذه الكمية ذات قيمة اقتصادية وليس من الغريب ان تدرس بصورة واسعة ومكثفة وهناك اعداد كبيرة من المراجع العلمية تتعامل بصورة حديثة ومفصلة مع هذا الموضوع . ان اهم المصادر التي تفحص للكشف عن تواجد الـ Rhizoba هو القسم الداخلي من العقد الجذرية . بلاضافة الى اختبارات بذور العائلة البقولية الملقة او غير الملقة . ومن الاختبارات غير المتعارف عليها بصورة واسعة اختبارات سطوح الجذور وكذلك عينات التربة الماخوذة من جذور النبات وتعتبر انجح طريقة عمل لعزل الرايزوبيا من العقد ، اما استخدام نفس التقنيات لعينات التربة فهي عادة ما تكون قليلة او ضعيفة النجاح في عملية العزل .

1- عزل الرايزوبيا Isolation of rhizoba

إن عزل الرايزوبيا من العقد يعتبر سهل الى حد ما وذلك كون البكتريا عادة ما تظهر في الداخل في أعداد كبيرة وغير ملوثة بأنواع أخرى من البكتريا . ان البكتريا الملوثة معلقة جدا في وعلى السطوح المعرضة من العقد الجذرية والمتصدعة والملتفة (متصدعة Crevices ، الملتفة involution) وكذلك الجروح في العقد . ان العزلات الناجحة من العقد سوف تكون معتمدة اساسا على الاختيار الاولي للعقد الصالحة وكذلك على نجاح التعقيم الاولي لسطوح العقد . لا توجد طريقة ناجحة جدا لاختيار وسط نمو للرايزوبيا من التربة ، وان وسط النمو الذي يحتاج لنمو الـ

Rhizoba ليس بقدر كافي يمنع نمو انواع اخرى من البكتريا وليس من السهولة بقدر معين تميز مستعمرات الـ Rhizoba من انواع اخرى متواجدة بصورة اعتيادية في التربة او على سطوح الجذور . ان تواجد نوع معين من الـ Rhizoba يمكن ان يحدد فقط على اساس عائل نباتي بقولي ملائم كوسط للنمو حاصل فاحص (test vehicle) لنوع الـ rhizoba . وكون ان (Inasmuch as) الاستجابة لتكون العقد تخصصي هذا يعني ان الـ rhizoba سوف تكون عقد مع نبات بقولي ملائم محدد وان نبات الاختبار سوف لا يحقق حالة نجاح في تكوين العقد لجميع انواع الرايزوبيا في التربة ولكن فقط تلك الرايزوبيا القادرة تكوين العقد مع نبات الاختبار . وعلى هذا الاساس فان اختبار نبات alfalfa كنبات عائل يمكن ان يعطي ويكون عقد عند التلقيح بمجموعة الـ rhizoba الملائمة و لا يمكن ان يعطي او يكون عقد مع نبات اخر مثل Soybean , ولغرض اختبار نوع الـ rhizoba مع فول الصويا لا بد من استخدام فول الصويا كنبات اختبار .

أ- طريقة عزل بكتريا الرايزوبيا من العقد الجذرية

Method for Isolating rhizoba from root nodules

1- طريقة تحضير المواد Prepared materials

أ- يحضر (Y.M.A) وهو yeast mannitol agar وذلك باضافة 15 غم من الاكار الى 10 غم من المنتول الى 0.5 غم من فوسفات البوتاسيوم K_2HPO_4 الى 0.2 غم سلفات المغنيسيوم المائية $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ الى 0.1 غم كلوريد الصوديوم NaCl الى 3 غم من كربونات الكالسيوم $CaCO_3$ الى 10 غم من مستخلص الخميرة yeast extract في 1000 مل من الماء المقطر في دورق Erlenmeyer flask تغلق فوهة الدورق مع القطن ثم يعقم وسط

النمو وذلك بوضع الدورق في الاوتوكليف تحت ضغط 15 باوند / انج² ولمدة 20 دقيقة .

ب- تحضير كلوريد الزئبق وذلك باذابة 1 غم من $HgCl_2$ في 1 لتر من الماء المقطر .

ج- كحول ايثيلي 95%

د- ماء معقم

هـ- تحضير دوارق معقمة قياس 125 ملم ، اطباق زجاجية وانابيب زجاجية وقصبات زجاجية (الجميع معقمة) .

2- طريقة العمل Procedure

أ- لغرض عزل الـ rhizoba من العقد الجذرية لابد من ازالة (1) او اكثر من العقد من النظام الجذري مع مراعاة تجنب العقد المجروحة او التالفة او اي واحدة تبدو مثالية جدا او في حالة الشيوخوخة .

ب- تغسل العقدة او العقد جيدا بماء جاري ثم توضع في محلول كلوريد الزئبق لمدة 5 دقائق .

ج- انقل العقدة او العقد باستخدام ملقط معقم الى دورق معقم يحتوي على 10 - 20 مل من كحول ايثيلي 95% .

د- رج الدورق مع المحتويات لمدة 1-2 دقيقة ثم انقل العقدة / العقد المعقمة الى

دورق اخر معقم يحتوي 90 مل من الماء المعقم مع غسل جيد للعقدة / العقد .

هـ- انقل العقدة / العقد من ماء الغسل الى انبوب زجاجي معقم يحتوي 2 مل من

الماء المعقم ، ثم ابدا بسحق وطحن العقدة / العقد بواسطة قضيب زجاجي معقم .

و- انقل واحد (مسحة) loopful من معلق العقدة / العقد المسحوقة الى واحد من

خمسة اطباق زجاجية تحتوي على 1 مل ماء معقم مع خلط المعلق مع الماء جيدا .

ز- انقل مسحة واحدة من الطبق الاول الى الطبق الثاني ثم اخلط العالق مع الماء الموجود في الطبق واستمر بالنقل للثلاثة الاطباق الاخرى .

ح- صب 10- 12 مل من خليط yeast-mannitol agar المعقم بعد اذابته وجعله يبرد الى درجة حرارة 42 م⁰ في كل طبق من الاطباق الخمسة مع تدوير الطبق لخلط المحتويات .

ط- بعد تصلب الاكار اقلب الاطباق ثم احضنها لمدة اسبوع على درجة حرارة 28 م⁰.
ي- بعد التحضين اختر طبق او طبقين التي تظهر مستعمرات قليلة.

ك- اعمل sub cultures مزارع ثانوية من مستعمرات احادية لمثل هذه الدراسات كما وصفت سابقا .

ب- طريقة كشف الرايزوبيا في التربة Method of detecting Rhizoba in

Soil

1- تحضير المواد

أ- كلوريد الزئبق ($HgCl_2$) ويحضر المحلول باذابة 1 غم من $HgCl_2$ في 1 لتر من الماء .

ب- كحول مثيلي 95% .

ج- ماء مقطر .

2- طريقة العمل

أ- اغمس بذور العائل النباتي المطلوب في 95 % من الكحول المثيلي لمدة 5 دقائق .

ب- اغمس البذور في محلول كلوريد الزئبق لمدة 5 دقائق .

ج- اغسل البذور عدة مرات بالماء .

د- ازرع البذور في البيت الزجاجي او الحقل بالطريقة المطلوبة مع مراعاة التلوث بتربة غير مزروعة بها البذور .

هـ- بعد تكون مجموع خضري جيد (عادة بعد 4-6 اسابيع) افحص الجذور وتكون العقد .

ملاحظات عامة :

ان استخدام عائل بقولي ملائم يمكنك من الكشف وبطريقة ناضجة عن الرايزوبيا ، ومع ذلك احيانا تكون نباتات الاختبار مخطئة جدا . فمثلا عدم تكون العقد البكتيرية في الحقل قد يكون بسبب ان التربة تحتوي على مستوى عالي من النتروجين مما تسبب في عدم حدوث تكون العقد بالرغم من وجود الرايزوبيا ، او احيانا ان مستوى عناصر اخرى غير النتروجين قليلة او بسبب بعض الظروف والعوامل الفيزيائية مما تسبب بعدم نجاح النبات البقولي . ان تكون العقد قد يعني بان البذور المعفرة او المتأثرة بالغبار او مصادر اخرى من التلوث قد وجدت .

2- اللقاحات الرايزوبية Rhizobial inoculants

صناعة اللقاحات الرايزوبية ترجع الى عام 1895 عندما ادخل كل من Nobbe و Hiltner زراعة الرايزوبيوم مختبريا تحت اسم نتروجين Nitrogin وقد رافقت صناعة هذه اللقاحات وانتاجها الكثير من العقبات والمصاعب الى ان وصلت الى ما هي عليه من تقدم وانتاج عالي من اللقاحات الرايزوبية وبكميات كبيرة مع الحوامل التي تستخدم في حفظ وتوزيع ونقل هذه اللقاحات. ولا بد هنا من الاشارة ان كثير من الباحثين حاولوا ايجاد سلالة خاصة super strain تلائم تلقيح عدد كبير من النباتات البقلية الا ان عملية الحصول على مثل هذه السلالات او السلالة وصفت من قبل كثير من الباحثين انه مضيعة للوقت ومن المسائل الدقيقة والحساسة .

أ- اختيار السلالة Strain selection

من اهم الاهداف الاساسية في صناعة اللقاحات للمحاصيل البقلية هو عملية الحصول على مزرعة كفوءة من الرايزوبيوم efficient Rhizobium culture ولقد حاول عدد كبير من الباحثين ايجاد علاقة ارتباط بين ما يسمى بالسلالة الكفوءة وبين عوامل اخرى مثل الصفات المزرعية والفسولوجية وبناء الجينات والطفرات الوراثية وطور الحساسية والحساسية للمضادات الحيوية ولكن تعتبر افضل الطرق في تحديد الكفاءة هو اعتماد اختبارات النمو باستخدام حاويات leonaed او الزراعة في سنادين او التقييم الحقل مع معرفة مسبقة عن مجموعة cross- inoculation وهذه الطرق تعتبر من اسهل الطرق في تحديد السلالة الكفوءة وكذلك يمكن استخدامها لانتاج المزارع الرايزوبية للمحاصيل البقلية .

ويمكن التعرف على قدرة السلالة الرايزوبية لتثبيت النتروجين الجوي وذلك بتقدير نمو النباتات في المزارع الرملية مع عدم وجود مصدر للنتروجين وتحت مثل هذه الظروف فان الكمية المنتجة من المادة الجافة او محتوى النبات من البروتين قد ينسب مباشرة الى دور بكتريا الرايزوبيا في تجهيز النبات بالنتروجين ولكن في حالات فان بعض السلالات تظهر دورها الكفوء في تثبيت النتروجين الجوي في البيوت الزجاجية ولكنها لا تكون كفوءة تحت الظروف الحقلية وقد وضع Buton اسباب لحدوث مثل هذه الظاهرة :

1- اختلاف قدرة السلالات في التعايش مع المستوى الخصوبي للتربة ورقم تفاعل التربة .

2- الاختلافات الوراثية في الكفاءة لبكتريا الرايزوبيا والتي تأتي في الغالب من زراعة النباتات تحت جهد النتروجين .

3- الاختلافات في قدرة تكون العقد البكتيرية ومقاومتها لحالات التضادات مع احياء التربة .

4- اختلاف المنافسة بين سلالات الرايزوبيا .

ب- تحضير الأوساط الغذائية

تعتبر الرايزوبيا ذات احتياجات غذائية غير متخصصة وسهلة الطلب ويمكن ان تنمو في اوساط غذائية وبنجاح مع اقل طلب من الاحتياجات المتخصصة ، ومن خلال عمليات الانتاج التجاري فان مزارع الرايزوبيا تستفاد من بعض المصادر واكثرها اقتصادا . فهي بمقدورها الاستفادة من السكريات الاحادية والثنائية مع استفادة قليلة من السكريات المتعددة او الكحول والاحماض . اما بالنسبة للنشا فان الرايزوبيا لا تستبعد حثه كما لوحظ ذلك من قبل عدد من الباحثين ،وان افضل رقم تفاعل لوسط النمو مابين (7.0 – 6.5) ويمكن ضبط ذلك باستخدام الـ KOH او H_2SO_4 حسب الاحتياج وان افضل نمو عند درجة حرارة (30 – 32 م⁰) .ويمكن تحضير اوساط النمو وكما يلي :

Media Rhizobium :

Yeast extract mannitol medium

K_2HPO_4	غم	0.5
$Mgso_4.7H_2O$	غم	0.2
Nacl	غم	0.1
Manitol	غم	10.0
Yeast extract	غم	1.0
ماء مقطر	مل	1000
Congo red (1%)	مل	2.5

للاوساط الغذائية الصلبة يستعمل الاكار بمعدل 15 غم / لتر للوسط المكون من

Peptone-glucose agar

Glucose	غم	5.0
Peptone	غم	10.0
Agar	غم	12
ماء مقطر	مل	1000

Hofer's alkaline broth تحضير الوسط القلوي المستحلب

K_2HPO_4	غم	0.5
$Mgso_4.7H_2O$	غم	0.2
Nacl	غم	0.1
$CaCo_3$	غم	0.05
Manitol	غم	10.0
Yeast extract	غم	1.0
ماء مقطر	مل	1000

الوسط الغذائي الخالي من النتروجين لنمو البادرات او تسمى وسط جينسن Jensen medium

$CaHPO_4$	غم	1.0
K_2HPO_4	غم	0.2
$Mgso_4.7H_2O$	غم	0.2
Nacl	غم	0.2
$FeCl_3$	غم	0.1
Agar	غم	15.0
ماء مقطر	مل	1000

1- يحضر محلول من العناصر المعدنية الصغرى يحتوي حسب ما اورده

(Gibson، 1963) على : ، $\text{Mo}(\text{Na}_2\text{MoO}_3) = 0.005 \%$

$\text{Mn}(\text{MnSO}_4) = 0.005 \%$ ، $\text{Bo}(\text{H}_3\text{Bo}_3) = 0.05 \%$

$\text{Cu}(\text{CuSO}_4) = 0.002 \%$.

اضف 1 مل من المحلول الى 1 لتر من الوسط الغذائي .

2- يتم ضبط رقم التفاعل ما بين (6.5 – 7.0) .

ج - تصنيع اللقاحات الرايزوبية

بعد اختيار السلالة البكتيرية من الرايزوبيا الملائمة مع العائل البقلي مع ملائمة الظروف البيئية لكل من الرايزوبيا والعائل النباتي من الضروري استخدام طريقة التجميد الجاف وذلك للمحافظة على كفاءة الخلايا البكتيرية لان استخدام مزارع الخلايا الرايزوبية خلال فترات زمنية (عدة شهور) على اوساط غذائية صناعية قد يؤدي الى تدهور فعالية هذه الاحياء . وعند احتياج استخدام الخلايا الرايزوبية فان الانابيب الحاوية على المواد المجمدة ومن ضمنها الخلايا تحت التجميد الجاف تعاد الى وضعها الطبيعي في النمو ، ويمكن تحقيق ذلك وان تنمو باعداد كافية على اوساط الاكار المائل والتي تستخدم كلقاحات خلال الموسم .

د- تحضير مزرعة اللقاح الرايزوبية

1- يؤخذ 100 مل من مستحلب YEM وينقل الى ورق زجاجي سعة 250 مل وتغلق فتحة العنق بالقطن المعقم غير القابل لامتصاص السوائل ويتم تعقيم المحتويات تحت ضغط 15 باوند ضغط جو ولمدة 20 دقيقة ثم يترك لكي يبرد بعد التعقيم .

- 2- يتم فحص نقاوة مزرعة رايزوبية بعمر (3-6 ايام) ويتم نقل 4-6 مل من المستحلب YEM المعقم الى انابيب اختبار . يتم تلقيح انابيب الاختبار بالبكتريا باستخدام needle وبعد تكون العالق البكتيري ينقل الى الدورق سعة 250 مل الذي يحتوي على مستحلب YEM .
- 3- يحضن الدورق على درجة حرارة 30 م° على هزاز دائري لمدة 2-7 ايام اعتمادا على نوع الرايزوبيا المستخدمة .
- 4- بعد تحضير وتعقيم وسط النمو في وعاء fermentor vessel يتم تلقيح الوسط بالمزرعة البدائية starter culture ولا بد من القول ان كمية لقاح المزرعة المضاف الى ال fermentor تختلف باختلاف سعة ال fermentor ولكن النسبة بين اللقاح والوسط في الوعاء لابد ان يكون كنسبة 1 : 20 (5 % معدل اللقاح) .
- 5- يتم استمرارية التهوية وذلك بضخ هواء معقم من خلال المضخة المخصصة والتي تدعى porous stainless-steel sparger وعلى هذا الاساس تعتبر الرايزوبيا اجبارية التهوية ويمكن الحصول على نمو ممتاز جدا عند تركيز من الاوكسجين ضمن حدود منخفضة وهي 0.01 جو . ولا بد من القول ان عملية التهوية للرايزوبيا تختلف من نوع الى نوع اخر وقد اعتبر معدل تهوية 100 لتر هواء / ساعة ولكمية 20 لتر من ال broth culture ولمدة 3 ايام وعند درجة حرارة 30 م° وجد انها ملائمة للانواع السريعة النمو من بكتريا الرايزوبيا ، اما الانواع بطيئة النمو فانها تحتاج كمية من الهواء اكثر وفترة تحضين اطول .
- 6- عند وصول اعداد الخلايا الرايزوبية في ال broth المستوى المحدد وهو ليس اقل من ($10^8 - 10^9$ خلايا / مل) عندها لابد من اضافة ال broth الى الحامل carrier باسرع وقت ممكن لان عملية الخزن لمدة اطول في وعاء ال fermentor قد تسبب في موت الاحياء .

هـ - الحوامل لللقاحات الرايزوبية

ان الوسط والذي به يمكن لبكتريا الرايزوبيا بالنمو يعتبر من اهم العوامل في تحضير اللقاحات الرايزوبية وعادة ما يستخدم مصطلح الحامل carrier لهذا الغرض . ان استخدام (اللقاحات الرايزوبية على قاعدة الحامل) يمكن استخدامها بدل المزارع السائلة ومزارع الاكار المائلة حيث بلامكان ان تستعمل لعدة سنوات ، ومن بين الانواع المختلفة من الحوامل وجد ان افضلها هو اللقاحات على قاعدة peat-based inoculants . ان هذا النوع من اللقاحات له مميزات كثيرة منها انه يزيد من حماية الرايزوبيا عندما تكون في تلامس مع الاسمدة الحامضية وذلك بسبب المادة العضوية والتي تعمل عمل الـ buffering agent وكذلك تحسن من الحالة الحيوية لخلايا الرايزوبيا على البذور وكذلك تحسن الحالة الحيوية عند معاملة البذور باللايم وتكسيبها قدرة عالية على حفظ الماء .

الفصل الخامس

مجموعة الأحياء المثبتة للنيتروجين غير التعايشية او الترافقية

Non symbiotic nitrogen fixation

ان تثبيت النيتروجين الجوي N_2 بواسطة احياء التربة المجهرية حرة المعيشة Free-living microorganisms يعرف بتثبيت النيتروجين غير التعايشي ويقصد به هناك في الغالب انواع البكتريا (Azotobacter و Azospirillum) وكذلك الطحالب الخضراء المزرقة (blue- green algae) Cyanobacteria تثبت النيتروجين بطريقة غير تعايشية . وفي هذا الفصل سوف نتكلم عن هذه الاحياء ودورها في تثبيت النيتروجين الجوي N_2 . لقد قسم نظام تثبيت النيتروجين غير التعايشي الى نوعين رئيسيين اعتمادا على : ¹- مصدر الطاقة ²- كمية التثبيت ³- الاحياء التي تقوم بعملية تثبيت النيتروجين ، وهذه الانواع هي :

1- الاحياء التي تترافق مع النباتات في منطقة الرايزوسفير Rhizosphere associations microorganisms

2- الاحياء حرة المعيشة Free living – microorganisms

الاحياء التي تترافق مع النباتات في منطقة الرايزوسفير

ان الكربون المثبت خلال عملية التركيب الضوئي يتحرر جزء معتبر منه الى منطقة الرايزوسفير على هيئة افرازات جذور او خلايا جذور متحللة وان الكثافة العددية لاحياء التربة المجهرية في منطقة الرايزوسفير اعلى بعدة مرات من الكثافة العددية لاحياء التربة في الـ Bulk soil . ففي المناطق المعتدلة تكون البكتريا المثبتة للنيتروجين الجوي غير التعايشي هي من الجنس Enterobacter وهو النوع السائد في منطقة الرايزوسفير للنباتات الراقية . فهناك بعض الحشائش الاستوائية مثل (قصب السكر والذرة) يكون تثبيت النيتروجين الجوي N_2 من قبل اجناس البكتريا Azotobacter

أو *Azospirillum* وهذه لا تهاجم منطقة الرايزوسفير فقط ، وإنما تدخل ضمن منطقة الخلايا الجذرية وتحديداً الـ *root cortex* وتمتاز بقدرتها العالية في الاستفادة من افرازات الجذور ، ان بكتريا *Azospirillum* قد تتواجد ضمن خلايا الجذر أو على سيقان بعض النباتات .

وتتمتاز انواع البكتريا التي ترافق النباتات في منطقة الرايزوسفير بالحالة التخصصية العالية في اختيار العائل النباتي المضيف حيث نجد الحالة التخصصية العالية بين البكتريا *Beijerinckia* مع نبات قصب السكر وتخصصية عالية ما بين البكتريا المثبتة للنتروجين *Azotobacter paspali* ونوع من الحشائش الاستوائية والمعروف *Paspalum notatum* *bahia grass* وما بين بكتريا *Azospirillum* وحشائش *Panicum maximum* *Guine grass* وكذلك مع نباتات الذرة . ان هذه التخصصية في اختيار العائل النباتي المضيف قد تختلف وبدرجة كبيرة بين الاصناف النباتية ضمن النوع الواحد ، وعلى سبيل المثال فمن بين 31 صنفاً من الحشائش الاستوائية *bahia grass* نجد ان صنف واحد فقط وهو صنف *Batatais* ينتج افرازات جذرية كبيرة ومحفزة لنمو النبات مع البكتريا *Azotobacter paspali* ، وفي مثال آخر نجد من بين 20 صنفاً من اصناف نباتات الحنطة هناك صنف واحد فقط يحقق استجابة مع زيادة في الحاصل عند تلقيحه بالبكتريا *Azospirillum* *brasiliense* .

ان نتائج معدلات تثبيت النتروجين في منطقة الرايزوسفير مع هذه المجموعة من احياء التربة متباينة وبدرجة كبيرة فهي تتراوح ما بين البضع كليوغرامات الى مئات الكيلوغرامات في الهكتار خلال السنة . ومما تجدر الإشارة له ان معدلات تثبيت النتروجين العالية معتمدة اساساً على دراسات الامد القصير في قياس نشاط انزيم النتروجيناز اما بطريق اختزال الاستلين او عينات من الجذور في الترب غير

المستشارة *undisturbed soil* ولذا فان تفسير وتقييم هذه النتائج يحتاج الى عناية فائقة قبل تحويلها الى معدلات تثبيت مقدرة على اساس الهكتار الواحد . ان عملية تثبيت النتروجين ضمن الظروف السائدة في المنطقة الاستوائية من ارتفاع في درجة حرارة التربة وارتفاع الرطوبة وانخفاض الاوكسجين في منطقة الرايزوسفير وارتفاع في اشعة الشمس كلها عوامل مشجعة في زيادة صافي معدل التركيب الضوئي وبالتالي يتحفز النمو ويزداد تكون افرازات الجذور مما يمكن الاحياء الدقيقة من تسجيل معدلات تثبيت نتروجين مرتفع ضمن المنطقة الاستوائية. اضافة الى ذلك ان معدلات تثبيت النتروجين الجوي N_2 من قبل هذه الاحياء مع النباتات نوع *C₄-plants* هو اعلى بكثير من معدلات تثبيت النتروجين مع نباتات *C₃-plants* . من هذا يمكن القول ان التأثير المحفز بفعل اضافة اللقاح البكتيري ليس بالضرورة ان يكون بسبب ما يطرا على تحسن حالة التغذية لعنصر النتروجين وقد يكون بسبب عوامل اخرى منها تأثيرات هرمونية ، حيث نجد ان معدل تثبيت النتروجين الجوي بواسطة البكتريا الواردة الذكر قد يصل ما بين 5 – 10 كغم نتروجين خلال موسم النمو في المنطقة الاستوائية ، بينما في المناطق المعتدلة فان تلقيح نباتات الحنطة مع *Azospirillum lipoferum* قد زاد من الحاصل ومحتوى النتروجين واعتبر هذا التطبيق واحد من المحاور الواعدة في تقليل او الحد من الاستهلاك الكبير في الاسمدة النتروجينية المعدنية دون ان يحقق معدلات تثبيت عالية من النتروجين الجوي .

جاهزية الاسمدة النتروجينية المعدنية تلعب دورا هاما في تحديد معدلات تثبيت النتروجين N_2 عند تواجد احياء التربة المرافقة في منطقة الرايزوسفير حيث نلاحظ في الجدول (5-1) ان اعلى معدل لنشاط انزيم النتروجينيز قد تحقق في حالة عدم اضافة السماد النتروجيني (NH_4NO_3) وان زيادة جاهزية النتروجين قد تسبب في تثبيط نشاط الانزيم في حين نجد ان وزن المجموع الخضري الجاف قد ازداد مع زيادة الاسمدة النتروجينية لنباتات الذرة والملقحة ببكتريا *Azospirillum* . عند الظروف

الحقلية فان اعلی معدل لنشاط انزيم النتروجينيز مع الاضافة المتوسطة من مستويات الاسمدة النتروجينية المعدنية. وهنا لا بد من القول ان هذه الحقيقة تتحقق مع معدلات تثبيت النتروجين تكافليا مع بكتريا الرايزوبيوم حيث تكون كمية الكربوهيدرات المصنعة في عملية التركيب الضوئي واحد من اهم العوامل المؤثرة في نجاح عملية تثبيت النتروجين تكافليا . نشاط انزيم النتروجينيز لا يبقى على وتيرة واحدة وانما يختلف ضمن موسم النمو الواحد وعليه فقد لوحظ ان نشاط الانزيم يكون منخفضا في الاسابيع الاولى من نمو العائل النباتي المضيف ثم يزداد بشدة عند مرحلة booting stage ويصل اعلی نشاط عند مرحلة الازهار في نبات الرز. ان هذا التباين في نشاط الانزيم يستدعي عدم الاعتماد على قياسات لمرة واحدة وانما اعتماد اجراء قياسات متعددة خلال موسم النمو كي نتجنب الوقوع في الخطا في تقييم معدلات التثبيت طول فترة النمو.

ولكون انزيم النتروجينيز حساس جدا للاوكسجين فان احياء التربة المرافقة والتي تثبت النتروجين الجوي تفضل التراكيز المنخفضة من الاوكسجين وعلى هذا فان الرطوبة العالية في التربة قد تشجع وتزيد من معدلات تثبيت النتروجين ، وعليه فان القدرة العالية لهذه الاحياء ان تعمل على تثبيت النتروجين في مزارع الرز يعود الى انخفاض تركيز الاوكسجين وارتفاع درجة حرارة التربة ومعدلات عالية من افرازات الجذور .

جدول 5-1: تأثير الاسمدة النتروجينية على نمو الذرة عند التلقيح بالازوسبيرلم.

نترات الامونيوم (غم. لتر ⁻¹)	نشاط انزيم النتروجينيز (nmol C ₂ H ₄ . Plant .h ⁻¹)	الوزن الجاف للمجموع الخضري (غم . نبات ⁻¹)
0	200	0.49
0.04	156	0.97
0.08	10	1.84
0.16	0	2.93

الأحياء المثبتة للنتروجين حرة المعيشة

هذه الانواع من احياء التربة توجد في اغلب الترب الا ان مشاركتها في موازنة النتروجين تعد منخفضة اذا ما قورنت مع نظام تثبيت النتروجين التكافلي وقد قدرت الكمية المثبتة سنويا كمعدل باقل من (1 كغم نتروجين / هكتار) . يعد مصدر وجاهزة الكربون (هيئة البقايا العضوية) واحدا من اهم العوامل المحددة لتثبيت النتروجين من قبل هذه الاحياء حيث انها تدخل في منافسة مع احياء اخرى من نوع Carbon-hetrotrophic حيث تحتاج الاحياء البكتيرية حرة المعيشة ما بين 50 – 400 ملغرام كربون لكل ملغرام من النتروجين المثبت.

في المناطق الاستوائية احياء التربة حرة المعيشة توجد على اسطح الاوراق النباتية ولا تزال عملية التفريق والتصنيف بين هذه المجموعة والمجموعة المرافقة associative غير واضحة تماما ولم تتوفر اي معلومات عن حالة التداخل التخصصي ما بين النباتات ونوع البكتريا النامية على اوراق النباتات phyllosphere وهي نوعين من البكتريا اعتمادا على طريقة الحصول على مصدر الطاقة ، النوع الاول

Carbon-autotrophic والنوع الثاني Carbon- heterotrophic وهذا النوع يعتمد على المواد المتكونة من عملية التركيب الضوئي والتي تغسل من اوراق النباتات ،وقد اشار عدد من الباحثين انه في النظام البيئي الاستوائي فان عملية تثبيت النتروجين الجوي N_2 في الـ phyllosphere قد يشارك بكمية معتبرة من الكمية الكلية المضافة من الاسمدة النتروجينية.

لقد اظهرت نتائج الدراسات في انظمة الزراعة الاستوائية بان هناك فائدة متحققة للنتروجين الجوي المثبت على سطوح الاوراق النباتية حيث استخدمت انواع من بكتريا مثبتة للنتروجين الجوي كاسمدة ورقية (رش الاوراق) عدة مرات حيث ادى استخدام هذه التقنية من زيادة نشاط انزيم النتروجينيز في الاوراق المرشوشة مع زيادة في حاصل حبوب الرز ومحتوى النتروجين في الانسجة النباتية جدول (5-2) .

جدول 5-2 : تأثير رش الاوراق ببكتريا مثبتة للنتروجين الجوي N_2 مقارنة باضافة سماد اليوريا في نباتات الرز *

المعاملات		نشاط انزيم النتروجينيز في الاوراق		حاصل الحبوب	محتوى النتروجين القش الحبوب
المقارنة		100		100	100
<i>Mycobacterium flavum</i> +		560		211	175
<i>Klebsiella pneumeniae</i> +		524		182	180
+ يوريا		صفر		318	236

* القيم نسبية

نتائج مشابه تم الحصول عليها مع نباتات الرز والحنطة حيث وجد ان اكثر من 50 كغم نتروجين كاسمدة نتروجينية يمكن ان توفر لكل هكتار مع كل محصول .

ومما تجدر الاشارة له بان انزيم النتروجينيز للكائنات الحية الحرة المعيشة المثبتة للنتروجين الجوي تنخفض فاعليته باضافة الاسمدة النتروجينية ، لذا فان هذا النوع من

التثبيت يشارك بكميات معتبرة عندما تكون النباتات تعاني من نقص شديد لتغذية النتروجين وان القدرة الكامنة للحصول لم تستمر على اتم وجه انظر الجدول (2-5) .

وسوف نتناول دراسة هذه الاحياء المسؤولة عن تثبيت النتروجين غير التعايشي وهي :

Azotobacter spp -1 (في هذا الفصل)

Azospirillum spp -2 (في هذا الفصل)

blue-green algal -3 (في الفصل السادس)

Azolia- anabaena -4 (في الفصل السادس)

بكتريا الازوتوباكتر Azotobacter

أ- صفات الازوتوباكتر

ان جنس بكتريا الـ Azotobacter عصوي الشكل وكائن حي كبير نسبيا بقياسات (2.0- 7.0 مايكرون) × (1.0 – 2.5 مايكرون) . ان حجم وشكل الخلايا البكتيرية يختلف بدرجة كبيرة مع النوع والسلالة وعمر المزرعة البكتيرية وظروف النمو ، خلايا بكتريا *Azotobacter chroococcum* ذات نهايات acuminated ends ، بينما خلايا بكتريا *Azotobacter beijerinckii* ذات نهايات بيضوية الشكل وان النوع الثاني اكبر من الخلايا البكتيرية للنوع الاول . الخلايا البكتيرية الفتية young cells من نوع *Azotobacter vinelandii* قريبة الشبه من البكتريا *Azotobacter chroococcum* وتكون اصغر نسبيا.

الخلايا البكتيرية والعائدة للعائلة Azotobacteriaceae من غير المعتاد ان تكون متغيرة في المظهر الخارجي ، وهناك عدة انواع من هذه البكتريا قد تكون خلاياها الخضرية vegetative cells اشكال بيضوية متخصصة تعرف بالحوصلات او الاكياس cysts وان كل كيس يتكون من خلية خضرية منفردة وان الاختلافات المميزة في المظهر الخارجي تكون موجودة ما بين الخلايا الخضرية والاكياس ، عند مقارنة بناء الاشكال البيضوية للخلايا الخضرية فان الاكياس تحت ضوء المجهر تظهر كخلايا كروية spherical cells مع سايتوبلازم غير متحرر وضيق contracted

cytoplasm مع جدار ثخين ثنائي منحرف adouble contoured thick wall وخلال عملية انبات الاكياس تظهر الخلايا الخضرية من تركيب الكيس تاركة بجانب الجزء المتبقي من غلاف الكيس . ان الخلايا داخل الكيس للبكتريا *Azotobacter* وهي التي تعرف Encysted cells لها القابلية في مقاومة الظروف غير الملائمة مثل الجفاف desiccation او المعاملات الموجية sonic treatments او الاشعة فوق البنفسجية ultraviolet والتي لا يمكن ان تتحملها الخلايا الخضرية. ان الحركة في اغلب الخلايا البكتيرية من الـ *Azotobacter* تنفذ بواسطة اسواط محيطية peritrichous flagella من بين الانواع الثلاثة الرئيسية تعتبر *Azotobacter beijerinckii* اقل حركة عند مقارنتها مع نوع البكتريا *Azotobacter vinelandii* ، وان النوع *Azotobacter chroococcum* اسرع الانواع حركة من بين الثلاثة . ومن بين الصفات الاستثنائية والمميزة في الجنس *Azotobacter* قدرتها في تكوين الصبغات pigments وان هذه الصفة تستخدم للتفريق ما بين الانواع الثلاثة الرئيسية للجنس *Azotobacter* ، فلقد وجد ان المزارع القديمة من *Azotobacter chroococcum* تكون صبغة سوداء بنية غير ذائبة insoluble black brown pigment وعادة ما يعزى تكوينها الى وجود مادة melanin التي تتكون نتيجة اكسدة انزيم الـ tyrosinase وهو انزيم يحتوي على النحاس Copper-containing enzyme

لقد وضعت العديد من الاقتراحات لتصنيف البكتريا من الجنس *Azotobacter* وعلى اساس اعتماد الصفات المورفولوجية والفسلجية، فقد صنفت كل من *Azotobacter chroococcum* ، *Azotobacter beijerinckii* ، *Azotobacter vinelandii* تحت الجنس *Azotobacter* بينما النوع *A. agilis* فقد وضع تحت الجنس *Azomonas* ، وصنف Johnstone (1974) جميع الانواع المذكورة انفا واعتمادا على اختلاف الصفات المظهرية الخارجية والفسولوجية للجنس

Azotobacter وضمن تصنيفه هذا فقد ضمن نوع جديد من الـ Azotobacter والذي اطلق عليه *Azotobacter paspali*.

ب- الظروف البيئية والعوامل المؤثرة على نمو الازوتوباكتر

لقد اظهرت الدراسات العديدة ان هذا الجنس من البكتريا يتاثر بمجموعة من العوامل ضمن بيئة نموها في منطقة الرايزوسفير . الـ Azotobacter تعتبر من انواع البكتريا المثالية من حيث انها محبة للعيش ضمن درجات الحرارة المعتدلة اي mesophilic bacteria وان اعلى درجة حرارة تتحملها هي ما بين (25 م⁰ – 30 م⁰) ، كما ان خلاياها تحتاج الى رطوبة عالية وهي جدا متحسسة لها . وهي ذات ضغط ازموزي منخفض واقل من الفطريات والاكثومايسيتس ولذا نجد ان احتياجاتها الرطوبة مشابه نوعا ما للنباتات الراقية . هذه البكتريا هوائية aerobc وتحتاج الى مصدر دائم من الاوكسجين وهي ذات طبيعة استثنائية بالنسبة لحاجتها من الاوكسجين وتختلف الفعالية او النشاط التنفسي respiratory activity باختلاف الانواع حيث نجد ان النشاط التنفسي للنوع *Azotobacter chroococcum* (O₂) يبلغ Q 2000 في حين في الـ *Azotobacter vinelandii* (O₂) يبلغ Q 4000 وهو اعلى ما يمكن مشاهدته في اي مادة حية اخرى . وبنفس الوقت فهي قادرة ان تتكاثر في ظروف micro-aerophilic condition . هذا الجنس من البكتريا يتاثر جدا في النشاط الايضي metabolic activity ولذا نلاحظ ان الـ pH ذو تاثير على الـ Azotobacter وان افضل رقم تفاعل لنموها هو قريب او اعلى قليلا من المتعادل ويقدر ما بين (7.2 – 7.6) . من العوامل البيئية المؤثرة على حيوية الاحياء المجهرية في الترب الملحية التراكيز العالية من الاملاح الذائبة وقد وجد ان تراكيز الاملاح تثبط نمو الـ Azotobacter . ان السلالات المعزولة من محاصيل مختلفة اظهرت اختلافات في مقاومتها للملوحة في الاوساط الغذائية والتي احتوت كلوريد الصوديوم بتراكيز ما بين (0.2 – 1.0 %) ، ومن الجدير بالذكر ان اكثر السلالات في مقاومة الملوحة

كانت تلك المعزولة من حقول نبات الحنطة واقلها مقاومة تلك المعزولة من حقول الذرة والرز. و أشار العديد من الباحثين الى أن بكتريا الازوتوباكتر المعزولة من الترب العراقية هي مقاومة لتراكيز الملوحة , إذ وجد سهيل وآخرون (2011) زيادة أعداد بكتريا *A. chroococcum* عند المستوى (4,2) ديسي سمنز.م¹ من الملح NaCl , CaCl₂ مقارنة بالمستوى صفر وعزا ذلك الى أن البكتريا المعزولة من الترب العراقية مقاومة لتراكيز الملوحة . وفي دراسة اجريت بالعراق لمعرفة تأثير تراكيز مختلفة من ماء البزل على اعداد خلايا الازوتوباكتر المعزولة من رايزوسفير نباتات مختلفة في الاوساط الزراعية الصناعية وجد ان العزلات المعزولة من رايزوسفير نباتات الحنطة والشعير والبادنجان والبااميا والطماطة هي اكثر تحملا للتراكيز الملحية العالية وان العزلات المعزولة من الترب الملحية هي اكثر مقاومة للملوحة من العزلات المعزولة من الترب الغير ملحية (كريم ، 2015) .

توزيع جنس الـ *Azotobacter*

يشمل جنس الـ *Azotobacter* على اربع انواع هي :

1- *Azotobacter chroococcum*

2- *Azotobacter vinelandii*

3- *Azotobacter beijerinckii*

4- *Azotobacter paspali*

تنتشر بكتريا الازوتوباكتر في التربة والمياه وعلى اسطح النباتات والبكتريا الموجودة على اسطح جذور النباتات انشط من تلك التي توجد في التربة وذلك لانها تستفيد من افرازات الجذور مصدرا للكربون ، بعض الانواع تم عزلها من الترب الغرينية الحمراء في الهند وهي *Azotobacter chroococcum* . ان هذا الجنس من البكتريا واسع الانتشار في طبقات التربة الاولى وان اعدادها تنخفض مع العمق نحو

الاسفل ويعتقد ان الانواع *Azotobacter chroococcum* وكذلك *Azotobacter* *beijerinckii* من اكثر الانواع انتشارا وان النوع الاخير يظهر في الترب الحامضية ، بينما النوع الاول يظهر في الترب المتعادلة والقلوية. ان النوعين *A. chroococcum* و *A. vinelandii* تعد من اكثر الانواع انتشارا في الترب العراقية (قاسم وعلي ، 1989). وظهرت نتائج عزل بكتريا الازوتوباكتر الحصول على 17 عزلة من بكتريا الازوتوباكتر مأخوذة من حقول مختلفة مزروعة بمحاصيل مختلفة من محافظتي بغداد وديالى ان جميع العزلات كانت من نوع *A. chroococcum* (التميمي ، 2005) . بينما دراسة اخرى حصلت على 16 عزلة من بكتريا الازوتوباكتر المعزولة من حقول مختلفة من مناطق مختلفة ضمن محافظة ديالى وان إحدى عشرة عزلة هي من النوع *A. chroococcum* وخمس فقط هي من النوع *A. vinelandii* وتواجدت البكتريا في جميع نماذج التربة ذات ملوحة مختلفة والـ pH متعادل ومائل الى القاعدية (كريم ، 2015) .

جـ المركبات الحيوية والمشجعة للنمو التي تنتجها بكتريا الازوتوباكتر

ان استخدام هذه البكتريا كمخصبات حيوية لمحاصيل مختلفة اظهرت قدرتها في تحسين وتشجيع نمو النباتات من خلال التحسن الذي يطرا على محتوى النباتات من عنصر النتروجين بلاضافة الى تاثير عدد من المركبات الحيوية ذات التأثير المحفز للنمو . فلقد وجد ان مزارع الـ *Azotobacter* تكون كميات معتبرة جدا من المواد النشطة حيويا ، ومن اهم هذه المواد الفيتامينات لمجموعة فيتامين B وكذلك احتوائها على حامض النيكوتين *nicotinic acid* وحامض الباتونك *patothenic acid* ومادة الـ *biotin* ومادة *heteroauxin* ومادة *gibberellin* . هذه البكتريا تمتاز بقدرتها في انتاج المضادات الحيوية للفطريات *anti-fungal antibiotics* ومركبات

Fungistatic compounds ضد المسببات المرضية ، امثال الـ , Alternaria , Fusarium .

ان التأثير المحفز للقاحات الـ Azotobacter كمخصبات حيوية يمكن ملاحظته من خلال التجارب المنفذة في مناطق مختلفة وعلى محاصيل زراعية متنوعة ، فلقد وجد ان معاملة عدة انواع من البذور (بعد تعقيم اسطحها) بعالق ثخين القوام من مزرعة بكتيرية من الـ Azotobacter قد طور المجموع الخضري وكان افضل بكثير من البذور غير المعاملة (المقارنة) وعلى هذا الاساس فان زيادة نسبة الانبات وكثافة المجموع الخضري للنباتات الفتية قد ادى الى تحسين اداء النباتات الملقحة بالـ Azotobacter مما شجع من استعمالها كمخصبات حيوية. وفي تجارب اخرى وجد ان التلقيح بالـ Azotobacter قد سرع في نمو الساق والاوراق لنباتات الطماطة وقد قصر الزمن بين ظهور البرعم وسقوط الـ petal . ومن بين التأثيرات المهمة لوحظ ان فترة الازهار في محصول الحنطة تتسارع وان هناك تشابه في تأثير منظم النمو الـ gibberellins والتلقيح بالازوتوباكتر مع الطماطة.

د- عزل بكتريا الازوتوباكتر Isolation of Azotobacter

طريقة العمل

بالامكان عزل بكتريا الازوتوباكتر بطريقة تخفيف الاطباق Soil dilution : plating method

- 1- خذ 10 غم من عينة التربة ثم انقلها الى دورق زجاجي يحتوي على 90 مل من الماء المقطر المعقم ومزجها جيدا وذلك برج الدورق لمدة 5 دقائق .
- 2- اعمل سلسلة من التخفيف لعالق التربة والماء مستعملا الماء المقطر المعقم وذلك باخذ 10 مل من العالق ومن منطقة المركز وانقلها الى دورق زجاجي

معقم يحتوي على 90 مل من الماء المقطر المعقم سوف تحصل على تخفيف قدرة 10^{-2} كرر العملية الى 10^{-6} او 10^{-7} .

3- حضر وسط النمو الخالي من النتروجين والخاص بـ *Azotobacter* وذلك باختيار واحد من الاوساط الغذائية التالية :

أ- وسط نمو Jensen's		ب- وسط نمو Ashbys		ج- وسط نمو Burk*	
المادة	الكمية (غم)	المادة	الكمية (غم)	المادة	الكمية (غم)
Sucrose	20.0	Mannitol	20.0	(A)	
K ₂ HPO ₄	1.0	K ₂ HPO ₄	0.2	MgSO ₄	20.0
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.5	MgSO ₄ .7H ₂ O	0.2	K ₂ HPO ₄	80.0
NaCl	0.5	NaCl	0.2	KH ₂ PO ₄	20.0
FeSO ₄	0.1	K ₂ SO ₄	0.1	CaSO ₄	13.0
CaCO ₃	2.0	CaCO ₃	5.0	(B)	
Agar	15.0	Agar	15.0	FeCl ₃	1.45
Distilled H ₂ O	1000	Dist. H ₂ O	1000	Na ₂ MoO ₄	0.253
				Dist.H ₂ O	1000

*يحضر (A) و (B) منفصلين عن بعضهما ثم تخلط كما يلي :

A = 1.3 غم ، B = 1.0 غم ، Sucrose = 20.0 غم ، Dist.H₂O = 1000 مل

4- اسكب الوسط المحضر حسب اختيارك في صحن زجاجي معقم Sterile petri-plates .

5- خذ 1 مل من سلسلة التخفيف المعمولة لديك وانشره بالطبق على وسط الاكار البارد في الصحن الزجاجي ، يتم وضع الاطباق في حاضنة عند درجة حرارة 30 م⁰ ولمدة 3- 4 ايام .

6- افحص مستعمرات الـ *Azotobacter* حيث تكون مسطحة flat ناعمة soft

حليبية milky وتكون mucoid on agar plates .

وبالامكان عزل الـ *Azotobacter* مباشرة من التربة وذلك برش قطعة ترابية Lumps فوق احدى الاوساط المختارة والخالية من النتروجين والموضوعة في اطباق زجاجية ، ثم تحضن على درجة حرارة 28 م⁰ بعدها تتطور المستعمرات البكتيرية خلال 3 ايام من التحضين .

ومما تجدر الاشارة اليه ان بكتريا الازوتوباكتر تنمو على وسط الاكار مانيتول وتكون مستعمرات شفافة تشبه قطرات الماء ثم تتحول تدريجيا ويصبح لونها داكنا . اما في الاوساط السائلة فتكون اغشية بيضاء ثم تتحول الى بنية داكنة وتكون مادة مخاطية كثيفة حول الخلية لتكون ما يشبه الحافظة capsule (قاسم وعلي، 1989) .

هـ - تحضير واستعمال لقاح الازوتوباكتر Preparation and use of *Azotobacter* inoculant

ان تحضير اللقاح البكتيري من الازوتوباكتر واستخدامه كمخصب حيوي مع المحاصيل المختلفة يتطلب تحضير لقاح هذه البكتريا في قناني سعة نصف لتر حيث تنمي البكتريا *Azotobacter chroococcum* او غيرها من انواع هذا الجنس على الاكار المائل agar slants وسوف يتكون في كل نصف لتر من هذه القناني ما يقارب 40 – 50 مليون خلية بكتيرية من *A. chroococcum* ، بالامكان تنمية المستعمرات البكتيرية على الاكار المنشور spread في منتصف السطح الداخلي للقنينة ومن الملاحظات المهمة في هذا الجانب ان الخلايا البكتيرية الفتية تبدو غير متصبغة بينما الخلايا البكتيرية القديمة تبدو متصبغة .

من اهم العيوب في تنمية الخلايا البكتيرية على الاكار هو الموت البطيء في الوسط الغذائي ولكن بالامكان ومع الاكار المائل agar slants لاغراض تنمية الخلايا البكتيرية بقاء الخلايا البكتيرية حية لمدة شهرين وبعد هذه الفترة تبدأ اعداد الخلايا

البكتيرية بالانخفاض ، ومن العيوب الاخرى عند تنمية هذه البكتريا على الاكار في القناني الزجاجية هو عدم امكانية خزن المزارع في القناني لمدة طويلة وخاصة في المناطق التي تكون درجة الحرارة مرتفعة بها كما هو الحال في العراق او الهند وذلك لان الاكار سوف يجف خلال فترة زمنية قصيرة . ان افضل وسيلة لمعالجة هذه المشكلة هو جعل اللقاح على هيئة مسحوق من بكتريا الازوتوباكتر الا انه وبسبب عدم تكوين هذه البكتريا للسبورات فان اجراء مثل هذا يتطلب خطوات خاصة لذلك. ان الحوامل المستخدمة عادة ما تكون من ضمن المواد المتوفرة ورخيصة الثمن وقابلة للتعقيم في المكان او البلد الذي ينتج اللقاح البكتيري وعلى سبيل المثال فان لقاحات الازوتوباكتر في الهند تستخدم قاعدة من الحوامل هي (lignite او Charcoal + soil او Charcoal + press-mud) وان لقاحات الازوتوباكتر في الغالب يمكن ابدالها بمزارع سائلة او مزارع مائلة الاكار كما هي مستخدمة منذ فترة طويلة .

طريقة الاضافة Method of application

ان الازوتوباكتر النامية على الاكار المائل في القناني سعة 500 مل تكشف scraped وذلك باضافة الماء (المقطر المعقم) ثم ترج المحتويات كاملة ثم ترش على البذور المنشورة بطبقة سميكة ثم تخط البذور مع اللقاح المضاف خلطا جيدا وذلك لجعل جميع المكونات موزعة بتجانس ثم تترك لكي تجف في الظل قبل زراعة البذور . ان طريقة تلقيح البذور مع الازوتوباكتر والحوامل الخاصة بها مشابه لتلك المعمول بها مع بكتريا الرايزوبيوم . الا انه في المحاصيل القابلة للشتل transplanted crops فان البادرات seedlings تغمس في خليط اللقاح والـ slurry لمدة (10-30 دقيقة) وهذا يعتمد نوعا ما على نوع المحصول المراد زراعته ثم تزرع مباشرة . ان الاضافة اللاحقة من اللقاح يمكن ان تجري وذلك بسكب اللقاح المستحلب ثخين القوام slurry قرب منطقة الجذر وكذلك بالامكان خلط اللقاح مع السماد الحيواني farm yard manure ثم نشره قرب منطقة الجذر.

و- استجابة المحاصيل المختلفة للسماد البكتيري للازوتوباكتر

لقد اظهرت النتائج الحقلية وعلى محاصيل مختلفة وفي اماكن متنوعة ان المخصب الحيوي من الازوتوباكتر ذو تاثير خلاب في كثير من المواقع والمحاصيل وان ذلك لا ينفي عن ظهور بعض الاختلافات بسبب معين او اخر الا انه بالامكان استخدام هذا النوع من المخصبات الحيوية مع اضافات متواضعة من الاسمدة المعدنية واعتباره احد المحاور الواعدة في تقليل كميات الاسمدة النتروجينية المضافة ، ومن التجارب الحقلية بان هناك مجموعة من المحاصيل استجابتها عالية لاضافة اللقاح البكتيري الـ *Azotobacter* وهي على سبيل المثال (الحنطة ، الرز ، محاصيل الخضر خاصة البصل والبادنجان والطماطة واللحانة وقصب السكر) وكذلك الذرة والقطن. والجدول (4-5) يوضح تاثير تلقيح بذور ثلاثة محاصيل مع المخصب البكتيري *Azotobacter chroococcum* زرعت بدون اضافة اسمدة نتروجينية .

جدول 4-5: تاثير لقاح البذور مع الازوتوباكتر *A. chroococcum* لثلاث محاصيل زرعت بدون اضافة من الاسمدة النتروجينية .

النسبة المئوية في زيادة الحاصل	الانحراف القياسي C.D 5%	مع اللقاح	مقارنة بدون نتروجين	الموقع	الحاصل كغم / هـ
9.3	1.22	14.0	12.8	1	الذرة البيضاء
38.1	10.56	32.6	23.6	2	
71.7	4.8	13.4	7.8	3	الذرة الصفراء
36.5	9.9	43.7	32.0	2	
6.7	241	1339	1254	4	محصول القطن
9.5	104	401	366	5	
26.6	165	708	559	6	

ان النتائج المتحققة في الجدول (5-4) يمكن تلخيصها بالنقاط التالية :

- 1- ان جميع المواقع سجلت زيادة في حاصل المحاصيل الثلاثة وان هذه الزيادة قد تآثرت بدرجة كبيرة بموقع التنفيذ ونوع المحصول .
- 2- ان تأثير اللقاح البكتيري من الـ *Azotobacter* حقيقة يستدل عليها من الزيادة المتحققة في النسبة المئوية للحاصل وانها تتراوح ما بين 6.7 % الى 71.7 % اعتمادا على نوع المحصول والظروف البيئية لموقع التنفيذ .
- 3- ان اعلى نسبة زيادة متحققة في الحاصل مع محصول الذرة حيث كانت نسبة الزيادة ما بين الموقع (3) والموقع الثاني ما بين 36.5 % الى 71.7 % وان الموقع رقم (2) سجل نسبة زيادة في الحاصل متفاوتة حيث كانت 38.1 % مع الذرة البيضاء و 36.5% مع الذرة الصفراء .

ان الاخفاقات عند استخدام المخصب البكتيري الازوتوباكتر قد تكون بسبب عامل واحد حيث ان احدى المزارع قد افادت محاصيل مختلفة ولذا فلا بد من ان نحدد اللقاح المستخدم مع كل محصول وفي مواقع مختلفة من القطر . ان الفائدة المتحققة من التلقيح بالـ *Azotobacter* تبدو من الناحية النوعية حقيقة علمية ثابتة وان ذلك قد يفسر على اساس التأثير المزدوج للـ *Azotobacter* من خلال زيادة تثبيت النتروجين الجوي اولا وتأثير المواد الحيوية المشجعة للنمو والمضادات الحيوية للفطريات ثانيا . ان رخص عمليات استخدام المخصبات الحيوية والزيادات النسبية في الحاصل عند استخدامها تعتبر ذو فائدة كبيرة اذا علمنا ان جاهزية الاسمدة النتروجينية في شحة وهناك حاجة قائمة للمحافظة عليها واستخدامها بالطريقة المثلى لاجل تعظيم الانتاج وعلى اساس تحسين نوعية المحصول المنتج بعد اضافة المخصب الحيوي الازوتوباكتر وجد ان فيتامين C يزداد في نباتات الطماطة الملقحة بالازوتوباكتر . ومن التطبيقات التقنية الحديثة في استخدام المخصبات الحيوية اعتماد التلقيح الثنائي *dual inoculation*

او احيانا الثلاثي وزيادة النشاط الحيوي ضمن منطقة الرايزوسفير وعلى سبيل المثال فقد لوحظ زيادة النشاط الحيوي biological activity في تثبيت النتروجين الجوي عند اضافة خليط من اللقاحات وهي *Azotobacter chroococcum* مع *Rhodopseudomonas capsulatus* مع *Cylindrospermum muscicola* بحيث كان اكثر قيما لو استعمل كل لقاح منفصلا .

ومن المشاهدات المهمة في هذا الموضوع وجد ان هناك زيادة معنوية في انتاج المادة الجافة لمحاصيل الذرة البيضاء والذرة الصفراء عند اجراء تلقيح لبذور هذه المحاصيل باللقاح *Azotobacter chroococcum* مع *Azospirillum brasilense* مقارنة عند اجراء التلقيح المنفرد مع كل كائن حي . ومن التجارب والتي تشمل استخدام الاسمدة النتروجينية وبمستويات متواضعة مع الاسمدة البكتيرية مع نبات الرز فان هناك دراسة اظهرت بان اضافة 40 كغم / هـ من سماد اليوريا مع تلقيح البذور بـ *A. beijerinckia* تسببت في زيادة معنوية في الحاصل مقارنة بمعاملة المقارنة (بدون تلقيح وبدون نتروجين) بينما المعاملة 40 كغم / هـ من اليوريا بدون لقاح لم تسبب في زيادة معنوية في الحاصل مقارنة بمعاملة المقارنة اضافة لذلك فان الحاصل عند المعاملة 40 كغم / هـ يوريا + التلقيح البكتيري لم تظهر فروق معنوية في الحاصل مقارنة بكمية الحاصل المتحقق من اضافة 80 كغم / هـ يوريا فقط . ان ذلك يؤشر وبوضوح ان استخدام المخصبات الحيوية قادرة على تقليل الكميات المستخدمة من الاسمدة النتروجينية .

جدول 5-5 : خلاصة النتائج الحقلية لاستجابة محاصيل مختلفة لقحت بذورها أو البادرات بالسماد الحيوي *Azotobacter chroococcum* مبينا الاسمدة المعدنية أو السماد الحيواني المضاف مع اللقاحات وطريقة استعمال اللقاح والنسبة المئوية للزيادة المتحققة في الحاصل مقارنة بمعاملة المقارنة .

نوع المحصول	الاسمدة المضافة كغم / هـ	طريقة اضافة اللقاح	نسبة الزيادة المتحققة (%)	المصدر / القائمون بالبحث
الحنطة	مستويات مختلفة من N.P.K	تلقيح البذور بعالق الخلايا البكتيرية	8-2	Lehri و Mehrotra (1971) ،
الحنطة	سماد حيواني 1200 كغم / هـ	تلقيح البذور بعالق الخلايا البكتيرية	20 - 10	Mehrotra و Lehri (1972) ،
الحنطة	بدون اضافة	تلقيح البذور بعالق الخلايا البكتيرية	20 - 10	Sundra Rao واخرون ، (1963)
الرز	120 كغم N / هـ + 60 كغم K_2O / P_2O_5 هـ	تلقيح البذور بعالق الخلايا البكتيرية	*23	Lehri و Mehrotra (1971) ،
الرز	مستويات مختلفة من N.P.K	تلقيح البذور بعالق الخلايا البكتيرية	22 - 1	Lehri و Mehrotra (1971) ،
الطماطة	مستويات مختلفة من السماد الحيواني + N.P.K	غمس الجذور في عالق خلايا البكتريا	29 - 2	Lehri و Mehrotra (1971) ،
الباذنجان	مستويات مختلفة من السماد الحيواني + N.P.K	غمس الجذور في عالق خلايا البكتريا	*45 - 26	Lehri و Mehrotra (1971) ،
اللهاة	مستويات مختلفة من السماد الحيواني + N.P.K	غمس الجذور في عالق خلايا البكتريا	* 50-25	Lehri و Mehrotra (1971) ،

* الزيادة في الحاصل معنوية .

ان النتائج الموضحة في الجدول (5-5) يمكن توضيحها كمايلي :

1- محصول الحنطة :لقد سجلت نباتات الحنطة زيادة مئوية في الحاصل مقارنة بمعاملة المقارنة غير الملقحة بالسماذ الحيوي *A. chroococcum* بلغت (2 – 10 %) في حالة تساوي طريقة اضافة اللقاح الا ان عدم اضافة اي نوع من الاسمدة المعدنية او الحيوانية سجل زيادة بلغت (10 – 20 %) وهي متساوية مع معاملة اضافة السماذ الحيواني ولكن اقل بكثير في المعاملة التي استلمت مستويات مختلفة من الـ N.P.K .

2- محصول الرز : لقد كانت استجابة هذا المحصول للمخصب الحيوي جيدة حيث بلغت من 1% الى 23% مع فروقات معنوية عند 23 % وقد جاءت هذه الزيادة مع اضافات متوازنة من الـ N.P.K انظر الجدول (5-5) .

3- محاصيل الخضر : سجلت زيادة في الحاصل من 2 % الى 29 % مع الطماسة وزيادة من 26 % الى 45 % مع فروقات معنوية مع الباذنجان وزيادة من 25 % الى 50 % مع فروقات معنوية مع اللهاة وعند الموازنة من المستويات المتواضعة من الـ N.P.K او السماذ الحيواني والسماذ المعدني معا .

4- النتائج تعكس حقيقة ان استخدام المخصب الحيوي الازوتوباكتري قد شجع النمو وزاد من الحاصل مقارنة بالنباتات غير الملقحة وان التأثير على الحاصل قد يكون تأثيرا مشتركا هو تحسن الحالة التغذوية لتركيز النتروجين في الانسجة النباتية وتأثير بفعل المنشطات الحيوية والمضادات الحيوية للمسببات المرضية .

2- بكتريا الازوسبيريلم *Azospirillum*

يعود الفضل في اكتشاف هذه البكتريا الى العالم Beijerinckia في عام 1925 حيث اشار الى ان هناك بكتريا مثبتة للنتروجين تحت اسم *Spirillum lipoferum* وهو اول من شاهد وجودها في الاوساط الغذائية للبكتريا *Azotobacter*

chroococcum وعلى الرغم من ان هذه البكتريا الحلزونية لها القدرة على تثبيت النتروجين في المزارع شبه النقية (الخالية من الـ *Azotobacter* و *Clostridium*) الا ان قدرتها على تثبيت النتروجين في المزارع النقية ظلت موضع شك.

في عام 1932 اثبت Schroeder بما لا يقبل الشك قدرة هذه البكتريا على تثبيت النتروجين الجوي N_2 وكذلك ان *S. lipoferum* تحتاج اما NH_3 او Peptone كمواد ضرورية لنموها وقد استطاع عزل عدة سلالات من بكتريا *S. lipoferum* والتي تتصف بصفات المظهر الخارجي والحركة ولكنها تمتلك سوط منفرد من قطب واحد single polar flagellum مما دعاه ان يتوقع ان هذا الجنس ربما يكون اما *Vibrio* او *Spirillum* ، في عام 1963 وفي محاولة لمعرفة هل ان الجنس *Vibrio* ام *Spirillum* استطاع Becking عزل بكتريا مطابقة في الصفات للتي وصفها Bijerincki عام 1925 من الترب الافريقية وهي *Spirillum lipoferum* وعند استخدام تقنيات N_2^{15} واختزال الاستلين لمعرفة قدرة هذه البكتريا على تثبيت النتروجين وجد انها تستطيع تثبيت النتروجين الجوي N_2 كما تبين ذلك من خلال تجارب علماء اخرين . وفي عام 1978 قام Tarrand واخرون في اعادة تسمية هذا الكائن الحي واسماه *Azospirillum* وتعرف بالبكتريا الحلزونية او (الحلزون المثبت للنتروجين الجوي N_2 N₂-fixing spirillum) .

بعد ذلك بدأت الدراسات تتوسع حول اهمية هذه البكتريا حيث اشار Dobereiner و Day ، (1976) بإمكانية عزل الـ *Azospirillum* مستخدما اوساط شبه صلبة من مادة sodium malate خالية من الـ N_2 ، وقد اشار الى اهمية اجراء خطوتين رئيسيتين في عملية العزل الاولى تعقيم اسطح الجذور لنباتات الحشائش الاستوائية *Digitaria decumbens* باستخدام كحول تركيز 7%، والثانية توفير ظروف ذات تركيز منخفض من الاوكسجين اي micro-aerophilic في وسط النمو. وقد اظهرت

الدراسات بعد ذلك ان الـ *Azospirillum* من احياء التربة المجهرية التي تستطيع ان تكون مستعمرات وبفعالية عالية ليس فقط على جذور النباتات ولكن ايضا على الاجزاء الخضرية مكونتا نوع من التعايش المرافق *associative symbiosis*

أ- صفات بكتريا الازوسبيريلم *characterization of Azospirillum bacteria*

تعتبر الـ *Azospirillum* بكتريا سالبة لصبغة كرام Gram- negative متحركة وعموما تكون على شكل ضمني او على شكل حرف (S) اي Vibroid in shape وتحتوي على حبيبات من مادة Poly-B-hydroxy-butyrate . ان احتياج هذه البكتريا الى الاوكسجين يعتمد اساسا على وجود او عدم وجود النتروجين في اوساط التسمية ، فعند تنميتها في الوسط الخالي من النتروجين تتصرف وكأنها محبة للتركيز القليل من الاوكسجين micro-aerophilic ولكن عند تجهيزها بالنتروجين المثبت تنمو وكأنها بكتريا هوائية aerobe . تعتبر املاح الحوامض العضوية مثل الـ malate و succinate و lactate و pyruvate مؤكسدات ناجعة للكربون كمصادر للطاقة . بعض السلالات ذات احتياجات منخفضة من الـ yeast extract (Y.E) لنموها في الاوساط الغذائية المعدنية ولكي تنمو في وجود الكلوروز glucose كمصدر للكربون في حين ان هناك سلالات اخرى لا تحتاج الى الـ (Y.E) ويفشل نموها بوجود الكلوروز .

الدراسة التصنيفية لمجموعة *Spirillum lipoferum* اعتمدت على التشابه للـ DNA (DNA-homology) مع بعض الاختبارات الفسيولوجية الاخرى وقد اوضحت هذه التجارب ظهور مجموعتين مميزة ولكن تقارب في تشابه المجاميع . وبموجب هذه المعايير المعتمدة فان سلالات المجموعة التالية تميزت عن سلالات المجموعة الاولى بما يلي من النقاط التالية :

1- قدرتها في استخدام الكلوكوز كمصدر مقتصر للكربون لنموها في الاوساط الخالية من النتروجين .

2- انتاج تفاعلات حامضية في الوسط peptone- based glucose .

3- احتياجها الضروري للـ biotin .

4- تكوينها العريض والكبير من الشكل (S) او خلايا حلزونية او لولبية helical cells لوسط الماليت malate الخالي من النتروجين شبه الصلب semi-solid .

وعلى اساس هذه الصفات فان النتائج اوضحت وجود نوعين من البكتريا ، وقد اقترح بان هناك جنس جديد هو الـ *Azospirillum* مشتق من الاسم الفرنسي (azoto- nitrogen) . وبموجب هذه المعايير فان السلالات التابعة للمجموعة الثانية سميت *Azospirillum lipoferum* ، بينما تلك التابعة للمجموعة الاولى سميت *Azospirillum brasilense* .

في عام 1983 استطاع Magalhaes واخرون الكشف عن نوع جديد ثالث سماه *Azospirillum amazonens* ، هذا النوع يختلف عن النوعين السابقين وهما (*A. lipoferum* و *A. brasilens*) بما يلي :

1- قدرته في تكوين مستعمرات بيضاء بدل المستعمرات الوردية (pink) على اكار البطاطا (BMS agar) .

2- غياب السوط الجانبي Lateral flagella .

3- قدرته في استخدام السكروز sacrose كمصدر مقتصر للكربون لتثبيت النتروجين .

في عام 1984 استطاع Baldani واخرون الكشف عن نوع جديد رابع سماه *Azospirillum seropedicae* وان هذه النوع يختلف عن الانواع الثلاثة السابقة وهي (*A. lipoferum* و *A. brasilens* و *A. amazons*) بامتلاكه ما يلي :

1- امتلاكه خلية اصغر قصرا .

2- امتلاكه (1- 3) اسواط من قطب واحد او قطبين بدلا من السوط المنفرد من قطب واحد .

3- تكوينه مستعمرات صغيرة ذات مركز اخضر ندي (moist) على الاوساط الخالية من النتروجين (NFB medium) والتي تحتوي على الـ (Y.E) بدلا من المستعمرات البيضاء الجافة المتكونة مع الانواع الثلاثة السابقة .

وفي ضوء دراسة اعداد كبيرة من السلالات للـ *spirillum lipoferum* حول قدرتها على القيام بعملية denitrification فقد افترض بان النوع *Azospirillum brasilense* يحتوي على اثنين من تحت المجموعة sub-grpups هي nir^+ و nir^- وان كلا المجموعتين تقوم بتمثيل انزيم nitrate reductase ولكن *A. brasilense* nir^- لا تمثل النترات.

ومن اجل تأكيد ميل affinity الـ *Azospirillum* لجذور النبات فقد نفذ في الظروف المعقمة زراعة نباتات على اكار البادرات الخالي من النتروجين (nitrogen-free seedling agar) ثم لقح النباتات بمزرعة من الـ *Azospirillum* عمرها (48 ساعة) وقد شاهد اول اشارة او دليل على تاقل هذه البكتريا على الشعيرات الجذرية ثم عقب ذلك دخول البكتريا الى طبقات الـ Cortical وفي الغالب امتدت الى الخشب .

ب- عزل بكتريا الازوسبيرلم Isolation of Azospirillum

طريقة العمل :

1- حضر قطع من الجذور النباتية بطول نصف سم ثم عقم اسطح الجذر بواسطة الكحول 70% ولمدة (3-5 ثواني) .

2- اعد غسل قطع الجذور باستخدام الـ (pH 7.0) phosphate buffer .

- 3- ضع هذه القطع الجذرية على وسط الصوديوم ماليت الخالي من النتروجين شبه الصلب (بعد تحضير وسط النمو كما في الجدول (5-6) .
- 4- ضع الاطباق في الحاضنة عند درجة حرارة 35 م⁰ ولمدة 48 ساعة .
- 5- ان نمو الـ Azospirillum بالامكان الاستدلال عليه من خلال تكون اغشية رقيقة بيضاء white pellicles بقياس (2- 4 ملليمتر) اسفل سطح وسط النمو .

6- اجري عملية تنقية المزارع وتتم بخطوتين :

أ- تخصيب enriched العزلات باعادة نقلها الى وسط من الصوديوم ماليت الخالي من النتروجين شبه الصلب موضوع في انبوبة اختبار محكمة الغطاء تخضع هذه المزارع بعمل سلسلة من التخفيف حتى 10⁻¹⁰ .

ب- من كل تخفيف يؤخذ 0.1 مل يلحق به وسط جديد من الصوديوم ماليت الخالي من النتروجين . ان اقل تخفيف والذي يعطي نمو جيد من الاغشية الرقيقة البيضاء يعتبر المزرعة النقية وبالامكان استخدامه للدراسات اللاحقة .

جدول 5-6: الاوساط الغذائية لتنمية الـ *Azospirillum*

Okon's medium (Lakshmi-kumari) [*]		Nitrogen-free bromothymol blue(NFB) medium ^{**}	
غم	المادة	غم	المادة
6.0	K ₂ HPO ₄	5.0	Malic acid
4.0	KH ₂ PO ₄	4.0	KoH
15.2	Agar	0.5	K ₂ HPO ₄
500مل	ماء مقطر	0.05	FeSO ₄ .7H ₂ O
0.2	MgSO ₄	0.01	MnSo4.H ₂ O
0.22	CaCl ₂	0.1	MgSO ₄ .7H ₂ O
0.1	Nacl	0.02	Nacl
5.0	Malic acid	0.01	Cacl ₂
1.0	NH ₄ cl	0.002	Na ₂ MoO ₄
3.0	NaOH	1000مل	ماء مقطر
0.05	Yeast extract	2.0مل	Bromothymol blue(0.5% محلول الكحول)
0.003	Na ₂ MoO ₄	1.75	Agar
0.001	MnSO ₄	6.0 – 6.0	ضبط الـ pH
0.001	H ₃ BO ₃		
0.0004	Cu(NO ₃) ₂		
0.002	ZnSO ₄		
0.002	Fecl ₃		
500مل	ماء مقطر		
2.0 مل	Bromothymol blue(0.5% محلول الكحول)		

يعقم الاول والثاني بصورة منفصلة ويخلطان عندما يكونان حارين الى الاطباق ويترك لكي يتصلب .

* محور من قبل Lakshmi- kumari وآخرون ، (1980) .
 ** Dobereiner وآخرون ، 1976 .

ج - الحوامل المستعملة مع لقاحات الازوسبيرللم Carriers for Azospirillum

هناك العديد من الحوامل الملائمة مع لقاحات الـ Azospirillum الا انه افضل الحوامل هو خليط من التربة + السماد الحيواني (Fym) Farmyard manure عند خلطه بنسبة 1:1 وتعقيمه لمدة ثلاث ساعات ولثلاثة ايام متعاقبة وان البكتريا تبقى حية لمدة 6 اشهر في هذا الخليط وتعطي اكثر من مليون خلية / غم من الحوامل .

اما لغرض التكاثر الكبير فان الـ Azospirillum توضع في ورق زجاجي يحتوي على كلوريد الامونيوم NH_4Cl مع وسط حامض المالك ثم يحضن الـ broth culture مع الحوامل ثم تعبأ Carrier- based culture في اكياس البولين . تستعمل نفس طريقة الـ Azotobacter عند تلقيح البذور او البادرات بالغمس .

عد بكتريا الـ Azospirillum في مواد التحميل

لقد استخدم Lakshmi- kumara وآخرون ، (1980) وسط malate والذي يحتوي على NH_4Cl وتضمنيه صبغات حامضية acidic dyes مثل Bromothymol blue او bromocresol purple وهذه تنتج تفاعل قلوي قوي وعندما تنمو المستعمرات تغير لون الوسط حول ظل الالوان السابقة وهي اما زرقاء blue او Purple او كما تكون الحالة . اضافة لذلك فان المستعمرات تمتص الصبغات مما تسهل عملية العد ، ولغرض الكشف عن وجود التلوث عادة تستعمل طريقة العد في الاوساط غير المعقمة (MPN) most –probable number .

د- استجابة المحاصيل المختلفة للسماد البكتيري للازوسبيرللم

ان استخدامات بكتريا الـ Azospirillum كمخصب حيوي بكتيري قد نفذت في مناطق مختلفة من العالم وقد كانت استجابة المحاصيل المتنوعة مشجعة جدا وان

التحسن الذي يطرأ على نمو النباتات وبالتالي الزيادة المتحققة في نسبة الحاصل في المحاصيل المعاملة باللقاح البكتيري مقارنة بالمحاصيل غير المعاملة اختلف بحسب نوع النبات والموقع والظروف البيئية وقد تراوحت نسبة الزيادة المتحققة في الحاصل على سبيل المثال مع الذرة البيضاء ما بين (17.2 % الى 105.8 %) كما يلاحظ في الجداول (5-7، 5-8) .

جدول 5-7: استجابة حاصل الذرة البيضاء (*Sorghum bicolor*) للتلقيح بالسماذ الحيوي البكتيري *Azospirillum brasilense* في مواقع مختلفة من الهند ولمجموعة من التجارب الحقلية .

المعدل	المواقع									المعاملات
	9	8	7	6	5	4	3	2	1	
18.0	24.3	19.6	16.0	21.6	10.7	3.7	34.6	5.2	25.9	المقارنة بدون تلقيح وبدون N
23.1	29.8*	29.8	20.5	25.4	7.9	4.8	40.8	10.7	35.3*	+A. <i>brasilense</i>
27.9	32.5	29.5	28.2	24.0	23.3	11.5	44.2	21.8	36.0	40 كغم / N هـ عند الزراعة
28.3	22.6	22.6	28.1	17.6		29.7	17.2	105.8	36.6	نسبة الزيادة في الحاصل عن المقارنة
27.3	30.9	30.0	16.8	20.6	22.7	9.4	47.0	21.4	41.7	40 كغم/ هـ + A. <i>brasilense</i>
		1.7					6.3		15.9	نسبة الزيادة في الحاصل عن المقارنة

جدول 5-8 : استجابة محصول *Pennisetum americanum* pearlmillt للسماد الحيوي البكتيري *A. brasilense* على الحاصل في اربع مواقع وعند قيم مختلفة من رقم التفاعل .

المعدل	المواقع				المعاملات
	pH7.8 (4)	pH7.2 (3)	pH 6.8 (2)	pH7.3 (1)	
12.4	9.8	14.5	12.5	12.8	بدون لقاح – مقارنة
14.3	11.3	17.7	12.8	15.5*	+ <i>A. brasilense</i>
15.5	11.8	19.5	14.3	16.3	10 كغم N / هـ يوريا
17.8	14.8	22.8	14.5	19.1	10 كغم N/هـ + <i>A. brasilense</i>
16.4	12.5	22.5	14.8	17.5	20 كغم N/هـ
18.7	15.8	23.2	17.0	18.9	20 كغم N/هـ + <i>A. brasilense</i>
20.4	18.5	24.3	18.5	20.1	40 كغم N / هـ
2.2	3.5	2.9	1.5	2.5	الانحراف القياسي 5%

ومما تجدر الإشارة له ان استجابة المحاصيل بعد اضافة المخصب الحيوي البكتيري قد يكون بسبب زيادة معدلات تثبيت النتروجين وفي دول مختلفة من العالم امثال الهند ، الصين ، فيتنام ومصر بدأت فعلا بتطبيق هذه التقنيات مما قد يساعد في توفير كميات لا يستهان بها من الاسمدة النتروجينية والتي قد تصل من 20 – 40 كغم نتروجين/ هـ يمكن التعويض عنها باستخدام الاسمدة الحيوية وفي بلد تكون المواد المتاحة في شحة وكميات الاسمدة الجاهزة للاستخدام قليلة. اضافة لذلك فان استخدام المخصبات الحيوية مثل *Azospirillum* يزيد من الكتلة الحيوية Biomass في جذور نباتات الرز والحنطة وذلك كما اشير من قبل عدد من الباحثين ان هذه البكتيريا تنتج هرمونات نباتية محفزة للنمو الامر الذي يؤدي الى تحسين اداء الانواع النباتية المختلفة. وكما اشير الى ان التلقيح المزدوج لاكثر من كائن حي قد يشجع النمو وذلك بفعل تاثير التداخل

الموجب synergistic effect كما هو الحال بين المايكورايزا والرايزوبيوم ، فان زيادة النشاط البيولوجي عند التلقيح المزدوج من *Azospirillum brasilense* مع *Azotobacter chroococcum* يؤدي الى زيادة حاصل الذرة الصفراء والذرة البيضاء ومحاصيل الحنطة والشعير تحت نظم وانماط زراعة مختلفة . فقد وجد ان تلقيح التربة بفطريات المايكورايزا (AM) وبانواع مختلفة مع تلقيح البذور مع المخصب البكتيري *A. brasilense* تسبب في زيادة الحاصل ومحتوى الفسفور في نبات الشعير و Pearl millet .

ومن التطبيقات المهمة في استخدام المخصبات الحيوية امكانية رش نبات الحنطة بالـ *Azospirillum* خلال مرحلة التفرعات مع مستويات مختلفة من النتروجين مما تسبب في زيادة تكون الشعيرات الجذرية وزيادة الافرازات الجذرية المهمة وبكر في ظهور السنابل وزاد من عدد السنابل في وحدة المساحة مع زيادة معنوية في كمية الحاصل بالرغم من مشاركة هذه الاحياء في تثبيت النتروجين الجوي كانت متواضعة ان ذلك يفتح ابواب جديدة من البحوث في مجال استخدام المخصبات الحيوية في الزراعة الكثيفة في المناطق المعتدلة حيث نلاحظ ان حاصل 10 اصناف من الحنطة يزداد معنويا مع التلقيح بالسماذ البكتيري *Azospirillum* (الشكل 5-1) . ولاجل تسليط الضوء على ان تاثير استخدام المخصب الحيوي لا يقتصر على عملية تثبيت النتروجين غير التكافلي نجد النتائج في الجدول (5-9) حيث يلاحظ ان اعلى معدل لنشاط انزيم النتروجينيز بالامكان الوصول اليه عند عدم استخدام الاسمدة النتروجينية المعدنية ومع ان زيادة النتروجين تثبط من نشاط انزيم النتروجينيز ولكن نجد ان الوزن الجاف للقمّة يزداد مع زيادة الاسمدة النتروجينية .

جدول 5-9: تأثير السماد النتروجيني NH_4NO_3 على نمو نبات الذرة مع التلقيح بـ *Azospirillum*

نترات الامونيوم غم / لتر	نشاط انزيم النتروجينيز نونومول / C_2H_4 / نبات / ساعة	الوزن الجاف للقمّة غم / نبات
صفر	200	0.49
0.04	156	0.97
0.08	10	1.84
0.16	صفر	2.93

جدول 5-10: استجابة الذرة البيضاء صنف CSH5 للتلقيح بالسماد الحيوي البكتيري *Azospirillum brasilense* على حاصل الحبوب من التجارب الحقلية والمكررة لمدة اربع سنوات (1978 الى 1981) .

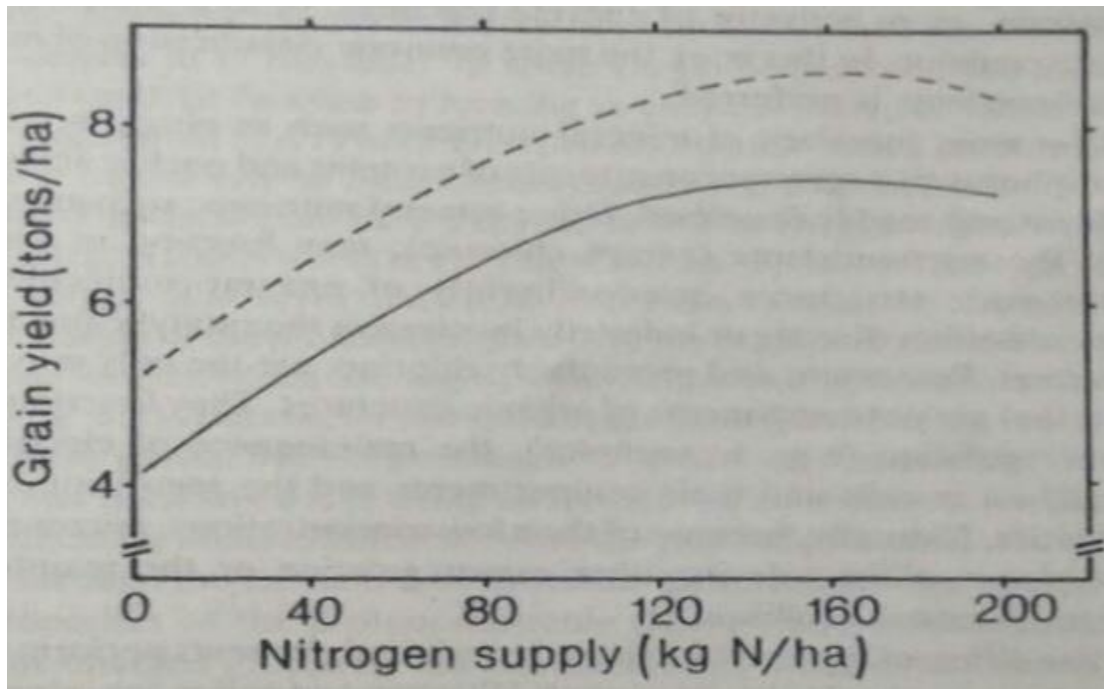
المعدل	مواقع التنفيذ									المعاملات
	9	8	7	6	5	4	3	2	1	
	رقم التفاعل الـ pH									
	7.3	7.2	6.8	7.5	8.5	7.2	7.2	6.8	7.2	
19.23	19.50	14.67	16.70	8.83	6.90	34.13	16.45	29.43	26.28	بدون نيتروجين وبدون لقاح
22.78	24.03 *	16.57	18.33	11.50	7.73	40.13	20.73 *	34.12 *	31.85 *	A.brasilense
30.49	24.30	24.50	18.63	25.13	20.73	43.43	30.23	41.68	44.8	40 كغم /N هـ يوريا
31.05	28.10 *	21.80	18.63	21.83	19.97	43.97	31.63	47.78 *	45.78	40 كغم /N هـ A. + brasilense
-	3.75	4.50	3.50	2.85	2.50	8.75	4.05	4.75	3.25	C.D at 5%

*زيادة معنوية في الحاصل مقارنة بمعاملة المقارنة

**جدول 5-11: استجابة نبات Pearl millet (*Pennisetum americanum*)
صنف BJ 104 في مواقع مختلفة من الهند وتجارب حقلية لمدة سنتين .**

المعدل	المواقع								المعاملات
	8	7	6	5	4	3	2	1	
1208	1065	2221	1267	1325	1217	1430	357	640	بدون لقاح وبدون نتروجين
1396	1164 **	2279*	1097	1720 **	1267	1789 **	556 **	1064 **	+ <i>A.brasilense</i>
1406	1329	2194	1393	1610	1292	2053	497	800	ثلث النتروجين المضاف
1517	1195	2408 **	993	1845 **	1399 **	2150 **	601	1224 **	ثلث النتروجين + السماط البكتيري
1522	1349	2279	1212	1715	1683	2173	581	1012	نصف النتروجين المضاف
1640	1263	2408* *	1006	1960 **	1842 **	2264 **	789 **	1212 **	نصف النتروجين + السماط البكتيري
1720	1568	2725	954	1830	2350	2338	751	1092	جميع النتروجين المضاف 80 كغم N / هـ
1792	1493	2858 **	915	2020 **	2280	2421 **	681	1372 **	كل النتروجين + السماط البكتيري
-	22	42	38	19	23	19	55	22	S.E +-
-	66	127	115	38	69	58	161	67	C.V at 5%

** المعاملة معنوية عن معاملة المقارنة



شكل 5-1 : تأثير مستويات الاسمدة النتروجينية والتلقيح (الرش الورقي) ببكتريا *Azospirillum* على حاصل حبوب 10 اصناف من الحنطة الشتوية .

التداخل الثنائي بين بكتريا الازوتوباكتر وبكتريا الازوسبيرلم

تعد بكتريا الازوتوباكتر والازوسبيرلم من اكثر الاحياء حرة المعيشة المثبتة للنتروجين كفاءة من حيث مقدرتها على تثبيت النتروجين الجوي ،فضلاً على اهميتها في افراز بعض منظمات النمو ذات التأثير الفاعل في زيادة النمو. اشارت العديد من الدراسات الى وجود حالة تداخل ايجابية بين البكتريا الحرة المعيشة المثبتة للنتروجين (الازوتوباكتر والازوسبيرلم) حيث ان هذا التداخل يحسن من نمو النبات من خلال اليات منها :

- 1- تحسين العلاقة ما بين الاحياء (Microb-Microb) وذلك من خلال افراز بعض المركبات الايضية التي تحفز من نمو وتكاثر هذه الاحياء . فقد اكدت الدراسات ان التلقيح المزدوج بالازوتوباكتر والازوسبيرلم هو من النوع الايجابي في زيادة العدد الكلي للميكروبات في منطقة الرايزوسفير ، ويمكن القول ان احياء التربة المجهرية قد تدخل في نوع من تداخلات التنشيط بعضها للبعض الاخر نتيجة افرازات قد

تكون محفزة لكل منهما .

2- تحسين العلاقة ما بين الاحياء والنبات (Microb-Plant) , حيث ان التلقيح بصورة مختلطة من بكتريا الازوتوباكتر والازوسبيرلم يؤدي الى تحسين نمو النبات وزيادة الحاصل وتقليل الاسمدة الكيميائية، وقد يعزى ذلك الى ان التلقيح المختلط يؤدي إلى تحسن نمو الجذور ، زيادة في معدل امتصاص الماء من قبل الجذور، والتاثير على الفطريات والبكتريا الممرضة للنبات، فضلا عن تثبيتها للنيتروجين الجوي . نتائج عدد من الباحثين تؤكد ان اضافة بكتريا الازوتوباكتر والازوسبيرلم بصورة مختلطة تحسن من نمو عدد كبير من المحاصيل النجيلية من خلال تحسين حالة النتروجين التغذوية في النبات كنتيجة للتثبيت الحيوي للنتروجين فضلا عن اهمية هذين النوعين من البكتريا في تحسين نمو النبات من خلال افراز منظمات النمو , فبكتريا الازوسبيرلم لها القدرة على افراز الاوكسينات واهمها الاوكسين (IAA) فضلا عن افرازها للمواد الشبيهة بالجبرلينات والساييتوكينينات ، وبينت نتائج الكرطاني واخرون ،(2013) ان العزلة Ab83T من النوع *A.brasilense* هي الاكثر كفاءة في تثبيت النتروجين الجوي وانتاج (IAA) التي سجلت اعلى تثبيت للنتروجين بلغ (14.7 ملغم.لتر⁻¹) وانتاج IAA بلغ (10.6 مايكروغرام .مل⁻¹ تلتها العزلة A128T من النوع *A.lipoferum* التي سجلت (13.2 ملغم .لتر⁻¹ و9.6 مايكروغرام.مل⁻¹) على التوالي . اما بكتريا الازوتوباكتر فيكون دورها مهم من خلال افرازها للمواد المنظمة للنمو واهمها الاوكسين (IAA) والجبرلينات والساييتوكينينات ، فضلا عن افرازها لبعض المواد المنشطة والمحفزة لامتصاص العناصر الصغرى مثل الحديد فقد اوضح السامرائي , (2002) ان قدرة بكتريا الازوتوباكتر تنخفض في انتاج مركبات Siderophores عند المستويات الكافية من الحديد ويزداد تحفزها في انتاج Siderophores في حالة نقص الحديد . نتائج الجدول (5-12) تبين زيادة تركيز IAA في اوراق

الطماطة المعاملة بذورها بالمخصبات الحيوية من الازوتوباكتر والازوسبيرلم وهذا يعطي مؤشرا واضحا في ان هذه الاحياء (*A.chroococcum* و *A.brasilense*) (قد حررت كميات من IAA في وسط النمو وان تركيزه كان اعلى معنويا عند الاضافة المختلطة (325 ملغم.غم وزن طري¹) من الاضافة المنفردة لهذين النوعين من البكتريا وهذا ساهم في تحسين وزيادة نسبة انبات البذور ومعامل حيوية البذور واطوال الجذور والقمة والوزن الجاف لاوراق الطماطة جدول (13-5) .

جدول 5-12: تاثير التسميد الحيوي البكتيري في تراكيز IAA و ABA في اوراق الطماطة بعد اربعة اسابيع.

تراكيز منظمات النمو (ملغم .غم وزن طري ¹)			اضافة الاسمدة الحيوية
ABA /IAA	ABA	IAA	
0.81	185	150	Control
2.3	110	250	<i>A.chroococcum</i>
1.6	120	195	<i>A.brasilense</i>
3.5	92	325	<i>A.chroococcum</i> + <i>A.brasilense</i>
0.3	11	12	LSD (0.05)

السامرائي وراهي ، (2006)

جدول 5-13: تأثير التسميد الحيوي البكتيري في نسبة الانبات وطول الجذور وطول القمة ومعامل الحيوية في بذور بادرات الطماطة .

اضافة الاسمدة الحيوية	الانبات %	طول الجذر (سم)	طول القمة (سم)	الوزن الجاف (غم)	معامل الحيوية
Control	72	9.2	10.1	2.8	1389.6
<i>A.chroococcum</i>	85	12.5	14.3	4.7	2261.0
<i>A.brasilense</i>	83	13.3	15.8	4.9	2415.3
<i>A.chroococcum</i> + <i>A.brasilense</i>	91	15.6	17.2	9.5	2984.8
LSD (0.05) LSD (0.05)	11.5	0.41	0.61	0.3	380.1

السامرائي وراهي ، (2006)

اضافة الى ذلك ان التلقيح المختلط من بكتريا الازوتوباكتر والازوسبيرل يؤدي الى زيادة كمية النتروجين الممتصة من قبل النبات ومن ثم تحسين نموه وهذا راجع الى التأثير الايجابي للبكتريا في زيادة محتوى النتروجين من خلال عملية التثبيت الحيوي للنتروجين وخصوصا تحت ظروف نقص النتروجين ، فقد اوضحت نتائج عدد من الباحثين ان بكتريا الازوسبيرل تستطيع زيادة كمية النتروجين الممتصة من قبل نبات الحنطة بزيادة معنوية قدرها (10%) مقارنة بمعاملة المقارنة وازدادت هذه النسبة الى (15%) عند خلط بكتريا الازوسبيرل والازوتوباكتر معا جدول (5-14) ، وهذا انعكس على معدل حاصل الحنطة حيث كانت اعلى زيادة في معدل الحاصل عند خلط بكتريا الازوسبيرل والازوتوباكتر فبلغت (12.6%) . ان زيادة مستويات السماد النتروجيني الكيميائي قد يقلل من نشاط البكتريا من حيث تثبيت النتروجين بسبب تثبيط انزيم النتروجيناز، الا ان وجد هناك تأثير ايجابي للبكتريا في زيادة محتوى النبات من النتروجين عند وجود مستويات عالية من النتروجين الكيميائي والسبب في ذلك يرجع الى افراز كل من بكتريا الازوتوباكتر والازوسبيرل للمواد

المنظمة للنمو في الاوساط الحاوية والخالية من النتروجين التي تعمل على تحسين نمو النبات وتكوين نظام جذري كثيف مما يؤدي الى زيادة السعة الامتصاصية للعناصر الغذائية ومنها عنصر النتروجين . نتائج بشير،(2003) تؤثر بوضوح ان اضافة خليط من (*A.chroococcum*+*A.brasilense*) قد استطاع ان يلبي الحاجات الغذائية لنباتات الحنطة من عنصر النتروجين حتى عند عدم اضافته ضمن التوليفة السمادية التي اعطيت لنباتات الحنطة و يستنتج من ذلك ان الخليط البكتيري (*A.chroococcum*+*A.brasilense*) والمضاف كمخصب حيوي وبغياب عنصر النتروجين من التوليفة السمادية استطاع ان يمد نباتات الحنطة بما تحتاجه من النتروجين وان وجود السماد الحيوي البكتيري الخليط وتوليفة متكاملة من المغذيات الكبرى (NPK) قد حقق استجابة عالية المعنوية في قيم اوزان المادة الجافة .

جدول 5-14: تأثير اضافة اللقاح البكتيري على معدل امتصاص النتروجين من قبل نباتات الحنطة (ملغم . سندانة¹) .

المعاملات	مستويات النتروجين (كغم. هكتار ⁻¹)				المعدل	% للزيادة
	0	40	80	120		
Control	108	396	629	789	480	-
<i>A.chroococcum</i>	186	468	686	781	530	10.4
<i>A.brasilense</i>	159	423	665	754	500	4.16
<i>A.chroococcum</i> + <i>A.brasilense</i>	210	537	708	750	551	15.0
المعدل	166	456	672	769		

الفصل السادس

الطحالب الخضراء المزرقة Blue – Green Algal والسرخسيات المائية – الازولا

الطحالب الخضراء المزرقة Blue – Green Algal مقدمة عن طحالب التربة Soil Algae

لم تحظ طحالب التربة بدراسات مستفيضة من علماء الاحياء المجهرية كما حظيت البكتريا والفطريات الا انه في الالونة الاخيرة ازدادت الدراسات خاصة لاجناس الطحالب التي تثبت النتروجين الجوي وتلك التي تشارك في تكوين مركبات عضوية مختلفة مهمة في تكوين دبال التربة . وتعتبر الطحالب اكثر الاحياء المجهرية التي تقوم بعملية التركيب الضوئي واعدادها اقل من البكتريا او الاكتومايسيتات او الفطريات ، ان احتياجاتها الغذائية بسيطة جدا اكثر من اي كائنات حية اخرى حيث تاخذ غاز ثاني اوكسيد الكربون من الجو والعناصر المعدنية من التربة وتصنف بالنسبة لمصدر الكربون والطاقة ضمن ذاتية التغذية الضوئية photoautotrophs .

1- العوامل المؤثرة في وجود ونمو طحالب التربة

ان اغلب العوامل المؤثرة على وجود ونمو البكتريا او الفطريات قد تؤثر على تواجد ونمو طحالب التربة مثل (درجة الحرارة ، الضوء ، رقم التفاعل، الاحتياجات من العناصر الغذائية) وغيرها من العوامل . وتعتبر نسبة المادة العضوية ذو تاثير غير مباشر على نمو الطحالب كون تحلل المادة العضوية في التربة سوف يفضي لتوليد غاز ثاني اوكسيد الكربون والذي يستعمل من قبلها في عملية التركيب الضوئي هذا وان هناك قسم من الطحالب يحتمل ان تعيش على المادة العضوية كمصدر للكربون والطاقة

ان تواجد الاحياء ضمن بيئة نمو الطحالب قد يكون ذو تأثيرات سلبية واحيانا ايجابية ، على سبيل المثال في المزارع المائية او البحيرات يمكن ان تتكاثر الطحالب بسرعة بوجود البكتريا والابتدائيات لان هذه الاخيرة تحتاج مصدر عضوي للتكاثر وفي اثناء استعمالها وتحليلها لهذا المصدر العضوي سوف يتحرر غاز CO_2 الضروري لتكاثر الطحالب . اما الجانب السلبي في التأثير على نمو الطحالب فهو ان بعض البكتريا والاكثومايسيتات والفطريات قد تفرز انزيمات تقضي على خلايا الطحالب وبالتالي تحليلها وقلة تواجدها ، الا ان هذه العملية بحد ذاتها بعد موت الطحالب وتحليلها تكون مصدرا يجهز العناصر المعدنية المختلفة للنباتات واحياء التربة المجهريه الاخرى وبهذه الطريقة تساهم الطحالب في زيادة القدرة الامدادية للتربة بالعناصر الغذائية .

2- الطحالب الخضراء المزرقه Cyanophycophyta

وهي اما ان تكون وحيدة الخلية او تتكون من خيوط filaments متفرعة او غير متفرعة وهي تحتوي على صبغات متخصصة هي الـ phycocyanin وصبغة الـ phycoerythrin بالاضافة الى صبغة الـ chlorophyll وصبغة الـ carotened وهذه الصبغة تكون سائبة داخل الساييتوبلازم وتمتاز بحساسيتها لحموضة التربة حيث يحتمل قلة عددها او انعدامها عند الـ pH اقل من 5.2 وتفضل الوسط المتعادل او المائل قليلا الى القاعدية ويتراوح ما بين (7.0 – 8.5) وعملت تثبيت النتروجين تظهر عند الـ pH (6.0 – 9.0) . معظم الطحالب الخضراء المزرقه في داخلها تراكيب كيسية تسمى الاكياس المتغيرة heterocysts تتم فيها عملية تثبيت النتروجين الجوي بصورة حرة ، وهذه الوظيفة تعد اهم الوظائف التي تقوم بها طحالب التربة الخضراء المزرقه ، وقد ظهر حديثا بعض من الطحالب الخضراء المزرقه بدون الاكياس المتغيرة ولها القدرة على تثبيت النتروجين الجوي بصورة حرة تحت ظروف خاصة مثل تراكيز الاوكسجين المنخفضة .

للطحالب الخضراء المزرقة اهمية خاصة في حقول الرز او الاراضي المتغدقة حيث
 اماكن تواجدها المفضلة ، وتاتي مزارع الرز في الهند، فيتنام ،الفلبين وتايلند من
 المناطق ذات الاهمية الخاصة بتجهيز محصول الرز بعنصر النتروجين من خلال
 تواجد هذه الاحياء ضمن هذه المزارع حتى انها تعرف احيانا rice paddy
 organisms. ان طريقة تكاثر هذه الاحياء بصورة رئيسية بالانقسام او التجزؤ . اما
 اهم الانواع والتي عادة ما تستخدم في حقول الرز هي :

1- Aulosira 2- Tolypothrix 3- Nostoc

4- Anabaena 5- Plectonema

ويستعمل النوعين الاخيرين كخليط معا (Anabaena + Plectonema) .

ان حقول الرز تعتبر من اكفا الانظمة البيئية في تمثيل حالة التثبيت النتروجيني غير
 التكافلي وان حالة التكامل من تثبيت النتروجين اليومي والمستمر تجعل من تثبيت
 النتروجين الجوي بواسطة الطحالب الخضراء المزرقة على قدر كبير من الاهمية كما
 هي الحالة في نظام تثبيت النتروجين الجوي التكافلي مع النباتات البقولية . وعليه فان
 في حقول الرز الغدقة يعتبر تثبيت النتروجين الحيوي غير التكافلي حالة ضرورية
 تقوم بها هذه الطحالب ، وقد يصل مقدار مشاركة هذه الطحالب في اضافة النتروجين
 30 - 40 كغم نتروجين / الهكتار. ومن النقاط التي تسترعي الانتباه ان معهد الرز
 الدولي في الفلبين واعتمادا على استخدام تقنية النتروجين المشع N^{15} سجل قيم وصلت
 ما بين 40 - 80 كغم / نتروجين / الهكتار / السنة ، ان هذه الكمية تعتبر على غاية من
 الاهمية بالنسبة لمحصول مثل الرز والذي يعتبر واحد من اهم محاصيل الحبوب
 الاستراتيجية والذي يمثل غذاء رئيسي لملايين من البشر في العالم اخذين بنظر الاعتبار
 ان احتياجات هذا المحصول من عنصر النتروجين كبيرة في نمط زراعة الرز
 المتغدقة. ان الطحالب الخضراء المزرقة هي المسؤولة بالدرجة الاساس عن عملية

تثبيت النتروجين الجوي غير التكافلي كما كان واضحا من خلال دراسة تأثير الضوء (تحفيز عملية التثبيت من خلال السيطرة على ظروف الاضاءة نهارا وليلا) على معدلات تثبيت النتروجين، وقد وجد ان انزيم النتروجيناز nitrogenase لا يتاثر بوجود النتروجين بهيئة الـ NH_4^+ عند تراكيز اقل من 40 جزء بالمليون او بوجود انواع مختلفة من المبيدات الحشرية Pesticides والتي عادة ما تستخدم في حقول الرز .

3- انتاج الطحالب الخضراء المزرقة لاستعمالها حقليا

Production of B.G.A.for field application

اعتمادا على البيئة الطبيعية لهذه الطحالب فقد طور معهد بحوث الزراعة الهندية طريقة بسيطة لانتاج هذه الطحالب بكميات معتبرة ، وان اساس الطريقة هو تنمية هذه الطحالب تحت ظروف اشعة الشمس الطبيعية ومشابه لتلك في حقول الرز الغدقة ويتم ذلك حسب الخطوات التالية :

1- الحصول على المزرعة الاولى starter culture وهي خليط على قاعدة

التربة a soil – based mixture من الانواع Nostoc, Aulasira

, Tolypothrix او خليط من النوعين (Anabaena و Plectonema) .

وهذه عادة ما تجهز من المؤسسات العلمية او من مزارع الرز بعد تصنيفها .

2- تتم عملية اكلثار multiplication الطحالب من المزرعة الاولى starter

culture وذلك بعمل صواني قليلة العمق وبقياسات (15 سم × 7.5 سم ×

22.5 سم) للعمق والعرض والطول على التوالي وهذه عادة ما تصنع من مادة

الحديد غير القابل للصدأ galvanized او من الفخار brick ويغلف بطن

الصواني بواسطة البولين ، ان حجم هذه الصواني بالامكان زيادته اعتمادا على

كمية المواد التي تحتاج.

- 3- تؤخذ 10 كغم من التربة المتحضرة وتخلط مع 200 غم من سماد السوبر فوسفات وتوضع في اسفل الصواني مفروشة بصورة منتظمة .
- 4- يضاف الماء الى الصواني والحاوية على التربة بعمق (5- 15 سم) اعتمادا على الظروف البيئية للمنطقة التي تعمل بها اخذين بنظر الاعتبار معدل التبخر ودرجة الحرارة مع ضبط رقم التفاعل قريبا من التعادل .
- 5- بعد ما تهدأ حبيبات التربة اسفل الصواني انشر التربة والتي تحتوي على المزارع الاولى والتي تحتوي على نوع واحد او اكثر من الطحالب الخضراء المزرققة على سطح الماء في الصواني . وان اهم نقطة هي المحافظة على تعريضها الى ضوء الشمس ، وعادة في اشهر الصيف يكون نمو الطحالب سريعا وخلال اسبوع تتكون طبقة سميكة من هذه الطحالب على سطح الماء و احيانا تفيض من على السطح . وفي حالة معدلات التبخر عالية لا بد من اضافة الماء على دفعات .
- 6- بعد ما يكون نمو الطحالب ذو طبقة سميكة جيدة لا بد من التوقف عن اضافة الماء ويسمح للماء في الصواني ان يجف في الشمس .
- 7- تجمع رقائق هذه الطحالب من على السطح وتحفظ في اكياس نايلون لاستخدامات لاحقة. وعند الرغبة في الحصول على كميات اخرى تعاد العملية مع مراعاة :
أ- عند نفاذ التربة في قعر الصواني وهذا يحصل بعد (3-4 مصدات للطحالب) لا بد من اضافة تربة جديدة مخلوطة مع السوبر فوسفات .
ب- استخدام رقائق الطحالب كمزرعة اولية starter culture ويستمر العمل كما في السابق .
- 8- يفضل اضافة بعض المبيدات الحشرية وهي Folidol بتركيز 0.001 جزء بالمليون او Malathion بتركيز 0.00075 جزء بالمليون او Carbofuran (3% حبيبات) .

4- طريقة اضافة الطحالب الخضراء المزرقة في الحقل

- 1- تضاف الطحالب الخضراء المزرقة بمعدل 10 كغم / هكتار على سطح الماء في حقول الرز بعد اسبوع من عملية الشتل .
- 2- لا بد من ان يكون الحقل متغدقا بمدة لا تقل عن (3- 4 ايام) بعد اضافة الطحالب على سطح الماء .
- 3- ان جميع العمليات الزراعية اومبيدات الحشرات لا تتعارض مع وجود هذه الطحالب في الحقل .
- 4- ان رقائق الطحالب الجافة يمكن استخدامها بعد حفظها في اكياس نظيفة لمدة طويلة شريطة ان لا تكون في تماس مع الاسمدة الكيميائية او اي مواد كيميائية زراعية .

5- طرق عد الطحالب الخضراء المزرقة في التربة

ان عملية عد وعزل طحالب التربة ومن ضمنها الطحالب الخضراء المزرقة تتبع بصور رئيسية طريقة العد الاكثر احتمالا (Most probable number) M.P.N وذلك بتجهيز تخافيف التربة في الماء المعقم (اعتبارا من التخفيف 10^{-3} ، 10^{-4} ، 10^{-5} وحتى احيانا 10^{-6}) ثم تلقيح انابيب اختبارية حاوية على الوسط الغذائي المعدني الخاص بالطحالب (في اقل تقدير خمسة مكررات لكل تخفيف) بشرط ان تكون التخافيف متسلسلة ، تحضن الانابيب على درجة حرارة ملائمة قريبا من مصدر ضوئي لمدة 4 - 6 اسابيع ، بعد ذلك يتم حساب عدد الانابيب الموجبة (ذات اللون الاخضر الذي تطور)، بعد التحضين من كل تخفيف . ثم باستعمال جداول احصائية خاصة يمكن حساب عدد الطحالب الخضراء المزرقة الحية لكل غرام تربة. الاعداد التي يمكن الحصول عليها بهذه الطريقة تتراوح بين 100 - 50000 خلية، او بالامكان استعمال طريقة العد المباشر بالمجهر وذلك باخذ حجم معين من تخفيف معين من التربة بالماء

المعقم ووضعه على مساحة محددة من شريحة زجاجية وبعد تجفيفه يتم حساب عدد الطحالب الموجودة في عدد من المجالات المجهرية كما في البكتريا .

ان هذه الطرق لا يمكن اعتمادها كليا لمعرفة عدد الطحالب في التربة لان قسما من طحالب التربة طبقية وتعطي عددا قليلا والقسم الاخر وحيد الخلية والقسم الثالث يعيش على شكل مستعمرات وتعطي اعدادا كبيرة من الخلايا الحية . وهناك طريقة اخرى يمكن حساب الكتلة الحية للطحالب وذلك بتحويل العدد الى وزن او باستخلاص صبغة الكلوروفيل من التربة باستعمال مذيبات عضوية ، ثم تقدير كمية الصبغة بطرق التحليل المتعارف عليها ، هذه القياسات اعطت نتائج تتراوح بين 7 - 30 كغم طحالب / هكتار وبعض الباحثين قد حصل على نتائج كبيرة تصل 500 كغم او حتى 1500 كغم / هكتار (قاسم وعلي ، 1989) .

6- استخدام الطحالب الخضراء المزرقة كلقاح في مزارع الرز **Alagal inoculation (B.G.A) and rice fields**

لقد عرفت الطحالب الخضراء المزرقة كاسمدة حيوية منذ فترة قديمة وقد اقترح بان خصوبة حقول الرز في المناطق الاستوائية هي اساسا معتمدة على ما يثبت من النتروجين الجوي بفعل نشاط (B.G.A) في زيادة جاهزية النتروجين والذي تتطلبه زراعة محصول الرز. ولقد اوضحت تجارب المعهد الدولي لبحوث الرز في الفلبين (IRRI) بان كمية الغلة العالية وخلال 23 دورة زراعية لمحصول الرز ولمدة 12 سنة وبدون اضافة للاسمدة النتروجينية ان السبب الرئيسي في هذه الانتاجية العالية يعود الى عملية التثبيت النتروجيني مما خلق مستوى خصوبي جيد في حقول الرز الغدقة .

ان ازالة الطحالب الخضراء المزرقة من حقول الرز الغدقة وجد انها تسبب في تخفيض معدلات التثبيت النتروجيني مما ينعكس سلبيا على انتاجية المحصول في وحدة المساحة ، وبناءا على قاعدة التجارب الطويلة الامد فان التقدم الذي حصل في غلة انتاج

الرز في اليابان كان يعود الفضل بذلك الى اللقاح المضاف من (B.G.A) الى حقول الرز وان هذه الاسمدة الحيوية الطحالبية تكافئ ما يقارب 60 كغم من سلفات الامونيوم / الهكتار ، اما الزيادات المتحققة في حاصل حبوب الرز في مناطق مختلفة من العالم على سبيل المثال (روسيا ، بورما ، مصر ، الفلبين والصين) قد بلغت 10% الى 24% بسبب اضافة الاسمدة الحيوية من الطحالب الخضراء المزرقمة . اما التجارب المكثفة في مناطق مختلفة من حقول الرز في الهند اشارت الى امكانية توفير ثلث كمية الاسمدة النتروجينية المعدنية الموصى بها واللازم استخدامها لانتاج الرز والاستعاضة عنها باستخدام اللقاحات من الطحالب (B.G.A) دون ان تؤثر على انتاجية المحصول. ان استخدام هذه الطحالب تعتبر من احد التقنيات الحديثة لانه بالاضافة الى اهمية هذه الطحالب في زيادة جاهزية النتروجين للرز فانها تجهز نباتات الرز لبعض المواد العضوية المفيدة مثل منظمات النمو والفيتامينات . ان الطحالب الخضراء المزرقمة تعتبر نظام حي ولو استعملت لمدة واحدة فان نشاطها الحيوي سوف يستمر لفترة طويلة. ان التلقيح خلال 3-4 مواسم زراعية كفيلا في تخليق نسبة اعداد عالية من هذه الطحالب ودون اللجوء لاضافة اللقاحات سنويا ما لم تتعرض بيئة هذه الاحياء الى ظروف بيئية غير ملائمة .

جدول 6-1: تاثير اضافة اللقاح من الطحالب الخضراء المزرقمة في حقول الرز مع مستويات مختلفة من الـ N.P.K بدون ومع اضافة السماد الحيوي (B.G.A) على حاصل الحبوب من عدد من التجارب ما بين 8 - 11 تجربة لكل من المواقع التالية :

رقم الحقول	كميات الاسمدة N.P.K كغم / هـ			معدل الحاصل كغم / هـ		
	N	P	K	1م 11 تجربة	2م 8 تجارب	3م 10 تجارب
1	50	25	25	4235	4557	3789
2	50	25	BGA +25	4455	4785	3884
3	75	37.5	37.5	4400	4485	3953
4	75	37.5	BGA +37.5	4565	5117	4156

ان النتائج الموضحة في الجدول اعلاه تؤكد اهمية استخدام الـ (B.G.A) بالرغم من اضافة الاسمدة المعدنية من الـ N.P.K حيث سجلت المعاملات التي لقحت بالطحالب تفوقا في الحاصل اختلف مع الموقع ومع عدد التجربة ، الا ان الاتجاه العام يتفق بان هناك زيادة في الحاصل تقدر 300 كغم /هـ كمعدل عام لجميع التجارب. ولو قدرنا كلفة اضافة 10 كغم من الطحالب / هـ نجدها قليلة مقارنة بالقيمة المتحققة من استخدام هذه الاسمدة الحيوية .

جدول 6-2: تاثير اللقاح بالطحالب الخضراء المزرقه (B.G.A) عند تقليل مستويات النتروجين المضاف على حاصل حبوب الرز كغم /هـ .

عدد المواقع	1	2	3	4	5	6	7	8
عدد التجارب / المعاملات	1	1	56	1	2	4	2	5
بدون تلقيح - مقارنة	2979	2305	2416	2066				3636
لقاح + B.G.A	3710	3062	2820	2555				4434
60 كغم N/هـ			3496					
40 كغم N /هـ + B.G.A			3630					
75 كغم N / هـ				3444	5240			
50 كغم N /هـ + B.G.A				3444	5115			
90 كغم N / هـ						3562		
60 كغم N/هـ + B.G.A						3838		
100 كغم N/هـ				3733	4698			5050
75 كغم N / هـ + B.G.A				3660	5212			5038
100 كغم N/هـ + B.G.A					5485			
120 كغم N/هـ							5833	
60 كغم N/هـ + B.G.A							5761	

يتضح من دراسة النتائج في الجدول (6-2) ان استخدام لقاح الـ B.G.A وبدون اي اضافة سمادية للنتروجين المعدني قد سجل تفوقا ملحوسا في حاصل الحبوب للرز عند معاملة المقارنة وبغض النظر عن عدد التجارب او عدد المواقع .

السرخسيات المائية – الازولا

1- صفات الازولا Azolla

تعود الـ Azolla الى مجموعة السراخس اللبتوسبورانجية Leptosporangiate ferns وهي نباتات رهيفة طافية ليس لها جذور حقيقية وتكون اوراقها ثنائية المظهر الخارجي Dimorphic وان بعض الاوراق تقوم مقام الجذور تحمل علب الابواغ داخل تراكيب بوجية ثمرية تدعى Sporocarps وان حجم الابواغ متباينة وهناك علب بوجية صغيرة واخرى كبيرة في ثمار بوجية منفصلة . تحتوي الـ Azolla او تسمى سراخس الماء water ferns على دايزومات نحيفة وافقية ومستقرة وغطاسية وليس لها جذرا حقيقيا . الفروع ليست ملفوفة Not circinate في البرعم لكنها مطوية بطنيا باسورة ثلاثة متبادلة اثنين منهما طافيات ومطويات وخضراوي اللون ومستوي الحاف وذات عرق وسطي وعروق متشابكة وسطح علوي مستمرا او مخفي والفرع الثالث كورقة مائية مقسمة الى خويطات مشعرة وعديدة وتشبه الجذور وتقوم بعملية الامتصاص . البثرات او ما يسمى الاثمار البوجية Sporocarps تكون بنوعين محمولة على الاوراق المائية بمجموعات مختلفة وتحاط كل بثيرة بغطاء بثيري كروي الشكل وغشائي.ان العائلة Salviniaceae تمتلك جنسين هما الـ Azolla و Salvinia ، ويوجد في العراق الجنس الثاني وينتشر بكثرة في الاهوار والمستنقعات الجنوبية . بالامكان زراعة السراخس المائية من العائلة Salviniaceae كنباتات زينة في احواض زجاجية داخل البيوت الزجاجية.

ان اول ما تعرف على الـ *Azolla* كاسمدة عضوية خضراء في حقول الرز هم الفيتناميين في شمال فيتنام عام 1975 . ان اوراق الـ *Azolla* تمتلك فص بطني وظهري ويمتاز الفص الظهري باللون الاخضر والذي تعتاش عليه الطحالب الخضراء المزرقه والتي تعرف *Anabana azollae* مع فجوة مركزية *central cavity* ، ان الاكياس المتغيرة للطحالب الخضراء المزرقه تعتبر المواقع المسؤولة عن عملية التثبيت النتروجيني ، ومعروف عن هذه السرخسيات المائية 6 انواع وعدد من الانواع المنقرضة كما تستدل على ذلك من المتحجرات *fossilazolla* . والانواع الستة من الـ *Azolla* هي :

Azolla nilotica -2

Azolla caroliniana -1

Azolla Mexicana -4

Azolla filiculoides - 3

Azolla pinnate -6

Azolla microphylla -5

تمتاز هذه الانواع من الـ *Azolla* بان لها ساق مائي متفرع وتمتلك الكلوروفيل اللحمي *fleshy chlorophyll* والذي يحتوي على الفص والذي يعتاش عليه *Anabana azolla* ضمن الفجوة الوسطية والتي تحدث بها عملية التثبيت النتروجيني. ان استخدامات هذه السرخسيات المائية كاسمدة حيوية متعارف عليها في مزارع الرز في تايلند واندونيسيا والصين والفلبين .

2- مشاتل السرخس المائي الـ *Azolla*

لقد استخدم المزارعين المشاتل لتنمية الـ *Azolla* واستخدامها كسماد حيوي في

مزارع الرز الكبيرة المساحة ويتم ذلك :

1- اختيار مكان مناسب للمشتل، حيث يتم تحضير واجراء عملية التسوية والتعديل.

2- يقسم الحقل الى الواح بقياسات (2 م × 20 م) وتوفير قناة للري لهذه الالواح.

3- يحافظ على مستوى الماء في هذه الالواح بعمق 10 سم .

- 4- خلط 10 كغم من السماد الحيواني الطازج مع 20 لتر ماء ثم يرش في كل لوح.
- 5- اضافة لقاح الـ Azolla بمعدل 8 كغم لكل لوح محضر مسبقا .
- 6- اضافة 100 غم من السوبرفوسفات على ثلاث دفعات وبمعدل 4 ايام بين كل دفعة كسماد نشرا.
- 7- تضاف المبيدات مثل furadan granules بمقدار 100 غم / لوح ويضاف بعد 7 ايام من اضافة لقاح الـ Azolla .
- 8- بعد مرور 15 يوما من اضافة اللقاح يتم حصد السرخسيات المائية وتستخدم في حقول الرز الرئيسية ويعتبر كمصدر للقاح الاولي ، ويمكن جمع 40- 55 كغم من الـ azolla الطازجة من كل لوح في النباتات السابقة . ثم تعاد نفس الخطوات السابقة للحصول على كميات اخرى ، ويحتاج الهكتار الواحد عمل اربع الواح بالقياسات السابقة وذلك لاستخدامها في الحقول الرئيسية للرز . ولقد اظهرت النتائج ان اضافة مخلفات الابقار او مخلفات زربية المواشي الى حقول الرز المتغدقة تزيد من نمو الـ azolla وكذلك تزيد من نشاط انزيم النتروجينيز خاصة في الشتاء .

3- طريقة اضافة السرخسيات المائية الـ azolla إلى الحقل

هناك طريقتين يمكن اضافة الاسمدة الحيوية من الـ azolla الى حقول الرز الغدقة وهي :

- 1- بعد تهيئة لقاحات الـ azolla في المشاتل المخصصة تؤخذ الكمية اللازمة والتي تقدر 10 طن / هكتار حيث يتم زراعة الـ azolla جنبا بجنب مع بادرات الرز وهذه الطريقة تسمى الزراعة المزدوجة dual cropping .
- 2- استخدام السرخسيات المائية الـ azolla كسماد اخضر green-manure حيث يتم زراعته في الارض المخصصة لزراعة الرز وبعدها تحرث الارض قبل

زراعة الرز. واحيانا يتم زراعة الـ azolla في الواح الرز الغدقة ثم يصرف الماء وبعدها تتم زراعة البادرات .

ان مزارعين الصين والفيتناميين يتبعون طريقة الزراعة المزدوجة dual cropping وذلك بزراعة الـ azolla جنبا بجنب للرز وعادة ما تدفن الـ azolla في تربة الحقل موسميا .

4- الزراعة المزدوجة للسرخسيات المائية الازولا والرز معا

تعتبر السرخسيات المائية الـ azolla هي السماد الاخضر green manure الوحيد والذي يزرع مع الرز جنبا الى جنب تحت الظروف الغدقة ولا تؤثر سلبا على نباتات الرز بالرغم من ان كتلتها الحيوية اقل بكثير في الحقول المزروعة مقارنة بالحقول غير المزروعة . ان هذه السرخسيات المائية الرهيفة تستخدم كلقاح حيوي بمعدل 0.5 الى 1 طن / الهكتار بعد اسبوع واحد من عملية الشتل لبادرات الرز . وبقية الحصول على نمو سريع لهذه السرخسيات يفضل اضافة 10 كغم P_2O_5 في الهكتار مع 2.5 كغم / هـ من مادة Furadan ويفضل ان تضاف الاسمدة الفوسفاتية على دفعات لان ذلك يساعد في الحصول على كتلة حيوية اكبر مقارنة باضافة الاسمدة الفوسفاتية دفعة واحدة . وقد اقترحت الدراسات باضافة نصف كمية الاسمدة الفوسفاتية الموصى بها لزراعة الرز خلال استخدام الـ azolla كسماد حيوي وبعد تكون هذه السرخسيات في فترة 20 – 25 يوم تصرف المياه من الحقل ثم تدفن هذه النباتات الرهيفة بصورة ميكانيكية ، ومن الجدير ان الـ azolla قد تتعرض للتحلل من قبلها دون ان تخلط مع التربة وبعد ذلك يتحرر النتروجين في نظام الماء / التربة ويستخدم من قبل نبات الرز الموجود اصلا في الحقل . وتحت نظام الزراعة المزدوجة من المفضل اضافة الاسمدة النتروجينية وذلك لمساعدة هذه النباتات الرهيفة لتكون الاشطاء tillers كون ان النتروجين من الـ azolla يكون جاهزا للنباتات بعد 20 يوم من ادخالها (الشكل 6-1).

ان اضافة الـ azolla قبل عملية زراعة الرز اكثر فعالية وان استخدامها في نظام الزراعة المزدوجية يؤدي الى زيادة حاصل الحبوب ومن نتائج دراسة وجد ان اضافة 5 – 15 طن / هكتار من الـ azolla الطرية بعد مرور شهر من الزراعة يزيد حاصل الحبوب بنسبة تبلغ 13- 33% مقارنة بمعاملة المقارنة . بالامكان اعادة اضافة الـ azolla بعد تكون الطبقة الاولى من الـ azolla في حقول الرز وذلك لزيادة الكتلة الحيوية . ان استخدام نظام الزراعة المزدوجة dual-cropping يعتبر اكثر فائدة للاصناف ذات فترات النمو القصيرة والطويلة مقارنة بالاصناف ذات فترات النمو القصيرة .

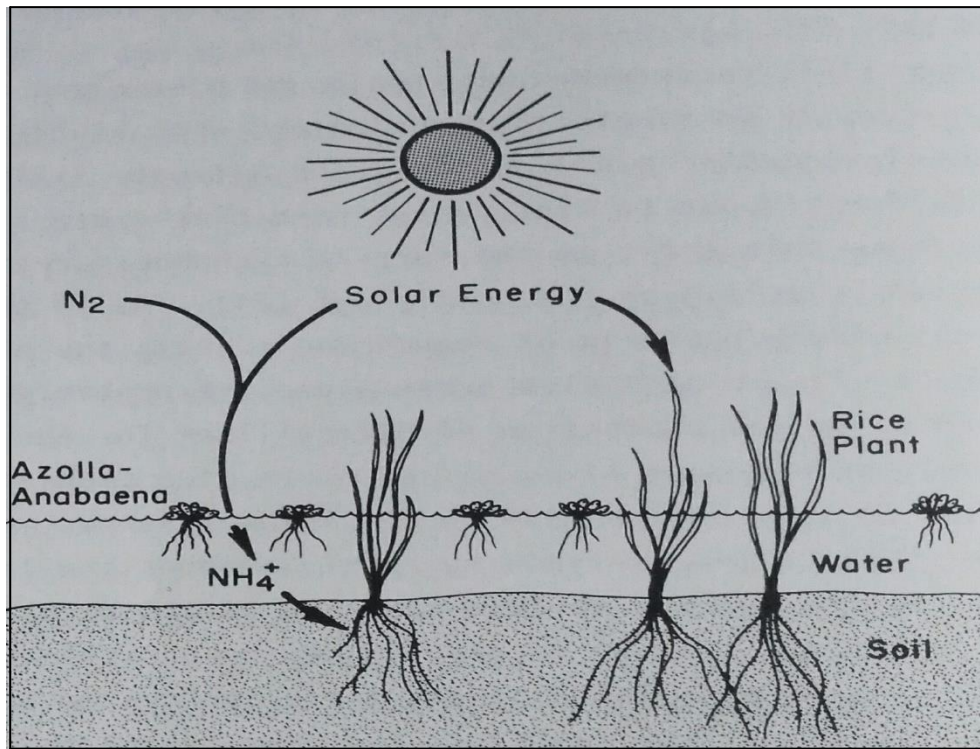
ان حالة المرافقة للسرخسيات المائية الـ azolla مع الطحالب الخضراء المزرقية والتي تظهر في حقول الرز الغدقة يمكن ان تعبر عن نوع من المرافقة المتكاملة مع النباتات العليا Symbiotic association وان عملية تثبيت النتروجين من قبل هذه السرخسيات المائية الـ azolla كانت بسبب الاصابة لهذه النباتات بواسطة الطحالب الخضراء المزرقية ولكن مما تجدر الاشارة اليه انه لا يعرف شيء عن المواد التي تجهز للطحالب الخضراء المزرقية من قبل الـ azolla .

ولقد اقترح ان بالامكان فهم حالة التعايش التكافلي في الطحالب الخضراء المزرقية والسرخسيات المائية الـ azolla شبيه بتكون العقد البكتيرية للرايزوبيوم مع النباتات البقلية ، وعليه فان الجينات genes المسؤولة عن حالة التكافل في الطحالب الخضراء المزرقية ربما تتعرض لحالة من derepressed مما يؤدي الى انتاج السماد النتروجيني للنباتات العائلة . ان كمية النتروجين المثبت من قبل الـ azolla ما بين 335 الى 670 كغم / هكتار وهي كمية جدا مهمة بالنسبة لمحصول الرز .

ومن خلال تقنيات الهندسة الوراثية فان نظام الـ azolla والطحالب الخضراء المزرقية قد يمدنا بالاسمدة النتروجينية والتي يمكن ان تستخدم مباشرة من قبل نباتات الرز وان هذا النظام من الـ azolla و الطحالب الخضراء المزرقية ذو فائدة عظيمة

لنبات الرز والذي يستخدم الطاقة الشمسية مباشرة في انتاج السماد النتروجيني . ومن اهم النقاط في نظام تثبيت النتروجين من قبل الـ azolla ان تثبيت النتروجين الجوي N_2 لا يكون محدد بسبب جاهزية الطاقة كما هو الحال مع النباتات البقلية عندما يكون تثبيت CO_2 وعملية التركيب الضوئي محددة جدا لعملية تثبيت النتروجين تكافليا في العقد الجذرية ، وان الطاقة المتوفرة من الشمس قد تكون السبب في حصول معدلات التثبيت العالية مع الـ azolla .

ان المخطط في الشكل (1-6) هو شكل يفترض ان الـ azolla تنتج السماد النتروجيني والذي يكون متاقلما لنظام زراعة الرز الغدقة والذي تكون فيه الـ azolla والطحالب الخضراء المزرقه (B.G.A) والتي تصدر النتروجين المثبت من خلال مياه الري والذي يستقبل النتروجين من الـ azolla الى نباتات الرز.



شكل 1-6 : الانتاج البيولوجي للسماد النتروجيني بواسطة الازولا في مزارع الرز .

5- اهم محددات تطبيق السرخسيات المائية الـ *azolla*

ان هناك بعض النقاط المحددة في استخدام الـ *azolla* كسماد حيوي وهي :

- 1- ان توفر الماء شرط اساسي في استخدام الـ *azolla* حيث هذه النباتات الرهيفة لايمكنها تحمل الجفاف اطلاقا وان تكاثرها ونموها مرهون بتوفر المياه وانها لا يمكن ان تستخدم الا في نمط زراعة الرز الغدقة *Flooded nice field* ولا يمكن استخدامها في نمط الزراعة الجاف *apland* .
- 2- ان كمية اللقاح الذي تحتاجه حقول الرز يعتبر عاملا محددا حيث تحتاج كتلة حية طازجة من الـ *azolla* تقدر ما بين 500 الى 1000 كغم / هكتار ، وان ذلك يتطلب توفير لقاح مستمر طوال السنة في المشاتل المعدة لهذا الغرض .
- 3- ان عملية الخزن للـ *azolla* صعبة وان نقلها الى مسافات بعيدة ايضا يعتبر عائق في استخداماتها .
- 4- تحتاج الى شبكات ري للمحافظة على انتاج اللقاحات وكذلك توزيعها بكفاءة عالية
- 5- الاعتماد على برامج حكومية في توفير مثل هذه الشبكات للمزارعين وذلك لتشجيعهم على استخدام هذه التقنية .
- 6- احتياجها لعنصر الفسفور الضروري جدا لنموها وان درجة الحرارة العالية تثبط نموها وان درجة الحرارة ما بين $34 \pm 1^{\circ}\text{C}$ قد تحدد نموها نهارا .
- 7- تعرضها للإصابة بالحشرات مثل الـ *Pyralis* و *Snails* وكذلك اصابتها بمرض *Black-rot* والذي يشبه الفطر *Rhizoctonia solani* والذي يؤثر على نموها كثيرا .
- 8- تحتاج الى جهود من قبل العاملين في الارشاد الزراعي وذلك لتوضيح اهمية وطرق استخدام هذه التقنية .
- 9- تحتاج الـ *azolla* الى ما يقارب 30 كغم فسفور / هكتار على هيئة سوبرفوسفات مع اضافات من المبيدات مثل الـ *Carbofuron* للسيطرة على الفطريات .

وقد اقترح Tilak (1998) أهمية تطوير نوع من الازولا الجافة Dry azolla والبحث عن اصناف من الـ Azolla لها القدرة على انتاج السبورات والتي تقاوم درجة الحرارة العالية والاحتياجات المنخفضة من الفسفور . وعلى ضوء التجارب المتعددة في الهند على استخدام السماد الحيوي azolla وامكانية الاستفادة منها في نمط حقول الرز الغدقة وباستخدام اصناف مختلفة من الرز، اتضح ان خلط او دمج incorporation الـ azolla في التربة كسماد اخضر ظهر انه افضل طريقة من استخدام الزراعة المزدوجة dual cropping مع محصول الرز جدول (3-6) ، وان نتائج تجارب متعددة مع اصناف الرز عالية ومنخفضة الانتاجية اشارت الى امكانية استخدام الـ azolla حتى مع المستويات العالية من النتروجين.

جدول 3-6: الزراعة المزدوجة للسرخسيات المائية *Azolla pinnata* من عزلات
(هندية وتايلندية) والرز صنف Kichings-2 .

المعاملات		نمو الـ azolla		استجابة محصول الرز
		الوزن الرطب بعد 25 يوم من دمج الـ azolla (طن / هكتار)	عدد الاشطاء / نبات بعد 35 يوم من الزراعة	الاشطاء في 1م ² الحبوب طن / هكتار
T ₁ - معاملة المقارنة			5.32	224
T ₂ -A [*] .pinnate غير مدموجة		11.0	5.10	238
T ₃ -A [*] .pinnate دمج بعد الغطاء		8.3	5.43	224
T ₄ -A ^{**} .pinnate غير مدموجة		16.0	5.27	238
T ₅ -A ^{**} .pinnate دمج بعد الغطاء		12.9	6.3	280
T ₆ -30gkN /h(NH ₄) ₂ So ₄ دفعات		-	6.99	280
T ₇ -30kg/h(NH ₄) ₂ So ₄ دفعات		11.0	6.79	280
+A [*] .pinnate دمج بعد التغطية				
T ₈ -30kg/h(NH ₄) ₂ So ₄ دفعات		14.7	7.0	294
+A ^{**} .pinnate دمج بعد التغطية				
C.D at 5%		4.3	1.106	46.8
C.D at 1%		-	1.536	-

*عزلة هندية . **عزلة تايلندية. حجم الالواح 20 م² . كمية اللقاح 50 كغم وزن رطب / هكتار
الفسفور + 12 كغم P₂O₅ / هكتار ثلاث دفعات ، المبيد Carbofuran 75 غم / هكتار .

ان دراسة النتائج المتحققة في الجدول اعلاه يمكن توضيحها بالنقاط التالية :

1- غلة الهكتار قد ازدادت عند استخدام السماد الحيوي الـ azolla من العزلات الهندية والتايلندية .

2- زيادة منخفضة في غلة الهكتار عند استخدام سلفات الامونيوم وخاصة مع العزلات التايلندية حيث بلغت نسبة الزيادة اعلى من 70 % من معاملة المقارنة واعطت اعلى من 55 % مع العزلات الهندية .

الفصل السابع

احياء التربة المذيبة للفسفور

phosphate solubilizing micro-organisms

مقدمة

تعتبر اهمية الفسفور للنباتات الراقية في المرتبة الثانية بعد عنصر النتروجين ، وان اغلب الفسفور في التربة يوجد بحالة غير متيسرة لامتصاصه من قبل النباتات ، وان نسبة الفسفور العضوي في الانواع النباتية المختلفة تختلف من محصول الى اخر ، وعموما فانه يتراوح بين (0.05 – 0.5 %) وتكون هذه الكمية باشكل عضوية مختلفة منها الاحماض العضوية ، فوسفوليبيدات ، سكريات فوسفاتية، انزيمات مساعدة وحامض الفايستيك Phytic acid . تضاف الاسمدة الفوسفاتية الكيميائية او الفوسفات العضوية على هيئة مواد نباتية وحيوانية متحللة بهدف زيادة القدرة الامدادية للتربة من هذا العنصر كي يلافي احتياجات النباتات .

لقد تم تشخيص عدد كبير من احياء التربة المجهرية القادرة على اذابة الفسفور من مصادره غير الجاهزة مثل (صخر الفوسفات ، فلو او كلور اباتايث، هيدروكسي اباتايث ، او مركبات فوسفات الكالسيوم او المغنيسيوم او الحديد او الالمنيوم) غير الذائبة الى الصورة الذائبة . ان احياء التربة المشخصة تتضمن ثلاثة اجناس من احياء التربة المجهرية وهي : 1- البكتريا 2- الفطريات 3- اكينومايسيتس . هذه الاحياء تساعد في تحويل الفسفور المعدني غير الذائب الى اشكال بسيطة ذائبة ،تزداد اعداد احياء التربة المذيبة للفسفور في منطقة الرايزوسفير وان نسبتها (10 – 15 %) و (20 – 40 %) من مجموع الاحياء المجهرية في التربة الغير رايزوسفيرية والتربة الرايزوسفيرية على التوالي، وأشار Alexander ، (1977) الى ان 25% من احياء التربة لها المقدرة على اذابة المركبات الفوسفاتية . ان الاحياء المجهرية تزيد من

جاهزية الفسفوراما بصورة مباشرة من خلال إذابة الفسفور وتسمى الاحياء المذيبة للفوسفات (PSM Phosphate solubilizing Microorganisms) او بصورة غير مباشرة من خلال البكتريا المشجعة لنمو النبات (PGPR plant growth promoting rizobacteria والتي لها دور في افراز منظمات النمو والمركبات الخالبة للحديد (السايدروفورات sidrophores) وبالتالي تشجع من نمو الجذور والشعيرات الجذرية . تشكل البكتريا المذيبة للفسفور (PSB) من 1 الى 50 % من بين احياء التربة بينما الفطريات المذيبة للفسفور (PSF) تشكل فقط 0.1 الى 0.5 % (Chen وآخرون، 2006). ومن الاجناس البكتيرية والتي يتراوح عددها بين $10^5 - 10^7$ لكل غرام تربة جافة تتمثل :

(*Micrococcus* , *Flavobacterium* , *Bacillus* , *Psudomonase* , *Mycobacterium*)

وهناك قسم من الاجناس الفطرية تتمثل في : (*Sclerotium* , *Fusarium* , *Penicillium* , *Aspergillus*) هذه الاحياء يمكنها ان تنمو في التربة او الاوساط الغذائية الحاوية على احد الصخور او المعادن الفوسفاتية السابقة الذكر كمصدر رئيسي للفوسفات حيث تستعمل قسما منه لبناء خلاياها والقسم الاخر تطرحه الى بيئة الجذور بشكل فسفور جاهز للنبات. ان عملية العزل الاولى للاحياء المذيبة للفوسفات تتم باستخدام وسط غذائي معلق suspended من الفوسفات غير الجاهز مثل tri-calcium phosphates وذلك بتكوين مناطق رائقة حول المستعمرات النامية في الوسط الغذائي الصلب نتيجة للاذابة ، ويتم عزل المزارع ثم تحديدها وتقدير درجة الاذابة كميًا . لقد تم عزل اجناس من البكتريا والفطريات والخمائر والاكثينومايسيتيس من عينات التربة ومن مواقع تجمع صخر الفوسفات وكذلك من منطقة الرايزوسفير للنباتات البقلية المختلفة وقد وجد ان قسما منها يذيب كميات كبيرة من صخر الفوسفات. وان اهم البكتريا المعزولة والمحددة هي :

-1 *Pseudomonas striata*

-2 *Pseudomonas rathonis*

-3 *Bacillus polymyxa*

اما الفطريات المعزولة والمحددة هي :

-1 *Aspergillus awamori*

- 2 *Penicillium digitatum*

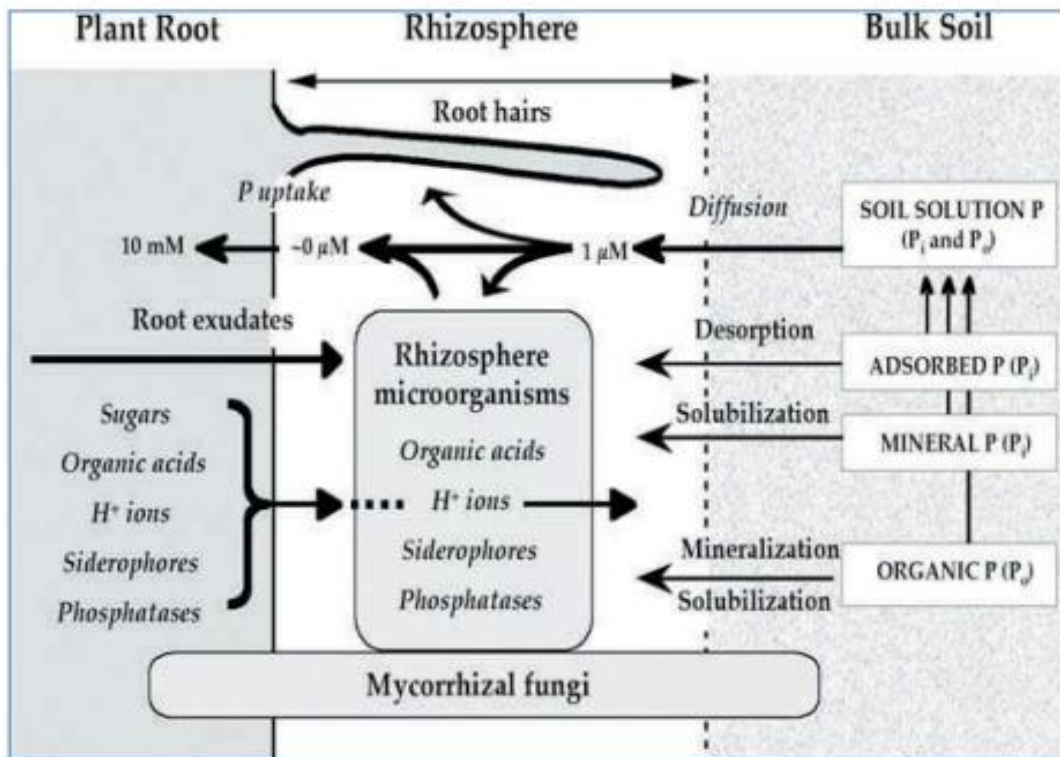
- 3 *Aspergillus nger*

-4 *Schwanniomyces occidentalis*

ان هذه الاحياء الكفوءة قد لوحظت قدرتها الكبيرة في اذابة الفسفور من المصادر الكيميائية المثبتة في التربة او من صخر الفوسفات كما لوحظ ايضا قدرة هذه الاجناس في تعدين الفسفور *mineralization* العضوي الى الشكل الذائب وذلك بفعل انزيمي *enzymatic activity* . ولقد ساعد التطور الحاصل في موضوع تقنيات عزل وتصنيف الاحياء باكتشاف بكتريا كفوءة مثل *Pseudomonas striata* و *Bacillus polymyxa* وفطريات كفوءة ايضا *Aspergillus awamori* وقد تم اختيار الحوامل المناسبة و اضافتها كمخصبات حيوية لعدد من المحاصيل الزراعية . ان المخصبات الحيوية البكتيرية يمكن استخدامها في التربة المتعادلة او القلوية اما المخصبات الحيوية الفطرية يمكن ان تعمل على افضل وجه في الترب الحامضية .

الية عمل احياء التربة المذيبة للفسفور

هناك عدة عمليات مجتمعة تقوم بها مجموعة من الاحياء المجهرية حرة المعيشة التي يطلق عليها بالاحياء المجهرية غير التعايشية التي تشجع من امتصاص النبات للفسفور منها إذابة الفسفور المعدني ومعدنة الفسفور العضوي وزيادة نمو الجذور (الشكل (1-7) ، ومن هذه الاحياء هو عدد من البكتريا والفطريات والاكثينومايسيت التي ثبت دورها في إذابة الفسفور ولكن بشكل رئيس تحت الظروف المختبرية .



شكل 7-1 : العمليات التي تؤثر على جاهزية الفسفور في الرايزوسفير والمنطقة البعيدة عنها . (ماخوذ من علي ومجيد ، 2016) .

لقد اقترحت عدة اليات تفسر عملية اذابة الصخور والمعادن الفوسفاتية الا انها تقع جميعها ضمن التفسيرات التالية ، بالامكان تقسيم اليات الاذابة اعتمادا على وفرة الاوكسجين :

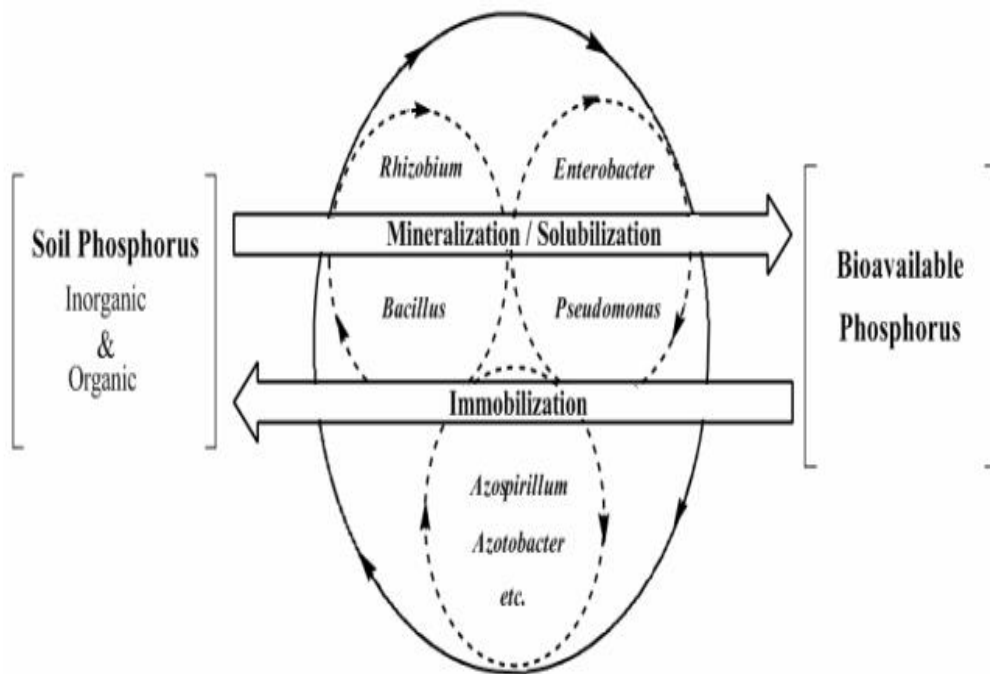
- 1- تحت الظروف الهوائية تتأكسد الامونيا او الكبريت الى حامض النتريك او حامض الكبريتيك بواسطة احياء التربة المجهرية ان هذه الاحماض المتكونة بالاضافة الى حامض الكربونيك بامكانها اذابة فوسفات الكالسيوم الثلاثية ، على سبيل المثال الى ثنائية بعدها الى فوسفات احادية الكالسيوم وانطلاق الفوسفات بشكل جاهز قابل للامتصاص من قبل المحاصيل الزراعية المختلفة .
- 2- تحت الظروف اللاهوائية هناك ثلاث اليات تعمل معا او منفردة :
 - أ- تكون احماض عضوية على سبيل المثال (الفورمك ، والاسيتيك ، واللاكتيك) وهذه تعمل على اذابة معادن الفوسفات .

ب- اختزال الحديدك الموجود في تركيب فوسفات الحديدك الى حديدوز مع تحرير الفوسفات .

ج- اختزال الكبريتات الى كبريتيد الهيدروجين وتفاعله مع فوسفات الحديدك الى كبريتيد الحديدوز مع تحرير الفوسفات .

وقد اقترحت عدة نظريات لتفسير آليات الإذابة الميكروبية للفسفور و تم تصنيف هذه النظريات إلى ثلاث مجموعات هي: (1) نظرية الحامض العضوي (2) نظرية الـ Sink (3) نظرية افراز الحموضة . إلا أن أهم نظرية هي نظرية الحامض العضوي حيث يتم اذابة الفسفور من مصادره الغير قابلة للذوبان بواسطة الفطريات اما عن طريق (أ) خفض درجة الحموضة، أو (ب) عن طريق تعزيز خلب الكاتيونات .

الشكل (2-7) يبين رسم تخطيطي لذوبانية الفسفور في التربة ، اذ توجد مجموعة واسعة من اليات اذابة الفسفور الميكروبية في الطبيعة ويعزى الكثير من دورات الفوسفات العضوية والغير عضوية في التربة الى البكتريا والفطريات .



شكل 2-7 : رسم تخطيطي لحركة الفسفور في التربة وتمثيله من قبل البكتريا .

البكتريا المذيبة للفسفور في التربة

مقدمة

توجد البكتريا المذيبة للفوسفات في الرايزوسفير Rhizosphere والرايزوبلين Rhizoplane وهذه تعتمد على نوع المحصول والمواد المفرزة من جذور المحاصيل و الوقت التي تؤخذ به عينة التربة للفحص ، ولذا يلجأ المنتجون للمخصبات الحيوية عادة إلى استخدام أكثر من نوع من الميكروبات المذيبة للفوسفات حتى يتناسب مع العديد من الترب الزراعية. فهي تحسن إمدادات الفسفور للنباتات نتيجة لقدرتها على ذوبان الفسفور العضوي أو غير العضوي فهي :

- 1- تقوم بافراز الاحماض العضوية التي تعمل على خفض الـ pH في الرايزوسفير وان طبيعة الحامض وليس كميته هي الاله في عملية الازابة او تكوينها للمركبات المخيلية او تنافس الفسفور على مواقع الامتزاز بالتربة او تعمل على خلط الكالسيوم والالمنيوم وتحرر الفسفور المرتبط بها مما سيؤدي الى زيادة الفسفور الجاهز للإمتصاص من جذور النباتات وبالتالي تشجيع نمو وانتاجية النبات .
- 2- تعمل على معدنة الفسفور العضوي وتحويله الى فسفور جاهز بالفوسفاتيز الحامضي .
- 3- تقوم بخفض pH التربة وذلك بواسطة طرحها لغاز CO_2 عند تحليلها للمواد العضوية ثم بعد ذلك يتحول غاز CO_2 الى حامض الكربونيك والذي يزيد من ذوبان الفوسفات غير الذائبة .
- 4- تعمل على زيادة امتصاص المغذيات وانتاج الفيتامينات والهرمونات (انتاج الاوكسينات و ABA وحامض الجبرلين والساييتوكاينينات) وافراز المركبات الدبالية والفينولية.

- 5- إنتاج إنزيم ACC- deaminase لتقليل مستوى الأثيلين في الجذور ومن ثم زيادة طول الجذور ونموها مما يشجع نمو النبات .
- 6- تشجع التثبيت الحيوي للنيتروجين الجوي في النباتات وإنتاج المركبات الخالبة للحديد الأحيائية (سايدروفورات phytosidrophores) وبعض الفيتامينات .
- 7- فضلاً عن قيامها بتقليل الأمراض والتأثير الضار للحشرات ومقاومة الجفاف والاجهادات المختلفة .

1- الية تأثير البكتريا في إذابة الفسفور

ان بكتريا الـ *Pseudomonas spp* وبكتريا الـ *Bacillus spp* تعد الأكثر شيوعاً في إذابة الفسفور المعدني ، حيث تعد بكتريا الـ *Pseudomonas spp* من البكتريا الهوائية المذيبة للفوسفات وكذلك عامل مكافحة حيوية ، وهي تنمو وتتضاعف بسرعة في منطقة الرايزوسفير وتستعمر الجذر مستفيدة من إفرازات الجذور وهي متكيفة للظروف الصعبة والاجهادات المختلفة ، وبعضها يستعمل عملية عكس النترجة denitrification كإحدى الخيارات لميكانيكية التنفس اللاهوائي . العديد من الدراسات أثبتت مقدرة بكتريا *Pseudomonas spp* على زيادة ذوبان الفسفور من خلال مقدرتها على إنتاج إنزيم الفوسفاتيز وإنتاجها للأحماض العضوية كحامض الفورميك والخليك والستريك واللاكتيك وكذلك مقدرتها على إنتاج أنواع عديدة من منظمات النمو ومنها الأوكسينات والجبرلينات والأبسيسك أسد ABA والسايكوكالينينات ، وإنتاج مركبات السايدروفور (حوامل الحديد) ، فضلاً عن مقدرتها على الحد من إنتاج الإثيلين من خلال إنتاج إنزيم ACC- deaminase الذي يعمل على المركب الوسيط في دورة إنتاج الأثيلين المسمى 1- aminocyclopropane - 1- carboxylic acid (ACC) ومن ثم الحد من إنتاج الأثيلين وتقليل الآثار الضارة الناتجة عن الإجهادات. اما بكتريا الـ *Bacillus spp* فهي بكتريا هوائية أو لا هوائية اختيارية ذات قدرة تخصصية عالية في تجهيز النبات بالمغذيات الضرورية و منها الفسفور، فإن لها القدرة

على إذابة الفسفور من مصادره غير الذائبة و منها الصخر الفوسفاتي و انتاج اندول استنك اسد IAA والسايدروفورات ونواتج الايض المضادة للفطريات وتقلل شدة الامراض من خلال تثبيط نمو المسببات المرضية، فهي ايضا تستعمل في مكافحة الحيوية .

وصف Igual وآخرون، (2001) عزلات من بكتريا *Pseudomonas* و *Bacilli* و *Rhizobia* بانها فعالة في اذابة الفسفور من بين بكتريا التربة وان الانواع التابعة للاجناس : *B. subtilis* , *B. megaterium* , *B. circulans* , *Enterobacte* , *Pseudomonas striata* , *B. polymyxa* تعد من اهم العزلات. بينت عدد من الدراسات ان هناك انواع بكتيرية مختلفة لها القدرة على اذابة مركبات الفوسفات غير العضوية (المعدنية) الغير قابلة للذوبان مثل فوسفات الكالسيوم الثلاثية (TCP) ، هيدروكسيباتيت ، فلورواباتيت ، فوسفات الحديد والألمنيوم والمغنيسيوم ، العظام والصخري الفوسفاتي وتحويلها إلى أشكال قابلة للذوبان . وأن الصخر الفوسفاتي والفوسفات الألمنيوم والحديد هي الاقل اذابة بالمقارنة مع TCP. و اجرى Dave و Patel ، (1999) مقارنة بين اذابة مصادر غير عضوية مختلفة غير قابلة للذوبان بواسطة بكتريا *Pseudomona* وبين بان المصادر تختلف في ذوبانها وحسب الاتي :

العظام < TCP < الفوسفات DCP < فوسفات الحديد < صخر الفوسفات < فوسفات الألمنيوم . و اشار Dipta (2013) الى ان ذوبان الفسفور كان: TCP > RP > BM بواسطة عزلة *(B. subtilis)* MK5 تليها العزلة VG1 (*B. sefansis*) .

يلخص الجدول (1-7) إمكانية ذوبان الفسفور من الصخور الفوسفاتية المختلفة الغير قابلة للذوبان من قبل العديد من الأنواع البكتيرية وتشير النتائج إلى أن بكتريا الـ *Pseudomonas* , *Rhizobium* وأنواع الـ *Bacillus* هي من المذيبات الأكثر قوة، و أن فوسفات الكالسيوم الثلاثية وهيدروكسيباتيت هي أكثر اذابة من صخر الفوسفات.

جدول 7-1 : مجموع تراكم P في مزارع الأنواع البكتيرية المختلفة التي نمت على صخور الفوسفات المعدنية غير القابلة للذوبان (ملغم .لتر⁻¹) .

المصدر	الصخور			العزلات البكتيرية
	Rock phosphate	Hydro-xyapatite	Ca ₃ (PO ₄) ₂	
(1992) Schinner و Illmer	Nd	nd	52	<i>Pseudomonas</i> sp.
(1979) Gaur و Arora	22	143	156	<i>Pseudomonas striata</i>
(1996) Rodríguez و آخرون	nd	nd	35	<i>Burkholderia cepacia</i>
(1993) Chakrabartty و Halder	nd	300	nd	<i>Rhizobium</i> sp.
(1993) Chakrabartty و Halder	nd	165	nd	<i>Rhizobium meliloti</i>
(1993) Chakrabartty و Halder	nd	356	nd	<i>R. leguminosarum</i>
(1993) Chakrabartty و Halder	nd	27	nd	<i>Rhizobium loti</i>
(1996) México و Vázquez	nd	nd	395	<i>B. amyloliquefaciens</i>
(1979) Gaur و Arora	17	87	116	<i>B. polymyxa</i>
(1979) Gaur و Arora	16	31	82	<i>B. megaterium</i>
(1979) Gaur و Arora	13	65	54	<i>B. pulvifaciens</i>
(1979) Gaur و Arora	6	17	11	<i>B. circulans</i>
(1979) Gaur و Arora	5	7	15	<i>Citrobacter freundii</i>

ماخوذ من Reynaldo Fraga و Hilda Rodríguez (1999) .

البكتريا المذيبة للفسفور لديها القدرة على إذابة الفوسفات المعدنية الغير قابلة للذوبان من خلال إنتاج الأحماض العضوية المختلفة (مثل احماض tartaric, citric, succinic, glycolic, malonic , lactic, fumaric) و siderophores ، الأحماض المعدنية ، والبروتونات والمواد الدبالية ، CO₂ و H₂S . فقد اختبر Vikram وآخرون، (2007) 30 عزلة من البكتريا المذيبة للفسفور المعزولة من المحاصيل التي نمت في vertisols لإنتاج الأحماض العضوية مثل احماض الـ succinic ، tartaric ، maleic ، gluconic ، citric ، fumaric وغيرها من الأحماض المجهولة وأوضح ان عزلات PSBV-9 أنتجت ستة احماض

عضوية في حين عزلات PSBV 10 , PSBV-25 و PSBV 16 أنتجت خمسة
احماض عضوية فقط . ان الحامض الثلاثي والاحماض الكربوكسيلية الأليفاتية الثنائية
أكثر فعالية بالمقارنة مع الأحماض أحادية والعطرية. ووجد ان الأحماض الالفاتية أكثر
فعالية في اذابة الفوسفات من الأحماض الفينولية. (الجدول 7-2) يوضح نتائج دراسة
اجريت لعشرة من عزلات البكتريا وثلاث من الفطريات المذيبة للفوسفات (PSM)
المعزولة من رايزوسفير الذرة في المختبر لمدة سبعة أيام على الوسط السائل
Pikovskaya ، بينت النتائج ان الانخفاض في الـ pH تراوح من 7 الى 3.2 مع
النمو المستمر لهذه العزلات لمدة سبعة أيام ، وأظهرت الدراسة ان البكتريا تكون أكثر
نشاطا من الفطريات في تحويل الفسفور الغير قابل للذوبان الى فسفور قابل للذوبان .
وان حامض الستريك والاوكرالك هما من الأحماض العضوية التي تنتجها الاحياء
المذيبة للفسفور PSM (جدول 7-3) .

جدول 2-7 : انخفاض الـ pH للأوساط الغذائية بواسطة عزلات مختارة من البكتريا والفطريات المذيبة للفسفور.

انخفاض الـ pH خلال سبعة ايام							العزلات
اليوم 7	اليوم 6	اليوم 5	اليوم 4	اليوم 3	اليوم 2	اليوم 1	
7.04	7.04	7.04	7.04	7.04	7.04	7.04	المقارنة
4.04	3.76	3.89	3.84	4.02	4.10	7.04	7MB
3.43	3.45	3.52	3.68	3.95	4.82	7.04	54MB
4.30	4.60	4.62	4.55	4.74	5.19	7.04	73MB
3.33	3.29	3.30	3.38	3.58	3.89	7.04	84MB
3.33	3.23	3.25	3.25	3.44	3.55	7.04	105MB
3.43	3.39	3.49	3.61	3.73	3.83	7.04	106MB
3.20	3.33	3.60	4.29	4.58	4.37	7.04	107MB
4.33	4.25	4.29	4.39	4.44	4.50	7.04	108MB
3.40	3.45	3.40	3.54	3.65	5.06	7.04	109MB
3.25	3.70	3.71	3.72	3.76	4.38	7.04	112MB
3.20	3.91	4.59	4.91	5.58	6.83	7.04	<i>Aspergillus niger</i>
4.03	4.32	4.34	5.50	6.40	6.93	7.04	<i>A. clavatus</i>
3.30	3.33	3.40	4.70	5.08	7.03	7.04	<i>Penicillium canescens</i>

عن SADIA ALAM وآخرون ، (2002)

جدول 3-7 : الاحماض العضوية المنتجة بواسطة الاحياء المذيبة للفسفور المعزولة من رايزوسفير الذرة .

Acet- ic Acid	Fuma- ric Acid	Succi- nic Acid	Gluc- onic Acid	Citric Acid	Oxal- ic Acid	Total Acids	العزلات
-	-	-	0.095	0.7	0.409	1.204	7MB
-	-	-	0.034	0.29	0.175	0.499	54MB
-	-	-	-	0.149	0.21	0.359	73MB
-	0.386	-	0.13	1.7	0.67	2.54	84MB
-	-	-	0.106	0.24	1.09	1.436	105MB
-	-	0.0064	0.06	1.01	0.67	1.746	106MB
0.0035	0.049	-	0.15	2.06	0.7	2.963	107MB
-	-	0.0244	0.026	1.14	0.554	1.74	108MB
-	-	0.009	-	0.7	0.498	1.21	109MB
-	-	-	0.0724	2.385	0.68	3.09	112MB
-	-	-	0.047	0.53	0.756	1.33	<i>Aspergillus niger</i>
-	-	-	0.049	1.087	0.745	1.88	<i>A. clavatus</i>
-	-	-	0.088	0.43	0.55	1.068	<i>Penicillium canescens</i>
-	-	-	-	-	-	-	المقارنة

عن SADIA ALAM وآخرون ، (2002)

درست عدد من عزلات لبكتريا موجبة لكرام لمعرفة نشاطها لاذابة الفسفور من الصخر الفوسفاتي في الوسط السائل Pikovskay وقياس التغير في الـ pH للوسط ، وكذلك تم اختبار هذه العزلات البكتيرية في قدرتها على انتاج المواد المنظمة للنمو (IAA و GA) ، وقد كان هناك تباين كبير بين عزلات البكتريا في قدرتها على

تحرير الفسفور من الصخر الفوسفاتي فبكتريا (*Arthrobacter* spp (A1),
R6, T4,T7 ,T6, T1) *B. thuringiensis*, (EB10,B7, B3) *Bacillus* spp
(و عزلة مجهولة 121 هي أكثر نشاطا للاذابة الفوسفور من الصخر الفوسفاتي
مقارنة مع العزلات الأخرى (جدول 4-7). وبين الجدول ان البكتريا المذيبة للفسفور
من الصخر الفوسفاتي ادت الى انخفاض متوسط في الـ pH في الوسط السائل ، وان
انخفاض الحموضة في الوسط هي واحدة من آلية المشاركة بواسطة البكتريا المذيبة
للفسفور وهذا يمكن أن يكون نتيجة لإنتاج الأحماض العضوية من قبل البكتريا المذيبة
للفسفور ، ووضحت نتائج الجدول (4-7) ايضا ان البكتريا الموجبة لكرايم أيضا لها
القدرة على إنتاج منظمات النمو التي تعزز نمو النبات مثل IAA و GA بتركيزات
متباينة في ظل الظروف المختبرية و باستثناء بكتريا *Arthrobacter* spp فان كل
البكتريا الموجبة لكرايم الاخرى أنتجت IAA و GA بحدود 0.05 الى 0.554
ميكروغرام مل⁻¹ و 0.003 الى 0.128 ميكروغرام مل⁻¹ على التوالي ، واعطت
البكتريا (*Bacillus* spp (B3) اعلى كمية من IAA (0.554) ميكروغرام مل⁻¹
و GA (0.128) ميكروغرام مل⁻¹ ، بينما سجلت البكتريا *Micrococcus* spp اقل
كمية من IAA (0.051) ميكروغرام مل⁻¹ و GA (0.003) ميكروغرام مل⁻¹ .

جدول 4-7: النسبة المئوية لتحرير الفسفور في الوسط السائل الحاوي على الصخر الفوسفاتي كمصدر للفسفور وإنتاج المواد المنظمة للنمو (IAA و GA) من قبل البكتريا الموجبة لكرام .

GA حامض الجبرلين (ميكروغرام مل ⁻¹)	IAA (ميكروغرام مل ⁻¹)	التغير في الـ PH	% للفسفور المحرر	عزلات البكتريا
-	-	4.58	4.90	<i>Arthrobacter</i> spp.A1
-	-	5.74	4.73	<i>Arthrobacter</i> spp.A2
0.128	0.554	4.54	7.76	<i>Bacillus</i> spp. B3
0.080	0.460	4.35	6.10	<i>Bacillus</i> spp. B7
0.102	0.434	4.53	5.89	<i>Bacillus</i> spp. EB10
0.120	0.560	4.09	6.39	<i>B. thuringiensis</i> T1
0.095	0.485	5.30	4.28	<i>B. thuringiensis</i> T5
0.076	0.380	4.40	5.35	<i>B.s thuringiensis</i> T6
0.069	0.348	4.96	5.15	<i>B. thuringiensis</i> T7
0.069	0.370	4.48	5.76	<i>B. thuringiensis</i> T4
0.025	0.321	5.40	4.28	<i>B. thuringiensis</i> R5
0.017	0.294	4.81	4.82	<i>B.s thuringiensis</i> R6
0.034	0.316	5.57	3.46	<i>Bacillus</i> spp.49
0.104	0.381	5.14	4.27	<i>B. polymyxa</i> (B. p).
0.003	0.132	5.17	2.24	<i>Micrococcus</i> spp. M7
0.004	0.212	5.40	3.56	<i>Micrococcus</i> spp. M8
0.018	0.051	5.65	3.53	<i>Micrococcus</i> spp. M9
0.16	0.147	5.12	3.21	<i>Micrococcus</i> spp. M10
0.025	0.205	5.48	3.43	<i>Micrococcus</i> spp. 11
0.050	0.160	5.36	3.86	<i>Micrococcus</i> spp.131
0.032	0.184	5.12	3.89	<i>Micrococcus</i> spp.16
0.024	0.088	5.25	4.58	Unidentified 121
0.068	0.434	4.85	3.20	Unidentified 100
0.067	0.181	4.84	3.27	Unidentified 98

عن Srinivasamurthy و Dayamani (2014)

اظهرت نتائج العزل لتجربة مختبرية اجريت في العراق على عينات تربة جمعت من منطقة الرايزوسفير لنباتات مزروعة بالخضر ، ان عشرة عزلات بكتيرية من ضمنها ستة عزلات تعود للجنس *Pseudomonas* spp واربعة تعود للجنس *Bacillus* قادرة على اذابة الفوسفات وبكفاءة مختلفة ، ولوحظ مناطق شفافة حول المستعمرات على الوسط الغذائي الصلب الحاوي على الفوسفات الثلاثية المتباينة الاقطار، اذ تباينت مقدرة العزلات في اذابة الفوسفات في المزارع السائلة الملقحة بالبكتريا، فقد تفوقت العزلة P3 في اذابتها للفوسفات عن العزلات الاخرى ، اذ استطاعت اذابة 317.5 ملغرام فسفور لتر⁻¹ من الفوسفات الموجودة في الوسط الزراعي السائل ، بينما كانت العزلة B1 اقل قدرة ونشاط في اذابة الفوسفات واستطاعت اذابة 30.9 ملغرام فسفور لتر⁻¹ (جدول 5-7)، وتبين نتائج هذا الجدول تباين اعداد وانواع الحوامض العضوية المنتجة من كل عزلة بكتيرية وهي خمسة احماض (الستريك واللاكتيك و الكلوكونك والسكسونك والبروبونيك).

جدول 5-7 : كمية الفسفور الذائب والاحماض العضوية المنتجة لكل عزلة بكتيرية مذيبة للفوسفات (حسن ، 2012) .

رمز العزلة البكتيرية	pH الوسط الزراعي بعد التلقيح ببكتريا (PSB)	كمية الفسفور الذائب في الوسط (ملغم لتر ⁻¹)	الاحماض العضوية المنتجة والمشخصة بواسطة (HPLC)
P ₁	5.21	165.2	حامض السترك واللاكتك والبروبيونك
P ₂	5.50	135.8	حامض السترك والكلوكونك
P ₃	4.80	317.5	حوامض السترك والكلوكونك والسكسونك
P ₄	5.15	251.0	واللاكتك
P ₅	5.92	121.1	حوامض السترك والكلوكونك واللاكتك
P ₆	6.43	30.1	حامض اللاكتك والسكسونك
B ₁	6.10	30.9	حامض البروبيونك
B ₂	5.00	210.5	حامض البروبيونك
B ₃	5.41	110.6	حامض السترك والبروبيونك
B ₄	5.72	94.5	حامض السترك
المقارنة	6.8	-	حامض الكلوكونك

ان معدنة معظم مركبات الفوسفور العضوية تتم بواسطة إنزيمات الفوسفاتيز التي يزداد نشاطها في التربة و المصدر الرئيسي لنشاط إنزيم الفوسفاتيز في التربة يكون من أصل ميكروبي الذي يزداد نشاطه بشكل كبير في منطقة الرايزوسفير مما يؤدي الى زيادة الفسفور العضوي الذائب . والجدول (6-7) يظهر بعض انواع بكتريا التربة القادرة على تحرير الفسفور من مصادر عضوية مختلفة .

جدول 6-7: معدنة الفسفور بواسطة بعض انواع بكتريا التربة .

عزلات البكتريا	المواد العضوية	نوع الانزيم	المصدر
<i>P. fluorescens</i>	Non-specific	Acid phosphatase	Gügi وآخرون، (1991)
<i>Pseudomonas</i> sp.	Non-specific	Acid phosphatase	Gügi وآخرون، (1991)
<i>Burkholderia cepacia</i>	Non-specific	Acid phosphatase	Rodríguez وآخرون، (1996)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Non-specific	Acid phosphatase	Thaller وآخرون، (1995)
<i>Enterobacter cloacae</i>	Non-specific	Acid phosphatase	Thaller وآخرون، (1995)
<i>Citrobacter freundii</i>	Non-specific	Acid phosphatase	Thaller وآخرون، (1995)
<i>Proteus mirabilis</i>	Non-specific	Acid phosphatase	Thaller وآخرون، (1995)
<i>Serratia marcescens</i>	Non-specific	Acid phosphatase	Thaller وآخرون، (1995)
<i>Bacillus subtilis</i>	Inositol phosphate	Phytase	Richardson و Hadobas، (1997)
<i>P. putida</i>	Inositol phosphate	Phytase	Richardson و Hadobas، (1997)
<i>P. mendocina</i>	Inositol phosphate	Phytase	Richardson و Hadobas، (1997)
<i>P. fluorescens</i>	Phosphonoacetate	Phosphonoacetate hydrolase	McGrath وآخرون، (1995)
<i>B. licheniformis</i>	D-a-Glycerophosphate	D-a-glycerophosphatase	Skrary و Cameron، (1998)
<i>Klebsiella aerogenes</i>	Phosphonates	C-P Lyase	Ohtake وآخرون، (1996)

Nd = غير محددة . مأخوذ من Hilda Rodríguez و Reynaldo Fraga (1999) .

2- بكتريا المذيبة للفسفور وتشجيع نمو النبات

من الصفات المهمة في الزراعة المستدامة لزيادة إنتاجية المحاصيل هي قابلية البكتريا المذيبة للفوسفات (PSB) Phosphate Solubilizing Bacteria في تحويل الفسفور غير الذائب الى فسفور ذائب لذلك تعد البكتريا المذيبة للفوسفات كمخصب حيوي ذو فائدة في تقليل التلوث الحاصل في التربة بسبب الاستعمال المفرط للاسمدة الكيميائية ، اشارت العديد من الدراسات الى تشجيع نمو النبات عن طريق البكتريا التي لها القدرة على اذابة الفسفور الغير عضوي و/ او العضوي في التربة ، فقد خلقت السلالات البكتيرية الهرمونات النباتية والمضادات الحيوية، أو siderophores المفيدة للنبات ، اظهرت دراسات حقلية في مواقع مختلفة من الهند وفي انواع مختلفة من الترب الهندية بان تلقيح البذور Seed inoculation باللقاح الفوسفوبكتريين Phosphobacterin والتي يتمثل بنوع البكتريا *Bacillus megeterium* ذو تاثيرات ايجابية في حاصل الحنطة والجت .فقد اوضحت نتائج الجدول (7-7) التأثير الفاعل للمخصب الحيوي Phosphobacteria على حاصل عدد من المحاصيل الزراعية والتي اضيف لها 60 كغم P_2O_5 / هـ من صخر الفوسفات ، حيث نجد ان نسبة الزيادة في الحاصل بعد اضافة المخصب الحيوي قد تراوحت بين (5 % - 50 %) بغض النظر عن المحصول والموقع ولكن اكبر نسبة زيادة تحققت مع محصول الحنطة في اكثر المواقع عددا والذي بلغ 50 % وان هذا التأثير جاء مطابقا مع المعاملة غير المسمدة والذي اعتمد الحاصل على الكمية التي تذيبها البكتريا من الصور غير الذائبة من الفسفور والموجودة في الترب حيث بلغت نسبة الزيادة (7 % - 42 %) .

جدول 7-7 : تأثير اللقاح الحيوي الفوسفوبكتريين على حاصل حبوب المحاصيل في مواقع مختلفة حقليا .

نوع المحصول		عدد التجارب المنفذة	الزيادة في الحاصل بفعل السماد البكتيري	
			RP ₆₀	P ₀
الرز		7	% 15 - 5	% 20- 10
الحنطة		8	% 50 – 5	% 42 – 7
الحمص		3	% 25 – 15	% 30 – 10
العدس		2	% 25 – 15	-
البطاطا		2	% 15 – 13	% 50 – 30

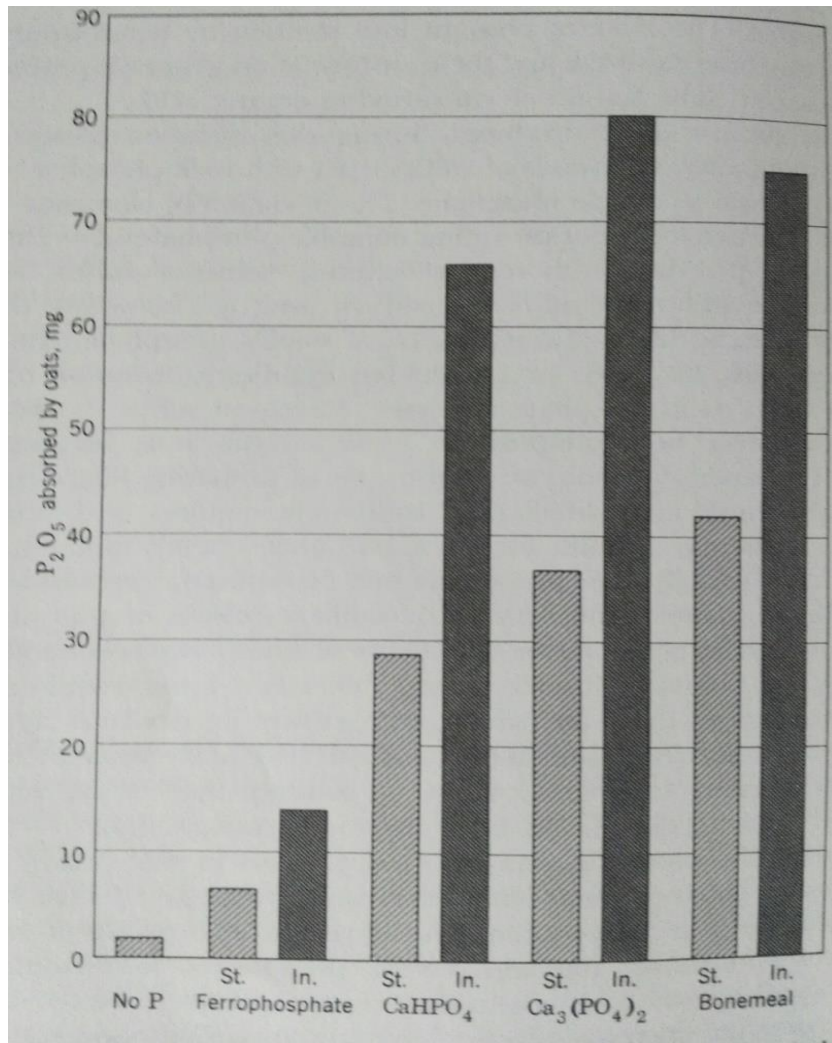
P₀ = بدون فسفور ، RP = 60 كغم P₂O₅ / هـ من صخر الفوسفات.

الجدول (7-8) يبين ان اضافة المخصبات الحيوية البكتيرية قد حققت نسبة زيادة مئوية على المعاملة غير الملقحة ، وان محاصيل حبوب الرز ثم العدس ثم الحنطة سجلت نسبة زيادة تراوحت من صفر الى 37 % ، 12 - 31 % ، صفر - 14 % على التوالي ولكن عدد التجارب ذات التأثير المعنوي كانت واحدة مع الرز واثنان مع العدس والحنطة ، اما البرسيم فقد سجل في اربعة تجارب زيادة معنوية بلغت (10 - 20 %) من اصل ستة تجارب مع السماد الحيوي البكتيري *Bacillus megatherium*. ان نسب الزيادة مع الحنطة اختلفت باختلاف المخصب الحيوي ، حيث انخفضت الى 10 % مع الحنطة و 95 % مع الرز عند اضافة المخصب الحيوي *Bacillus polymyx* ، اما محصول البطاطا فقد سجل اكثر من 25 % في موقع واحد مع المخصب الحيوي *Pseudomonas striata* . ان هذه النتائج تعكس حالة ايجابية عند اضافة المخصبات الحيوية وكذلك قد يرافق الفشل اضافة الاسمدة ولكن المحصلة العامة ان زيادة جاهزية الفسفور للنبات عند التلقيح بالمخصبات الحيوية حقيقة واقعة وتحتاج الكثير من الدراسات المتعمقة .

جدول 7-8 : تأثير الاحياء المذيبة للفسفور على حاصل عدة محاصيل زرعت في مواقع حقليّة مختلفة .

نوع المحصول	نوع السماد الحيوي المضاف الى الحقل	عدد التجارب الحقلية	عدد التجارب ذات الزيادة المئوية	نسبة الزيادة المئوية في الحاصل عن المقارنة
الربسيم	Phosphobacterin <i>Bacillus megatherium</i>	6	4	10 - 20 %
الذرة		3	2	صفر - 14 %
الحنطة		6	1	صفر - 37 %
الرز		12	2	12 - 31 %
العدس		1	صفر	-
فول الصويا		1	صفر	-
فستق		1	صفر	-
الحنطة	<i>Pseudomonas striata</i>	1	1	10 %
الرز	<i>Bacillus polymyx</i>	1	1	9.5 %
البطاطا	<i>Pseudomonas striata</i>	1	1	25.5 %

من الشكل (7-3) نلاحظ قدرة احياء التربة في تشجيع امتصاص الفسفور مما انعكس على حاصل حبوب نبات الشوفان تحت الظروف المعقمة وغير المعقمة مع اضافة الفسفور على هيئة CaHPO_4 ، $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ، Ferrophosphate وكذلك العظام bonemeal وقد كان الامتصاص كبيرا عند الترب الملقحة (غير المعقمة) مقارنة بالتربة غير الملقحة (المعقمة) حيث عملت احياء التربة على اذابة الفسفور وجعلته سهل الامتصاص مما سجل كمية ممتصة اعلى .



شكل 7-3 : كمية الفسفور الممتصة لنبات الشوفان والمزروع في المزارع الرملية المعقمة (St) وغير معقمة (In) .

وتتلخص نتائج تجربة حقلية اجريت لمعرفة تاثير البكتريا المذيبة للفسفور (*Bacillus sp.*) في ارتفاع وحاصل نبات القطن في ان التلقيح بالبكتريا (*Bacillus sp.*) اعطى اعلى حاصل لبذور القطن (1630) كغم هـ⁻¹ واعلى ارتفاع للنبات (158.4) سم مقارنة بمعاملة المقارنة (1511.1) كغم هـ⁻¹ و (154.7) سم وعند التداخل بين التلقيح ومستويات الفسفور سجل اعلى مستوى للفسفور (90) كغم هـ⁻¹ مع التلقيح اعلى حاصل لبذور النبات (1733.3) كغم هـ⁻¹ واعلى ارتفاع للنبات (160.2) سم (جدول 7-9) .

جدول 9-7 : تأثير التلقيح على حاصل بذور القطن وارتفاع النبات .

ارتفاع النبات (سم)		حاصل بذور القطن (كغم هـ ⁻¹)		مستويات الفسفور (كغم هـ ⁻¹)
مع التلقيح	بدون تلقيح	مع التلقيح	بدون تلقيح	
156.5 cd	152.5 e	1489.0 d	1377.7 e	30
158.7 ab	154.5 de	1666.7 ab	1544.3 cd	60
160.2 a	157.2 bc	1733.3 a	1611.3 bc	90

عن Qureshi وآخرون ، (2012) .

استخدمت البكتريا المذيبة للفسفور كلقاحات ميكروبية في مزارع مختلطة مع احياء اخرى، فقد اثبتت العديد من الدراسات التأثير المفيد للتلقيح ببكتريا المذيبة للفسفور مع بكتريا الازوتوباكتري على الحاصل وكذلك على النيتروجين والفسفور في محاصيل مختلفة. و اظهرت عزلات من بكتريا *Pseudomonas striata* وبكتريا *Bacillus polymyxa strains* قدرتها على اذابة الفسفور مع بكتريا *Azospirillum brasilense* وأدت إلى تحسن معنوي في المادة الجافة وحاصل الحبوب في الذرة مع زيادة في امتصاص النيتروجين والفسفور مقارنة مع التلقيح المنفرد مع كل عزلة ، وتوصل الباحثون الى القول بان اللقاحات المختلطة توفر التغذية المتوازنة للنباتات، وأن التحسن في امتصاص النيتروجين والفسفور كانت الآلية الرئيسية ، وهذه الادلة تشير الى الاستفادة من اللقاحات المختلطة من بكتريا PGPR متضمنة البكتريا المذيبة للفسفور ، فقد تؤثر بكتريا PGPR في نمو النبات بصورة مباشرة من خلال إنتاج منظمات النمو، وتحرير العناصر الغذائية الكبرى والصغرى من مصادرها الغير قابلة للذوبان وتخفيض مستوى الايثيلين في النبات، . او بصورة غير مباشرة عن طريق إنتاج المضادات الحيوية ، وإنتاج عوامل المكافحة البيولوجية . وبين Piccini و Azcón ، (1987) أن البكتريا المذيبة للفسفور تتفاعل مع المايكورايزا الحويصلية

الشجيرية (Vesicular Arbuscular Mycorrhizae (VAM) لتحرير ايونات الفسفور في التربة ، مما يسبب التداخل التعاوني الذي يسمح بتحسين استغلال مصادر الفسفور ضعيفة الذوبان ، أن الفوسفات المذيبة بواسطة البكتريا والتي يستفاد منها النبات بكفاءة عالية تتم خلال فطريات المايكورايزا التي تكون جسور ما بين الجذور والتربة المحيطة بها التي تسمح للمواد الغذائية الانتقال من التربة إلى النباتات ، مما أدى إلى زيادة الوزن الجاف للأجزاء الخضرية ، والجذور لنبات الجت وذلك بسبب زيادة مستوى تكوين المستعمرات للفطريات على الجذور وزيادة أطوال الجذور المصابة بالفطريات وإلى التأثير التعاوني للتداخل بين البكتريا والفطريات وتأثيراته في نمو النبات ، وإن إضافة الصخر الفوسفاتي يعزز التأثيرات الإيجابية للمعاملات ويغير من تراكيز النتروجين ، الفسفور ، البوتاسيوم ، الكالسيوم والمغنيسيوم في النباتات قياساً بمعاملات المقارنة ، بسبب إنتاج الهرمونات النباتية بواسطة البكتريا المذيبة للفوسفات وإطلاق بعض المواد إلى الوسط بواسطة فطريات المايكورايزا لتعديل بعض الحالات الفيزيائية واستنتاج أن البكتريا المذيبة للفوسفات وفطريات المايكورايزا قادرة على تحويل أشكال الأسمدة الفوسفاتية وتزويد النباتات بالمغذيات والتي تحسن من تغذيته ونموه. وجد أن رشح المزارع البكتيرية المذيبة للفوسفات يحتوي على هرمونات نباتية نقية يمكن تحسين الأوزان الجافة ومستويات الإصابة بالمايكورايزا قياساً بالنباتات غير الملقحة

ليست كل التجارب المختبرية أو الحقلية أعطت نتائج إيجابية لدور الفسفور المذاب في تعزيز نمو النبات عن طريق البكتريا المذيبة للفسفور فالتلقيح باستعمال *Bacillus megaterium* var. *phosphoricum* أعطى نتائج جيدة في الاتحاد السوفيتي السابق، والهند، ولكنها لم تظهر بنفس الكفاءة في التربة في الولايات المتحدة. إن كفاءة التلقيح تعتمد على عدة عوامل منها نوع التربة ، صنف معين ، ومحتوى التربة من الفسفور يعد من العوامل المهمة في تحديد فعالية المنتج .

3- عزل البكتريا المذيبة للفسفور

طريقة العمل

- 1- خذ 10 غم من عينة الترب الماخوذة من منطقة الرايزوسفير (تربة وجذور النبات) ثم انقلها الى دورق زجاجي يحتوي على 90 مل من الماء المقطر المعقم ومزجها جيدا وذلك برج الدورق لمدة 5 دقائق .
- 2- اعمل سلسلة من التخفيف لعالق التربة والماء مستعملا الماء المقطر المعقم وذلك باخذ 10 مل من العالق ومن منطقة المركز وانقلها الى دورق زجاجي معقم يحتوي على 90 مل من الماء المقطر المعقم سوف تحصل على تخفيف قدرة 10^{-2} كرر العملية الى 10^{-6} .
- 3- حضر وسط النمو الموضح في الجدول (7-10) .
- 4- انشر 0.1 مل من كل تخفيف على الوسط الزراعي الصلب المحضر (Pikovskaya) في اطباق بتري وبثلاث مكررات لكل تخفيف .
- 5- حضن الاطباق بدرجة 28 م⁰ ولمدة اربعة ايام .
- 6- شخص المستعمرات البكتيرية التي تظهر حولها مناطق شفافة على الوسط الزراعي الصلب والتي تدل على اذابة الفوسفات من قبل بكتريا PSB .

جدول 7-10: الوسط الغذائي لتنمية البكتريا المذيبة للفسفور Pikovskaya
(Sundara 1948،) والمحور من قبل
واخرون ، 1963) .

المادة	الوحدة (غم . لتر ⁻¹)
كلوكوز	10
فوسفات الكالسيوم الثلاثية	5
كبريتات الامونيوم	0.5
كلوريد البوتاسيوم	0.2
كبريتات المغنيسيوم	0.1
كبريتات المنغنيز	0.0001
كبريتات الحديدوز	0.0001
+مستخلص الخميرة	0.5
اكار	20
ماء مقطر	1000 مل

الفطريات المذيبة للفسفور مقدمة

ان العديد من فطريات وبكتريا التربة تستطيع إذابة الفسفور غير العضوي إلى أشكال قابلة للذوبان من خلال عمليات التحميص، الخلب، وإنتاج الأحماض العضوية و من أكثر الفطريات المذيبة للفسفور في المنطقة الجذرية بالدرجة الاولى الجنسان spp *Aspergillus* و *Penecillium*، فقد لوحظ عدد من الباحثين أن الفطريات اكفاً من بقية مجاميع احياء التربة الدقيقة في اذابة المركبات الفوسفاتية المختلفة ،حيث ان كفاءة الفطريات هي (10) اضعاف كفاءة البكتريا في اذابة كل من الفوسفات المترسبة حديثاً وكذلك صخر الفوسفات. حيث تقوم هذه الكائنات الحية المذيبة للفسفور بإفراز كميات كبيرة من الأحماض العضوي قليلة الوزن الجزيئي مثل الاوكساليك و الفيوماريك

و الكلوكونيك و السكسنيك و الستيريك. فقد اوضح Vassilev وآخرون ، (2006) أن الفطريات الخيطية تستخدم بشكل واسع كمنتجات للأحماض العضوية ولاسيما الفطر *Aspergillus niger* وبعض أنواع الجنس *Penicillium* التي اختبرت في انظمة التخمر أو التلقيح المباشر للتربة لإذابة الفسفور الصخري . إن الكثير من الانواع التابعة للجنس *Aspergillus* تتميز بقابليتها على إذابة الفسفور غير العضوي مثل *A. niger* و *A. terreus* و *A. flavus* وذلك من خلل انتاج الحوامض مثل gluconic, Citric succinic , oxalic , glucolic, والجدول (7-11) يبين الاحماض المنتجة من الفطريات المذيبة للفسفور .

إن إفراز هذه الأحماض العضوية في التربة يؤدي إلى زيادة تركيز الفسفور المذاب في المحلول عن طريق زيادة حامضية التربة و تفاعلات الإحلال و الاستبدال مع العناصر الاخرى وذلك لتحرير الفسفور الغير مذاب . تقوم هذه الأحماض العضوية بنزع الفسفور من فوسفات الكالسيوم و الحديد و الألمنيوم نتيجة تفاعلات الاستبدال و الإحلال و ذلك عن طريق أزاله عنصر الكالسيوم و الحديد و الألمنيوم و من ثم تحويل الفسفور إلى صورة ذائبة ($H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-}) ، اذ تعد acidification (اي خفض درجة الحموضة pH) في اغلب الحالات من أهم آليات ذوبان عنصر الفسفور، حيث أن ارتفاع قابلية ذوبان الفسفور عادة ما يرتبط بانخفاض درجة الحموضة pH في المحلول النهائي للوسط الغذائي (culture media) ، إذ إن قيمة درجة الحموضة (pH) الأولية للوسط الغذائي السائل ربما تتأثر بكمية الفسفور المذابة في ذلك الوسط . تقوم أيضا الكائنات الحية المذيبة للفسفور بإفراز إنزيم الفوسفاتيز الحامضي و التي تؤدي أيضاً إلى زيادة ذوبانيه الفسفور و تحويله إلى صورة قابله للامتصاص من قبل النباتات .

جدول 7-11 : الاحماض المنتجة من الفطريات المذيبة للفسفور .

المصادر	الاحماض المنتجة	الفطريات
Maliha وآخرون، (2004)	Oxalic, citric, gluconic, succinic	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. niger</i> , <i>Penicillium canescens</i>
Vazquez وآخرون، (2000)	Succinic	<i>A. niger</i>
Reyes وآخرون، (1999)	Gluconic	<i>Penicillium rugulosum</i>
Whitelaw وآخرون، (1999)	Gluconic	<i>Penicillium radicum</i>
Vassilev وآخرون، (1996)	Gluconic	<i>Penicillium variable</i>
Illmer وآخرون، (1995)	Citric, oxalic, gluconic	<i>A. niger</i>
Gupta وآخرون، (1994)	Oxalic, citric	<i>A. awamori</i> , <i>A. foetidus</i> , <i>A. terricola</i> , <i>A. amstelodemi</i> , <i>A. tamari</i> .
Singal وآخرون، (1994)	Oxalic, citric, gluconic succinic, tartaric	<i>A. japonicus</i> , <i>A. foetidus</i>
Cunningham و Kuiack، (1992)	Citric, oxalic	<i>Penicillium bilaji</i>
Burgstaller وآخرون، (1992)	Citric	<i>A. niger</i> , <i>P. simplicissimum</i>
Gaur، (1990)	Succinic, citric, tartaric	<i>A. awamori</i> , <i>P. digitatum</i>
Parks وآخرون، (1990)	Oxalic, itaconic	<i>Penicillium sp.</i>
Gaur، (1990)	Succinic, fumaric, citric, tartaric, α -ketbutyric	<i>Swaniomyces occidentalis</i>
Venkateswarlu وآخرون، (1984)	Succinic	<i>A. niger</i>
Banik و Dey، (1983)	Oxalic, succinic, citric, 2-ketogluconic	<i>Aspergillus sp.</i> , <i>Penicillium sp.</i> , <i>Chaetomium nigricolor</i>
Banik و Dey، (1982)	Lactic, 2-ketogluconic	<i>Streptomyces</i>
Banik و Dey، (1982)	Oxalic, tartaric, citric	<i>A. fumigatus</i> , <i>A. candidus</i>

ماخوذ من Mohammad Saghir KHAN وآخرون، (2007)

عزلت الفطريات المذيبة للفوسفات من رايزوسفير محاصيل مختلفة باستخدام الوسط الصلب والسائل (Pikovskaya PVK) وتم الحصول على مجموعة 359 عزلة فطرية من 150 عينة اخذت من تربة رايزوسفيرنباتات الفاصوليا والفول والطماطة ، وقصب السكر ، ووجد ان من بين العزلات ، 167 عزلة (46.52٪) مذيبة للفوسفات غير العضوي وان أكبر عدد من الفطريات المذيبة للفسفور كانت في الطماطة (28.14٪) والأقل في الفول (13.17٪) (الجدول 7-12). وكان من بين

167 عزلة تنتمي 93 عزلة (55.69%) إلى جنس *Aspergillus spp* و يليه *Penicillium spp* 39 عزلة (23.35%) وكان فطر *Fusarium spp* الأقل 16 عزلة (9.58%) والباقي 19 عزلة (11.38%) هي لفطريات مجهولة (الجدول 7-13). وتبين نتائج هذا الجدول ان فطر *Fusarium spp* وجد فقط في رايزوسفير نباتات الطماطة، في حين وجدت العزلات الأخرى في رايزوسفير الفاصوليا والفول والطماطة وقصب السكر.

جدول 7-12: العدد الكلي لعزلات الفطريات المذيبة للفسفور (PSF) المعزولة من رايزوسفير محاصيل مختلفة .

المحاصيل المعزولة منها	عدد العينات	عدد فطريات الـ (PSF)	عدد الاعفان الاخرى	نسبة العزلات (%)
Tomato	30	47	38	28.14
Cabbage	30	38	42	22.76
Haricot bean	30	35	23	20.96
Sugar cane	30	25	35	14.79
Faba bean	30	22	54	13.17
المجموع الكلي	150	167	192	100

عن Firew Elias وآخرون ، (2016)

جدول 7-13: تواجد الفطريات المذيبة للفسفور (PSF) المعزولة من رايزوسفير محاصيل مختلفة .

المحاصيل المعزولة منها	<i>Aspergillus</i> spp.	<i>Penicillium</i> spp.	<i>Fusarium</i> spp.	عزلات مجهولة
Tomato	31	3	0	3
Cabbage	9	12	0	4
Haricot bean	15	13	16	6
Sugar cane	20	13	0	5
Faba bean	17	3	0	1
المجموع الكلي	93	39	16	19
	(55.69%)	(23.35%)	(9.58%)	(11.58%)

عن Firew Elias وآخرون ، (2016)

1- الفطريات المذيبة للفسفور وتشجيع نمو النبات

استعملت الفطريات في مجال التسميد الحيوي لتوفير العناصر الغذائية للنبات وخاصة عنصر الفسفور من خلال استغلال مصادر الفسفور الغير قابلة للذوبان في التربة أو تأثيرها في تحولات الفسفور خاصة في الترب الكلسية مما يؤدي الى زيادة جاهزية الفسفور للنبات ، و بالتالي فإن وجود الفطريات المذيبة للفسفور يزيد من خصوبة التربة ومن الإنتاج الزراعي للمحاصيل و ذلك عن طريق زيادة ذوبانية الفسفور، فنتقنية التلقيح بالاحياء المذيبة للفسفور ومنها الفطريات هي تقنية جيدة لتحسين نمو النباتات مثل الحبوب والبقوليات والبذور الزيتية والخضراوات والمحاصيل البستانية، فقد ذكر عدد من الباحثين زيادة انتاجية القمح والبصل والبرسيم وفول الصويا من خلال التلقيح بالفطريات المذيبة للفسفور (PSF) Phosphate solubilizing Fungus .

ينصح باضافة الفطريات المذيبة للفسفور باعتبارها وسيلة مستدامة لزيادة انتاجية المحاصيل ، فقد تم تقييم فعالية فطر *Aspergillus niger* و / أو *Penicillium italicum* في التربة المضاف لها الصخر الفوسفاتي (TCP) Tri calicum phosphate لتعزيز نمو فول الصويا وتحسين الخصائص الفيزيائية للتربة ، وتبين أن التلقيح بالسلالات الفطرية بصورة منفردة تحسن من الطول والوزن الجاف لنبات فول الصويا والتلقيح المزدوج من الفطريات المذيبة للفسفور (*Aspergillus niger* و *Penicillium italicum*) ادى الى زيادة معنوية في ارتفاع النبات تصل إلى 81% والوزن الجاف للنبات 105% مقارنة مع المقارنة ، وسجلت زيادة معنوية في عدد القرون / نبات ووزن 100 حبة عند اضافة التلقيح المنفرد او المزدوج ، كما تم تسجيل زيادة كبيرة في نسبة البروتين والزيت، وهناك زيادة في نسبة N ومحتوى P في النبات جدول (7-14) . اختبر تأثير فطريات المذيبة للفسفور *Penicillium bilaji* و *Penicillium spp* من قبل Praveen M. Patil وآخرون ، (2012) على جاهزية الفسفور في الترب الكلسية فوجد ان تلقيح البذور بالفطريات المذيبة للفسفور (PSFs) Phosphate solubilizing Fungus Seeds مع مستويات P_2O_5 أثرت معنوياً في ارتفاع النبات، عدد الأوراق للنبات، وإنتاج المادة الجافة، حاصل الحبوب ومحتوى العناصر (N، P، K، الزنك والحديد) . وقد تم تحقيق أعلى نمو وحاصل للذرة عند التلقيح بالفطريات المذيبة للفسفور مع 100% من التوصية السمادية من P_2O_5 مقارنة مع 0 و 50% من التوصية السمادية. وخلصت الدراسة إلى أن التلقيح المنفرد والمزدوج (الفطريات + مستويات الفسفور) أعطى إنتاجية للذرة من 20-23 % أعلى من المقارنة .

جدول 7-14 : تأثير التلقيح بالفطريات المذيبة للفسفور على بعض معايير النمو والحاصل ونسبة النتروجين والفسفور في نبات فول الصويا .

المعاملات	ارتفاع النبات (سم)	الوزن الجاف للنبات (غم)	عدد القرون	وزن 100 حبة (غم)	بروتين (%)	زيت (%)	N (%)	P (%)
مقارنة	62.1	10.70	15.7	1.27	35.9	20.1	6.3	0.40
تربة + TCP	76.5	15.4	25.9	1.51	42.6	23.8	7.1	0.46
تربة + TCP + <i>A. niger</i>	97.5	18.9	31.6	1.79	43.8	25.3	7.6	0.53
تربة + TCP + <i>P. italicum</i>	89.7 9	16.7	33.5	1.63	43.9	24.9	7.4	0.4
تربة + TCP + <i>A. niger</i> <i>P. italicum</i>	112.5	21.9	35.9	2.0	46.5	26.3	7.9	0.57
المعدل	87.66	16.72	28.52	1.64	42.54	24.08	7.26	0.49

عن Iman و El-Azouni ، (2008) .

ونفذت تجربة اصص من قبل الحديثي والعزاوي ، (2014) لدراسة تأثير التداخل بين فطر المايكورايزا نوع (*G.mosseae*) وفطر الـ *Aspergillus niger* في جاهزية فسفور الصخر الفوسفاتي لنبات الحنطة في تربة كلسية ، وظهرت نتائج التجربة حصول زيادة معنوية في معدل ارتفاع النباتات والوزن الجاف للمجموع الخضري عند اضافة اللقاح الحيوي بصورة منفردة او مجتمعة وأعطت اعلى القيم في مدة النمو الأولى (مرحلة التفرعات) عند اضافة اللقاح الحيوي بشكل متداخل (*G.mosseae* و *Aspergillus niger*) كما ان اضافة اللقاح الحيوي الفطري بصورة منفردة او مزدوجة ادت الى زيادة معنوية في تركيز عنصر الفسفور في المجموع الخضري ،

و أعطت اعلى القيم في مدة النمو الاولى عند اضافة اللقاح الحيوي المزدوج ، وان نسبة الاصابة في جذور نباتات الحنطة ازدادت معنويا في حالة تواجد الاحياء الفطرية مع بعض (*G.mosseae* و *Aspergillus niger*) مقارنة باضافة المايكورايزا لوحدها .

2- عزل الفطريات المذيبة للفسفور

طريقة العمل

1- خذ 10 غم من عينة الترب الماخوذة من منطقة الرايزوسفير (تربة وجذور النبات) ثم انقلها الى دورق زجاجي يحتوي على 90 مل من الماء المقطر المعقم ومزجها جيدا وذلك برج الدورق لمدة 5 دقائق .

2- اعمل سلسلة من التخفيف لعالق التربة والماء مستعملا الماء المقطر المعقم وذلك باخذ 10 مل من العالق وانقلها الى دورق زجاجي معقم يحتوي على 90 مل من الماء المقطر المعقم سوف تحصل على تخفيف قدرة 10^{-2} كرر العملية الى 10^{-6} .

3- اصف 0.1 مل من كل تخفيف الى اطباق بتري معقمة وبثلاث مكررات لكل تخفيف .

4- صب الوسط الغذائي الصلب المعقم (وسط البطاطا والدكستروز -اكار P.D.A potato dextrose agar) جدول (7-15) .

5- حضن الاطباق على درجة 28 م⁰ ولمدة 5 إلى 7 أيام .

6- افحص الأطباق بملاحظة النمو الفطري ليتم تشخيصه على سطح الوسط الزراعي .

7- اجري اختبار للعزلات الفطرية النقية لمعرفة قابليتها على اذابة الفوسفور على

الوسط (Pikovskaya PVK (جدول 7-10) والتي تم التعرف عليها من

خلال وجود الهالة الشفافة الرائقة حول مستعمرة الفطريات بعد خمسة ايام من

الحضن .

**جدول 7-15 : وسط البطاطا والدكستروز مع الاجار (PDA) (Potato)
 . (Dextrose Agar**

المادة	الكمية (غم . لتر ⁻¹)
Potato infusion	200 مل
Glucose	20
Agar	15
H ₂ O	800 مل

- يحمض الوسط الى (pH) يتراوح ما بين (3.5-4.0) باستخدام محلول حامض التارتاريك (10%) المعقم مباشرة قبل الاستعمال .

الفصل الثامن

بكتريا السليكات

مقدمة

البوتاسيوم من العناصر الضرورية الثلاث المطلوبة من قبل النباتات. فهو يشارك في العديد من العمليات الكيميائية الحيوية والفسولوجية في النباتات فهو ضروري لانتقال السكريات ولتكوين النشا ويعتبر ضروريا لخلق وفتح الثغور من قبل الخلايا الحارسة ويساعد على تشجيع نمو الجذور ويزيد من مقاومة النبات للأمراض وتكوين اوعية خشبية واسعة ،اضافة الى انه يساهم في انتاج الثمار والحبوب وينشط فعل الانزيمات المختلفة ويلعب دورا رئيسيا في نقل المياه والعناصر الغذائية للنبات من خلال الخشب. يوجد البوتاسيوم في عدة أشكال في التربة تختلف في درجة جاهزيتها للنبات وهي :

1- معادن حاملة للبوتاسيوم Unavailable

2- بوتاسيوم مثبت غير متبادل (fixed)

3- بوتاسيوم متبادل

4- البوتاسيوم المذاب (K^+ ions)

البوتاسيوم غير جاهز unavailable (الفلدسبار ، المايكا ، وغيرها) 98- 99 % من البوتاسيوم الكلي

جاهز ببطيء (مثبت غير متبادل)
1-10 % من البوتاسيوم الكلي

البوتاسيوم الجاهز بسهولة 1- 2 % من
البوتاسيوم الكلي (90% قابل للتبادل
و 10% الذائب في محلول التربة)

البوتاسيوم غير المتبادل $\longleftrightarrow$ البوتاسيوم المتبادل $\longleftrightarrow$ البوتاسيوم الذائب في محلول التربة

ويعد كل من البوتاسيوم الذائب والمتبادل عالية الصلاحية للنبات ، بينما البوتاسيوم المثبت محدود ومنخفض الصلاحية لامتصاص النباتات ، اما البوتاسيوم الموجود في المعادن فيعد قليل الصلاحية حيث يتحول الى بوتاسيوم ذائب بمعدل بطيء جدا . ومن المعادن الحاوية على البوتاسيوم هي الفلدسبارات مثل الاورثوكلاز $KAlSi_3O_8$ (4- K_2O % 15) ، الميكاسكوفيت $K(Si_2AP)_4 AP_2O_{10}(OH)_2$ (7 - 11 % K_2O) والميكابيونيت $K(Si_2AL)_4 (Mg_2Fe)_3 O_{10}(OH)_2$ (6 - 10 % K_2O) وبفعل عوامل التجوية الكيميائية تتكسر وتنحل هذه المعادن وينطلق البوتاسيوم الى محلول التربة في صورة جاهزة للنبات ، وترتب هذه المعادن حسب قابليتها للتجوية : الفلدسبارات > الميكاسكوفيت > الميكابيونيت .

تختلف التربة فيما بينها في قدرتها على تثبيت البوتاسيوم ، حيث ان التربة الطينية تمتاز بزيادة قدرتها على تثبيت البوتاسيوم ، اما التربة الرملية فتمتاز بضعف قدرتها على التثبيت ، وتختلف ايضا معادن الطين في قدرتها على التثبيت حيث ان معادن الكاؤولينايت لا تثبت البوتاسيوم ، بينما معادن الفيرميكوليت والمنتوريلليت والايليت تثبت البوتاسيوم بكميات كبيرة (المنتوريلليت > الايليت > الفيرميكوليت) وان معادن الفيرميكوليت والايليت تثبت البوتاسيوم في التربة الرطبة والجافة ، بينما يثبت معدن المنتوريلليت البوتاسيوم تحت ظروف الجفاف فقط .

منذ اوائل العشرينات ركزت دراسات الباحثين في روسيا على دور الاحياء المجهرية في تيسير كل من البوتاسيوم ، السليكون والالمنيوم وبينت تلك الدراسات من ان هناك نوعا من الميكروبات اطلق عليه اسم بكتريا السليكات له القدرة على تحرير البوتاسيوم من الصورة الغير جاهزة الى صورة جاهزة للامتصاص من قبل النبات وانتجت هذه البكتريا بصورة مخصب حيوي سمي بالسليكوبكتريا حيث يحلل هذا المخصب المعادن السليكاتية وتيسير البوتاسيوم بصورة جاهزة للنبات . وقد وجد ان الاحياء المجهرية المذيبة للبوتاسيوم تلعب دورا حيويا في معدنة البوتاسيوم من الأشكال

غير القابلة للذوبان مثل الميكا، fedspar وغيرها من خلال إنتاج الأحماض العضوية، siderophores وأيضا السكريات المتعددة .

الاحياء المحللة للسليكات

اوضح Muentz أول دليل على الاشتراك الميكروبي في اذابة الصخور البوتاسية (Muentz، 1890). ان الاحياء المحللة للبوتاسيوم منها ذاتية التغذية مثل *Nitrobacter uniagradskyi*, *Nitrosospira breinsis* , *Thiobacillus thioparus* , *Thiobacillus thiooxidans* , *Thiobacillus sp* ومنها متباينة التغذية مثل *Aspergillus niger* , *Cephalosporium sp* , *Fusarium sp* , *Penicillium notatum* , *Penicillium glaucum* , *Pencillium brevicaulis* , *Pencillium expansum* , *Pencillium simplicissimum* , *Scopulariopsis brevicaulis* , *Trichoderma lignorum* , *Bacillus circulans* , *Bacillus subtilis* , *Mycobacterium sp* , *Proteus mirabilis* , *Pseudomonas sp* , *Enterobacter sp* ، فقد وجد ان الاحياء المجهرية مثل *Clostridium* و *Bacillus extroquens*, *Aspergillus niger* و *pasteurianum* تنمو على muscovite, biotite, orthoclase microcline والمايكا في المختبر (Archana وآخرون، 2013). وان الأنواع البكتيرية المختلفة مثل بكتريا السيليكات تذيب سليكات البوتاسيوم والألمنيوم من المعادن غير القابلة للذوبان (الجدول 8-1).

ان البكتريا المذيبة للسليكات (SSB) Silicate Solubilizing Bacteria يمكن أن تلعب دورا فعالا في التربة عن طريق اذابة أشكال غير قابلة للذوبان من السيليكات وبالإضافة إلى ذلك فان بعض من SSB يمكن أيضا اذابة البوتاسيوم والفوسفات، وبالتالي زيادة خصوبة التربة وتحسين آليات الدفاع النباتية حيث تم عزل 111 سلالة بكتيرية من مواقع مختلفة من باكستان واختبرت قابليتها لذوبان السيليكات

والفوسفات والبوتاسيوم على اوساط مختارة ، وقد تبين ان 35 عزلات بكتيرية قادرة على اذابة كل من السيليكات، الفوسفات أو البوتاسيوم ، و 29 عزلة قادرة على اذابة سليكات المغنيسيوم الثلاثية و28 عزلة قادرة على اذابة الفوسفات و12 عزلة قادرة على اذابة البوتاسيوم ومن بين هذه العزلات البكتيرية 7 عزلات كانت قادرة على اذابة جميع المعادن الثلاثة التي اختبرت . وقد لوحظ ان العزلة NR-2 سجلت أعلى اذابة للسيليكات (قطر المنطقة 54 ملم) وللـفوسفات (قطر المنطقة 55 ملم) في حين لوحظ أن أعلى اذابة للبوتاسيوم (قطر المنطقة 11 ملم) كان بواسطة العزلة NE-4b (Zakira Naureen وآخرون، 2015) . أن شدة تحلل معادن السيليكات بواسطة البكتريا تعتمد على بنية والتركيب الكيميائي للمعادن ، فقد وجد ان بكتريا *B. mucilaginosus* ادت الى زيادة كبيرة في تحرير K^+ من الميكا كمصدر وحيد K ويكاد لا يوجد تحرير لـ K^+ من الفلسبار وعزى السبب الى الاختلاف في تركيب هذين المعدنين (Wuxing Liu وآخرون ، 2006).

جدول 8-1: ملخص الدراسات حول الاحياء المذيبة للبوتاسيوم (مأخوذ من Arti Shanware وآخرون ، 2014) .

المصدر	الدراسة
Raj ، (2004)	عزل بكتريا <i>Bacillus sp</i> كبتريا مذيبة للسليكات من النظام البيئي لنبات الرز في وسط يحتوي على 0.25 من <i>magnesium tri silicate</i> غير قابلة للذوبان.
Mikhailouskaya ، (2005)	عزل بكتريا مذيبة للبوتاسيوم من جذور محاصيل الحبوب بواسطة استعمال معادن خاصة حاملة للبوتاسيوم .
Bardar ، (2006)	اشار الى ان بكتريا قادرة على اذابة معادن السليكات من عينات الفلدسبار .
Hua ، (2006)	اشار الى ان سلالات المذيبة للبوتاسيوم من التربة على وسط Aleksandrov اذابت البوتاسيوم المعدني بشكل فعال .
Zhou ، (2006)	عزل بكتريا الـ <i>B. mucilaginosus</i> تذيب السليكون من اللايت عند درجة 30 م ⁰
Sugumaran ، (2007)	عزل البكتريا المذيبة للبوتاسيوم من <i>Orthoclase</i> ، <i>muscovite mica</i> ومن بين العزلات بكتريا <i>B.mucilaginosus</i> الاكثر اذابة للبوتاسيوم بواسطة انتاج <i>slime</i> من <i>muscovite mica</i> .
Prajapati ، (2012)	عزل اربعة عشر من الكائنات الدقيقة المذيبة للبوتاسيوم من تربة السيراميك الصناعي ، ومن بين هذه العزلات تم التعرف على افضل سلالة بكتيرية مذيبة للبوتاسيوم وهي <i>Enterobacter hormaeche</i> . كما تميزت الفطريات المذيبة للبوتاسيوم كفطر <i>Aspergillus terreus</i> و <i>Aspergillus niger</i> على اساس مستعمراتها وصفاتها المورفولوجية .
Bagyalakshmi ، (2012)	اجريت دراسة في المختبر لتقييم نشاط اذابة البوتاسيوم بواسطة سلالات محلية من <i>Bacillus sp.</i> ، <i>Burkholderia sp</i> و <i>Pseudomonas sp</i> لدرجات حرارة مختلفة ومصدر كربون مختلفة مثل الكلوكوز والفركتوز والسكروز والنشا ، ووجد ان افضل مصدر للكربون لاذابة <i>muriate</i> البوتاسيوم هو الكلوكوز عند درجة حرارة 35 م ⁰ .
Sangeeth ، (2012)	عزل <i>Paenibacillus glucanolyticus</i> واعدها بكتريا مذيبة للبوتاسيوم من رايزوسفير الفلفل الاسود .
Diep ، (2013)	عزل خمسة وعشرون سلالة على وسط Aleksandrov من عينة تربة ، كتل ضخيرة فوجد سبعة سلالات من <i>Bacillus megaterium</i> و <i>Bacillus coagulans</i> .
Gundala ، (2013)	عزل انواع من <i>Bacillus</i> من مناجم المايكا في مقاطعة نيلور بولاية أندرا براديش ، الهند . واطهر تسلسل 16S rDNA ان 99% تشابه <i>Bacillus sp19</i> والاقرب هي <i>Bacillus amyloliquifaciens</i> .
Archana ، (2013)	عزل بكتريا مذيبة للبوتاسيوم من رايزوسفير محاصيل مختلفة ، اختبرت 30 عزلة بكتيرية لاذابة البوتاسيوم ، وكانت 26 عزلة عصوية موجبة لكرام تنتمي الى جنس <i>Bacillus</i> واربعة عصوية سالبة لكرام تنتمي الى جنس <i>Pseudomonas</i> ، ثلاث عزلات وهي KSB 11 ، KSB 62 و KSB 42 اظهرت قابلية عالية من بين عزلات KSB ، وكانت كمية البوتاسيوم المحررة تراوحت بين 2.41- 44.49 مايكروغرام / لتر .

آلية عمل بكتريا السليكات

اختلفت آراء الباحثين في تفسير آلية عمل بكتريا السليكات ، ولكننا نستطيع ان نحصر الآراء في الآتي :

1- من الآراء تقول ان الذي يلعب دور في تيسير البوتاسيوم هي الكبسولة التي تحيط بالخلايا البكتيرية ، فقد وجد ان هناك كميات كبيرة من السيليكون والالمنيوم الذائبة متراكمة في الكبسولة اثناء عملية تجوية معدن Aluminosilicate وان الكبسولة اللزجة هي من نوع Rolysacchorides الحاوية على احماض اليورنيك ومجاميع الفينول والكربوكسيل، فقد أظهرت الدراسات أن البوتاسيوم يذاب نتيجة لإنتاج كبسولات صمغية تحتوي على exopolysaccharides بواسطة بكتريا *Bacillus, Clostridium* و *Thiobacillus*.

2- الرأي الآخر يرى ان الاحماض العضوية التي تفرزها بكتريا السليكات تعمل على التجوية ومن هذه الاحماض 2-hetogluconic acid ، حامض السترك citiric acid ، وحامض الأوكساليك oxalic acid و التارتاريك tartaric acid، فقد اوضح Joseph وآخرون (2015) انه يمكن للعزلات البكتيرية من إذابة المعادن غير القابلة للذوبان مثل السليكات والفوسفات والبوتاس الى شكل قابل للذوبان بواسطة إنتاج الأحماض العضوية مثل 2- keto-gluconic acid والقلويات والسكريات المتعددة ، ووجد ان البكتريا تسرع من اذابة السليكات من خلال انتاج البروتون الزائد excess proton ، organic ligands ، extra cellular polysaccharides (EPS)، hydroxyl anion والانزيمات، ولوحظ أن البكتريا *B. mucilaginosus* قادرة على اذابة صخور البوتاسيوم المعدنية مثل الميكا، الإليت illite و orthoclases من خلال إنتاج وإفراز الأحماض العضوية .

و أظهرت الدراسات السابقة ان المركبات العضوية التي تنتجها الاحياء المجهرية مثل الخلات، السترات والأوكسالات يمكن أن تزيد من إذابة المعادن في التربة ، وان إذابة البوتاسيوم تحدث بواسطة تشكيل معقد بين الأحماض العضوية وايونات المعادن مثل الـ Fe^{+2} , Al^{+3} و Ca^{+2} ، وإنتاج السكريات المتعددة مع إنتاج الأحماض العضوية مثل التارتاريك tartaric وحامض الأوكساليك oxalic acid من قبل الاحياء المجهرية يؤدي إلى اذابة الفلسبار والإليت illite لتحرير البوتاسيوم ،وكذلك فان بعض بكتريا السيليكات لها القدرة على افراز بعض الاحماض المعدنية مثل حامض النتريك والكبريتيك وكذلك حامض الهيومك الذي يفرز من هذه البكتريا اثناء عملية تحليل البقايا النباتية يمكن ان تلعب دورا مهما في عملية التجوية ، فقد وجد ان بعد تحليل المادة العضوية تنتج احماض مثل حامض الستريك citric acid ، حامض الفورميك formic acid، حامض المالك ماليك malic acid وحامض الأوكساليك oxalic acid هذه الأحماض العضوية المنتجة تعزز انحلال مركبات البوتاسيوم من خلال تزويد البروتونات وبواسطة ايونات Ca^{+2} .

ان قدرة البكتريا على التجوية تتضمن إنتاج البروتونات، واحماض عضوية ، siderophores و organic ligands ، وهذا وجد في *Cladosporoides*, *Pencillium sp* و *Cladosporium* هذه الأنواع الفطرية المعزولة لديها القدرة على إنتاج كميات كبيرة من حامض الأوكساليك، الستريك وحامض الكلوكونك gluconic acids في المزارع السائلة التي تؤدي إلى تلف سيليكات الطين، والميكا والفلسبار ، واستنتج أن الفطريات الخيطية قادرة على تجوية الاحجار بسبب إفراز حامض عضوي ، و إنتاج gluconate يعزز انحلال السيليكات مثل albite والكوارتز وkoalinite عن طريق البكتريا الموجودة تحت سطح الأرض. وفي دراسة اشار Hu واخرون ، (2006) الى ان إنتاج الأحماض العضوية ، وفترة النمو وتحرير البوتاسيوم اختبر بواسطة سلالة *B. edaphicus* وطاقتها ووجد ان إنتاج حامض

الأوكساليك تسبب في انحلال feldspar بينما حامض الأوكساليك وحامض tartric acid يشاركون في حركة الإليت illite .

3- ويرى البعض ان بكتريا السيليكات تقوم بعملية التجوية للحصول على الطاقة .

تأثير بكتريا السيليكات على نمو النبات

في ظل التسميد غير المتوازن، وقلة اضافة البوتاسيوم واستنزاف كبير لاحتياجات بوتاسيوم التربة، فان اللقاحات الميكروبية التي تكون قادرة على اذابة البوتاسيوم من المعادن والصخور لها تأثير على نمو النبات وذات فائدة اقتصادية و بيئية ، فان اضافة المخصبات الحيوية تعد تطبيق صديق للبيئة لاكمال المغذيات للنباتات ، حيث اشارت العديد من الدراسات الى نجاح استخدام بكتريا السيليكات كمخصبات حيوية ، فقد يؤدي التلقيح الى زيادة كمية المحصول وزيادة مقاومته للأمراض ، فهو يعزز نمو النبات ، الاحياء المجهرية، مثبتات النتروجين، ومحررات الفوسفات والمذيبات مثل *Azotobacter sp* و *Rhizobium* المعروفة كمثبتات للنتروجين في حين *B.megaterium, Aspergillus sp* هي مساعدات لانحلال الفوسفات، حيث اجريت دراسة حول امكانية تلقيح بكتريا السيليكات *Bacillus circulans* مع مثبتات النتروجين التكافلية واللاتكافلية وبكتريا *Pseudomonas mendocona* لمحصولي الفول والقمح وكانت النتائج ايجابية في وجود بكتريا السيليكات وبكتريا *A.chroococcum* وبكتريا *Ps.mendocina* لنبات القمح حيث سجلت اعلى حاصل للحبوب وحاصل القش وعند اضافة الـ Orthoclase (جدول 8-2) ومع *R.leguminosum* وبكتريا *Ps.mendocina* لنبات الفول حيث اعطت اعلى حاصل للحبوب وحاصل القش وعند اضافة الـ Orthoclase (جدول 8-3) ، وبهدف تحقيق النمو الامثل للنبات يتطلب كميات كافية من البوتاسيوم ، لذلك نحن بحاجة إلى استغلال أكثر وأكثر لحياء المجهرية التي لديها القدرة على اذابة البوتاسيوم والجدول (4-8) يلخص بعض دراسات تأثير اذابة البوتاسيوم على إنتاج المحاصيل .

وبين Sugumaran و Janarthanam (2007) ان كمية البوتاسيوم المتحررة من muscovite mica بواسطة بكتريا *Bacillus mucilaginosus* MCRCp1 بعد اربعة ايام من الحضان على درجة 28م⁰ كانت (4.29 ملغم / لتر) ومن معدن microcline (1.26 ملغم/لتر) ومن orthoclase (0.85 ملغم /لتر) وان الفسفور الجاهز ازداد من 6.24 الى 9.28 ملغم /كغم والبوتاسيوم الجاهز من 86.57 الى 99.60 ملغم/كغم في التربة عند التلقيح بالبكتريا مما ادى الى زيادة الوزن الجاف لنبات الفول السوداني بنسبة 125% ومحتوى الزيت بنسبة 35.41% عند التلقيح بالبكتريا .

واستعمل المخصب الحيوي (Si Sol B) Silica Biofertilizer الذي يحتوي على بكتريا *Bacillus spp* بهيئة مسحوق ($10^8 \times 1$ CFU / غم) معزولة من الكرانيت باعتباره لقاح تربة فعال فهو يعمل على حركة ايونات السليكا بشكل فعال الموجودة كمركبات السليكات غير قابلة للذوبان وجعلها جاهزة للنبات ، يقوي النبات ويجعله مقاوم للآفات والأمراض من خلال تقوية جدران الخلايا ، يساعد النبات في تحمل الاجهادات الحيوية وغير الحيوية ،اذابة السليكا الطبيعية ، يحسن صحة النبات والتربة ويساعد أيضا على زيادة عدد المجتمعات الميكروبية المفيدة في التربة وهو صديق لدودة الأرض والحيوانات الأليفة و صديق للبيئة. وخلاصة القول يمكن ان يعزي التأثير الايجابي لبكتريا السليكات على النباتات الى :

- 1- زيادة معدل امتصاص البوتاسيوم لانها تقوم بتحريره من الصور الغير جاهزة وجعله جاهز للامتصاص
- 2- زيادة معدل امتصاص عنصر النيتروجين و الفسفور .
- 3- انتاج منظمات النمو .
- 4- تحسين نمو المجموع الجذري للنبات وبالتالي يزيد من عملية امتصاص العناصر الغذائية الموجودة في التربة .

جدول 8-2: تأثير التلقيح بمجموعات مختلفة من *Bacillus circulans* ،
Pseudomonas mendocona و *Azotobacter chroococcum* على
 حاصل الحبوب وحاصل القش للنباتات النامية في تربة معدلة مع شكلين من
 البوتاسيوم .

حاصل القش (طن / فدان)			حاصل الحبوب (Aradab / فدان)			معاملات التلقيح
Orthoclase	K ₂ SO ₄	بدون اضاف K	Orthoclase	K ₂ SO ₄	بدون اضاف K	
2.4 cd	2.5 bc	2.3 f	9.0 i	9.0 i	7.7 j	<i>A.chroococcum</i>
2.9 a	2.9 a	2.5 bc	12.8 b	14.4 e	9.9 g	<i>B.circulans</i> + <i>A.chroococcum</i>
2.8 a	2.6 b	2.5 bc	12.1 b	10.2 f	9.7 h	<i>Ps.mendocina</i> + <i>A.chroococcum</i>
3.0 a	2.8 a	2.6 b	15.5 a	11.1 d	10.1 f	<i>B.circulans</i> + <i>Ps.mendocina</i> + <i>A.chroococcum</i>

جدول 8-3: تأثير التلقيح بمجموعات مختلفة من *Bacillus circulans* ،
Rhizobium leguminosarum و *Pseudomonas mendocona*
 على حاصل الحبوب وحاصل القش للنباتات النامية في تربة معدلة مع
 شكلين من البوتاسيوم .

حاصل القش (طن / فدان)			حاصل الحبوب (/Aradab) (فدان)			معاملات التلقيح
Orthocl- ase	K ₂ SO ₄	بدون اضاف K	Orthoc- lase	K ₂ SO ₄	بدون اضاف K	
2.58 i	2.91 gh	2.16 j	11.5 h	11.8 g	10.5 i	<i>R.leguminosarum</i>
3.71 b	3.17 d	2.93 fg	15.3 b	14.5 d	12.5 i	<i>B.circulans</i> + <i>R.leguminosarum</i>
3.64 c	3.04 e	2.89 h	15.3 b	14.3e	12.4 f	<i>Ps.mendocina</i> + <i>R.leguminosarum</i>
4.34 a	3.67 c	2.96 f	15.9 a	15.1 c	14.2 e	<i>B.circulans</i> + <i>Ps.mendocina</i> + <i>R.leguminosarum</i>

جدول 4-8 : ملخص الدراسات حول تأثير الاحياء المذيبة للبوتاسيوم على محاصيل مختلفة (مأخوذ من Arti Shanwar وآخرون ، 2014) .

المصدر	الدراسة	النتائج
Han (2006)،	امكانية تلقيح البكتريا المذيبة للفوسفات PSB <i>Bacillus megaterium phosphaticum</i> var. <i>Bacillus KSB</i> والبكتريا المذيبة للبوتاسيوم <i>mucilagenosus</i> وكمية غير كافية من المغذيات في تربة مزروعة بالفلل والخيار .	اظهرت النتائج ان التلقيح المشترك من PSB و KSB ادى الى ارتفاع مستمر بجاهزية الفسفور والبوتاسيوم مقارنة بعدم التلقيح وعدم اضافة الاسمدة الصخرية ، وكلا من السلالات البكتيرية ادت الى زيادة جاهزية وامتصاص المغذيات ونمو نبات الفلل والخيار .
Basak (2009)،	في هذه الدراسة ديناميكية تحرر البوتاسيوم من نفايات المايكا الملقحة بالاحياء المذيبة للبوتاسيوم (<i>Bacillus mucilagenosus</i>) وفعاليتها كاسمدة بوتاسية اختبرت على الحشيش السوداني .	وجد ارتباط معنوي بين الحاصل والكتلة الحيوية ، وان اكبر انحلال للمايكا كان عند تلقيح التربة بالـ <i>Bacillus mucilagenosus</i>
Sangeeth (2012)،	تم عزل بكتريا تمتلك قدرة عالية على اذابة البوتاسيوم من رايزوسفير الفلل الاسود وهي <i>Paenibacillus glucanolyticus</i> سلالة IISRBK2 . تم تقييم السلالة ايضا لنمو النبات وامتصاص البوتاسيوم من قبل الفلل الاسود في تربة معاملة صناعيا مع (0.5 ، 1 ، 1.5) غم K كغم ⁻¹ تربة ، وتم استخدام رماد الخشب كمصدر للبوتاسيوم الذي يحوي 53.1 غم. كغم ⁻¹ K .	وجد ان التلقيح بالسلالة <i>P. glucanolyticus</i> ادى الى زيادة كتلة الانسجة الجافة (تراوحت بين 37.0% - 68.3 %) من الفلل في 1 غم K كغم ⁻¹ رماد الخشب ، في التربة المعاملة بالـ 0.5 - 1.5 غم K كغم ⁻¹ فان تلقيح الفلل بالبكتريا ادى امتصاص البوتاسيوم بنسبة 125.0 - 184.0 % مقارنة بعدم التلقيح
El-Hadad (2011)	نفذت تجربة اصص في البيت البلاستيكي لتأثير nematocidal على بعض المخصبات الحيوية البكتيرية ومنها البكتريا المثبتة للنتروجين NFB (<i>Paenibacillus polymyxa</i>) ، البكتريا المذيبة للفوسفات PSB <i>B. megaterium</i> والبكتريا المذيبة للبوتاسيوم <i>B. circulans</i> KSB ، وكل على حدة تم تقييمها على نباتات الطماطة المصابة بالنيماتودا تعقد الجذور <i>Meloidogyne incognita</i> في تربة رملية .	اشارت النتائج ان هذه المخصبات البكتيرية كانت مفيدة في تزويد التربة بالمغذيات (لنتروجين والفسفور والبوتاسيوم) والمكافحة البيولوجية لـ <i>M. incognita</i>
Prajapati (2013)،	في تجربة اصص تم اختبار تحرير البوتاسيوم بواسطة سلالات بكتيرية <i>Enterobacter hormaechei</i> وفطرية <i>Aspergillus terreus</i> وتاهيرها في امتصاص المغذيات ونمو الباميا في تربة فقيرة بالبوتاسيوم .	وجد ان التلقيح بالسلالة البكتيرية <i>Enterobacter hormaechei</i> ادى الى زيادة نمو الجزء الخضري والجذري للباميا ، وان كلا النوعين من الاحياء تمكنت من تجميع البوتاسيوم بكفاءة في النبات عندما اضيف الفلدسبار الى التربة ، وزيادة محتوى البوتاسيوم في الباميا النامية في التربة المعاملة بالبوتاسيوم الغير قابل للذوبان مع التلقيح بالسلالة البكتيرية والفطرية
Tin (2013)،	في هذه الدراسة تم جمع سبعة سلالات مذيبة للفوسفات والبوتاسيوم ، وقد تبين ان السلالة Y اعطت اعلى تركيز للبوتاسيوم المذاب (8.45) جزء بالمليون .	من بين جميع المعاملات ، المعاملة T-4 (التي تضمنت، السماد العضوي + الجبس + Zeolite + Y السلالة) اعطت افضل حاصل كلي .

عزل الاحياء المجهرية المذيبة للمعادن الحاوية على البوتاسيوم

طريقة العمل

- 1- اعمل سلسلة من التخفيف المتسلسلة لعالق التربة والماء مستعملا الماء المقطر المعقم .
- 2- اضع 0.1 مل من كل تخفيف الى اطباق بتري معقمة وبثلاث مكررات لكل تخفيف .
- 3- صب الوسط الغذائي الصلب المعقم (وسط Aleksandrov) (جدول 5-8) .
- 4- تحضن الاطباق على درجة حرارة 28 ± 2 م⁰ لمدة ثلاثة ايام .
- 5- افحص الاطباق بملاحظة مناطق واضحة ويمكن حساب قطر منطقة الاذابة بواسطة معادلة Khandeparkar's التالية (Prajapati, 2012) .
النسبة = قطر الازالة / قطر النمو

$$\text{Ratio} = \text{Diameter of zone of clearance} / \text{Diameter of growth}$$

جدول 5-8 : وسط Aleksandrov

المادة	%
Glucose	1
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.05
FeCl ₃	0.0005
CaCO ₃	0.01
CaPO ₄	0.2
potassium aluminium silicate (عادة mica)	0.5
Agar	3

يضبط الوسط على pH = 6.5

الفصل التاسع

فطريات المايكورايزا

تقنيات المايكورايزا في تحسين النمو والحالة التغذوية في النباتات الراقية

مقدمة

فطريات المايكورايزا هي فطريات من نوع Soil born ، تعيش وتولد وتنمو وتنشا وتتكاثر في التربة ، بدأ تاريخ المايكورايزا منذ عام 1885 حيث قدم العالم الالماني ألبرت برنارد فرانك (Albert Bernard Frank) (1885، Frank)، في دراسته حول علاقات التربة الميكروبية - النبات مصطلح يوناني 'mycorrhiza' والذي يعني حرفيا "جذور الفطريات، اي تتكون من مقطعين Myco وتعني فطر و rhiza وتعني جذر، ولهذا يعد هذا العالم أول من استعمل مصطلح المايكورايزا (Mycorrhizae) لوصف العلاقة التعايشية التبادلية غير المرضية بين هذه الفطريات وجذور نباتات من العائلة البلوطية Cupuliferace، ولكنها اهملت دراستها من قبل العلماء لاسباب عديدة منها :

1- ان الاصابة infection بفطريات المايكورايزا لا تترك تأثيرا واضحا على العائل المصاب ،وهو شقين :

أ- لا تترك تأثير سلبي مرضي على النبات المصاب بعد الاصابة اذا اعتبرت

الاصابة على شكل تأثير سلبي (مرضي) Pathogene .

ب- لا يمكن الكشف على النبات المصاب infected plant ما لم تصبغ المجموعة الجذرية للكشف على هذه الفطريات داخل الخلايا البينية للعائل النباتي .

2- الاستجابة للاصابة respon for infection : ان الاصابة بالمايكورايزا تحدث استجابة بالنمو وهذا يتطلب وجود مقارنة control حيث تكون الاستجابة ضعيفة

في المنطقة الخالية من المايكورايزا ، هذه الامور جعلت الباحثين يعزفون عن دراسة المايكورايزا ، اذ لا يوجد نبات Control مع المنطقة المصابة للمقارنة .

في انكلترا عام 1968 لاحظ احد الباحثين شيئين مهمين في نبات معين حيث كانت المنطقة مزهرة بنموه وانتاجه وهو الـ legumes ، وفي مكان اخر بنفس المنطقة وجد هذا النبات ينمو نموا ضعيفا محدودا ، في البداية لجأوا الى تحليل التربة ولم يجدوا اي اختلاف معنوي يؤثر على النمو حيث كانت التحاليل والنتائج متجانسة بدرجة 80% ، ثم لجأوا الى تحليل النبات ، ووجدوا ان اغلب العناصر الغذائية في الغالبية متقاربة ، الا في حالة عنصر واحد وهو الفسفور ، حيث وجد ان هذا النباتات يحتوي على معدل ممتص من الفسفور يفوق 10 - 15% مما موجود في الموقع الاخر . ومن هنا بدأ التساؤل اذا كانت صفات التربة والفسفور الكلي متجانسة تماما ، فمن اين حصل النبات على معدل امتصاص عالي ؟ بدأت الدراسات ، ولم يظهر الا فرق واحد ، وهو ان المنطقة ذات النمو الكثيف والجيد مجموعها الجذري مصاب بمجموعة من فطريات المايكورايزا ، وعندما لجأوا الى المنطقة الاخرى وجدوا ان الجذور النباتية لا تحتوي على فطريات المايكورايزا ، ومن هنا نشأ مصطلحين :

أ- النباتات التي تحصل لها اصابة بفطريات المايكورايزا سواء بصورة متعددة او ضعيفة تسمى Mycorrhizal plants ، اي كل نبات يصاب بالمايكورايزا يسمى نبات مايكورايزي .

ب- كل نبات او عائل نباتي لا يقبل الاصابة بسبب امر طبيعي او معوق يسمى نبات غير مايكورايزي، او غير قابل للاصابة ويعرف بالـ Non mycorrhizal plant .

المايكورايزا هي شكل من اشكال العلاقات التعايشية تبادل المنفعة (mutualism) بين جذور النباتات ، وتتشكل هذه العلاقات بطريقة مشابهة لتلك التي تكونها بكتريا العقد الجذرية في البقوليات. وهي علاقات مفيدة وغير مرضية وقد نالت المزيد من

الاهتمام للفوائد البيئية والفسلجية الكبيرة التي تقدمها للنباتات المصابة بها ولدورها المهم والايجابي في تغذية النبات من خلال تحسين امتصاص معظم المغذيات الكبرى والصغرى من قبل العائل النباتي ، فضلا عن ان النباتات المصابة بها تكون اكبر حجما وفضل نموا وانتاجا من النباتات غير المصابة بها وبالمقابل فان فطريات المايكورايزا تعتمد على اخذ مصدر للطاقة من العائل النباتي ، حيث ان النباتات تعطي الكربوهيدرات للمايكورايزا، فقد بينت تقنية استعمال C^{14} ان المايكورايزا تاخذ الكربوهيدرات من النبات بصيغة Hexose وحال وصول الـ Hexose الى Apoplast يمتصه الفطر عن طريق بروتينات نقل متخصصة وان هذا الانتقال لا يحتاج الى طاقة Passive (Siddiqui وآخرون ، 2008) . ان من مميزات هذه الفطريات انها لا تترك اثارا واضحة المعالم عند حدوث الاصابة في العائل ، الامر الذي ادى الى تاخر اكتشاف هذه الفطريات واهميتها في تغذية النبات حيث ان الاصابة لا يمكن الكشف عنها بالعين المجردة ما لم تصبغ القطع الجذرية حسب طريقة Phillips و Hayman (1970) .

المايكورايزا واسعة الانتشار في مختلف البيئات الزراعية فهي جزء لا يتجزأ من النظام البيئي الزراعي ، اذ وجدت بصورة طبيعية في معظم العوائل النباتية حيث ان اكثر من 90% من النباتات يمكن ان تصاب بها من ضمنها النباتات الملحية والصحراوية ويستثنى من ذلك العائلة الصليبية ، ففي دراسة شملت عشرين موقعا من مواقع الانظمة الخضرية الطبيعية موزعة حسب محافظات دهوك ونيوى واربيل وكركوك والسليمانية وجد الحمودي (1989) ان الغالبية الساحقة (96.9%) من انواع النباتات الطبيعية مصابة بالمايكورايزا الحويصلية الشجرية ، وان الانواع الخالية منها تنحصر في عدد قليل من الانواع العائدة لعائلي القرنفلية Caryophyllaceaea والصليبية Cruciferae . وفي مسح للانواع النباتية وجد ان

3617 نوعا نباتيا يعود الى 263 عائلة فان 92 % من العوائل النباتية تصاب على الاقل بنوع واحد من المايكورايزا (Wang و Qiu ، 2006).

ان فطريات المايكورايزا تلعب دورا حاسما في امتصاص المغذيات النباتية، العلاقات المائية، إنشاء النظام الإيكولوجي، التنوع النباتي، وإنتاجية النباتات المزروعة ، حيث تنطوي البحوث العلمية في هذا المجال على اتباع نهج متعدد التخصصات لفهم تأقلم فطريات المايكورايزا على الرايزوسفير.

انواع فطريات المايكورايزا

صنفت سبعة انواع من المايكورايزا وهي (ectendo-، ecto ، arbuscular) ، arbutoid ، monotropoid ، ericoid و orchidaceous mycorrhizae) ، وان المايكورايزا الشجرية arbuscular mycorrhizae و المايكورايزا الخارجية ectomycorrhizae هي الأكثر توافرا وعلى نطاق واسع . والجدول (9-1) يبين الفئات الرئيسية لفطريات المايكورايزا وصفاتها.

تقسم فطريات المايكورايزا حسب تقسيم (Marx, 1976) الى ثلاثة أنواع رئيسية هي :

1. المايكورايزا الخارجية Ectomycorrhizae (ECM)

هذا النوع يحصل بين الشجيرات والاشجار كاليوكالبتوس والبلوط والصنوبر ومعظم افرادها يعود الى قسم الفطريات البازيدية (Basidiomycota) وقليل منها يعود الى قسم الفطريات الكيسية (Ascomycota) وهي تنتشر على نطاق واسع ولكن تكون علاقة تكافلية اختيارية مع (3%) من انواع العوائل النباتية . تكون هذه الفطريات غلافا فطريا سميكاً حول الجذر يدعى Sheath او Mantle دون ان تخترق مايسليوم الفطر الخلايا الحية للجذر. وذكر Comandini وآخرون، (2006) ان هذه الفطريات تنمو بين خلايا قشرة الجذر مكونة نظاما معقدا يسمى Hartig-net وان طبقة الغلاف

وشبكة Hartig تكون 25% من وزن جذور الصنوبر و40% من وزن جذور الزان ، وهي تعمل على اذابة الفوسفات الثلاثي او الفوسفات الصخري ليكون جاهزا للنبات .

2- المايكورايزا الداخلية Endomycorrhizae

وهي الفطريات الحويصلية الشجيرية التي تنتمي إلى شعبة الـ Glomeromycota وللعائلة Endogonaceae وللرتبة Mucorales ضمن صنف الفطريات اللقاحية Zygomycetes ، وهذا النوع يتميز به نوعين من الهيافات : أ- الهيافات المقسمة Splet ب- الهيافات غير المقسمة Non splet ، وهذه الفطريات يمكنها اقامة علاقة تكافلية مع حوالي 200000 نوعا نباتيا او 80-90% من فراد المملكة النباتية . وتتميز بعدم تكوينها غلاف فطري خارجي ولكنها تخترق انسجة قشرة الجذر مكونة تراكيب متفرعة داخل خلايا الجذر تعرف بالشجيرات (Arbuscules) وبذلك تعرف بالمايكورايزا الشجيرية (AM) (Arbuscular mycorrhizae) وفي بعض الحالات تتكون تراكيب اخرى تعرف بالحويصلات (Vesicles) والتي يعتقد بان لها علاقة بخزن المركبات الفسفورية وكذلك اعضاء للتكاثر وفي هذه الحالة تسمى بالمايكورايزا الشجيرية- الحويصلية (VAM) (Vesicular Arbuscular Mycorrhizae) .

ومن اكثر انواع المايكورايزا انتشارا واهمية من الناحية البيئية والفسلجية والاقتصادية هي فطريات المايكورايزا الداخلية (VAM) وذلك لكونها تصيب أغلب المحاصيل الاقتصادية مثل الحنطة , الشعير , الذرة , القطن ومحاصيل الخضر , فهي تصيب المجاميع النباتية العارية البذور Gymnosperium والمغطاة Angiosperium ، وتتواجد ضمن مدى بيئي واسع حيث توجد مع النباتات النامية في القطب الشمالي والمناطق الاستوائية ، اضافة الى قدرتها على النمو في البيئات المائية والصحراوية (Orcutt و Nilsen ، 2000) . ومن اهم محددات انتشارها في المجال التصنيعي الواسع هو أنعدام مقدرتها على النمو في الاوساط الصناعية لكونها اجبارية

التغذية obligate biotrophs على المادة الحية ,أي انها من نوع Heterotrophic لذلك لا يمكن ان تنمو في غياب العائل النباتي ، مما يحدد من امكانية انتاج كميات واسعة او كبيرة من اللقاح للانتاج الصناعي ، الا ان الباحثين لم يقفوا مكتوفي الايدي حيال هذا الامر ، فقد استطاع كل من مجموعة الدارسين في استراليا CSARO من ان تلجا الى البحث عن طرق اضافة مختلفة، وكذلك مجموعة نيوزلندية استطاعت ان تطور بعض التقنيات لانتاج Mass production من اللقاحات وبطرق تقنية استخدمت بها الالات الزراعية ، ودراسات Hildebrandt وآخرون، (2006) اشارت الى ان بعض اجناس المايكورايزية الداخلية باستطاعتها ان تنمو مختبريا In vitro حتى مرحلة انتاج الابواغ من دون جذور العائل النباتي وبوجود بعض سلالات البكتريا المتعايشة البوغ (Spore associated bacteria).

تحت هذا النوع من المايكورايزا يمكن ان نميز الاجناس المهمة التالية :

1- الجنس الاول : *Glomus*

2- الجنس الثاني : *Acaulospora*

3- الجنس الثالث : *Sclerocystis*

4- الجنس الرابع : *Gigaspora*

وهذه الاجناس احتوت في البداية في عام 1968 على (21) نوع ، ثم اكتشفت عام 1970 انواع اخرى حيث تم اضافة (12) نوع اخر من قبل Mosse و Gerdeman وفي عام 1984 تم اضافة (30) نوع اخر . اما Read و Smith ، (2008) فقد بينوا ان فطر المايكورايزا يشمل 150 جنس أهمها *Glomus* , *Gigaspora* , *Acaulospora* , *Sclerocystis*, *Entrophospora* ويعد الجنس *Glomus* اهمها واكثرها انتشارا ويعود اليه مجموعة من الانواع منها (*G.traradices* ,

(*G.fasciculatum* , *G.etunicatum* , *G.leptoticum*, ,*G.mosseae*)
والجدول (2-9) يوضح التصنيف الحديث لفطريات المايكورايزا الداخلية الشجيرية .
اما الاجناس الاكثر سيادة في العراق فقد بين البهادلي ، (1994) في المسح الحقلية
الذي اجراه على اجزاء من المنطقة الوسطى منه ان هناك جنسين من فطريات
المايكورايزا وكان اكثرها سيادة جنس *Glomus* حيث بلغت نسبة استيطانه 100% في
اللوبياء والباميا والقطن ، بينما لم يعثر عليه في محاصيل اخرى كالباذنجان والبربين
والخروع ، وان الجنس الاخر هو *Gigaspora* الذي وجد على كل من الكجرات
واللوبيا بنسبة 30 % و اشار الباحث الى ان انتشار نوع معين من المايكورايزا يعتمد
على الظروف البيئية وظروف التربة وان الجنس (*Glomus*) يسود في الترب
العراقية بسبب ملائمتها له من حيث الـ (pH) القاعدي وظروف الحرارة العالية .

3- المايكورايزا الخارجية الداخلية (Ectoendomycorrhiza)

تتميز هذه الفطريات بانها تمتلك خصائص كل من المايكورايزا الخارجية ECM
و الداخلية AM فهي تكون غلاف فطري خارجي وتخرق أنسجة قشرة الجذر الداخلية
حيث تتصف هذه الفطريات بتكوينها الـ Hartig net في قشرة الجذر وقد يظهر
الغلاف Sheath ضعيفا او لا يظهر فضلا عن اختراقه يكون داخل خلايا القشرة فهو
يشابه نوع الـ arbutoid . و يمكن ان تتكون مع جذور العديد من أنواع المغطاة البذور
وعاريات البذور . وتشمل اعضاء من فطريات Ascomycota , Basidiomycota
او Zygomycota . والشكل (1-9) يوضح مقارنة بين المايكورايزا الداخلية
والخارجية .

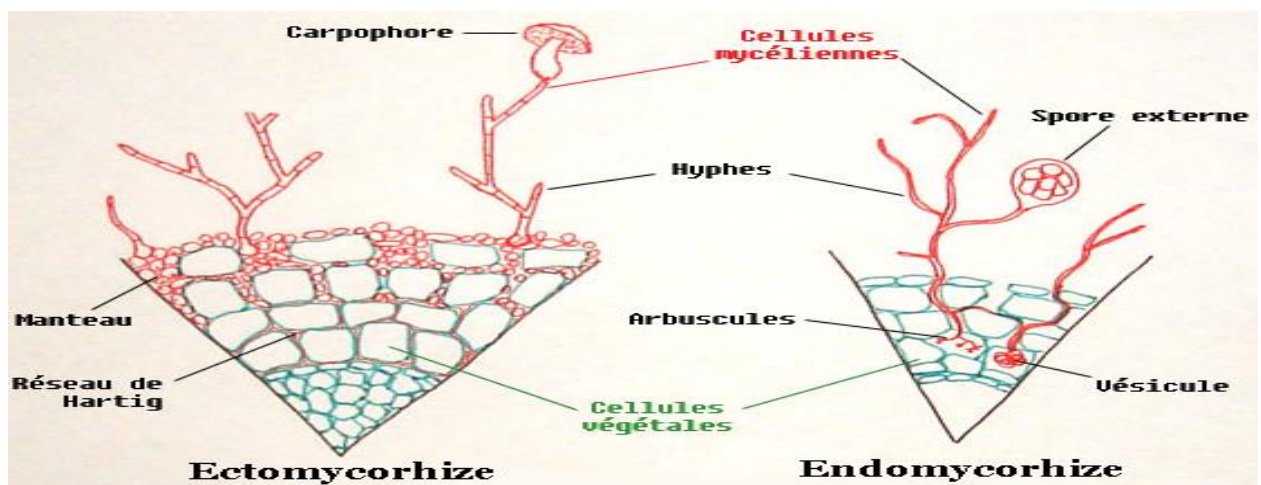
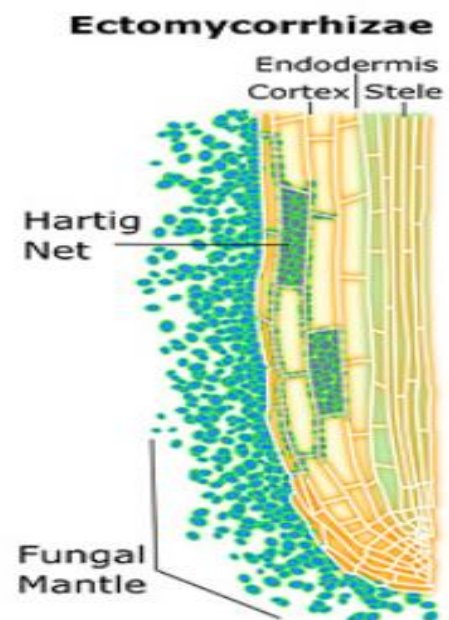
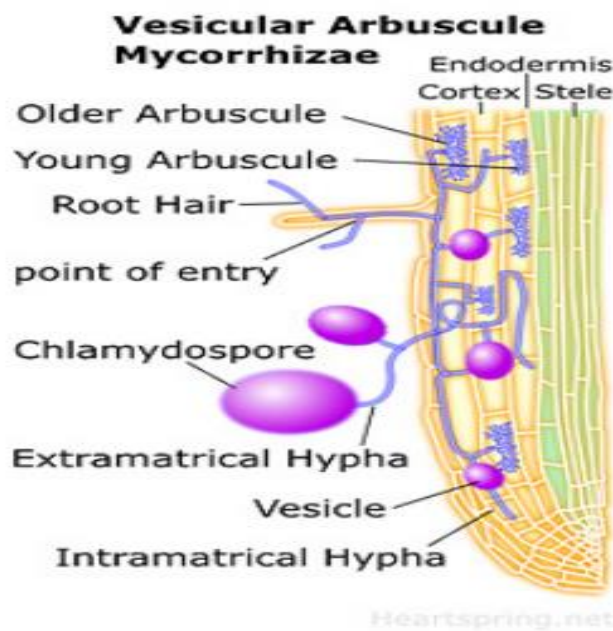
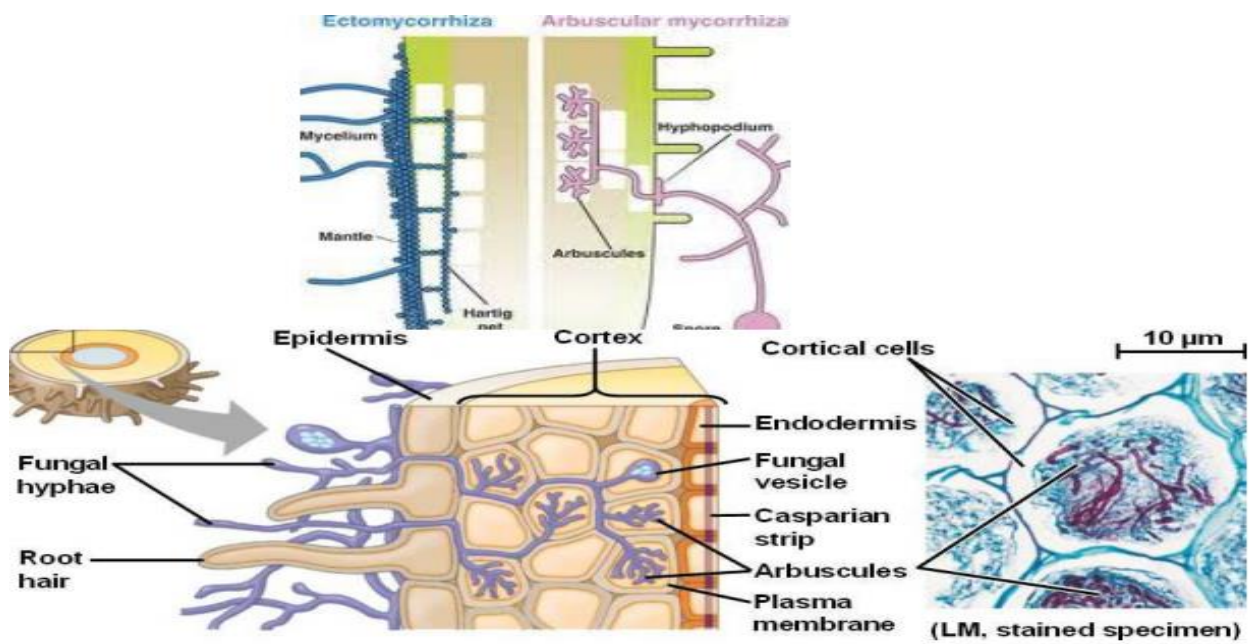
جدول 9-1: الفئات الرئيسية لفطريات المايكورايزا وصفاتها (Read و Smith ، 1997)

Mycorrhizal type	Arbuscular	Ecto	Ectendo	Arbutoid	Monotro-Poid	Ericoid	Orchidaceous
Fungal taxa	Glomero	Basidio Asco Zygo	Basidio Asco	Basidio	Basidio	Asco	Basidio
Plant taxa	Bryo Pterido Gymno Angio	Gymno Angio	Gymno Angio	Ericales	-Monotro poideae	Ericales Bryo	Orchid aceae
Intracellular colonization	+	—	+	+	+	+	+
Fungal sheath	—	+	+/-	+/-	+	—	—
Hartig net	—	+	+	+	+	—	—
Vesicles	+/-	—	—	—	—	—	—
Achlorophylly	—	—	—	—	+	—	+

+ = موجود ، - = غير موجود

جدول 9-2: تصنيف فطريات المايكورايزا الشجرية (Inauguraldissertation ، 2010)

الرتبة	العائلة	الجنس	عدد الانواع
Glomerales	Glomeraceae	<i>Glomus</i>	105
Diversisporales	Gigasporaceae	<i>Gigaspora</i>	9
	Scutellosporaceae	<i>Scutallospora</i>	10
	Racocetraceae	<i>Racocetra</i> و <i>Cetraspera</i>	5 و 9
	Dentiscutataceae	<i>Dentiscutata</i> و <i>Fuscutata</i> و <i>Quatunica</i>	4 و 7 و 1
	Acaulosporaceae	<i>Acaulospora</i> و <i>Kuklospora</i>	2 و 34
	Entrophosporaceae	Entrophospora(unclear phylogenetic affiliation)	2
	Pacisporaceae	<i>Pacispora</i>	7
	Diversisporaceae	<i>Diversispora</i> and <i>Otospora</i> (unclear phylogenetic affiliation)	1 و 4
Paraglomerales	Paraglomeraceae	<i>Paraglomus</i>	3
Archaeosporales	Geosiporaceae	<i>Geosiphon</i>	1
	Ambissporaceae	<i>Ambispora</i>	8
	Archaeosporaceae	<i>Archaeospora</i> and <i>Intrapora</i>	1 و 1



شكل 9-1 : مقارنة بين المايكورايزا الداخلية والخارجية .

تكوين المايكورايزا الشجرية (آلية الإصابة)

Formation of Arbuscular Mycorrhizae

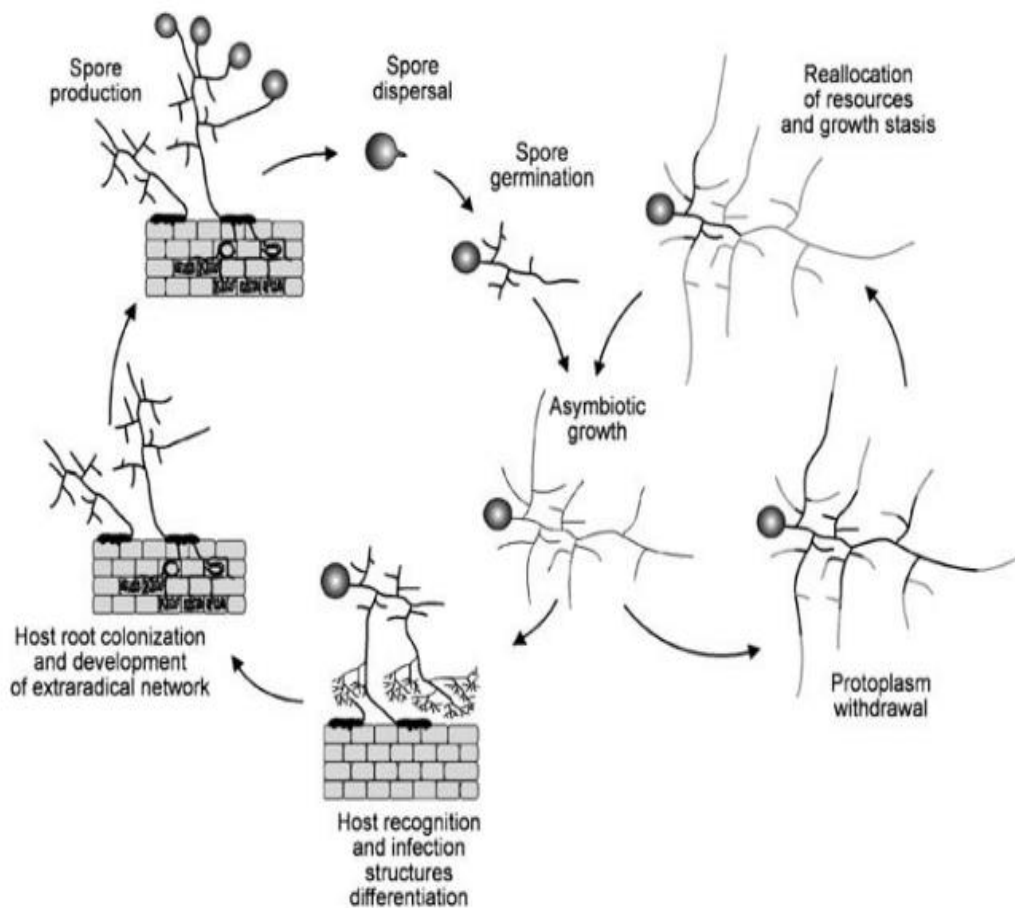
توجد فطريات AM او VAM في التربة ، وتكمل دورة حياتها من خلال اقامتها لعلاقات تعايشية مع النباتات الوعائية الزهرية ولكي تتحقق هذه العلاقة يتطلب حصول تداخل معقد يتضمن العديد من الميكانيكيات لكل من الفطر والنبات ، فقد تنشأ الـ AM التعايشية من خلال سلسلة من الأحداث التي تمثل مفتاح التغييرات التطويرية في دورة حياة الفطريات . تقسم مراحل قيام هذه العلاقة الى :

اولا : المرحلة التي تسبق الاستيطان Pre-Colonization Stage او الطور الاول

الخارجي (قبل الاختراق) Extramatrical phase

توجد المايكورايزا الداخلية في التربة اما بشكل ابواغ (Spores) او قطع من الهيافات في الجذور الميتة في حالة عدم وجود النبات او تضاف كلقاح وهو في الغالب مكون من (سبورات + تربة + جذور مصابة) ، ويمكن ان تنمو كل من الابواغ وقطع الهيافات (تبدأ عملية التطور او الانبات germination) قبل الإصابة عندما تلمس اشارات مفرزة من قبل الجذر، حيث ان في حالة عزل الفطر فيزيائيا من مضيفه فان الهيافات تتميز بالتفرع الكبير وهذا يدل على وجود اشارة انبعثت وانتشرت من النبات المضيف في حين ان النبات غير المضيف لا يثير الاستجابة نفسها وان تماس خلية الى خلية اخرى غير ضروري ثم تبدأ عملية النمو العام general growth ثم عملية الاستطالة inogation ثم يتكون المايسيليوم وتقف عند منطقة الاختراق ويمكن تميز الطور الداخلي (طور النمو growth phase) ضمن المرحلة الاولى (الطور الاول) وفيه يبدأ المايسيليوم بتكوين شبكة مرمصية وهذه الشبكة تكون ما يسمى بالاعضاء اللاسعة Appressoria حيث يحدث التماس الفيزيائي بين مايسيليوم الفطر وسطح الجذر بعد عامل التمييز المتضمن تبادل الاشارات بين الفطر والنبات الذي

يؤدي الى تكوين ما يعرف بالعضو اللاصق Appressoria ثم تنشط احد هذه الهيافات مخترقة جدران القشرة ، الا انه في منطقة الاختراق وقبل الولوج الى الداخل intercellular يكون المايسيليوم مايسمى بالننوء page او infected page وهذا سوف يكون موطىء قدم لدخول نوع الـ VAM الى داخل العائل النباتي. لا يتم تنظيم إنبات سبورات الـ AM بواسطة الإشارات المستمدة من المضيف، لأنها قادرة على الإنبات والنمو، في ظل عوامل التربة الملائمة في حالة عدم وجود النبات المضيف. والشكل (2-9) يبين دورة حياة بديلة لفطريات المايكورايزا الشجيرية .



شكل 2-9: رسم تخطيطي يبين دورة حياة بديلة لفطريات المايكورايزا الشجيرية.

ثانيا : مرحلة الاستيطان Colonization stage او الطور الثاني الداخلي (داخل الخلايا)

تدخل هايفات الفطر خلايا البشرة بعد تكوين الـ Appressoria بثلاث طرق :

1- الاختراق المباشر للشعيرة الجذرية .

2- انتاج هايفات قصيرة من الـ Appressoria والتي تجد طريقها من خلال

الفراغات الموجودة بين الطبقات الخارجية للخلايا القديمة .

3- الدخول من خلال نقاط معينة موجودة بين خليتين متجاورتين من خلايا البشرة الى القشرة الداخلية.

وقد وضعت عدة نظريات تبين طرق اختراق وتطور المايسيليوم ، وفي الغالب تعتمد طريقة الاختراق على ثلاث معطيات :

1- نوع التربة

2- الشكل الخارجي للجذر والتشريح الجذري

3- نوع الـ VAM .

واعطى Robson احسن الية للاختراق باستخدام المجهر حيث استطاع ان يصور حالة الاختراق لجذر العائل النباتي وفق مايلي : ان الهايفا المسؤولة عن الاختراق تبدأ في تقليل قطرها مسببة وسيلة ضغط مشتركة بفعلين اولهما ؛ ميكانيكي والثاني ؛ كيميائي انزيمي هرموني ، من شأنها ان تسهل عملية الاختراق وبعد حدوث الاختراق يرجع قطر الهايفا الى وضعه الحقيقي .

في هذه المرحلة يبدأ ما يسمى بالنمو الليفي ويبدأ الانتقال والتوسع عبر طبقات القشرة الخارجية وتكون هذه المناطق المخترقة مملوءة بالهايفات داخل الخلايا وتكون اشكالها اما مستقيمة او حلقة (C) او بشكل التواءات Coils (S) ، وهذه الـ Coils تبدأ باعتبارها موطىء للانتقال من خلية الى اخرى وتحصل تشكلات مستقيمة وحلقة وكويل (S) ، وعندما تنمو الهايفا داخل الخلية لا يحصل اي تعويق او اشكال ، ولكن

عندما تنتقل من خلية الى اخرى فيجب ان يحصل شيء يدفع الهايفا من خلية الى اخرى وهو الكويل (S) ، اي داخل يكون الشكل مستقيم او حلقي (C) وعند الانتقال من خلية الى اخرى نحتاج الى كويل (S) ، حيث جزء يثبت داخل البناء وجزء يدفع الى خلية الاخرى فتندفع الهايفا الى المناطق الاخرى . فاذا تمت هذه الحالة نستطيع القول باننا فهمنا ماهي ميكانيكية الاصابة ، في المرحلة الثانية (الطور الثاني) تتكون التراكيب المتطورة في نمو الهايفا وهي :

1- الشجيرات Arbuscules : وهي عبارة عن خيوط فطرية كثيرة ودقيقة وتشغل معظم خلية العائل وتوفر مساحة تلامس كبيرة جدا بين الفطر وسائتوبلازم الخلية ولذلك تعد مركزا فاعلا لتبادل مختلف المغذيات بين الفطر والنبات ، وللشجيرة دورة قصيرة 2- 15 يوما تبدا بعدها بالتحلل وتتحول الى كتلة فطرية متصدعة غير واضحة المعالم .

2- الحويصلات Vesiculars : وهي عبارة عن انتفاخات طرفية للخيوط الفطرية الممتدة بين الخلايا او في داخلها ، حيث تنمو بعد الشجيرات بشكل انتفاخات على طول الهايفا المنتشرة في اللحاء الخارجي وتتمثل وظيفتها بانها اعضاء خزن مؤقتة . (شكل 9-3) .

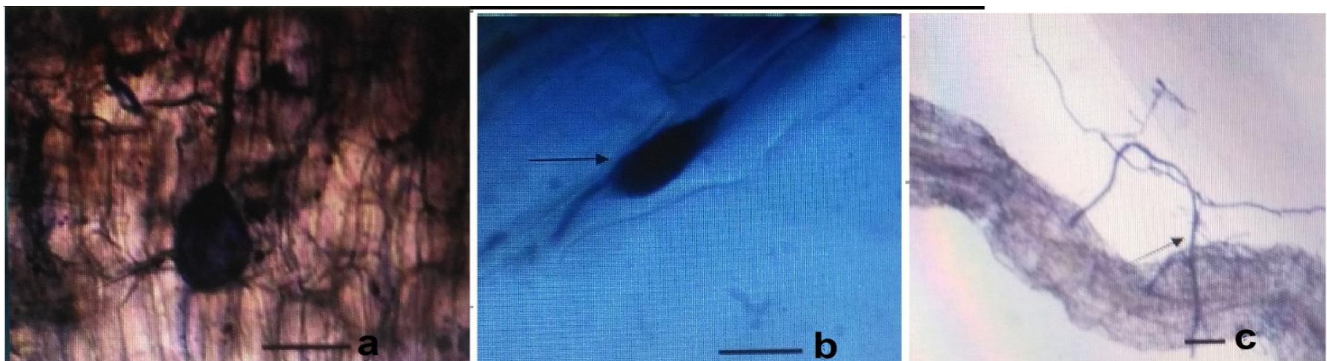
3- الجذع Tang وهو الجزء الذي يخص الـ Arbuscules .

ان هناك شكلين رئيسيين من استيطان الفطر لانسجة قشرة الجذر هما (Arum و Paris) وذلك اعتمادا على النبات المضيف و/ او انواع الفطريات ، فالنوع Paris يتميز بنمو هايفات الفطر داخل الخلايا Intra cellular من خلية الى اخرى باتجاه انسجة القشرة الداخلية وتكوين (Hyphal Coils و Arbusculate Coils) . اما النوع Arum فان نمو الهايفات فيه يكون بين الخلايا وداخلها Intra and inter cellular باتجاه القشرة الداخلية مع تكون القليل من (Hyphal coils) ثم تدخل

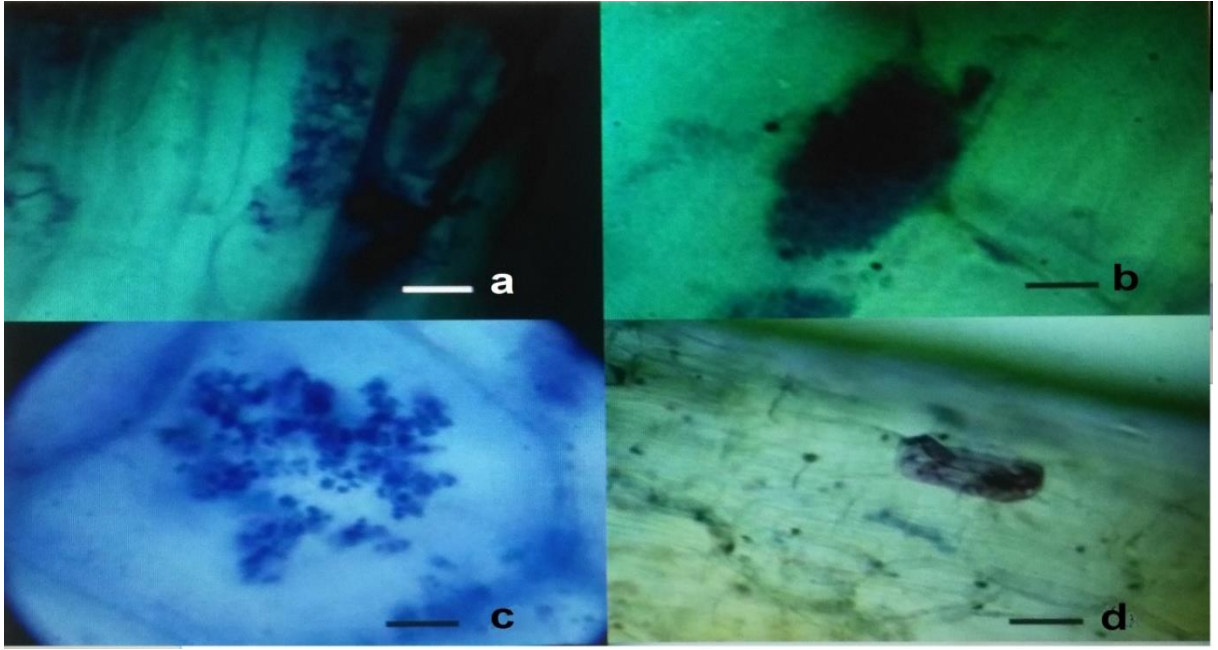
الهيافات في معظم القشرة الداخلية مكونة تراكيب متفرعة تعرف بالشجيرات (Arbuscules) . شكل (4-9).

ثالثا : مرحلة ما بعد الاستيطان Post- Colonization Stage

يستطيع الفطر ان ينعزل او ينفصل عن سايتوبلازم خلايا المضيف وفي اي وقت بواسطة النسيج الخلوي الفطري الاولي (Perifungal membrane) والنسيج الخلوي الفطري الداخلي (Interfacialmatrix) والاثنان يشكلان مايسمى الحاوية الداخلية (Interface compartment)، الذي يحدث فيه انتقال ثنائي الاتجاه للمغذيات من الفطر الى النبات وبالعكس. ويستمر انتشار الهيافات على طول المحاور الطولية للجذر مع استمرار تكوين الشجيرات في القشرة الداخلية ، وفي نفس الوقت يبدأ الفطر بتكوين مايسيليوم خارجي يتفرع في التربة المحيطة، وان المايسيليوم هو المسؤول عن اخذ الفسفور ونقله الى النبات عن طريق الهيافات الداخلية. ان الفطر يمتلك ميكانيكية لادراك مستويات الفوسفات والتي ينظمها الـ (GiPT Phosphate transporter gene) الذي يتاثر بتركيز الفسفور المحيط بالهيافات الخارجية ، فقد وجد ان الجين (GiPT) استحث بضعف في الهيافات الخارجية عند تعريض الجذور المايكورايزية الى مستويات عالية من الفوسفات ، كما وان الفوسفات لم تؤخذ من قبل الهيافات الخارجية.



شكل 9-3 : انواع الحويصلات (Vesiculars) المايكورايزية . a : حويصلات دائرية ، b : حويصلات مستطيلة ، c : خيط فطري مستعمر الجذور .



شكل 9-4: أنواع وأشكال الشجيرات (Arbuscules) المايكورايزية. a: شكل ريشي
 لـ Arum-type arbuscule ، b : كثيفة ومدمجة الـ Arum-type
 لـ Arbuscule Arbuscule ، c : شكل حبيبي Arum-type ،
 d : نوع ملفوف من paris-type solid arbuscule

اجناس المايكورايزا و مواصفاتها

Gigaspora -1

أ- السبورات تأخذ اشكال منفردة .

ب- جدار السبورات مهم من الناحية التطبيقية فهو يتكون من طبقتين او اكثر تصل الى 20 طبقة .

ج - عملية الانبات لهذا السبور تتم باحدى الطريقتين المعروفة في انبات الفطريات والسبورات وهي :

1- في حالة الانواع المتشابهة لنوع الـ VAM (*Gig.aurigloba*) فان السبور ينشئ ما يسمى نتوء Compartment ما بين الطبقتين الداخليتين لجدار السبور ، ثم تبدأ انابيب الانبات بالارتفاع وذلك من خلال اختراق الطبقة الخارجية لجدار السبور .

2- الطريقة الثانية : تظهر مع الـ VAM (*Gig. marjartia*) لا يتكون النتوء ولكن تتكون انابيب ما بين الطبقة الخارجية للسبور . في هذا الجنس يظهر تشكيل يسمى التشكيل المزين (زخرفي) *Ortimental phase* ، نوع السبور في حالة السكون resting يكون على شكل زايكو سبور *Azigospores*

2- *Acoulospora* : كما هو الحال في الجنس السابق :

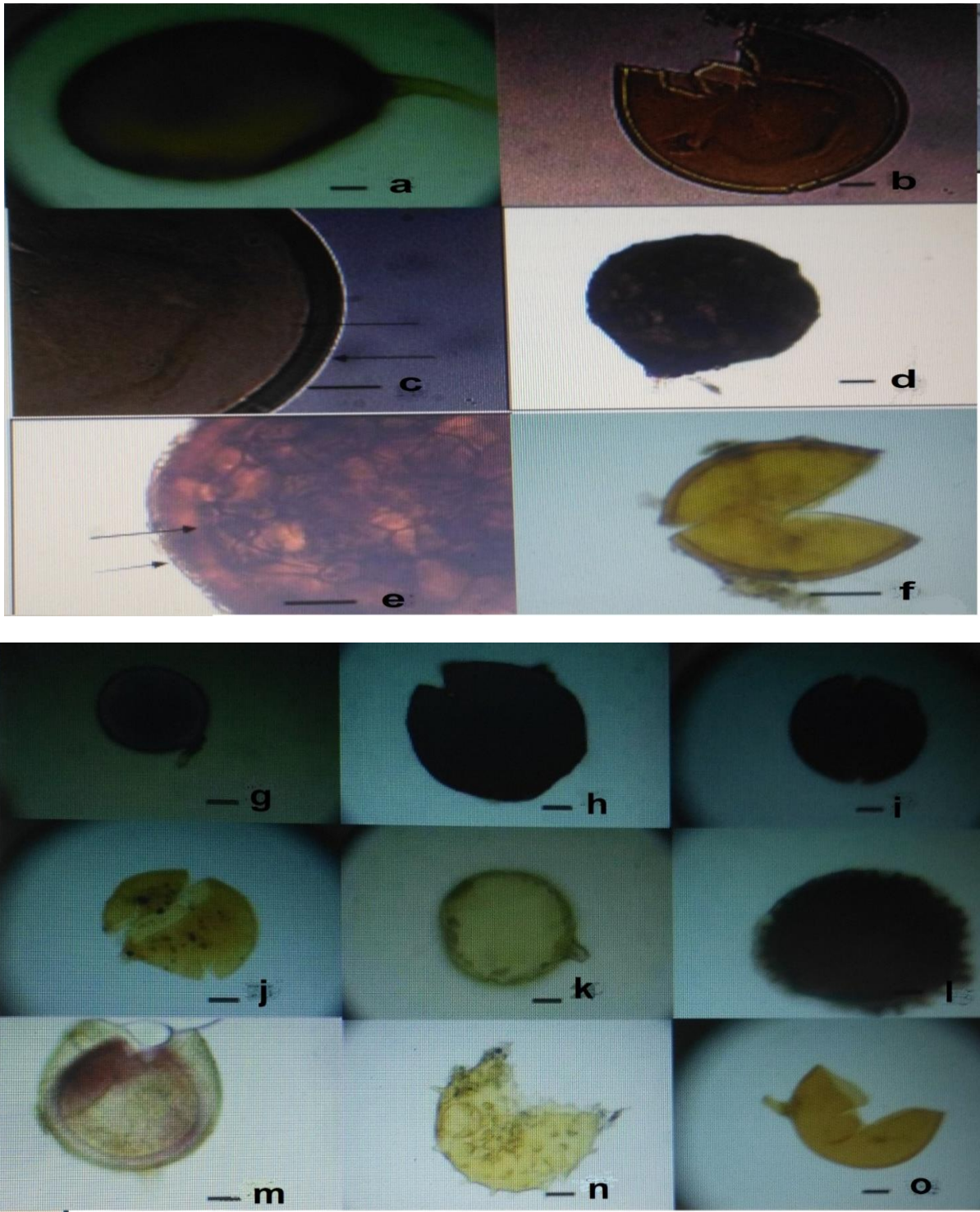
- أ- يكون الزايكوسبور منفرد .
- ب- عملية تكون السبور تبدأ بتكوين جدار واسع وعائي في عرض الهايفا ثم تبدأ مكونات الجدار الوعائي بالرجوع الى داخل الهايفا (استطالة ثم رجوع) ثم تدخل في حالة السكون ويكون ملتصق بالهايفا .
- ج- هذه السبورات المستقرة تمتلك في الغالب من طبقتين او اكثر من طبقات الجذور، وهذه السبورات تتغير ايضا باعطاء اشكال زخرفية على الجدار الخارجي .
- د- انبات السبور يتم من خلال تكون نتوء ويظهر هذا واضحا في انواع الـ VAM من نوع *Acoulo.laevis* .

3- *Glomus*

- أ- تكون اما في التربة او في قشرة الجذور (Cortex)، والسبور يتكون في نهايات الهايفا ، يمكن اعتبارها نقطة اتصال للسبور، له جدار جانبية متوازية وعريضة لمنطقة الاتصال .
- ب- جدار السبور مكون من طبقة او عدة طبقات ، لا يكون الشكل المزين او المزرکش .
- ج- عملية الانبات اما بواسطة امتداد الهايفا القديمة وهو الغالب ، او يكون نادرا ينشا من جدار السبور نفسه .
- د- يمكن ان تميز التراكيب المايكورايزية *Arbuscular* و *Vasicular* في جميع انواع السبورات من هذا الجنس .
- هـ- يتكون ما يسمى *Chlamydospores* .

Sclerocystis -4

يتكون السبور ايضا من Chlamydospores مشابه جدا للسابق ، الا انه يتميز بتكوين ما يسمى بالـ Sporacaps حيث تترتب السبورات بشكل طبقة احادية حول نقطة مركزية للهايفا ، وتتميز بلون اصفر مع وجود اوعية رقيقة وهي ايضا تكون Arbuscular و Vasicular. والشكل (5-9) يبين سبورات اجناس مختلفة من فطريات المايكورايزا الشجيرية .



شكل 5-9 : سبورات اجناس مختلفة من المايكورايزا الشجيرية. a : سبور *Glomus*
 ، *etunicatum* ، b : سبور *G.intraradices* ، c : شكل جدار سبور *G.intraradices* ،
 d : سبور *G.reticulatum* ، e : شكل جدار سبور *G.reticulatum* ، f : سبور مكسور
 ، *G.ambisporum* ، g : سبور *G.ambisporum* ، h : *G.formosanum* ، i : سبور *G.*
Macrocarpum ، j : سبور *G.gerdemannii* ، k : سبور *Acaulospora spinosa* ،
 l : سبور *Entrophspora infrequens* ، m : سبور *A. denticulate* ، n : سبور
 ، *Scutellospora minuta* ، o : سبور *A.lacunosa* .

تركيب المايكورايزوسفير Mycorrhizosphere Structure

يتألف mycorrhizosphere من الجذور، هايفات فطريات المايكورايزا والاحياء المجهرية المرتبطة بها، والتربة تقع ضمن نطاق تأثيرها المباشر ، وبالتالي تتضمن كلا من منطقة الرايزوسفير rhizosphere و hyphosphere. (شكل 9-6). الرايزوسفير يختلف في التربة Bulk فيما يتعلق بدرجة الحموضة، واجهادات الأكسدة والاختزال وتركيز المغذيات والماء. وبفعل هذه التغيرات تمتص العناصر الغذائية والماء من الجذور وكذلك افراز المركبات من الجذور. في معظم النباتات التي تنمو في البيئات الطبيعية الرايزوسفير لا يشمل دائما الجذور فقط ولكن أيضا مايسيليوم فطريات المايكورايزا المتشابكة بشكل وثيق وقد يكون من الصعب تحديد حدود الرايزوسفير و hyphosphere (شكل 9-7). وبالتالي في معظم الحالات يمكن تعريف الرايزوسفير باسم inner mycorrhizosphere (شكل 9-6). تتألف hyphosphere من المايسيليوم الخارجية لفطريات المايكورايزا ، الاحياء المجهرية المرتبطة بها، والتربة المحيطة بها. ان المايسيليوم الخارجي لفطريات المايكورايزا يشكل الـ outer mycorrhizosphere ، وعادة ما يمتد على الاقل عدة سنتيمترات في التربة المحيطة بها.

ان تركيب الـ mycorrhizosphere يختلف بين أنواع المايكورايزا ، ففي حالة المايكورايزا الداخلية Endomycorrhizal أن الهايفا تخترق أنسجة الجذر وتشكل شبكة رقيقة من الهايفا الهوائية على سطح الجذر ، اما في المايكورايزا الخارجية Ectomycorrhizal فان قمم الجذر تغمد ensheathed بغطاء سميك من الهايفا (شكل 9-7) ، وتشكل في كثير من الأحيان مسارات strands و rhizomorphs التي يمكن أن تكون قناة نباتية مستمدة مركبات الكربون تصل الى مترات بعيدا عن جذور النباتات إلى قمم الهايفات البعيدة. وتكمن الالهية البيئية للـ Mycorrhizospheres في ان شبكة هايفات فطريات المايكورايزا تعمل على ربط

النباتات بعضها مع البعض (شكل 9-7). وقد ثبت أن الهيافات الرابطة قادرة على نقل الكربون من نبات إلى آخر ، وان الـ Mycorrhizospheres يكون له تأثير على تركيب التربة على المستوى المجهرى وغير المجهرى حيث ان هيافات فطريات المايكورايزا الشجيرية تنتج مواد لاصقة مثل glomalins (يتم الطرق على ذلك ضمن التأثيرات المحفزة للنمو من هذا الفصل) .

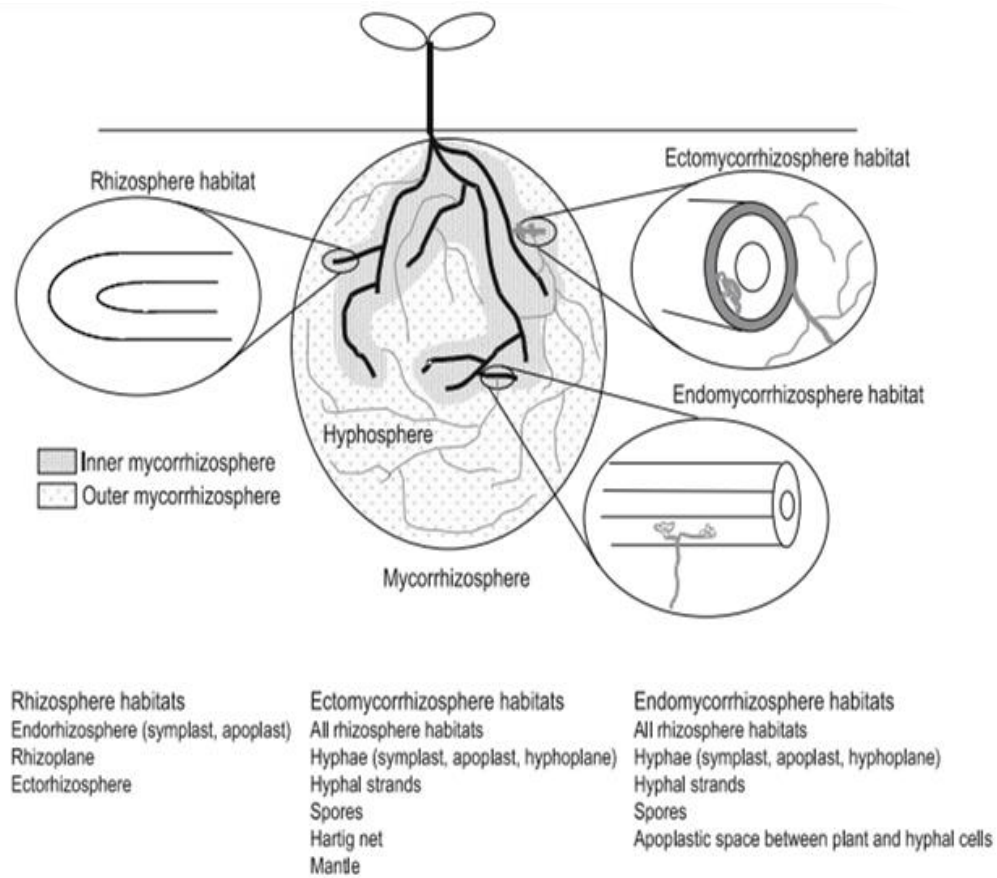
ان المستعمرات المايكورايزية تغير عملية التمثيل الغذائى للجذور وتعديل كمية وتكوين المركبات المتحررة من الجذور في التربة. وهناك عدد من النتائج المتوفرة حول تأثير المستعمرات المايكورايزية على إظهار نضح الإفرازات الجذرية التي تختلف باختلاف انواع النباتات ، فطر المايكورايزا ، عمر النبات وحالة التغذية ، حيث ان المايكورايزا قد تقلل من كمية الإفرازات الجذرية في الرايزوسفير عن طريق اخذ الكربوهيدرات مباشرة من خلايا الجذر قبل ان تصل الى التربة المحيطة بها ، كذلك تعدل السكر والأحماض الأمينية وتكوين الأحماض العضوية من الإفرازات الجذرية ، وتتأيض الكربوهيدرات التي تاخذ من قبل فطريات المايكورايزا جزئيا إلى مركبات فطرية خاصة fungi-specific مثل trehalose ، مانيتول وأرابيتول .

هناك كائنات حية دقيقة مشاركة في تكوين الـ Mycorrhizospheres حيث يمكن ان يعد الـ Mycorrhizospheres كمجتمع من الكائنات الحية المختلفة والتي تشمل النباتات ، فطريات المايكورايزا والاحياء المجهرية الأخرى وحيوانات التربة ، وجذور النباتات هي السائدة في هذه المجتمعات ولكن العديد من وظائف الرايزوسفير هي في الواقع تعززها الاحياء المجهرية المرتبطة بها (شكل 9-8) ، فان المجتمع الميكروبي هو المسؤول عن حركة وامتصاص معظم العناصر الغذائية ، وان احياء الرايزوسفير أيضا لها تأثير كبير للدفاع ضد مسببات الأمراض المختلفة، والحفاظ على تركيب التربة وكذلك الحفاظ على المياه والعناصر الغذائية . وهنا لابد الاشارة الى ان بعض

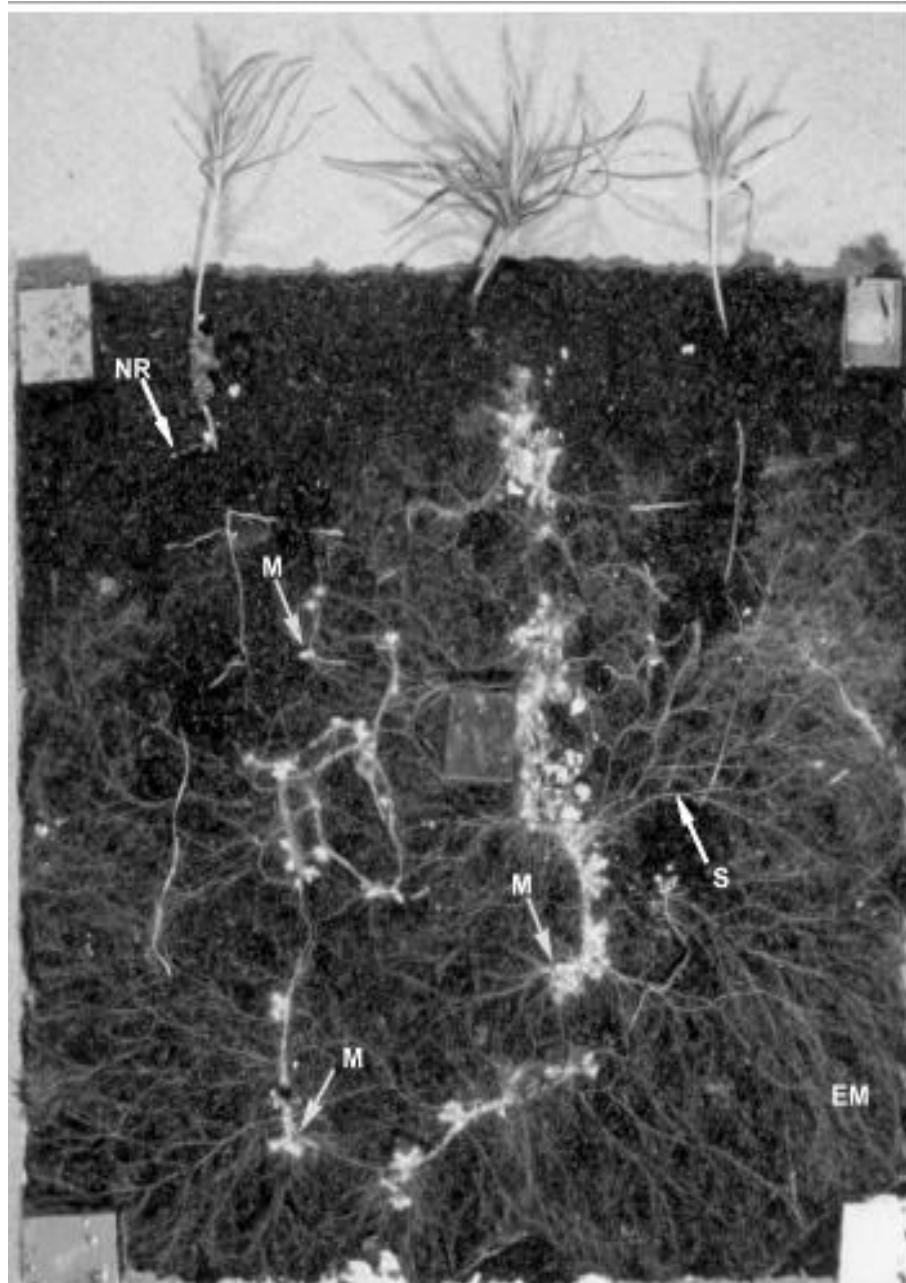
الاحياء ذات خصوصية مثل فطريات المايكورايزا ، فلماذا الباحثين يركزون على اهمية المايكورايزا من بين الاحياء في الرايزوسفير بالرغم من اهمية الاحياء الاخرى ؟
والجواب على هكذا تساؤل هو :

- 1- ان هذه الفطريات غير تخصصية ، ممكن ان تصيب عدد كبير من العوائل النباتية والاصابة تنشا نوع من الميل او الالفة ، حيث تفضل هذه الاحياء عوائل نباتية دون اخرى ، وقد وجد ان الالفة متعلقة بعوامل هي اما :
 - أ- الافرازات الجذرية من العائل النباتي نفسه .
 - ب- النظام الجذري للعائل النباتي .
 - ج- نوع التربة الذي تنمو فيه النباتات .

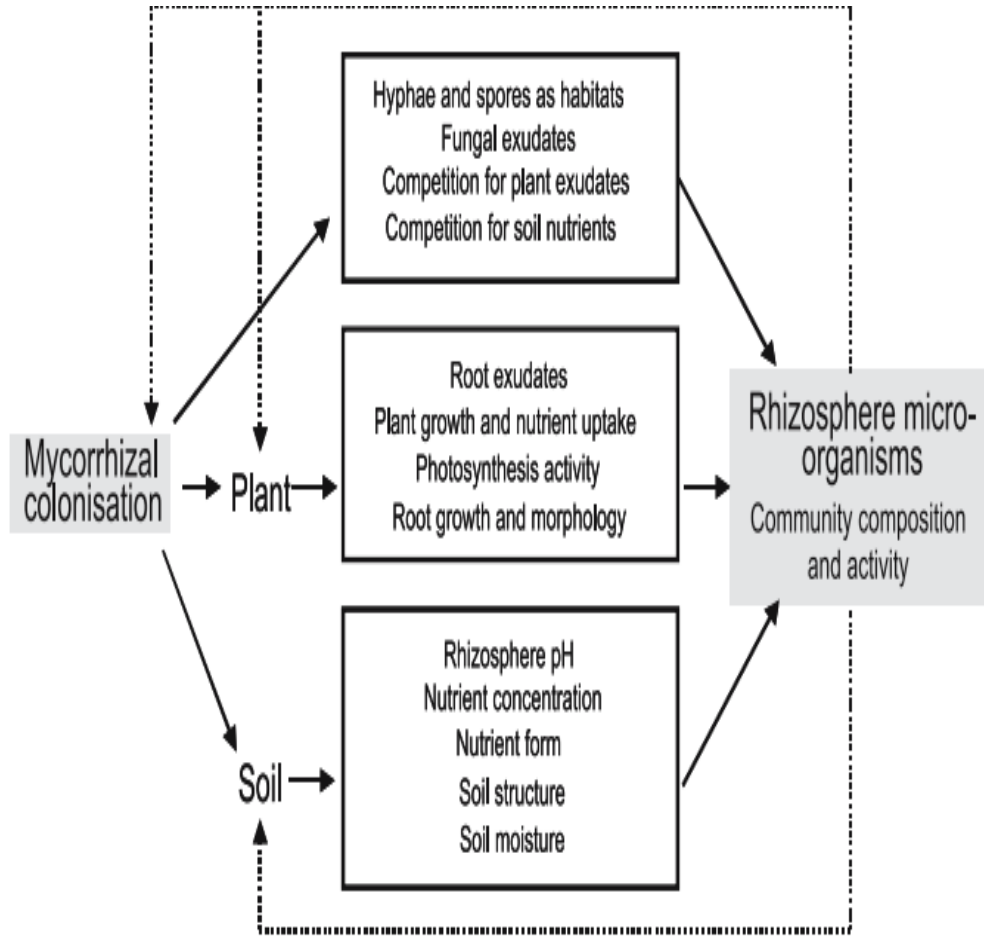
2- ان هذه الاحياء تعيش في جزئين ؛ جزء داخل النبات مكونا التراكيب المايكورايزية المعروفة (الحويصلات والشجيرات Vesicular- arbuscular) وجزء خارج النبات ، وهو امتداد للهايفا مكونا المايسيليوم ضمن النظام الجذري ، جميع الاحياء سواء البكتيرية او الفطرية لا تمتلك هذه الصفة التي تمتلكها المايكورايزا الا تركيب واحد تتشابه فيه المايكورايزا مع بكتريا Frankia التي تتعايش مع جذور النباتات مكونة طبقة Sheath محدثة ما يسمى غلاف للشجيرات الجذرية .



شكل 9-6 : بيئات المايكورايزوسفير . (Mukerji وآخرون ، 2006)



شكل 9-7 : المايكورايزا الخارجية مع ثلاث شتلات صنوبر متصلة بواسطة
 المايسيليوم الخارجية لفطريات المايكورايزا *M . Suillus variegates*
 NR ؛ mycorrhiza ، non-mycorrhizal root ؛ strand S ؛ (مسار)؛
 EM ، external mycelium . (Mukerji واخرون ، 2006) .



شكل 8-9 : التأثير المباشر وغير المباشر للمستعمرات المايكورايزية على تركيب المجتمع الميكروبي وأنشطة الاحياء المجهرية الأخرى في الرايزوسفير . (Mukerji وآخرون ، 2006) .

بيئة المايكورايزا Ecology of Mycorrhiza

ان فطريات المايكورايزا تمتاز بانها تعيش في بيئات مختلفة منها استوائية مطرية غاباتية ، ومنها رملية صحراوية . درست كثير من العوامل التي تؤثر على انتشار المايكورايزا وكذلك عمليات تكوين السبورات Sporelation ، وطريقة تعايشها مع المايكوفلورا او احياء التربة الاخرى ، وكذلك درست تكوين المستعمرات الجذرية Root colonization ، ونجد انفسنا في ضرورة ملحة لان نفهم هذه الاطوار من تواجد الفطريات كلما اقتربنا من الناحية التطبيقية لهذه الفطريات لذلك جرت العادة على ان نعبر عن تواجد الفطر بمصطلح يسمى Dispersal (مكان تواجد الفطريات) . فيما

يخص هذه العملية لمثل هذه الفطريات فان الدراسات اشارت انها متواجدة في القارات المختلفة قبل حدوث عملية الطوفان والجفاف ، اما الدراسة المهمة بالمايكورايزا فان المتحجرات النباتية اثبتت بانها تحتوي على نوع من الفطريات وتتكون من تراكيب مشابهة الى حد ما لتراكيب المايكورايزا (الحويصلية – الشجيرية)، مما حدى بالباحثين القول ان هذه الاحياء تكونت على جذور نباتات الغابات وبعض النباتات الطبيعية . وبموجب هذا فان ما ذهب اليه Frank (1885) من تشخيصه لفطريات المايكورايزا هو واقع حال وحقيقة ولكنها لم تثير انتباه الدارسين في تلك الفترة او الحقبة الزمنية .

وسائل انتشار المايكورايزا

اقترحت عدة طرق لانتشارها :

1- الانتشار النشط (الموجب) Active Dissemination : يمكن ان تظهر من منطقة الى اخرى نتيجة لنمو الهيافات ، فقد وجد ان معدل انتشار المايكورايزا يختلف باختلاف كثافة هذه الترب بهذه الفطريات وكذلك العائل النباتي التي تتعايش معه ، فلقد ثبت ان معدل انتشار هذه الفطريات يصل بحدود 65 م لكل 150 سنة ، اي يعني 0.43 م / سنة ، ووجد بان الترب الحاوية على هذه الفطريات يكون معدل انتشارها اعلى من الترب الغير حاوية على هذه الفطريات . ان نوع النبات والكثافة الجذرية يلعبان دور مهم في انتشار المايكورايزا ، فلقد وجد ان الترب المزروعة بنبات المراعي Subclover في استراليا يكون معدل انتشار المايكورايزا من نوع *Glomus Fasciculatum* بحدود 1 سم في الاسبوع ولكن في حقل اخر عندما يكون الغطاء النباتي تسود فيه احد الحشائش وجد ان معدل انتشار هذا النوع من المايكورايزا يقل ويصل بحدود 0.07 سم ، ومن هذا نستطيع ان نبين: ان كثافة الجذور تلعب دور اساسي في تحديد انتشار المايكورايزا خصوصا في الاطوار الفتية من نمو النبات ،

حيث نجد ان الغطاء النباتي من الحشائش كان معدل الانتشار منخفض ولكن ازداد معدل الانتشار بتغير النوع الثاني الى Clover لوجود اختلاف واسع في النظام الجذري لكلا العائلين النباتيين .

عمل Poter ، (1979) على توزيع المايكورايزا مع نوع التربة عندما اخذ لقاحات المايكورايزا و اضافتها الى تربة A لاحظ بان نمو الهائفات وكذلك الاصابة وتكوين السبورات قد اختلف اختلاف معنوي مع تربة اخرى هي B ، في حينها عزي السبب الى ان هناك احتمال بان التربة A فيها عوامل مشجعة لنمو وتكوين ابواغ هذا الفطر مقارنة بالتربة B ، ثم بدأ بنقل عينات من المايكورايزا الى تربة C ولاحظ ملاحظة اغرب من هذا وهي ان المايكورايزا تحدث اصابة ولكنها لا تكون السبورات وكان جوابه على هذا ان التربة A تجود فيها هذه الفطريات من حيث النمو وتكوين السبورات ، اما التربة B بعد ما اخذ اللقاح منها ونقله الى التربة C فقدت المايكورايزا قدرة تكوين الابواغ ولكنها ظلت محافظة على الاصابة ، ووجد بان هناك ثلاث عوامل مؤثرة في توزيع المايكورايزا في التربة وهي :

أ- رقم التفاعل الـ pH : حيث وجد ان الـ pH في تربة A كان ضمن الرقم البايولوجي لـ pH الذي مكن هذه الفطريات من النمو ولكن انتقال اللقاح من A الى B ثم الى تربة C اصبح رقم التفاعل البايولوجي مؤهل لحدوث الاصابة وغير مؤهل لحدوث السبورات ، ربما ان عملية تكوين السبورات هي العملية المعول عليها في انتاج اللقاح ، لذا نستطيع ان نقول انه لابد من اختيار التربة بعناية فائقة اذا ما اريد الحصول على لقاحات مايكورايزية تحتوي على كميات معتبرة من السبورات لكل غرام تربة .

ب- الضوء : ان عملية تكوين السبورات في الفطريات تتاثر بعامل بيئي رئيسي هو الضوء ، فعندما تكون فترات الاضاءة متوافقة مع المحصول او العائل النباتي

نحصل على اعلى نسبة من السبورات ، اما اذا تكون الفترة الضوئية غير متوافقة مع العائل النباتي قد تنخفض او تتقدم عملية تكوين السبورات .

ج- الكثافة الجذرية : ان الكثافة الجذرية تلعب دور مهم ورئيسي في انتشار المايكورايزا ، اهم الدراسات في هذا الموضوع دراسات Poter ، (1979) و Bolan وآخرون ، (1984) الذين اشارو الى ان العائل النباتي ذو المجموع الجذري الخشن عرضة للإصابة بهذا النوع من الفطريات اكثر من النظام الجذري الناعم .

2- الانتشار الحر Passive Dissemination : قيل ان الانتشار ضمن هذه الطريقة يعتمد على الانتقال ضمن الرياح او بالمياه ولكن الظروف البيئية المحيطة سوف تكون عامل محدد لانتشار فطريات الـ VAM بهذه الطريقة . ان فطريات المايكورايزا هي فطريات Soil born موجودة بالتربة ولا يمكن ان تعيش بمعزل عن الكائن النباتي وهي في التربة في احيان كثيرة لها بعض الخصائص مكنتها على الانتشار ومن هذه الخصائص انها تستطيع ان تكون ما يسمى بتراكيب سبورية Spor capes وهي تراكيب مجموعة سبورات موجودة في جزء واحد ، هذه الوسيلة مكنتها من الانتشار لمسافة ابعد ، وكذلك ممكن ان تتفرد هذه الـ Spor capes منتجة اعداد كبيرة من السبورات . وهناك اشارات من الباحثين حول الانتشار الحر فقد قيل بان للطيور والحشرات دور في عملية الانتقال وذلك من خلال انتقالها ضمن مخلفات هذه الكائنات وانتشارها من منطقة الى اخرى .

التغيرات المورفولوجية والفسولوجية في العائل النباتي نتيجة الإصابة بالمايكورايزا .

ان المايكورايزا الحويصلية الشجرية تدخل الجذر لكن الخلايا الجذرية تبقى سليمة طوال مدة التعايش وقد تظهر تغيرات في المظهر الخارجي للجذر ، فالمايكورايزا يمكن أن تؤثر على حجم وشكل أو بنية النظام الجذري ، وقدرة الجذر

على امتصاص الفسفور من التربة ، فهناك دراسات وجدت انخفاض طول الجذر نتيجة الإصابة بالميكورايزا ، واقترحت أن بعضا من تلك التأثيرات قد تكون نتيجة لزيادة الفسفور و هذا أيضا يقلل من وزن الجذر، وفي المقابل دراسات أخرى اوضحت أن الإصابة بالـ *G. clarum* أدت الى زيادة طول الجذر في الحمضيات ، بينما هناك عدد من الدراسات وجدت ان الميكورايزا ليس لها تأثير معنوي على وزن او طول الجذور ، نتائج Hooker وآخرون، (1992) بينت زيادة تفرعات الجذور الثانوية بنسبة 85 % في اشجار الحور poplar بسبب مستوى الإصابة بالميكورايزا ، وان الإصابة بـ *Scutellespora calospora* بنسبة 23% أدت الى زيادة التفرعات الجانبية بنسبة 40% ، في حين أن الإصابة 52% بالـ *G. caledonium* أعطت زيادة في التفرعات بنسبة 60% ، و أفاد بأن للفوسفور تأثير صغير على التفرعات حيث زادت تفرعات الجذور الثانوية بنسبة قدرها 32% مقارنة بالمقارنة ، وهذا التأثير كان أقل من الناتج عن الميكورايزا التي أدت الى زيادة التفرعات بنسبة قدرها 81 % ، وحول تأثير الإصابة بالميكورايزا على هذه الاشجار وجد أن الجذور المصابة عاشت فترة زمنية أقصر من جذور المقارنة ،وعزي السبب في ذلك إلى ان تفرع الجذر كان أكثر وضوحا في أشجار الميكورايزية حيث ان تأثير الميكورايزا أو انخفاض طول عمر الجذر ربما يكون له صلة بتأثيره على درجة التفرع حيث عند زيادة التفرعات يتراجع طول عمر الجذر وعند قلة التفرعات كما في البرسيم يزداد طول عمر الجذر.

هناك حاجة رئيسية في دراسات تأثير الميكورايزا على شكل الجذور للتمييز بين التأثيرات الناتجة عن حجم النبات من تلك الناتجة عن الميكورايزا ، فقد تم تقييم تأثير التلقيح مع *G. etunicatum* و *G. clarum* ومستويات مختلفة من الفسفور (0 – 200) ملغم / كغم على الذرة فوجد ان الميكورايزا تزيد من وزن الجذور وعدد التفرعات من المرتبة الأولى والثانية وتركيز الفسفور ولكن انخفضت نسبة الجزء

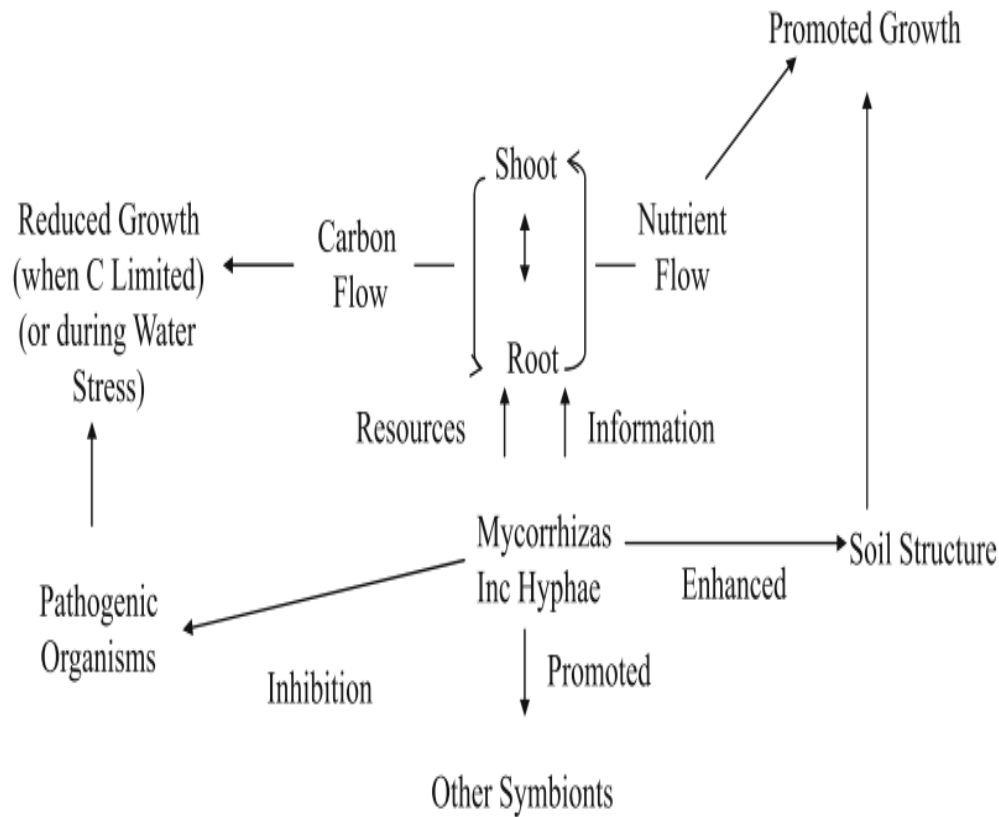
الجذري / الجزء الخضري وعدد الشعيرات الجذرية ، والشكل (9-9) يبين تأثير فطريات الـ VAM على شكل وعمل الجذر .

لمعرفة تأثير التلقيح بفطر المايكورايزا على زيادة المساحة السطحية لجذور نباتات الذرة الصفراء Zea mays والطماطة وجد Taylor (2008) زيادة معنوية في المساحة السطحية للجذور المصابة بفطر المايكورايزا وكذلك في عدد وحجم الخلايا في القشرة الداخلية والخارجية للجذور المصابة ، اذ بلغت مساحة جذور الذرة الصفراء المصابة 37 سم²/سم طول جذر والطماطة 163 سم²/سم بالمقارنة مع الجذور غير المصابة 11 سم²/سم و 160 سم²/سم للنباتين على التوالي.

ان اصابة خلايا القشرة للجذور بالمايكورايزا تؤدي الى زيادة نشاط هذه الجذور بزيادة المايكوكندريا وزيادة الجريان الاندوبلازمي والشبكة الاندوبلازمية وزيادة حجم النواة وتقل كمية النشا . وكذلك زيادة المحتوى الكلوروفيلي في الخلايا النباتية ، حيث وجد بان هناك علاقة ربط قوية بين تركيز الكلوروفيل ودرجة الاصابة ، ان هذه الحالة من خلالها نستطيع ان نوضح بان زيادة الكلوروفيل بالنبات يعني جعل النبات (Helthy) اي بحالة صحية جيدة بعد الاصابة مما يزيد من استقبال الفوتونات الضوئية من قبل الاوراق الخضراء وبالتالي استمرارية ونجاح عملية التركيب الضوئي وبالتالي نحصل على النمو او ما يسمى بالـ (respons) نتيجة الاصابة بالمايكورايزا التي من شأنها ان تزيد من كمية الانسجة الناقلة واوعية الخشب والحزم الناقلة الاخرى بالاضافة الى زيادة الاوراق وخلايا الميزوفيل وعدد البلاستيدات .

درست التداخلات بين المايكورايزا والمسببات المرضية ، وافترض ان زيادة التفرعات التي تحدثها الإصابة بالمايكورايزا تزيد التعرض للإصابة بالمسبب المرضي *Phytophthora* الذي عادة ما يصيب طرف الجذر ، فقد وجد ان زيادة التفرعات في النباتات غير مايكورايزية ادت الى زيادة الاصابة بالمرض ، بينما زيادة التفرعات في

النباتات المايكورايزية خفضت الإصابة بالـ *Phytophthora* نتيجة إنتاج الافرازات . وفي هذا الاطار وجد ان جذور نباتات الطماطة المصابة بالمايكورايزا الـ VAM قد زاد افرازها من حامض Jasmonic ومادة Polenyialanin الفعالة ، التي تحد من شدة الاصابة بالفطريات الممرضة الموجودة في منطقة الرايزوسفير.



شكل 9-9: تأثير فطريات الـ VAM على شكل وعمل الجذر. (Mukerji وآخرون ، 2006) .

العوامل المؤثرة على نشاط المايكورايزا

يتأثر نشاط فطر المايكورايزا بالعديد من العوامل الحيوية واللا حيوية وهذه العوامل يمكن ان تؤثر في التداخل بين النبات والمايكورايزا . ونستطيع ان نوجز هذه العوامل بمايلي :

أولاً: العوامل الغير حيوية Abiotic factors

هناك العديد من العوامل غير الحيوية التي تؤثر في نشاط فطريات المايكورايزا ومنها خصوبة التربة ودرجة الحرارة والـ pH ورطوبة وتهوية التربة ونوع التربة ودرجة الملوحة واستعداد النبات للإصابة والمادة العضوية في التربة وغيرها.

1- خصوبة التربة : مغذيات التربة ولا سيما الفسفور تعد من اهم العوامل غير الحيوية التي تؤثر على فطريات المايكورايزا ، فان كل من النتروجين والفسفور يؤثران معنويا على المستعمرات الجذرية عند تواجدهما في مستويات عالية ولهذا فان حالة التوازن لهذين العنصرين حالة مطلوبة ، ان الاحتياجات الغذائية للعائل النباتي والاحتياجات الغذائية للكائن الحي يجب ان لا تكون في حدود حد الكفاية الحرج لان ذلك يعني ببساطة دخول في نوع من المنافسة على مصدر الغذاء ، وهذا ما يفسر ان بعض النباتات الملقحة بالـ VAM قد تنخفض اوزانها الجافة او معدل نموها لان الـ VAM والنبات دخلا في هذا النوع من التنافس بحيث يكون معدل صافي التمثيل الضوئي (Photosynthesis) في قصور لكل من الـ VAM والنبات وبذلك يتغير التداخل من Mutualism (+ ، +) الى (- ، +) Parasitism .

ان هناك بعض المعلومات حول التأثيرات السلبية لاسمدة النتروجينية على تكوين المايكورايزا ، فقد وجد ان النتروجين (نترات الامونيا) يقلل بوضوح كل من الاصابة بالمايكورايزا وعدد الابواغ في حقول الحنطة ، واطهرت نتائج البحوث ان للامونيوم (NH_4^+) تأثيرا مثبطا للاصابة بالمايكورايزا مقارنة بالنترات (NO_3^-) حيث ان النباتات المسمدة بنسب عالية من الامونيوم الى النترات تمتلك محتوى فسفوري في انسجتها اعلى من النباتات المسمدة بنسب منخفضة من NH_4^+ الى NO_3^- وان هذه التراكيز العالية من الفسفور في انسجة النبات ادت الى تثبيط الاصابة وقد يعزى سبب التأثير المثبط للامونيوم الى انخفاض الـ pH في منطقة الرايزوسفير ولمعرفة تأثير

الاسمدة على المايكورايزا يجب التعرف على الخصوبة الاولى للتربة لان في الترب الفقيرة سيكون انتاج الابواغ محددا بالكمية الكلية وليست النسبة المئوية للجذور المصابة المتتاتية من النمو النباتي .

اما بالنسبة الى الاسمدة الفوسفاتية فقد اوضحت بعض الدراسات ان لهذه الاسمدة تاثيرات سلبية على فطريات المايكورايزا الداخلية فزيادة الفسفور المجهز قد يقلل الاصابة بالمايكورايزا الى مستويات تكون غير كافية لتشجيع امتصاص عناصر اخرى ، فقد وجد ان التلقيح بالمايكورايزا زاد نمو نبات الذرة معنويا مع انخفاض الخصوبة وان محتوى الفسفور والزنك للمجموع الخضري للنباتات الملقحة النامية في تربة منخفضة الخصوبة كان اكثر من النباتات غير الملقحة . ان زيادة مستوى الفسفور الجاهز يعد مثبطا لنمو المايكورايزا عكس الاشكال غير الذائبة كصخر الفوسفات (Rockphosphate) التي لا تعد مثبطة . ونتائج التميمي ، (2000) على نباتات القمح اكدت ذلك حيث وجد ان اضافة مستويات الفسفور (60 ، 120 ، 240) كغم فسفور / هكتار ادت الى خفض النسبة المئوية للجذور المصابة في المعاملات المسمدة مقارنة بالمعاملات غير المسمدة ، حيث ادى المستوى 240 كغم فسفور / هكتار الى غياب الاصابة بشكل كبير وازالة التاثير المفيد للاصابة المايكورايزية .

وان سبب انخفاض الاصابة المايكورايزية نتيجة زيادة مستويات الفسفور فقد بينه Ratnayake وآخرون ، (1978) و Cooper ، (1984) وهو ان تحت ظروف نقص الفسفور تنخفض كمية الفوسفوليبيدات في اغشية خلايا الجذور فيؤدي الى زيادة نفاذية هذه الاغشية وهذا يقود الى زيادة افراز الجذر للسكريات المختزلة والاحماض الامينية والتي تؤدي الى تكوين المايكورايزا وبذلك تزداد نسبة الجذور المصابة ، اما تحت ظروف توافر الفسفور فتقل نفاذية الاغشية لخلايا الجذور بسبب زيادة الفوسفوليبيدات فيها وبالنتيجة تقل افرازات الجذور من السكريات المختزلة والاحماض الامينية وهذا

يؤدي الى انخفاض نسبة الجذور المصابة . كما ان انخفاض نسبة الاصابة قد يعود الى زيادة تركيز الفسفور في انسجة النبات ، ويمكن ان يعزى السبب الى ان مستويات الفسفور العالية قد تقلل من تركيز الكربوهيدرات في جذور النباتات وبالنتيجة تقل نسبة الاصابة . وعلى العموم ان خصوبة التربة العالية تؤدي الى تقليل الاصابة بالمايكورايزا لذا من غير المحتمل ان نجد الكثير من المايكورايزا في الترب المزروعة بكثافة و مع ذلك فان بعض المحاصيل تكون شديدة الاصابة بالفطر حتى في الترب الخصبة جدا ، حيث ان المايكورايزا وجدت متوافرة في كل الترب الفقيرة والغنية وعليه فان المستوى المنخفض للخصوبة هو ليس دائما شرطا على تطور كبير للمايكورايزا.

2- الحرارة : اوضحت الدراسات ان للحرارة تاثير على تكوين السبورات والمستعمرات في ظروف البيت الزجاجي ، حيث ان درجة الحرارة عادة تؤثر في زيادة المستعمرات وبالتالي تزيد من السبورات ، وجد ان اعلى تطور للشجيرات تكون عند درجة 30م⁰ ، ولكن من حيث تكوين المستعمرات الجذرية وتكوين المايسيليوم على سطوح الجذور فتكون درجة الحرارة المثالية (20 – 30) م⁰ ، اما تكون السبور والانواع التي تكون الكيس السبوري فتكون على اشدها عند 35م⁰ ، وقد اظهرت الدراسات ان تعاقب درجات الحرارة وانخفاضها يزيد من تكون المستعمرات وكذلك السبورات ، فقد اوضحت النتائج التي توصل اليها Yoh- ichi Matsubara وآخرون ، (2000) انه بعد سبعة أسابيع من التلقيح وعلى درجة حرارة 20 م⁰ / 25م⁰، سجل مستوى الاصابة بالـ *Gigaspora margarita* في الجذور 63.0 % ، و 20 % بالـ *Glomus* sp. RIO (جدول 9-3) وأعطت النباتات المصابة بالفطر اعلى القيم لارتفاع النبات ، والوزن الجاف للجزء الخضري ، وتركيز الفسفور في الجزء الخضري والجذري مقارنة بالنباتات غير الملقحة ، حيث ان التأثير كان أكثر وضوحا في *Gigaspora margarita* من *Glomus* sp. RIO ، اما بعد أحد عشر أسبوعا

من التلقيح وعند جهد انخفاض الحرارة الى 15م⁰ سجل مستوى الاصابة 48.9% بالـ *Gigaspora margarita* و 58.9% بالـ *Glomus sp. RIO* (جدول 9-4). وأظهرت النباتات المصابة بالفطر أعلى القيم في جميع الصفات المدروسة مقارنة مع تلك غير الملقحة. في حين بعد أحد عشر أسبوعا من التلقيح وعند درجة حرارة 30م⁰ كان مستوى الاصابة 66.3% في *Gigaspora margarita* و 36.7% في *Glomus sp. RIO* (جدول 9-5).

جدول 9-3 : تأثير التلقيح بالمايكورايزا AM في نمو شتلات asparagus . اخذت 10 نباتات بعد 7 اسابيع من التلقيح .

نسبة الاصابة	تركيز الفسفور		الوزن الجاف		No.of Crowns	No.of Shoots	ارتفاع النبات (سم)	التلقيح بالـ AM fungus
	جذور	خضري	جذور	خضري				
0	0.7	1.8	0.3	0.2	1.7 a	2.4 a	22.2 b	بدون تلقيح
63.0	4.7	7.0	0.3	0.9	1.6 a	4.0 a	43.3 a	<i>Gigaspora margarita</i>
20.0	2.4	4.1	0.3	0.6	2.6 a	4.3 a	38.3 a	<i>Glomus sp. RIO</i>

جدول 9-4 : تأثير جهد الحرارة الواطىء (20 / 25 م⁰ ← 15 م⁰) على نمو asparagus عند التلقيح بالمايكورايزا AM وعدم التلقيح . اخذت 10 نباتات بعد 11 اسبوع من التلقيح .

نسبة الاصا بة	تركيز الفسفور		الوزن الجاف		No.of Crowns	No.of Shoots	ارتفاع النبات (سم)	التلقيح بالـ AM fungus
	جذور	خضري	جذور	خضري				
0	0.5	0.8	0.6	0.3	1.6 b	2.7 b	23.5 b	بدون تلقيح
48.9	2.2	2.2	1.5	2.2	3.3 a	4.4 a	52.7 a	<i>Gigaspora margarita</i>
58.9	2.1	3.0	2.4	2.2	3.4 a	4.6 a	51.8 a	<i>Glomus sp. RIO</i>

جدول 5-9 : تأثير جهد الحرارة العالي (20 / 25 م° ← 30 م°) على نمو
asparagus عند التلقيح بالمايكورايزا AM وعدم التلقيح . اخذت 10
نباتات بعد 11 اسبوع من التلقيح .

نسبة الاصابة	تركيز الفسفور		الوزن الجاف		No.of Crowns	No.of Shoots	ارتفاع النبات (سم)	التلقيح بالـ AM fungus
	جذور	خضري	جذور	خضري				
0	0.3	0.9	0.6	0.3	1.6 b	2.8 b	31.2 b	بدون تلقيح
66.3	3.6	3.0	1.4	2.6	3.0 a	6.0 a	59.6 a	<i>Gigaspora margarita</i>
36.7	2.4	2.1	1.3	1.4	2.6 a	4.6 a	61.3 a	<i>Glomus</i> sp. RIO

3- الضوء : في هذا العامل لابد من تميز متغيرين (1) فترة الاضاءة (2) شدة الاضاءة ، فلقد اشارت البحوث ان زيادة شدة الاضاءة تزيد من المستعمرات الجذرية وعلى هذا الاساس يمكن القول ان طول الفترة الضوئية تزيد من المستعمرات ، واذا اريد زيادة المستعمرات فتكون طول فترة الاضاءة 32 ساعة وان طول فترة الاضاءة اهم من شدتها في تكوين المستعمرات ، ومن هذا نستنتج ان انخفاض شدة الضوء تؤثر قليلا وقد لا تصل الى حد المعنوية في تكوين المستعمرات ولكن طول فترة الاضاءة ذات تاثير معنوي على تكوين المستعمرات ، وقد وجد ان افضل نمو لنباتات البصل المايكورايزية كان تحت شدة اضاءة مقدارها (25,000 LUX) مقارنة بـ (13,000 LUX) ولمدة 16 ساعة ضوء (23 م°) مع 8 ساعات ظلام (14 م°) .

4- الـ pH: اوضحت الدراسات بان لرقم التفاعل الـ pH تاثير كبير على فطريات المايكورايزا وكذلك نوع الـ VAM يلعب دور في تحديد ملائمة نوع التفاعل ، حيث وجد ان *G. mosseae* توجد في الترب القلوية ، فان اغلب ترب العراق تعمل عليها هذه النوعية لانها تسود في الترب القلوية ، وهي تستطيع ان تنبت سبوراتها عند مدى

واسع يبدأ من 6-9 ، في حين نجد ان النوع *Gigaspora coralloida* والذي تم عزله من ترب فلوريد الحامضية فان سبوراته تنبت عند pH 4-6 ، وبموجب هذا نجد بان الـ *G.mosseae* اكثر ملائمة للاوساط القلوية من الـ *Gigaspora coralloida* ، ووجد ان النوع *G.epigaeum* له القدرة على ان ينبت سبوراته في مدى اوسع بحيث تخطى النوعين السابقين وهو من 6 الى اكثر من 8 ، من جانب اخر تبين ان كل من نوعي الفطر *G. intaradices* و *G.mosseae* يمكن ان تنمو في انواع مختلفة من الترب الا انها تنمو افضل في الترب المتعادلة والقاعدية في حين يفضل الفطر *Gigaspora margarita* الترب الحامضية . لذا يمكن القول ان الـ pH يؤثر على انبات سبورات الـ VAM ، ومن الجدير بالذكر ان يكون هناك نوع من الملائمة بين الـ pH الملائم لنمو العائل النباتي والـ pH الملائم لنمو الـ VAM .

5- الملوحة : اشارت العديد من الدراسات ان للملوحة تاثير مهم في النسبة المئوية للاصابة المايكورايزية وانبات السبورات ، فقد اوضحت هذه الدراسات بان هناك علاقة ارتباط سالبة بين نسبة الاصابة وعدد السبورات ومحتوى التربة من الصوديوم عند بلوغ مدى تركيز الـ Na من (153 – 11600) جزء بالمليون ، وقد لوحظ ان فطريات الـ VAM تختفي تماما عندما يزيد تركيز الـ Na على 3181 جزء بالمليون . ومن الدراسات التي تناولت هذا الموضوع الدراسة المعروضة نتائجها في الجدول (6-9) حيث بينت ان ارتفاع التراكيز الملحية (1 ، 3 ، 6) ديسيسمنز.م¹ في منطقة جذور نباتات الطماطة قد تسبب في خفض نسبة الاصابة معنويا عند كل نوع من فطريات المايكورايزا وعند الطريقتين من اضافة اللقاح (مع البذور ، مع الشتلات) ، الا ان الفطر *G.mosseae* سجل اعلى نسبة اصابة كمعدل عند كل مستوى ملوحة مقارنة بباقي الانواع وبكلتا الطريقتين من اضافات اللقاحات .

ان عملية انبات سبورات فطريات المايكورايزا تمر باربعة اطوار هي طور الترطيب وطور التنشيط وطور ظهور انبوب الانبات وطور نمو الهائفات وان فشل واحد او اكثر من هذه الاطوار بفعل التراكييز المرتفعة للاملاح الذائبة في محلول التربة قد يؤخر او يوقف نمو وتطور الهائفات وبالتالي فشل عملية تلقيح العائل النباتي، فقد استخدمت ثلاثة مصادر من الاملاح (كلوريد الصوديوم ونترات الصوديوم وكلوريد البوتاسيوم) وبتراكييز مختلفة لدراسة تاثيرها على مكونات انبات سبورات خمسة انواع من المايكورايزا الداخلية في ثلاث تجارب منفصلة واطهرت النتائج بان سبورات هذه الفطريات تختلف في قدرتها على تحمل التراكييز الملحية المرتفعة وان مكونات انبات سبورات الفطر *G.mosseae* متفوقة معنويا على باقي مكونات انبات سبورات الفطريات الاخرى، وان نسبة انبات سبورات المايكورايزا انخفضت معنويا عند تجاوز التراكييز الحرجة لايوني الصوديوم والكلور وقد عزي السبب لعدم تمكن السبورات من امتصاص الماء نتيجة ارتفاع الضغط الازموزي وفشل الطور الاول (طور الترطيب) في عملية الانبات او تثبيط عملية الانبات بفعل التأثير السمي لايوني الصوديوم والكلور وان التأثير السام لايون الصوديوم كان اكثر من التأثير السام لايون الكلور على عملية الانبات (السامرائي والطائي ، 2003a) ، وفي دراسة لنفس الباحثين (السامرائي والطائي ، 2003b) استخدموا فيها خمسة مستويات من كاربونات الكالسيوم (20% ، 30% ، 40% ، 50%) وخمسة مستويات من كبريتات الكالسيوم (5% ، 15% ، 25% ، 50%) لمعرفة تاثيرهما في مكونات انبات ابواغ خمسة انواع من فطريات المايكورايزا بينت النتائج ان النسب المرتفعة من كاربونات الكالسيوم (40% - 50%) و كبريتات الكالسيوم (15% ، 25% ، 50%) تخفض نسبة الانبات ومكونات الانبات الاخرى ، الا ان التأثير يختلف باختلاف اجناس المايكورايزا *Glomus* و *Gigaspora* وكذلك بين الانواع ضمن الجنس *Glomus* ، وان المستوى الحرج من كاربونات الكالسيوم هو (20% - 30%) لكبريتات الكالسيوم هو (5% - 10%)

والذي بعد تجاوزه تنخفض نسبة الانبات ومكونات الانبات الاخرى وعزوا السبب في انخفاض نسبة الانبات الى قلة توفر الاحتياجات الغذائية من الفسفور وعناصر اخرى بسبب ارتفاع نسبة كاربونات وكبريتات الكالسيوم وكذلك بفعل التأثير الضار لايوني الكالسيوم والكبريتات في التربة.

وفي المقابل هناك دراسات اوضحت بان فطريات المايكورايزا تظهر طبيعيا في البيئات الملحية بالرغم من الالفة القليلة بين المايكورايزا والنباتات الملحية Halophytic ، ففي احد البحوث في باكستان قسمت العينات النباتية وعينات التربة لمناطق الرايزوسفير لـ 89 نوع من النباتات الى ثلاث مجاميع نباتية وهي نباتات Halophytic و Xerophytes و Hypophytis فكانت نتائج البحث بان 21 نبات من الـ 89 من نوع Halophytic قد اصببت بفطريات الـ VAM ، مما يدل على ان الـ VAM تعمل ضمن التراكمز الملحية ، وهناك 11 نوع نباتي من الـ 89 كان قد طور سبورات في منطقة الرايزوسفير ، وهذا دليل كافي على ان النباتات المختلفة 21% بها اصابة و 11% بها اصابة وسبورات . وفي سهل تبريز وجد Aliasgharzadeh وآخرون ، (2001) ان عدد سبورات المايكورايزا لم يتناقص بشكل معنوي مع ازدياد ملوحة التربة وقد بلغ معدل السبورات 100 سبور لكل 100 غرام تربة جافة ، وان غالبية اجناس المايكورايزا التي وجدت في تربة السهل الذي تصل ملوحته الى 160 ديسيسمنز.م¹ هي *G.intraradices* , *G.versiform* , *G.etunicaum* وقد عزي السبب في ذلك الى تحفيز تكوين السبورات عند الاجهاد الملحي اي ان المايكورايزا تنتج سبورات عند المستويات المنخفضة لاصابة الجذور في ظروف الاجهاد الملحي الذي يعمل على تثبيط تكوين المايكورايزا من السبورات ومن ثم تراكم السبورات في التربة .

جدول 9-6 : تأثير مستويات كلوريد الكالسيوم وطريقة اضافة اللقاح وفطريات المايكورايزا في النسبة المئوية للجذور المصابة لنباتات الطماطة . (السامرائي والطائي، 2002) .

طريقة اضافة اللقاح								انواع المايكورايزا (VAM)
الاضافة مع الشتلات				الاضافة مع البذور				
التراكيز الملحية (ديسيمنز.م ⁻¹)				التراكيز الملحية (ديسيمنز.م ⁻¹)				
المعدل	6	3	1	المعدل	6	3	1	
57	50	57	63	66	53	67	77	<i>G.mosseae</i>
53	47	53	60	58	50	57	67	<i>G.etunicatum</i>
49	40	47	60	55	43	57	64	<i>G.leptoticum</i>
47	43	46	53	56	50	57	60	<i>G.intraradices</i>
44	40	43	50	50	47	50	53	<i>G.igaspor spp</i>
-	44	49	57	-	49	58	64	المعدل
الملوحة = 3.7 ، الاضافة = 4.5 ، VAM = 5.8 ، 10.3=VAM× الملوحة× الاضافة = 8.1 ، VAM × الملوحة = 9.5 ، 13.9= VAM								0.5 LSD

ثانيا : العوامل الحيوية Biotic factors

هناك بعض الكائنات الحية تكون داخلية فيما يسمى Comnelizan effect عند تواجد كائنين مع بعضهما البعض فمن شأنهما ان احدهما يحفز الاخر ، فان وجود المايكورايزا مع الـ *Azotobacter* مثلا يزيد من معدل تحرر الساييتوبلازم وبالتالي تمكن النباتات ان تعيش في مستويات منخفضة من الحديد مع عدم ظهور اعراض نقص الحديد ، واشارت العديد من البحوث والدراسات الى تاثير مجاميع الاحياء المجهرية المختلفة وبشكل خاص البكتريا في انبات ونمو فطريات المايكورايزا الشجيريه ، حيث اطلق مصطلح البكتريا المساعدة للمايكورايزا (Mycorrhizal Helper Bacteria) على مثل هذه التأثيرات . فالبكتريا تزيد من المايكورايزا اما من خلال ازالة المثبطات

الذاتية (Self-inhibitors) لسبورات الفطر او انتاج مواد كيميائية تحفز نمو السبورات ، فضلا عن زيادة افرازات النبات من خلال زيادة نفاذية الاغشية وبالتالي زيادة في نمو الفطريات وقابليتها في اختراق المضيف ، (سوف نتناول العلاقات بين المايكورايزا واحياء التربة المجهرية الاخرى في مواضيع اخرى من هذا الفصل). وقد وجد ان فايروس المزائيك الاصفر على الماش (Mung bean yellowmosaic virus) قد اختزل نسبة الاصابة بالمايكورايزا وانتاج الابواغ بواسطة الفطريات

Acaulospora و *G. Fasciculatum* , *Glomus constrictum* ، اما الفطر *Gigaspora gilmoreii* فلم يستطيع ان يكون اي جذور مايكورايزية في النباتات المصابة بالفايروس مقارنة بالنباتات السليمة .

هناك محاولات عديدة منذ سنين اهتمت بدراسة حالة التنافس ما بين المايكورايزا المدخلة الى وسط النمو (الرايزوسفير) والمايكورايزا المستوطنة وعادة ما تنفذ هذه الدراسات في اوساط معقمة بالكامل او معقمة جزئيا وعلى هذا الاساس يكون التنافس ما بين الانواع التي تقع ضمن الـ VAM المدخلة ، وكانت تؤخذ بنظر الاعتبار عدد من المتغيرات اهمها نسبة الاصابة في الجذور ثم حساب الجذور المايكورايزية ، وكذلك معرفة تكوين السبورات بعد اضافة الـ VAM الى وسط النمو، وبموجب هذا فان نوع اللقاحات المضافة ستأخذ نوعين من التأثيرات ؛ اما تأثير ايجابي او تأثير سلبي (تنافس) ، التأثير الايجابي قد يعظم من نسبة الاصابة والسبورات ويزيد من انتاج السبورات بسبب التأثير الايجابي لكائن حي على كائن حي اخر ، اوضحت الدراسات ان هناك نوع اخر من التنافس ينشأ ما بين انواع الـ VAM المدخلة الى وسط النمو ، والتقنية التي تحدد كيف يحدث هذا التضاد ما بين الاحياء هي اما استخدام الكيمياء الحياتية والاعتماد على المواد الايضية المفروزة من الاحياء وتحديد تراكيبها او استخدام الهندسة الوراثية لتحديد هذا النوع من التضاد . ان فطريات المايكورايزا تتعايش مع

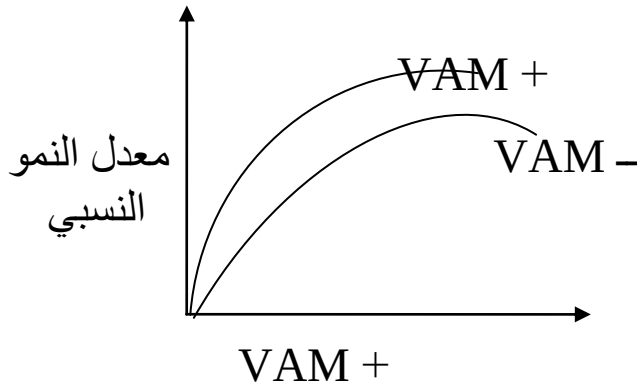
عوائل نباتية متعددة وهناك عوائل اخرى ذات ميل منخفض لهذا النوع من التعايش ، ان معظم العوائل لها استعداد عالي للاصابة بالمايكورايزا ولكن بعض الانواع مثل الصليبية والرمرامية لا تصاب بالمايكورايزا ، وقد اظهرت الدراسات ان تاريخ الغطاء النباتي في منطقة ما قد يشارك في تحديد كثافة تواجد المايكورايزا وفي احيان كثيرة سيادة جنس على اخر .

تأثير فطريات المايكورايزا في نمو النبات

اهتم العاملون في تغذية النبات بدراسة تأثير فطريات المايكورايزا في نمو النبات ، ولكن ما فائدة دراسة احياء التربة ما لم نكن قد سخرنا هذه الاحياء لتعظيم الانتاج من خلال علاقات تكافلية symbiotic يكون للعائل النباتي دور يستفاد منه في الغالب ، هذه الاستفادة تنحصر في تحسين صفات النمو ويعكسه على الحاصل بنفس الوقت يكون للعائل النباتي دور يستفاد الكائن الحي لكي تستمر حالة التعايش ضمن ما يسمى Micoorganism plant society التي تتشكل من حالة التعايش بين العائل النباتي والكائن الحي . يوجه بعض المزارعين في العالم الى تسخير مثل هذه الاليات في زيادة الانتاج كالهند ، نيوزلندة ، كندا ، استراليا وانكلترا وخصوصا الدول التي تعاني من شحة في مصادر الطاقة والسبب في ذلك هو التفكير في ايجاد بدائل للتعويض عن الاسمدة المضافة او تقليل حلقة من حلقات انتاج الاسمدة ، الا ان في الحالة هذه لابد من زيادة الكثافة اللقاحية حيث الكائنات الحية توجد ضمن Population لربما يكون مؤثر في عملية الانتاج ، لكن هذه الكثافة اللقاحية قد تكون ضعيفة الى الحد الذي لا يظهر بها تأثير الكائن الحي على النبات ، فيجب زيادة الكثافة اللقاحية لكائن حي معين ثم تقديم هذا اللقاح بطريقة اكثر كفاءة لكي نحصل على ما يسمى تعظيم الانتاج .

اشارت كثير من الدراسات الى ان فطريات المايكورايزا (VAM) تصيب العائل النباتي مسببة زيادة واضحة في الاوزان الجافة للمحاصيل ، والمقصود هنا ان اضافة

اللقاح يتسبب في حصول تسارع في معدل النمو النسبي للنبات وبذلك تكون العلاقة بين منحنى النمو وبين لقاح المايكورايزا علاقة موجبة في الغالب .



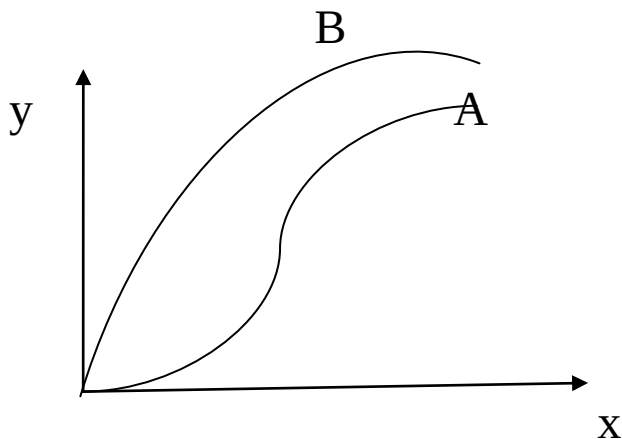
شكل 9-10 : منحنى النمو بين معدل النمو النسبي وازدواج لقاح المايكورايزا

هذا المنحنى يؤخذ اشكال مختلفة عند ربط العلاقة بين النسبة المئوية لمعدل النمو وكمية اللقاح المضاف ويعتمد في الغالب هذا المنحنى على عدد من العوامل اهمها :

1- كمية الفسفور الجاهز للنبات : ان محتوى التربة من الفسفور سوف يعمل على تحديد نوع المنحنى، فلو كانت التربة ذات محتوى مرتفع من الفسفور فان عمل المايكورايزا الـ VAM سوف يكون محدودا وخصوصا اذا علمنا ان نسبة الاصابة سوف تنخفض في الترب ذات المحتوى المرتفع من الفسفور وعليه فان المتوقع تكون هناك زيادة في اوزان المادة الجافة للنباتات غير الملقحة عن النباتات الملقحة ، او لا نحصل على اي فروق معنوية بين هاتين الحالتين .

2- قدرة التربة على امتزاز الفسفور : ان استجابة النبات لاضافة لقاح المايكورايزا ترتبط ارتباطا وثيقا مع قدرة التربة على ادمصاص عنصر الفسفور، حيث ان في الترب ذات القدرة العالية على امتزاز الفسفور تكون مايسمى Thersheld value ، أي ان اي اضافة معينة على x-axis لا يرافقها اي زيادة على محور y-axis مما يتسبب في ظهور منحنى على شكل (ك) ، حيث ان منحنى الاستجابة قابل للتغير في الترب ذات القدرة العالية على امتزاز الفسفور بحيث يتحول من منحنى (Sign shap) على شكل (ك) الى منحنى طبيعي

(B) مع اختفاء ما يسمى Thersheld value بعد اضافة المايكورايزا ، اي ان المايكورايزا لها القدرة على تصحيح اشكال النمو وخصوصا الشكل (ر) .



شكل 9-11: منحنى الاستجابة

ان منحنى الاستجابة للمايكورايزا يظهر لنا مقارنة افقية لاننا :

أ- يهمننا كم نستطيع ان نوفر من السماد لو استخدمت المايكورايزا بدلا من اضافة الفسفور .

ب- كم نستطيع ان نضيف فسفور غير ذائب لكي نصل بكمية الحاصل تساوي او تقترب من لو استخدمت الفسفور المذاب مع فطريات الـ VAM. ولكي نحصل على اعلى حاصل من اي نبات X-Plant يجب ان نستخدم (100 كغم) من الفسفور ، ولكن اشارت العديد من الدراسات ان هذا ممكن ان نحصل عليه باضافة 20 كغم فسفور على ان يكون النباتات ملقحة بفطريات المايكورايزا ، اي وفر 80 كغم من الفسفور اي ان المايكورايزا تعمل على هذا الاتجاه ذات اهمية اقتصادية .

ج- ان المايكورايزا كما بينا سابقا يمكن ان تستفاد من الفسفور غير الذائب في التربة بواسطة اضافة كميات قليلة من الفسفور غير الذائب يمكنها ان تحسن الانتاج وهذه ناحية اقتصادية كبيرة .

د- ان المايكورايزا تعمل عمل المقاومة الحيوية للمسببات المرضية وكنتيجة لذلك فان نمو النبات يصبح اكبر ويزداد انتاجا لعدم وجود مسبب مرضي .

1- دور المايكورايزا في تشجيع امتصاص العناصر الغذائية

أ- تاثير فطريات المايكورايزا الداخلية في امتصاص الفسفور

ان عملية امتصاص الايون من قبل الجذور النباتية من التربة محدد بعاملين هما نقل الايونات من التربة والقوة الامتصاصية للجذر ، ومعروف لدى الباحثين ان انتقال العناصر الغذائية يتم عبر الجريان الكتلي او الانتشار ، فاذا ما حدث نقل الايون الى الجذر عن طريق الجريان او الانتشار فانه يعتمد على مدى حركة ذلك الايون في التربة ، وعندما يكون الطلب على العنصر الغذائي عاليا وتركيزه في محلول التربة منخفضاً ، فأن الجريان الكتلي لا يلبي حاجة النبات من هذا العنصر ، فيلعب الانتشار دورا اساسيا في انتقال العنصر الغذائي ، وكون عنصر الفسفور ينقل الى الجذور عن طريق الانتشار لانه عنصر غير متحرك ، لذا فان دور فطريات المايكورايزا يكون كبير في زيادة امتصاص الفسفور والعناصر الاخرى التي تنتقل عن طريق الانتشار كالزنك وغيرها ، حيث ان النباتات الملقحة بالمايكورايزا تمتلك معدلات عالية من النمو نتيجة تشجيع امتصاص العناصر الغذائية ولاسيما الفسفور في الترب التي تعاني من نقص هذا العنصر مقارنة بالغير ملقحة بالمايكورايزا ، حيث يتم امتصاص العناصر الغذائية عن طريق هايفا الفطر الموجود في التربة ، يلي ذلك نقل هذه العناصر حتى تصل الى المايسيليوم النامي داخل الجذر ثم تنتقل الى Symbiotic interfaces وهذا الاخير يكون محاطا بالغشاء البلازمي للفطر والنبات وهنا يتم تبادل العناصر الغذائية ما بين الفطر والنبات . حيث هناك مسارين متميزين لامتصاص النبات للفوسفات ، مسار مباشر (direct pathway) في حالة عدم وجود الفطريات والثاني، مرتبط بفطريات المايكورايزا (AM pathway) (شكل 9-12). ان اكتساب الفوسفات بواسطة مسار الـ AM يبدأ بامتصاص P_i الحر في التربة عن طريق الهايفا الفطرية الخارجية fungal extra-radical hyphae ، هذه الهايفا تمتد الى خارج النظام الجذري للمضيف ، مما يؤدي الى زيادة حجم التربة لتستغل لامتصاص الفوسفور ، وبالإضافة

إلى ذلك فطريات الـ AM تشجع الاستجابات الفسيولوجية للمضيف مثل التفرعات الجذرية وإفراز إنزيم الفوسفاتيز التي تعزز بشكل غير مباشر امتصاص الفوسفور . وضعت العديد من الآليات التي تفسر زيادة امتصاص الفسفور في النباتات الملقة بفطريات المايكورايزا وهذه الآليات هي :

1- استكشاف مناطق بعيدة عن متناول الجذور

ان نمو الفطر داخل الخلايا الجذرية وتكوين الشجيرات والحويصلات والهايفات سوف يزيد من قدرة المجموع الجذري على امتصاص الفسفور غير المتيسر أي زيادة الاستكشاف الموضعي ، فان الهايفات وشبكة المجموع الجذري تستكشف مناطق بعيدة عن متناول الجذور زيادة التغلغل في التربة والنمو الكثيف للهايفات الممتدة من الجذور الملقة الى التربة وامتدادها الى مناطق واقعة خارج مناطق الاستنزاف Depletion zones absorption ، فان الخيط الفطري (الهايفا) يتمكن من التمدد والاستطالة بقدر 5 سم من الجذر والذي يزيد من حجم التربة . ولمعرفة تأثير المايكورايزا في نمو نوعين من نباتات الطماطة (LA I 709 و Large cherry) التي زرعت في مستوى منخفض من الفسفور ، اوضحت البيانات ان التلقيح ادى الى زيادة معنوية في المادة الجافة وطول الجذور ومحتوى الفسفور الحاصل في النوع LA1709 واقل تأثير في النوع الثاني. اما النباتات غير الملقة فأظهرت العكس من ذلك ، اذ كانت النباتات غير الملقة للنوع Large cherry اكثر معنوية في طول وكثافة الجذور من نباتات النوع LA1709 الذي اعتمد على الفسفور المضاف، وعزي السبب الى استكشاف حجم تربة اكبر وامتصاص كميات اكبر من الفسفور عند النمو في مستوى منخفض من الفسفور.

2- تحويل بيئة الجذر

لفطريات المايكورايزا القدرة احداث بعض التغيرات البيئية في منطقة الرايزوسفير وذلك من خلال افرازها لكثير من المركبات العضوية والتي من شأنها ان

تغير من بيئة الجذر كالأحماض العضوية والأمينية والانزيمات والتي تعمل على إذابة مركبات الفسفور المعقدة في المنطقة المحيطة بالجذور وبذلك تتحول الى اشكال ذائبة كلياً ، مما يؤدي الى زيادة امتصاص الفسفور.

3- تقليل المسافة التي يقطعها الفسفور بالانتشار

ان الفسفور ينتقل عن طريق الانتشار لذلك فأن وجود الخيوط الفطرية الخارجية (الهايفات) تعمل على تقليل مسافة الانتشار بنسبة تصل الى 90% وزيادة المساحة السطحية للامتصاص، حيث ان المايكورايزا بوصفها نظاما جذريا معدلا(modifiers) لخصوبة التربة تكمن اهميتها في حركة العناصر بتكوين الفطر لشبكة من الهايفات تمتد من الجذور المصابة الى التربة المحيطة بالجذور وتقلل المسافة التي يقطعها الفسفور بالانتشار للوصول الى الجذر فتضيف مساحات امتصاص اضافية لوصولها الى منطقة ما وراء الاستنفاد(depletion zone) حيث تكون العناصر الغذائية متيسرة مما يمكن هايفات الفطر ان تمتصها وتنقلها بسهولة وبكفاءة اعلى من الجذور غير المايكورايزية ، ووجدت زيادة في قطر منطقة الاستنفاد حول جذور نباتات البصل من 1.2 ملم في النبات غير الملقح الى 7 ملم في النبات الملقح.

وهناك عدد من الدراسات اشارت الى ان هناك بعض الاليات التي من شأنها تزيد من معدل امتصاص الفسفور من قبل النباتات المايكورايزية ومنها :

أ- السرعة العالية لانتقال الفسفور خلال الهايفا مقارنة بانتقاله في الجذور، حيث ان عملية انتقال الفوسفات عبر الخيوط الفطرية (الهايفا) الى الجذور تكون اسرع من انتقالها في التربة الى سطح الجذر، فقد وجد ان تدفق الفسفور في الخيط الفطري (الامتصاص في وحدة الطول للخيط الفطري في وحدة الزمن) هي حوالي 18×10^{-4} مول/سم² ثانية ما يقارب 6 مرات معدل التدفق في الجذور غير المايكورايزية .

ب- القدرة العالية للخيوط الفطرية على امتصاص الفوسفور من التراكيز الواطئة لهذا العنصر من محلول التربة.

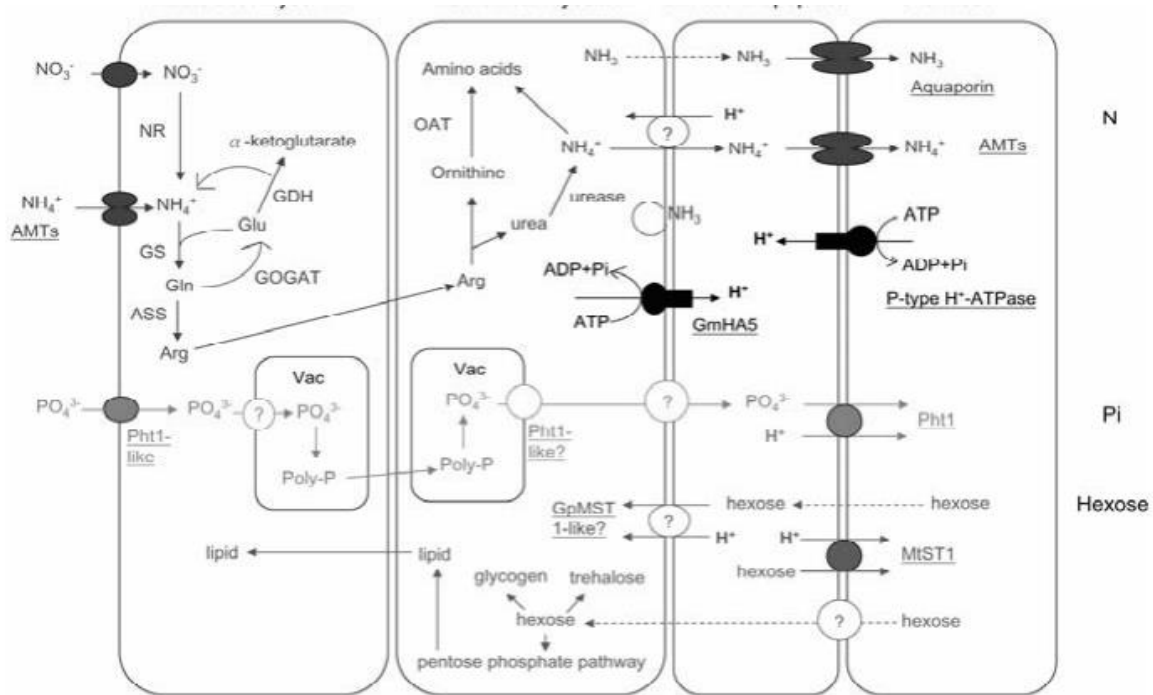
ج- القدرة المتوقعة لهذه الفطريات على استغلال مصادر الفوسفات غير الجاهزة كصخر الفوسفات وفوسفات الكالسيوم الثلاثية ومسحوق العظام .

د- ان للجذور المصابة الفة عالية للفوسفات مقارنة بالجذور غير مايكورايزية حيث ان زيادة معدل امتصاص الفسفور من قبل الجذور المصابة يرجع الى الالفة العالية للفوسفات في الجذور المايكورايزية مقارنة بالجذور غير المايكورايزية .

هناك دراسات تشير الى امكانية المايكورايزا على استغلال الفسفور من بعض المصادر العضوية مثل الفاييتين وذلك لوجود انزيم الفاييتين في الخيط الفطري الخارجي، حيث لوحظ تحلل نشط للفايتين بواسطة النباتات المصابة بالمايكورايزا في التربة. وقد تعود قابلية الجذور المصابة بالمايكورايزا الى استغلال مصادر الفسفور العضوية وتحويلها الى فسفور جاهز للنبات الى انزيم الفوسفاتيز الحامضي ، الذي لوحظ وجوده على هايفات المايكورايزا ، حيث وجد ان النشاط الانزيمي للفوسفاتيز الحامضي والقاعدي ذو علاقة وثيقة بمستوى الاستيطان الفطري لجذور الذرة الصفراء وفعالية انزيم الفوسفاتيز الحامضي تكون اكثر استجابة لجاهزية فسفور التربة من انزيم الفوسفاتيز القلوي بنسبة 38% .

هناك علاقة موجبة بين التلقيح بالمايكورايزا وامتصاص النبات للفسفور من صخر الفوسفات حيث ان الهايفات تذيب الالباتيت مما يؤدي الى زيادة الفسفور الجاهز ومن ثم زيادة امتصاص الفسفور فقد تم التاكيد على عدم جدوى اضافة الفسفور بشكله الجاهز حيث ان التراكيز العالية تؤدي الى خفض كفاءة فعاليات فطريات المايكورايزا ، فقد يتطلب استعمال (3.5-4) اضعاف كمية سماد السوبر فوسفات المضاف للحصول على حاصل متساو من النبات باستعمال الصخر الفوسفاتي وان استعمال كميات قليلة من

سماد السوبر فوسفات مع كميات كبيرة نسبياً من الصخر الفوسفاتي يؤدي الى زيادة معنوية في الفسفور الممتص من قبل النبات ، في حين ان استعمال خليط متساو من الصخر الفوسفاتي مع سماد السوبر فوسفات يؤدي الى خفض الفسفور الممتص من قبل النبات والصخر الفوسفاتي . فقد وجد بأن التلقيح بالمايكورايزا يقلل من متطلبات السماد الفوسفاتي بنسبة 80% واعلى امتصاص للفسفور في الاوراق كان بمقدار 3.91 ملغم. P^{-1} مادة جافة لنبات Mulberry حيث ان فطريات المايكورايزا تزيد من قدرة النباتات على امتصاص الفسفور وقدرته العالية على زيادة نمو النبات .



شكل 9-12: نقل النيتروجين والفوسفات والكربوهيدرات بين الفطريات المايكورايزا

والنباتات. Anwar Siddiqui (Zaki وآخرون، 2008). الاختصارات :

glutamine : GS ؛ arginine : Arg ؛ nitrate reductase: NR

: ASS ؛ Glutamate: Glu ؛ glutamine :Gln ؛synthetase

؛ Glutamate synthase: GOGAT ؛argininosuccinate synthetas

ornithine : OAT ؛ Glutamate dehydrogenase: GDH

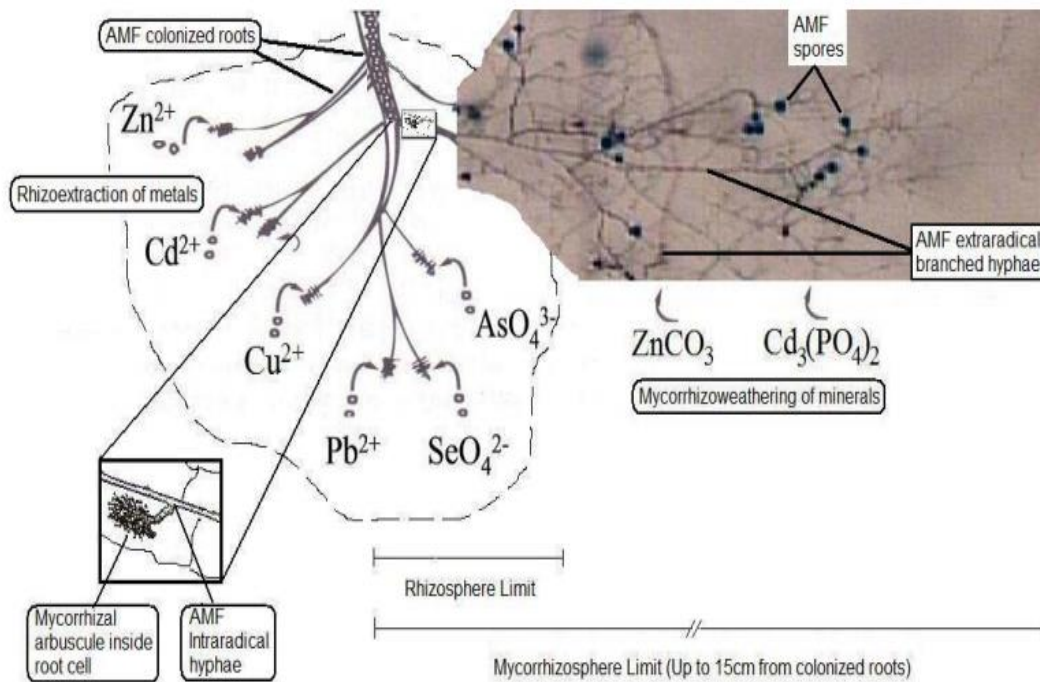
.aminotransferase

ب- تأثير فطريات المايكورايزا الداخلية في امتصاص العناصر الغذائية الأخرى

ان متطلبات النبات للنتروجين أكثر بكثير من العناصر الغذائية الأخرى في التربة ، لذا يعد هذا العنصر عاملاً محدد للنمو ، إلا ان امتصاص النتروجين واستغلاله من قبل النبات المصاب بالمايكورايزا حظي باهتمام قليل نسبياً ، مصادر النتروجين التي تستغل بصورة حرة من قبل جذور النبات هي الأمونيوم والنترات . ان للمايكورايزا قدرة عالية في عملية امتصاص NH_4^+ ، وتكون أيونات الأمونيوم أقل حركة في التربة من NO_3^- بسبب امتزازها بدقائق الطين والمواد العضوية ، لذلك من المتوقع ان تؤدي المايكورايزا دوراً مهماً في امتصاص النتروجين عندما تكون أيونات الأمونيوم ثابتة نسبياً في التربة مقارنة بأيونات النترات النشطة. حيث ان مايسيليوم فطريات المايكورايزا extraradical mycelium يمكن أن يمتص الأمونيوم والنترات ، والأحماض الأمينية، ويعتقد ان غالبية النتروجين الذي يؤخذ من قبل فطر *G. intraradices* يكون على شكل أمونيوم .

فضلاً عن ذلك فان فطريات المايكورايزا تزيد من امتصاص عناصر أخرى والتي تتحرك الى جذور النباتات بواسطة الانتشار ، حيث انها أكثر فائدة ومساعدة لانتشار العناصر المغذية المحدودة مثل الفسفور والزنك والنحاس ، حيث تستطيع الجذور المايكورايزية امتصاص الزنك والكبريت من المحلول لكل غرام جذور أسرع من الجذور غير المايكورايزية ، وهذا قد يعكس الاختلافات في العلاقة بين المساحة السطحية ووزن الجذور المايكورايزية وغير المايكورايزية ، حيث ان المساحة السطحية للجذور تكون عاملاً مهماً في امتصاص العناصر . حيث ان فطريات المايكورايزا في الـ mycorrhizosphere تحدث بشكل طبيعي في التربة لتشكيل التعايش مع جذور النباتات وإنتاج وعمل شبكة من المايسيليوم (الهيفات) (انظر الشكل 9-13). يمكن أن تنمو هذه التجمعات الفطرية في التربة بحوالي 5-15 سم من

جذور المصابة لتصل إلى أبعد واصغر مسام. و لديها القدرة على اختراق المسامات الصغيرة جدا في التربة للوصول الى الملوثات .



شكل 9-13 : تداخلات الريزوسفير والـ mycorrhizosphere مع المعادن الثقيلة في التربة. المواد المغذية والمعادن يمكن تبادلها بين الفطر والنبات المضيف عن طريق الشجيرات arbuscules المايكورايزية داخل الخلية الجذرية.

وفي سياق هذا الموضوع نذكر اهم الدراسات التي تناولت التداخل بين المايكورايزا والعناصر الغذائية ، فقد درست حالة التداخل بين فطريات المايكورايزا نوع *Glomus mosseae* واربعة مستويات من الفسفور (0 ، 60 ، 120 ، 240) كغم فسفور / هكتار وثلاثة مستويات من الزنك (0 ، 10 ، 20) كغم زنك / هكتار) في نمو نبات الحنطة من قبل التميمي ، (2000) فوجد :

1- ان النباتات الملقحة بالمايكورايزا تفوقت بمعنوية عالية في محتواها الكلي من النتروجين والفسفور والزنك على النباتات غير الملقحة ، وكانت الزيادة المئوية

في الكمية الممتصة للنيتروجين والفسفور والزنك في النباتات الملقحة عن غير الملقحة 35% ، 27% ، 63% على التوالي .

2- ان المعاملة (120) كغم فسفور / هكتار اعطت اعلى كمية ممتصة لعنصر النيتروجين والبوتاسيوم والزنك ، بينما المعاملة (60) كغم فسفور / هكتار سجلت اعلى كمية ممتصة لعنصر الفسفور ، فيحين كانت المعاملة (60 كغم فسفور / هكتار + 10 كغم زنك / هكتار) تمتلك اعلى كمية ممتصة من النيتروجين والزنك .

ويمكن ان يعزى سبب الزيادة في الكمية الممتصة لهذه العناصر الى ان الجذور المايكورايزية تمتد الى عدة سنتيمترات من سطح الجذر وتوفر نطاق فعال للامتصاص وسحب المواد الغذائية من خارج نطاق منطقة الاستنفاد ، فزيادة كمية النيتروجين الممتصة تكون ناتجة عن طريق الامتصاص المباشر لمركبات النيتروجين في التربة بواسطة الخيوط الفطرية ، اما زيادة كمية الفسفور الممتصة قد تعود الى كفاءة الامتصاص العالية للجذور المايكورايزية في امتصاص الفسفور الجاهز وغير الجاهز نتيجة التحسن الفسيولوجي والبيئي للجذور للجذور بسبب الاصابة بالمايورايزا وذلك عن طريق الاليات التي ذكرت سابقا ، في حين زيادة امتصاص الزنك قد يرجع الى التأثير المباشر عن طريق الامتصاص المتزايد بواسطة الخيوط الفطرية لعنصر الزنك ، او ان المايكورايزا تحسن عملية امتصاص الزنك في ترب فقيرة بالزنك .

اما الجدول (7-9) فيبين نتائج تجربة استعمل فيها التداخل بين التلقيح بفطريات المايكورايزا نوع *Glomus mosseae* واربع مستويات للفسفور (0 ، 60 ، 120 ، 240) كغم فسفور/ هكتار لمعرفة الكمية الممتصة لعنصر النيتروجين والفسفور والبوتاسيوم والزنك في نباتات الذرة الصفراء،ومن هذه النتائج نستطيع ان نبين الاتي :

1- تفوقت النباتات الملحقة بالمايكورايزا بمعنوية عالية في محتواها الكلي من عناصر النتروجين والفسفور والبوتاسيوم والزنك وبزيادة مئوية بلغت (70% ، 70% ، 42% ، 83%) على التوالي .

2- ان المعاملة الملحقة وغير المسمدة تفوقت بالكمية الممتصة للفسفور والزنك على المعاملة غير الملحقة والمسمدة باعلى مستوى من الفسفور ، وهذا يبين لنا كفاءة المايكورايزا في زيادة كمية الفسفور والبوتاسيوم والزنك الممتصة وان تعايشها مع المجموع الجذري يقلل من كمية السماد الواجب اضافتها للحصول على الوزن الجاف نفسه مقارنة بمستوى الفسفور نفسه في النباتات غير الملحقة .

3- فطريات المايكورايزا ادت الى زيادة كمية الفسفور والنتروجين والبوتاسيوم والزنك الممتصة عند كل مستوى من مستويات الفسفور مقارنة بالمعاملات غير الملحقة ، وان نسبة الزيادة انخفضت بزيادة مستويات الفسفور .

واختبر سلمان و السامرائي ، (2008) تاثير التداخل بين المايكورايزا والتسميد بعنصري الفسفور (0 ، 80 ، 120) كغم /P هكتار والزنك (0 ، 10) كغم / Zn هكتار في نمو الطماطة ووجدوا الاتي :

1- ان التلقيح بفطر المايكورايزا ادى الى زيادة معنوية في الفسفور الكلي الممتص وبزيادة (93.05%) مقارنة بالنباتات غير المايكورايزية ، وان اعلى كمية ممتصة من الفسفور كانت في النباتات المايكورايزية المسمدة بالـ (120 كغم P/هكتار + 0 كغم Zn/هكتار) ،

2- ادى التلقيح الى زيادة معنوية في الكمية الممتصة من الزنك وبزيادة (89.17% ، 93.32%) عند المستوى (0 ، 10) كغم Zn / هكتار ، وزادت كمية الزنك الممتصة بزيادة مستويات الفسفور في النباتات المايكورايزية ، وكانت اعلى كمية ممتصة عند المعاملة (80 كغم P/هكتار + 10 كغم Zn /هكتار) .

3- ان التلقيح ادى الى زيادة معنوية في تركيز الحديد و بزيادة (15%) ، و اعلى كمية ممتصة من الحديد كانت عند النباتات المايكورايزية والمسمدة بالـ (0 كغم P/ هكتار + 10 كغم Zn م هكتار) .

والجدول (8-9) يبين خلاصة عدة دراسات حول تاثير المايكورايزا في المغذيات ونمو محاصيل مختلفة .

جدول 7-9 : تاثير فطريات المايكورايزا في الكمية الممتصة لعنصر النتروجين والفسفور والبوتاسيوم (ملغم . نبات¹) والزنك (مايكرو غرام . نبات¹) في المجموع الخضري الجاف لنباتات الذرة الصفراء عند مستويات مختلفة من الفسفور . (التميمي ، 2000) .

Zn			K			P			N			مستويات الفسفور (كغم/هـ)
المعدل	مع التلقيح	بدون تلقيح	المعدل	مع التلقيح	بدون تلقيح	المعدل	مع التلقيح	بدون تلقيح	المعدل	مع التلقيح	بدون تلقيح	
26	38	15	29.2	42.4	16.0	3.2	4.9	1.5	26.0	36.7	15.4	0
26	35	17	22.8	27.2	18.5	3.1	4.0	2.2	27.4	32.4	22.4	60
27	31	24	28.4	30.9	26.0	3.2	3.6	2.8	29.7	33.2	26.1	20
22	28	16	26.0	33.6	18.4	3.1	3.5	2.8	31.8	32.5	31.1	240
	33	18		33.5	19.7		4.0	2.3		33.7	23.8	المعدل

جدول 8-9 : تأثير المايكورايزا في المغذيات ونمو محاصيل مختلفة (من Mukerji وآخرون ، 2006).

نوع النبات	ظروف التجربة	التأثير على المغذيات والنمو	المصدر
الحنطة	تأثير مستويات الفسفور الى 100 ملغم / كغم و <i>G. Intraradices</i> على الفسفور في البذور .	عند عدم وجود أـ AMF لا يوجد امتصاص للفسفور ، وعند وجود أـ AMF ادت الى زيادة الفسفور في البذور .	Smith و Zhu (2001)
الشعير	تأثير مستويات الفسفور الى 48 ملغم / كغم على التربة مع ملوحة 17 ديسي سمنز م ⁻¹ و <i>G. Intraradices</i> .	ادى كل من AMF والفسفور الى زيادة النمو في التربة المالحة. وزيادة الفسفور والحديد والزنك .	Mohammad وآخرون (2003)
الذرة	تأثير مستويات الفسفور الى 40 ملغم/كغم على التربة الحامضية والقاعدية و <i>G. Intraradice</i> .	تراوحت الاصابة 48% الى 68% وازداد الوزن، ولكن الفسفور فقط في التربة الحامضية، والنحاس والمنغنيز والزنك في كل التربة .	Ozcan و Taban (2000)
الفاصوليا	تأثير <i>G. mosseae</i> و <i>G. spuncum</i> على التربة : أ- 5 pH , 4 ملغم P. كغم ⁻¹ . ب- 7 pH , 8 ملغم P. كغم ⁻¹ .	الفطر <i>G. mosseae</i> زيد النمو والفسفور في الـ pH العالي .	IzaguirreM-ayora وآخرون (2000)
اليوكالبتوز Eucalyptus	تأثير الاختلاف في عدد سبورات الـ AM والفسفور 30 جزء بالمليون .	كفاءة التلقيح كانت أفضل عند صفر P، والنمو كان أفضل عند عدد السبورات المتوسط مع الـ P .	Sastry وآخرون (2000)
التوت Mulberry	تأثير معاملات الـ P الى 180 كغم .هكتار ⁻¹ على التربة الغرينية مع <i>Glomus sp</i> .	ادى <i>G. mosseae</i> الى زيادة النمو وامتصاص الفسفور في المعاملات واطئة الفسفور واصبح مسويا للفسفور المرتفع .	Setua وآخرون (1999)

2- التأثيرات غير الغذائية

نظرا للاهمية الاقتصادية للعديد من المحاصيل الزراعية والبستانية ، فقد اولى اهتمام كبير في دراسة تأثير المايكورايزا في نمو النبات ، حيث تؤدي الى زيادة انتاجية كثير من المحاصيل ، وذلك من خلال تأثيرها في امتصاص العناصر او تأثيرات غير غذائية والتي تكون تأثيرات محفزة للنمو او معيقة للنمو .

أ- التأثيرات المحفزة للنمو

كثير من الدراسات اوضحت بان فطريات المايكورايزا تشجع من نمو النباتات عن طريق تحسين امتصاص العناصر الغذائية وخصوصا منها التي تتحرك الى الجذور عن طريق الانتشار والنباتات التي لها جذور خشنة وشعيرات جذرية قليلة ، الا ان هناك بعض العوامل قد تتحسن الى الافضل بوجود فطريات المايكورايزا ومنها :

1- منظمات النمو :

تتميز المايكورايزا بانتاج هرمونات نباتية ومنها الاندول استك اسد (IAA) والساييتوكاينينات والجبرلينات والتي تفرزها في منطقة الرايزوسفير وتنتقل الى انسجة النبات من خلال العلاقة التعايشية مع المايكورايزا ، حيث ان هذه الهرمونات لها دور كبير في زيادة النمو والحاصل وذلك من خلال تأثيرها في انقسام الخلايا وتكوين البراعم الورقية (الخضرية) وتأخير الشيخوخة من خلال المحافظة على تكوين الكلوروفيل والبروتينات والاحماض النووية وغيرها .

2- تحسين العلاقات المائية وزيادة مقاومة النبات للجفاف :

اوضحت الدراسات الاولى عن هذا الموضوع بان التلقيح بفطريات المايكورايزا قد يعمل على تحسين Improving او زيادة Increasing التوازن المائي او العلاقات المائية داخل العائل النباتي ، وعلى هذا الاساس فان فطريات المايكورايزا تكسب العائل

النباتي مقاومة للجفاف ، وقد اقترحت عدة اليات تعمل بها المايكورايزا على تحسين العلاقات المائية وهي :

أ- ان فطريات الـ VAM تعمل على زيادة المساحة السطحية لامتصاص الماء وذلك من خلال هايفات الفطر ، ان الالية الخاصة بعمل هذه الهايفات فهي تتمثل في عمل او احداث جسر Bridge وذلك لتقليل الفجوة الحاصلة بين حبيبات التربة من جهة وسطح الجذر من جهة اخرى ، وان هذه الفجوة سوف تزداد او تنخفض اعتمادا على المحتوى الرطوبي ، ففي حالة تعرض الوسط الى الجفاف تكبر مساحة الفجوة بين حبيبات التربة وسطح الجذر وتقل تدريجيا كلما يزداد المحتوى الرطوبي (او يزال الشد الرطوبي) وبذلك يتكون الجسر الناقل وهو مكون من (الجذر – التربة – الفطر – ثم نمو النبات) ويعمل هذا الجسر على اعطاء اكبر حجم ممكن لامتصاص الماء .

ب- قد تعمل فطريات الـ VAM على تنظيم مستويات نسبة الساييتوكارين الى حامض Absicic acid (Cy/ABA) مما يؤثر على خفض المقاومة الثغرية والتي تسمى estamota resistance ، فعند تعرض النبات الى شد رطوبي معين يحدث تغير في الموازنة الهرمونية داخل النبات ، فيحصل انخفاض لتركيز الساييتوكارين في الجذور يرافقه في نفس الوقت زيادة في مستوى حامض BAB في الاوراق ، وبما ان لحامض الـ BAB دور مهم في عملية غلق وفتح الثغور فان الموازنة الهرمونية نتيجة تعرض النبات للشدود الرطوبة سوف تؤثر على تقليل التوصيل الهيدروليكي للجذور وبذلك تتم زيادة حامض الـ BAB في اوراق النباتات الملقحة . وجد ان انتقال الماء تحت ظروف الشد الرطوبي يقل باكثر من 90% نتيجة التلقيح بفطريات الـ VAM، حيث عند زيادة الشد الرطوبي فان الجهد المائي لاوراق النباتات الملقحة ينخفض بسرعة اكبر من النباتات غير الملقحة وقد تصل نسبة الانخفاض 50-70% ، وبموجب ذلك فقد اقترح ان

التحسن الذي يطرأ على امتصاص الماء وبالتالي زيادة معدل التركيب الضوئي وارتفاع مستوى الساييتوكربين يحفز فتح الثغور وبالتالي يعمل على اكتساب العائل النباتي مقاومة للجفاف.

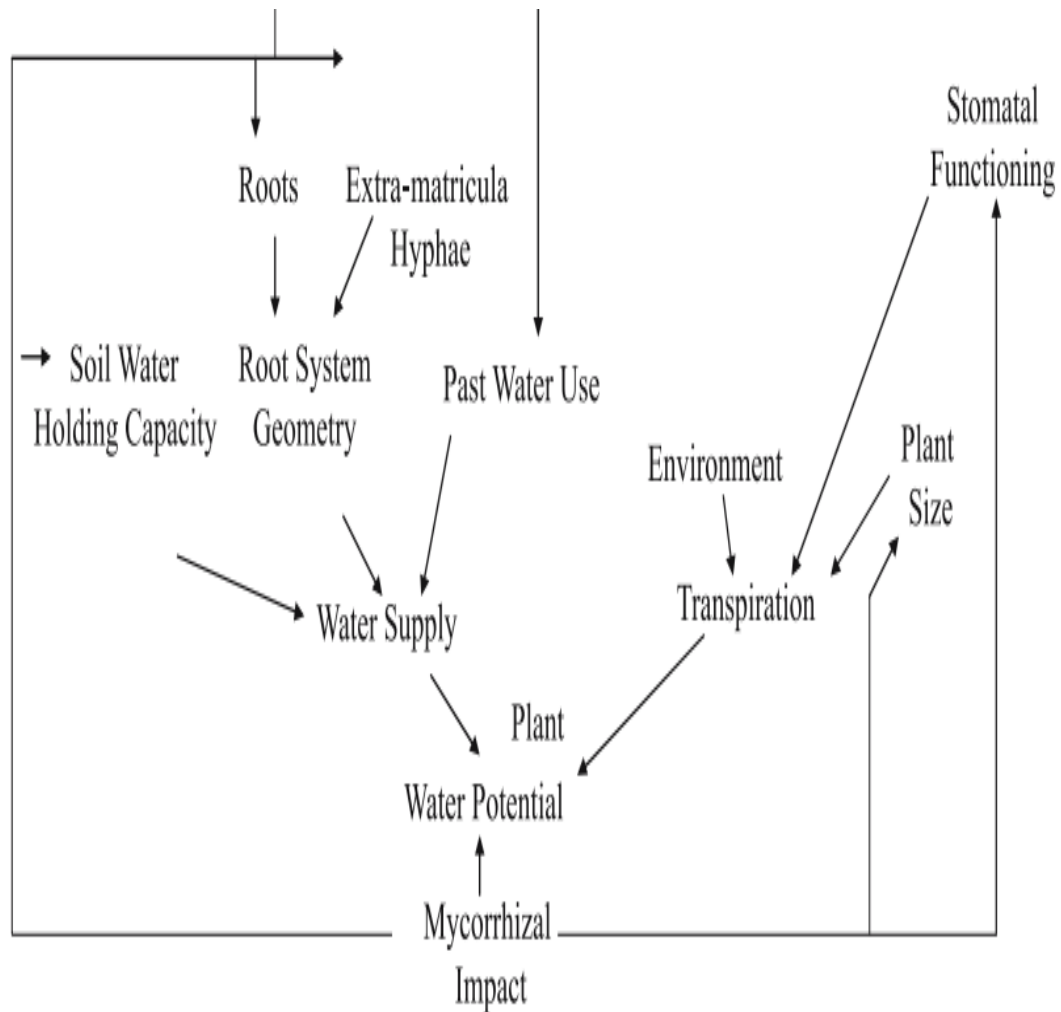
ج- هذه الآلية استنتاجية وهي قياس المقاومة المائية داخل الممرات (avnue) التي تعملها فطريات الـ VAM بعد حدوث SecondaryInfection (عندما تدخل الـ VAM داخل قشرة الجذر وتعمل ممرات) فان معدل نقل الماء ضمن هذه الممرات سوف يكون عاليا مقارنة بنقل الماء عبر الاوعية الاعتيادية (اللحاء والخشب) ، اي ان الممرات التي تحدثها فطريات الـ VAM بعد اختراق قشرة الجذر تقوم بنقل الماء ، ولكن بخاصية معينة وهي ابداء اقل مقاومة في نقل وحركة الماء داخل الجذر .

تشير الدراسات التي أجريت على أداء النباتات المصابة بالـ VAM تحت ظروف الإجهاد المائي أن هذه الفطريات لها تأثير إيجابي على النبات ، حيث تؤثر على قدرة النبات على مواجهة الإجهاد المائي عن طريق زيادة قدرة النبات على الحصول على المياه. فمن الواضح أن الفطريات يمكن أن تؤثر على العلاقات المائية بطرق أخرى (شكل 9-14). فقد اقترح Dunsiger وآخرون، (2003) ثلاث طرق لتأثير فطريات المايكورايذا على استجابة النبات لخفض جهد ماء التربة :

1- انخفاض إنتاج aquaporins (قنوات مائية) في خلايا قشرة الجذر أو زيادة إنتاج ABA يؤدي الى انخفاض النتج في النباتات المصابة بالـ AMF بشكل كبير مما كان في النباتات غير المصابة ، وكذلك انخفاض جهد ماء التربة ، وهذا من شأنه ان يقلل من اجهاد النبات بالماء والسماح للماء الجاهز في التربة ليكون متوفر لاستخدامه لفترة أطول .

2- من خلال الزيادة في النقل المباشر للماء من التربة بواسطة الهايفا فان المياه أزيلت من منطقة الهايفا في مربع الجذر على طول الهايفا الموجودة في التربة .

3- ان الهايفا اشترت عن تناقص المياه الجاهز إلى النبات ثم ينخفض تنظيم استعمال المياه من خلال إغلاق الثغور المبكر. ، وتوفير جذر بالإضافة إلى الهايفا وان حجرات الهايفا اظهرت أن العلاقة بين ايصالية ثغور الورقة وجهد ماء التربة في كل الحجرات كانت أقل فعالية بعد فصل اتصال الهايفا مع حجرات الهايفا .



شكل 9-14: العوامل التي تحدد تأثير AMF على جهد ماء النبات . توازن امتصاص الماء والنتح حدد جهد ماء النبات والعجز المائي . وفطريات الـ AMF يمكن أن تؤثر على كل ذلك من خلال مجموعة من الطرق .

3- زيادة مقاومة النبات لتحمل الدرجات العالية من الملوحة

استعملت الطرق البيولوجية كوسيلة غير مكلفة وعملية لتخفيف من الجهد الملحي في التربة ، حيث أعطي اهتمام متزايد لنمو النباتات في الترب المالحة ، ومن هذه الوسائل استعمال بعض البكتريا والفطريات الموجودة في الرايزوسفير ، حيث إنها تحسن من أداء النبات تحت الظروف البيئية المختلفة ، فالتعايش بين النباتات وفطريات المايكورايزا الـ AM هي واحدة من الآليات الايكولوجية المهمة ، فان التراكم الانتقائي ، استبعاد الايونات ، السيطرة على امتصاص الايونات بواسطة الجذور والنقل الى الأوراق هي الاستراتيجيات الأكثر فعالة لفطريات الـ VAM من اجل تكييف النباتات للملوحة ، فهي تلعب دورا في نقل الايون والبروتينات التي تتحكم في التوازن الأيوني للنبات المضيف ، ومن المعروف ان فطريات الـ AM الموجودة في التربة المالحة تساعد في نمو النباتات وتطويرها وتحسن من تحملها ضد الاجهادات الحيوية وغير الحيوية من خلال تنظيم العمليات الفسيولوجية والبيوكيميائية للنباتات ، حيث ان لها أنشطة تنظيمية التأثير في تخليق البروتين والسكريز والكلوكوز والبروتين والكلايسين والبيوتاتين وبالتالي قد تكون هذه المواد المذابة تلعب دورا في التعديل الازموزي الذي يساعد النبات على أداء طبيعي تحت الملوحة . وقد وضعت عدة اليات بواسطتها تستطيع المايكورايزا من تحسين نمو النبات تحت ظروف الاجهاد الملحي ومنها :

أ- نمو النبات نتيجة لتعزيز امتصاص العناصر الغذائية : لقد أثبتت العديد من الدراسات ان فطريات الـ VAM تلعب دورا محوريا في تحسين تحمل النباتات للاجهادات غير الحيوية من خلال تعزيز امتصاص المواد الغذائية وخاصة النتروجين والفسفور . حيث ان زيادة امتصاص الفسفور تحت ظروف الاجهاد ربما يقلل من التأثيرات السلبية لايونات الصوديوم والكلور عن طريق المحافظة على سلامة الأغشية الحويصلية والذي يزيد من انتقائيتها في امتصاص الايونات

، وان تحسن امتصاص النتروجين بواسطة المايكورايزا ربما يساعد في تخفيض التأثيرات السامة لايونات الصوديوم عن طريق تقليل امتصاصه .

اما بالنسبة لعنصر البوتاسيوم ، فقد وجد زيادة محتوى البوتاسيوم في النباتات المايكورايزية حتى في المستويات العالية من الملوحة وبالتالي زيادة نسبة البوتاسيوم الى الصوديوم في المجموع الجذري والخضري التي تساعد في تنشيط العديد من الانزيمات وتسهم في التوازن الايوني في السايكوبلازم واخراج الصوديوم من النبات او حجزه في الحويصلات داخل الخلايا .

ومن بين الدراسات التي اكدت على تحمل النباتات المايكورايزية للاجهاد الملحي دراسة Mahesh borde وآخرون ، (2010) حيث وجد ان النباتات المايكورايزية أكثر تحملاً لجهد الملوحة عند المستوى 200 ملي مول NaCl وأوعز السبب إلى ان لقاح المايكورايزا يحمي النباتات ضد الآثار الضارة للملح الذي قد يكون بسبب تطور الجذور للحصول على المغذيات بكمية عالية استجابة للمستعمرات المايكورايزية ، وبين ان التلقيح بفطريات الـ VAM عند المستوى 100 و 200 ملي مول NaCl أدى إلى زيادة كبيرة في الوزن الرطب لنباتات الثوم المايكورايزية مقارنة بالنباتات الغير مايكورايزية وان الزيادة في الصفات المورفولوجية للنباتات المايكورايزية خلال الملوحة المعتدلة أوعزت إلى ان فطريات الـ VAM تساعد النبات على البقاء على قيد الحياة تحت ظروف الملوحة ، وان المايكورايزا عند هذين المستويين من الملوحة لا تساعد فقط على الأقامة ولكن أيضا تساعد على امتصاص المواد الغذائية للاستمرار أثناء مراحل النمو التدريجي للنبات .

اما الجدول (9-9) فيبين نتائج تجربة نفذت بهدف اختبار كفاءة فطريات المايكورايزا نوع *G. fasciculatum* في خفض تاثير الملوحة على نباتات البصل وكانت كالاتي :

1- ان التلقيح بالمايكورايزا ادى الى خفض التوصيل الكهربائي (Ec) معنويا من 6.30 الى 5.86 ديسيمنز.م⁻¹ .

2- ان التلقيح خفض التوصيل الكهربائي (Ec) معنويا لجميع مستويات ماء البزل المضافة مقارنة بعدم التلقيح ، حيث كان الـ Ec (0.63 ، 6.0 ، 8.16 ، 10.63) ديسيمنز.م⁻¹ عند عدم التلقيح ، بينما كان (0.43 ، 5.26 ، 7.7 ، 9.8) ديسيمنز.م⁻¹ عند التلقيح ولكل مستوى من مستويات ماء البزل (0.66 ، 5.0 ، 7.5 ، 10.0) ديسيمنز.م⁻¹ على التوالي .

ويمكن أن يكون السبب وراء انخفاض الـ Ec عند إضافة التلقيح بأن فطريات المايكورايزا ادت الى زيادة جاهزية العناصر الغذائية في التربة ، وامتصاصها بسهولة من قبل النباتات، وبالتالي زيادة نمو النبات وتقليل تركيز أيونات المتبقية في التربة - كدور لفطريات المايكورايزا في امتصاص N، P والعناصر الصغرى .

جدول 9-9: تأثير فطريات المايكورايزا في التوصيل الكهربائي (Ec) في التربة المزروعة بنباتات البصل المروية بمياه مالحة (Mahdi و Suhail، 2013).

التوصيل الكهربائي (Ec) ديسيمنز.م ⁻¹			مستويات الملوحة
المعدل	AM+	AM-	ديسيمنز.م ⁻¹
0.53 d	0.43 g	0.63 g	0.66
5.63 c	5.26 f	6.0 e	5.0
7.96 b	7.76 d	8.16 c	7.5
10.21 a	9.8 b	10.63 a	10.0
	5.86	6.30 a	المعدل

ب- زيادة نشاط الأنزيمات المضادة للأكسدة : عند تعرض النباتات إلى الإجهاد الملحي المفرط فإن جذور الأوكسجين الحرة (Reactive oxygen species ROS) مثل السوبراوكسيد (O_2^-) ، بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) ، الهيدروكسيل (OH^-) تزداد بشكل كبير مما يؤثر في نمو النبات ، حيث تسبب ضرر سريع للخلية عن طريق إحداث سلسلة من التغيرات ، فقد تسبب ضرر على الأغشية والجزيئات الأساسية الأخرى مثل التمثيل الضوئي ، الصبغات ، البروتين ، الدهون والأحماض النووية ، ولهذا فإن خلايا النبات تقوم بالمقابل بتحفيز منظومة مضادات الأكسدة الأنزيمية وغير الأنزيمية للحد من الآثار الضارة لهذه الأنواع من الأوكسجين . حيث تشمل مضادات الأكسدة الأنزيمية مجموعة من الأنزيمات المضادة للأكسدة منها أنزيم الكاتليز Catalase (CAT) والبيروكسيداز Proxidase (POD) والسوبر اوكسيد دسيموتيز Superoxide dismutase (SOD) . فانزيم (CAT) مهم في التخلص من التأثير السام لبيروكسيد الهيدروجين فهو يستطيع تحليل البيروكسيد إلى أوكسجين وماء ، وانزيم (POD) يستطيع الحد من سمية بيروكسيد الهيدروجين بتحويله إلى ماء ، اما انزيم (SOD) فانه يستطيع تحويل السوبر اوكسيد إلى أوكسجين وبيروكسيد الهيدروجين .

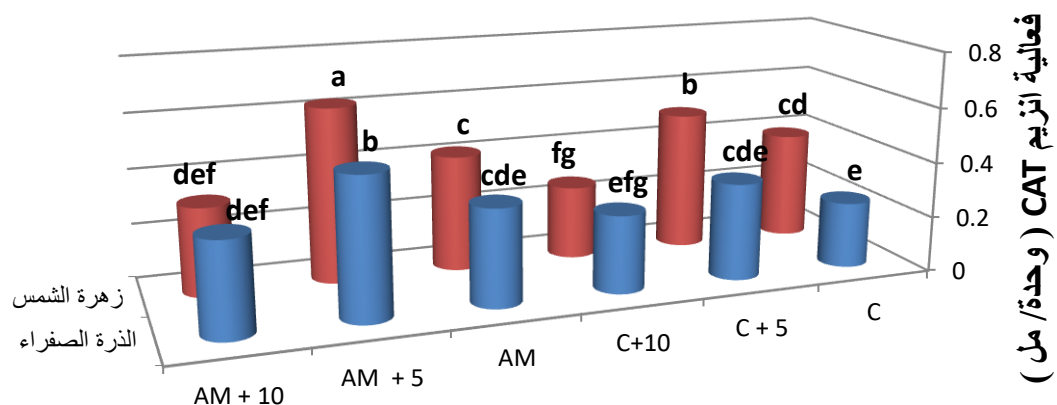
اشارت العديد من الدراسات الى انه يمكن زيادة نشاط الأنزيمات المضادة للأكسدة من مشاركة التأثيرات المفيدة للمستعمرات المايكورايزية في أداء نمو النباتات عند الظروف القاحلة ، ففي الدراسة التي اجراها Mahesh borde وآخرون ،(2010) فقد اوضح إن فعالية أنزيم CAT و POD و SO زادت بمقدار (%6.10 , %179.8 , %87.15) و (%76.29 ، %184.76 ، %26.84) و (%10.49 ، %118.86 ، %59.31) في النباتات المايكورايزية مقارنة بالنباتات غير المايكورايزية عند المستوى 100 , 200 , 300 ملي مول NaCl .

اما الاشكال 9-15، 9-16، 9-17 فقد بينت نتائج تجربة نفذت من قبل سهيل واخرون ، (2015) في تربة رملية مزيجية لدراسة تأثير خليط من فطريات المايكورايزا (*Glomus fasciculatum* + *Acaulospora laevis*) تحت الإجهاد الملحي (0، 5، 10 ديسي سمنز.¹⁻²) في نشاط الأنزيمات المضادة للأكسدة (SOD، POD، CAT) لنباتي الذرة الصفراء وزهرة الشمس ، وظهرت تلك النتائج إن التلقيح بالمايكورايزا وعند جميع مستويات الملوحة أدى إلى زيادة في فعالية أنزيم (CAT، POD، SOD) في نباتي الذرة الصفراء وزهرة الشمس مقارنة بعدم التلقيح ، وسجلت أعلى القيم لفعالية هذه الأنزيمات في النباتات المايكورايزية وعند المستوى 5 ديسي سمنز.¹⁻² ولكلاً النباتين مقارنة بالنباتات غير المايكورايزية ، واستنتج من هذه الدراسة ان فطريات الـ AM تساعد نباتي الذرة وزهرة الشمس لأداء أفضل تحت مستوى ملوحة معتدل من خلال تعزيز مضادات الأكسدة بالمقارنة مع النباتات الغير مايكورايزية .

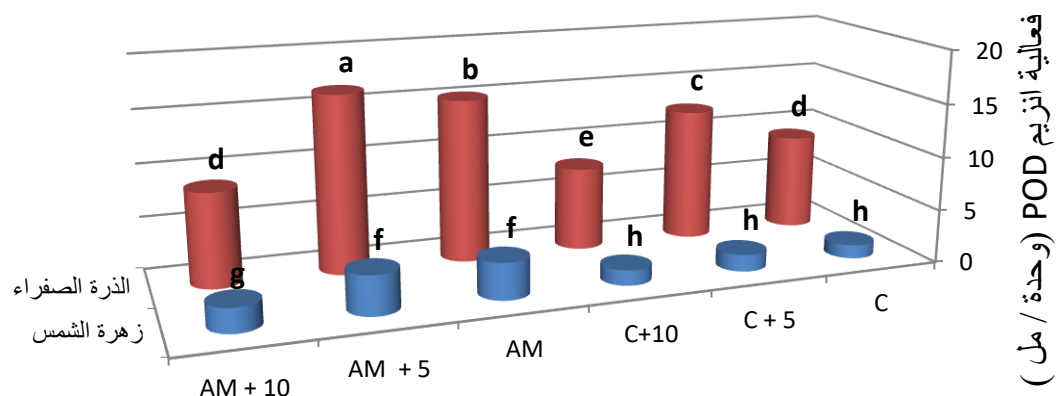
ج-الحامض الاميني البرولين : تعمل العديد من النباتات على تراكم البرولين كمركب ازموزي غير سام للحفاظ على التوازن الازموزي بين التربة والجذور تحت ظروف الاجهاد الملحي ، وقد وجد زيادة تراكم البرولين عند استعمار الجذور بالمايكورايزا ، فعند تعرض نباتات الماش لاجهاد ملحي 12.5 و 25.0 مليمول كلوريد الصوديوم .لتر⁻¹ ، وجد زيادة في تراكم البرولين بعد 40 و 60 يوما من الزراعة في النباتات المايكورايزية ، وفي تجربة تم فيها تعريض نباتات فول الصويا للاجهاد الملحي بتركيز (0، 50، 100، 150، 200) مليمول كلوريد الصوديوم .لتر⁻¹ وجد تراكيز عالية من البرولين في النباتات المايكورايزية ، وان تراكم البرولين في الجذور كان اكثر من المجموع الخضري ، حيث ان الجذور هي المواقع الاولى لامتصاص الماء ولهذا يجب ان تحافظ على التوازن الايوني ما بين خلايا الجذر الماصة للماء والمحيط الخارجي .

د- الكلوروفيل : ان زيادة الملوحة تسبب انخفاض في محتوى الكلوروفيل في النبات وذلك بسبب تقليل فعالية الانزيمات المسؤولة عن تصنيع صبغات التمثيل الضوئي ، وانخفاض امتصاص المغنيسيوم الضروري لتصنيع الكلوروفيل ، وقد وجد ان المايكورايزا تزيد من محتوى الكلوروفيل في النباتات المايكورايزية مقارنة بالنباتات غير المايكورايزية تحت ظروف الاجهاد الملحي ، حيث ان المايكورايزا تعمل توازن للتاثير السلبي الذي يسببه الصوديوم في امتصاص المغنيسيوم من قبل النبات .

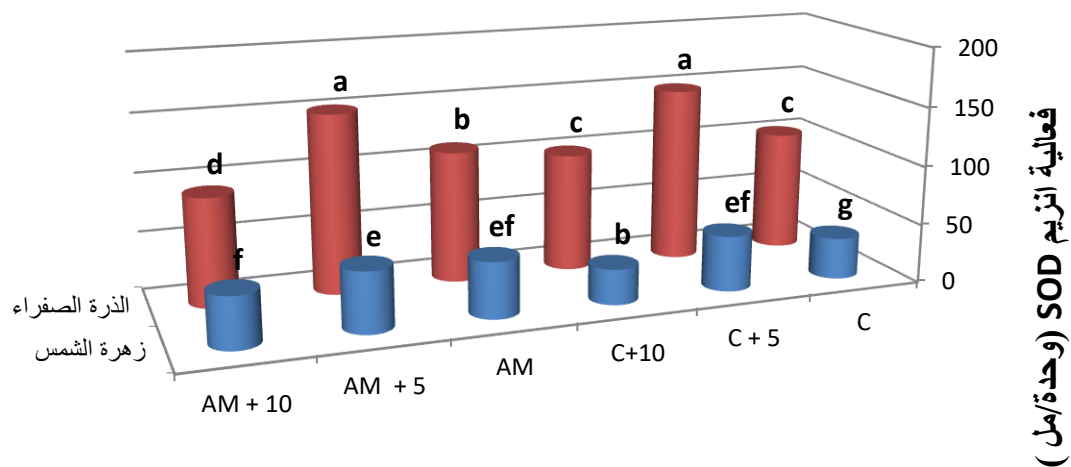
هـ- محتوى الماء: ان ايونات الصوديوم والكلوريد تقلل من جهد الماء في محلول التربة وتعيق حركته مما يؤدي الى ان النباتات النامية تحت ظروف الاجهاد الملحي تعاني من الجفاف الفسلجي ، ان تلقيح النباتات بالمايكورايزا يساعد على الحفاظ على محتوى ماء عالي نسبيا قياسا بالنباتات غير الملقحة بالمايكورايزا ، وذلك من خلال تحسين الايصالية المائية في منطقة الجذور عند جهد الماء الواطئ، حيث ان النباتات تمتلك جهدا ازموزيا واطئا ويضمن استمراره بتراكم الافرازات الفطرية، وهذا يؤدي الى تحسين التنظيم الازموزي للنبات عن طريق زيادة جهد الانتفاخ وتحسين حالة الماء للنباتات المايكورايزية ، وهذا يمكن النبات من استعمال الماء بكفاءة وفعالية عالية (راجع موضوع تحسين العلاقات المائية الذي ذكر سابقا).



شكل 9-15: تأثير الملوحة وفطريات المايكورايزا في فعالية أنزيم CAT...



شكل 9-16: تأثير الملوحة وفطر المايكورايزا في فعالية أنزيم POD



شكل 9-17: تأثير الملوحة وفطريات المايكورايزا في فعالية أنزيم SOD

4- تحسين بناء التربة وتجميع حبيباتها : من اهم الافرازات المايكورايزية هي مادة Glomalin وهي مركبات كلايكوبروتينية ذات طبيعة لزجة تدعى Glomalin related soil protein (GRSP) التي تنتج عن طريق الهيافات وتحررها الى محيط التربة ، و تتكون من 30-40% بروتينات و 3-6% كربوهيدرات و 20-70% مجاميع اليفاتية، وهي تعمل أ- كمادة لاصقة في تجميع حبيبات التربة وتشجيع تكوين Aggregate حيث تساعد في استقرار تجمعات التربة soil aggregates من خلال تشكيل بوليميرات شعرية واقية على سطح التجمعات ب- كطبقة واقية على الهيافات الفطرية لمنع فقدان الماء والمواد الغذائية ج- حماية هيافات الفطريات من مهاجمة الميكروبات لها و تعزز من نمو هيافا الفطر في بيئة التربة .

ان زيادة تجمعات التربة هو مفيد من خلال المحافظة على مسامية وتركيب التربة ومنع التعرية ، حيث تحسن من بناء التربة والمحافظة على تهويتها و الاحتفاظ بالماء ومقاومة عالية للتعرية المائية والريحية وتخزين الكربون من خلال حماية المادة العضوية من التحلل المايكروبي ، وقد وجد ان مادة الكلومالين تحتوي على تراكيز عالية من الحديد تصل الى 2-12% وان هيدروكسيل الحديد والالمنيوم يسهم في تكوين تجمعات التربة من خلال ربط المادة العضوية بدقائق التربة. وتتراوح قيم الكلومالين في اغلب الترب (الحامضية والكلسية والمراعي والاراضي الزراعية) ما بين 2-15 ملغم .غم⁻¹ تربة ، كما تستطيع المايكورايزا من تحسين بناء التربة من خلال :

1- تشكل الهيافات النامية في التربة الهيكل الاساسي الذي يعمل على ربط حبيبات التربة .

2- يشكل الجذر والهيافا وسطا فيزيائيا وكيميائيا يعمل على انتاج المواد اللازمة لربط الحبيبات مع بعضها.

3- يعمل الجذر والهايفا على تجميع الجزيئات لتشكيل كتل صغيرة Microaggregates ، كما يعمل على تحويل الكتل الترابية الصغيرة الى كتل كبيرة Macroaggregate مما يسمح بتخزين كميات كبيرة من المواد الغذائية في منطقة الجذور وتأمين غذاء كافي للنبات والكائنات الدقيقة الموجودة في منطقة الرايزوسفير .

5- السيطرة الحيوية : فطريات المايكورايزا لها دور معروف في مجال السيطرة الحيوية من حيث مقدرتها على اكساب النبات العائل المقاومة للاصابة بالعديد من الامراض الفطرية والبكتيرية والنيماتودا وتعزى هذه الحالة الى اليات مختلفة ، فقد وضع الباحثين مجموعة من الاليات او التفسير بموجبها يمكن ان تفسر كيف تستطيع فطريات المايكورايزا اكساب العائل النباتي مقاومة المسببات المرضية ومن هذه الاليات :

أ- التحورات المورفولوجية : بعد الاصابة بفطريات المايكورايزا فان هذه الفطريات قد تلجا الى احداث بعض التحويرات المورفولوجية ، فمثلا تتخذ جدر الخلايا الجذرية كوسيلة من وسائل الوقاية ويتم ذلك من خلال زيادة عمل اللكنين او تزيد من انتاج السكريات المتعددة والتي بدورها تقلل من فرصة الخرق للمسبب المرضي، وهذا ما يحدث للفيزاريوم عند تواجد فطريات المايكورايزا نوع *G.mosseae* ، كذلك لها قدرة في تخليق نظام نقل وعائي قوي في النباتات الملقحة حيث يعمل هذا النظام على نقل كفوء للعناصر الغذائية محدثا قوة ميكانيكية للاوعية الناقلة ومضيقا الفرصة لنقل المسبب المرضي كما هو الحال في النيماتودا مع المايكورايزا .

ب- التغيرات الفسيولوجية : حيث ان النباتات الملقحة بالمايكورايزا سوف تكون حاوية على تراكيز مرتفعة من الفسفور مقارنة بالغير مايكورايزية وقد

ثبت بما لايقبل الشك ان النباتات الحاوية على محتوى جيد من الفسفور تكون اقل عرضة للاصابة بالامراض النباتية .

ج- انتاج بعض الهرمونات والانزيمات من قبل فطريات المايكورايزا : فلقد وجد بان النباتات المايكورايزية تحتوي على مستويات عالية من الاحماض الامينية خصوصا حامض الارجنين ، وقد وجد بان الارجنين يقلل من تكوين الـ Clymodospore للمسبب المرضي ، فضلا عن مقدرتها على افراز منظمات النمو (auxins , cytokinins , gibberellins) .

والجداول (9-10، 9-11، 9-12) تبين تاثير المايكورايزا (AM) على النيماتودا والامراض الفطرية والبكتيرية والفايروسية ونمو النبات .

**جدول 9-10: تأثير المايكورايزا (AM) على النيماتودا ونمو النبات . (من Zaki
Anwar Siddiqui وآخرون ، 2008) .**

المصدر	التأثير	النيماتودا	فطريات الـ AM
Sikora ، (1978) .	تم تخفيض نمو النيماتودا بواسطة الجذور المايكورايزية على الطماطة .	<i>M. incognita</i>	<i>Glomus mosseae</i>
Hussey و Roncadori ، (1982)	كانت بيوض النيماتودا لكل غرام جذر كانت أقل على نباتات القطن المايكورايزية .	<i>M. incognita</i>	<i>G.etunicatum</i> <i>G. mosseae</i>
Kaplan و Smith ، (1988)	انخفاض تكاثر النيماتودا على أشجار الحمضيات .	<i>Radopholus citrophilus</i>	<i>G. intraradices</i>
Goswami و Devi ، (1992)	التلقيح المسبق بفطريات الـ AM خفض النيماتودا على اللوبيا .	<i>M. incognita</i>	<i>G. fasciculatum</i>
Krishnappa و Rao ، (1995)	انخفاض اعداد النيماتودا على الحمص .	<i>M. incognita</i>	<i>G. fasciculatum</i>
Labeena وآخرون ، (2002) .	التلقيح بجميع فطريات الـ AM ادى الى خفض اعداد النيماتودا ، ولكن اكبر انخفاض كان عند <i>G. fasciculatum</i>	<i>M. incognita</i>	<i>G. fasciculatum</i> <i>G. macrocarpum</i> <i>G. margarita</i> <i>A. laevis</i> <i>S. dussii</i>
Siddiqui و Akhtar ، (2006)	تسبب التلقيح المشترك للفطر الـ AM مع <i>A. niger</i> و (<i>Bacillus</i> B22) زيادة في نمو الحمص .	<i>M. incognita</i>	<i>G. intraradices</i>
Akhtar و Siddiqui ، (2007)	فطر الـ <i>G. mosseae</i> كان متفوقا في الحد من النيماتودا مقارنة بالفطر الـ <i>G. mosseae</i> .	<i>M. incognita</i>	<i>G. mosseae</i> <i>Gigaspora margarita</i>
Siddiqui و Akhtar ، (2008) .	اضافة <i>G. intraradices</i> مع <i>P. alcaligenes</i> و <i>B. pumilus</i> سببت زيادة كبيرة بالوزن الجاف الخضري للحمص .	<i>M. incognita</i>	<i>G. intraradices</i>
Akhta و Siddiqui ، (2008)	استعمال الفطر الـ AM مع <i>T. harzianum</i> سبب زيادة بنسبة 37% في نمو نباتات الطماطة الملقحة بالنيماتودا .	<i>M. incognita</i>	<i>G. intraradices</i>

جدول 9-11: تأثير المايكورايزا (AM) على الامراض الفطرية ونمو النبات .

(من Zaki Anwar Siddiqui وآخرون، 2008)

المصدر	التأثير	الفطريات المرضية	فطريات الـ AM
Caron وآخرون ، (1985)	فطريات الـ AM قلصت الى حد كبير فطر تعفن الجذور الـ <i>Fusarium</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp.	<i>G.intraradices</i>
Al-Momany و Al- و Raddad (1988)	انخفاض معنوي للفوزاريوم على الطماطم والفلفل .	<i>radicislycopersici F. oxysporum</i>	<i>G. mosseae</i>
Goswami و Devi (1992)،	التلقيح المسبق بفطر الـ AM خفض المرض على اللوبيا .	<i>Macrophomina phaseolina</i>	<i>G. fasciculatum</i>
Siddiqui و Mahmood (1995)	انخفاض معنوي في شدة المرض في البزاليا .	<i>Fusarium udum</i>	<i>G. fasciculatum</i>
Bhagawati وآخرون (2000)،	خفض شدة المرض على الطماطم .	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>Lycopersici</i>	<i>G. etunicatum</i>
Bagyaraj و Bobby (2003)،	انخفاض شدة المرض ولكن كانت النتائج أفضل عند استخدامها مع <i>T. viridae</i> .	<i>Fusarium chlamydosporium</i>	<i>G. mosseae</i>
Demir و Akkopru (2005)،	خفض شدة المرض في الطماطة .	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>Lycopersici</i>	<i>Glomus intraradice</i>
Singh و Siddiqui (2005)،	انخفاض نسبية مساحة الأوراق المصابة على القمح .	<i>Alternaria triticina</i>	<i>G. mosseae</i>
Siddiqui و Akhtar (2006)،	التلقيح بفطريات الـ AM مع <i>A. niger</i> و <i>Bacillus</i> (B22) سبب انخفاض كبير في تعفن جذور الحمص .	<i>M. phaseolina</i>	<i>G. intraradices</i>
Siddiqui و Akhtar (2007)،	انخفاض معنوي في شدة المرض في الحمص .	<i>M. phaseolina</i>	<i>G. intraradices</i>
Erkilic و Ozgonen (2007)،	فطريات الـ AM ادت الى زيادة معنوية في نمو النبات وخفض شدة المرض في الفلفل ولكن <i>G. mosseae</i> خفض شدة المرض إلى حد أكبر .	<i>Phytophthora capsici</i>	<i>G.mosseae, G.etunicatum, G.fasciculatum Gigaspora margarita</i>
Siddiqui و Akhtar (2008)،	التلقيح المشترك لـ AM مع <i>P. straita</i> و <i>Rhizobium</i> سبب انخفاض أكبر في تعفن جذور الحمص، والاضافة المشتركة من <i>P. intraradices</i> مع <i>G. intraradices</i> سببت <i>B. pumilus</i> و <i>alcaligenes</i> انخفاض أكبر في تعفن الجذور .	<i>M. phaseolina</i>	<i>G. intraradices</i>

جدول 9-12: تأثير المايكورايزا (AM) على الامراض البكتيرية والفيروسية ونمو النبات. (من Zaki Anwar Siddiqui وآخرون ، 2008) .

فطريات الـ AM	المرضى	التأثير	المصدر
<i>G. mosseae</i>	<i>P. syringae</i>	البكتريا المرضية لم تثر تأثيرا سلبا على نمو الطماطة ونسبة الإصابة المايكورايزية	Garcia Garrido و Ocampo (1989)
<i>Gigaspora gilmorei</i> <i>Acaulospora marrowae</i> <i>G. fasciculatum</i> <i>G. constrictum</i>	Yellow mosaic virus	المستعمرات المايكورايزية وتكوين السبورات انخفضت بواسطة فايروس Yellow mosaic على نبات mungbean .	Jayaram و Kumar (1995).
<i>G. intraradices</i>	Tobacco mosaic virus	ارتفاع نسبة وشدة الافة الميتة في النباتات المايكورايزية مقارنة بالغير مايكورايزية .	Shau وآخرون، (1999)
AM fungi	<i>P. solanacearum</i>	انخفاض المرض في شتلات الأوكالبتوس الملقحة بفطريات الـ AM	MingQin وآخرون (2004).

ب- التأثيرات المعيقة للنمو

ان بعض النباتات عندما تلقح بفطريات المايكورايزا يحصل لها انخفاض في معدل النمو النسبي (تأثير سلبي) منعكسا على انخفاض الاوزان الجافة للمجموع الجذري او الجذري ، ففي هذه الحالات نحصل على مايسمى بمنحنى الاستجابة السالب وهي حالة غير مرغوبة الا انها ذكرت من قبل كثير من الباحثين ، وان الانخفاض في نمو النبات قد يكون مؤقت او دائم .وقد وجد ان هناك مجموعة من الاسباب لمثل هذه الحالة ومن هذه الاسباب هي :

- 1- عندما يكون الفسفور المجهز لا يحدد نمو النبات في النباتات غير الملقحة .
- 2- المنافسة لنواتج التمثيل الضوئي Photosynthate بين العائل النباتي والفطر .
- 3- قد يحصل الانخفاض عندما تكون الفطريات المرضية مثل الـ Fusarium او Pythium متواجدة مع المايكورايزا ، وهذه المشكلة تكون في الترب المعقمة جزئيا . وكذلك انخفاض النمو قد يتسبب لعدم صلاحية ونقاوة اللقاح ، فقد يكون تواجد لبعض المسببات المرضية Pathogenes عند مراحل تنشيط اللقاح وهذه تعطي جوانب ثانوية على معدل النمو ويسبب انخفاض النمو .
- 4- في ظروف معينة مثل انخفاض شدة الاضاءة او انخفاض درجة الحرارة ومستويات عالية من الفسفور تؤدي الى نقص في تجهيز الكربوهيدرات المتوفرة لفطريات المايكورايزا وبذلك تؤدي الى نقص الاصابة .
- 5- المنافسة بين النبات والمايكورايزا لامتصاص الفسفور ، وهذه حالات نادرة ولكنها محتملة الوقوع ، لكون ان المايكورايزا تعمل في الترب ذات المحتوى المنخفض جدا من الفسفور وعليه يتوقع ان يوجد تنافس بين النبات والمايكورايزا .
- 6- بعض الباحثين عزا انخفاض انتاجية المحاصيل الملقحة بالمايكورايزا الى تراكم الفسفور الى المستوى السام في النبات .

الاعتمادية المايكورايزية Mycorrhizal dependency

تعرف الاعتمادية المايكورايزية بانها الى اي مدى يعتمد النبات على الحالة المايكورايزية للوصول الى الانتاج الاعظم عند مستوى خصوبي معين ، ويمكن حساب الاعتمادية المايكورايزية النسبية بواسطة المعادلة :

$$RMD = 100 \times \frac{\text{الوزن الجاف للنبات المايكورايزي}}{\text{الوزن الجاف للنبات الغير مايكورايزي}}$$

تتراوح قيمها من (0 - 100 %) ، كما تتراوح النباتات من استقلالها الكامل الى اعتمادها الكامل في النمو على الحالة المايكورايزية ، وتعتمد الاعتمادية المايكورايزية على عدة عوامل منها :

1- نوع النبات :تختلف الاعتمادية بتغير نوع النبات ، حيث ان النباتات ذات نظام جذري ليفي وشعيرات جذرية طويلة هي اقل اعتمادا على المايكورايزا من تلك النباتات التي لها جذور خشنة وشعيرات جذرية قليلة.

2- مستوى فسفور التربة : تختلف الاعتمادية بتغير مستوى فسفور التربة فقد وجد ان نباتات الفول السوداني تتمتع بقوة اعتمادها على المايكورايزا عند مستوى فسفور 60 كغم فسفور / هكتار .

3- انواع المايكورايزا : تتغير الاعتمادية بتغير انواع فطريات المايكورايزا ، فقد وجد ان تلقيح نبات علفي بقولي Siratro بخمسة انواع من المايكورايزا وهي *Glomus margarita* , *Glomus intraradices* , *Glomus versiform* , *Glomus deseticola* , *Glomus etunicatum* , ان النباتات الملقحة بالانواع *G.intraradices* و *G.etunicatum* تمتلك وزن مادة جافة وجذور طرية معنويا اعلى من النباتات الملقحة بالانواع الاخرى والنباتات الغير ملقحة ، فضلا عن ذلك فان النباتات الملقحة بالنوع *G.etunicatum* تمتلك وزن جاف للمجموع الخضري معنويا اعلى من النباتات الملقحة بالنوع *G.intraraices* ، وان حاصل النباتات الملقحة بالانواع *G.deseticola* ، *G. versiform* ، *G. margarita* لا يختلف عن حاصل النباتات غير الملقحة .

4- صنف النبات : وجدت الدراسات هناك اختلافا في شدة الاصابة بين الاصناف ، فلمعرفة الاعتمادية المايكورايزية في ثلاثة عشر صنف من الحنطة وجد ان هناك اختلافا في شدة الاصابة بين اصناف الحنطة واثّر ذلك على نسبة الجذر / الساق

والوزن الجاف ونسبة السكريات في الجذور ، حيث ازدادت هذه الصفات في الاصناف ذات شدة اصابة عالية .

التداخل البايولوجي بين المايكورايزا والاحياء الاخرى

هذا التداخل اخذ حيز وتفكير كثير من الباحثين ، وحقيقة الامر ان اول من طرق هذا الموضوع وحدد سمات المنطقة التي يحدث فيها هذا التداخل هو Helter عام 1904 عندما اطلق على المنطقة المحيطة بالشعيرات الجذرية منطقة الرايزوسفير وهي المنطقة التي تتاثر بكثير من العوامل منها ، اعداد الكائنات الحية ونمو وافرازات الجذور ، وحدد بصورة لاتقبل الشك بان نشاط الاحياء في هذه المنطقة يكون على اشده ، ولذلك ليس من الغريب ان يقال هي المفتاح لعلم الاحياء المجهرية لياخذ مجاله في تعظيم الانتاج النباتي، هذه المنطقة توجد فيها وفرة من العناصر الغذائية وهذه العناصر توجد بهيئات مختلفة منها بحالة مؤكسدة ومنها مختزلة ومنها ما هو حر ومنها ما هو مقيد ، فعندما يكون هناك اتفاقية بين النبات والكائن الحي تكون الاستجابة العظمى وعندما لا يكون هناك اتفاق بين النبات والكائن الحي تتحدد قابلية النبات على النمو والامتصاص وبالتالي لا تقوم الاحياء بدورها المطلوب والتوسط لتيسر العناصر . في هذه المنطقة يوجد الـ Mucilage والخلايا المنسلخة Sloughed cell وانتاج كمي واسع للانزيمات والهرمونات ومنظمات النمو ، اضافة الى مضادات حيوية وسكريات متعددة وهذه كلها مشخصة ومدروسة ، وبهذا تكون لمنطقة الرايزوسفير اهمية تطبيقية من الناحية الزراعية لانها تمثل المهد الحقيقي للبذور وتكون الجذور فيها وزيادة نشاط الاحياء فيها وحصول التداخل بين الاحياء الذي هو تاثير كائن حي على فعالية ونمو وتكاثر كائن حي اخر ، والتداخل اما ان يكون : 1- تضادي : وتكون نتائجه مثبطة ضد عدد الخلايا عندما يكون الكائن الحي بكتيري وقد تكون مثبطة لتكوين السبورات في الفطريات . 2- ايجابي : عندما يعمل كائن حي على تحفيز بعض فعاليات كائن حي

آخر ، مثل المايكورايزا تزيد من عدد سبورات فطر اخر . والتداخلات الغير مرضية تكون على انواع منها :

1- التداخل البسيط (احادي) تعايشي سلمي : ويشمل مايكرو ونبات Micro- Plant : مثل :

أ- الرايزوبيا والنباتات البقولية (تخصصي تكافلي) .

ب- المايكورايزا والنبات (غير تخصصي) .

ج- الازوتوباكتر او الازوسبيرم والنبات (ترابطي) .

2- التداخل الثنائي المعقد غير المرضي (Micro- Micro- Plant) مثل : المايكورايزا + الازوتوباكتر + نبات) .

3- التداخل الثلاثي المعقد (Micro-Micro- Micro- Plant) مثل (المايكورايزا + الازوتوباكتر + الازوسبيرم + نبات) .

1- التداخل الثنائي بين المايكورايزا والبكتريا المثبتة للنروجين تعايشيا (الرايزوبيا)

درس عدد من الباحثين التداخل بين المايكورايزا والرايزوبيا ولاحظوا ان اضافة المايكورايزا مع الرايزوبيا عملت على تحفيز الاصابة وامتصاص الفسفور وتشجع من عملية تكوين وتطور العقد الجذرية وتثبيت النتروجين الجوي في البقوليات ، وتفسير ذلك اعتمد على ان مادام الفسفور واحد من العناصر المهمة في تثبيت النتروجين الجوي ، فقد يعتقد ان في الترب ذات المحتوى المنخفض من الفسفور قد يفشل تثبيت النتروجين الجوي او يحدد بسبب عدم جاهزية الفسفور، ولكن اضافة فطريات المايكورايزا الى وسط النمو والتي تحسن من الحالة التغذوية لعنصر الفسفور في النبات، هذا التحسن ينعكس ايجابيا على تثبيت النتروجين ، حيث ان المايكورايزا تعمل على زيادة تحرر الفسفور المهم لعملية تثبيت النتروجين وانزيم النتروجينيز، فضلا عن افرازها للانزيمات وبالتالي تزيد من نشاط الرايزوبيا ومن ثم زيادة نشاط العقد مما يؤدي الى زيادة عملية تثبيت النتروجين الجوي ، كل هذه المتغيرات تظهر بحالة

ايجابية لو اجتمع الكائنات معا في الرايزوسفير ، حيث من المعروف في تغذية النبات ان اضافة عنصر معين يحسن من امتصاص عنصر اخر وهذا ما يعرف بالتداخل الموجب وهذا مثبت على درجة كبيرة في الادبيات العلمية (عندما تزيد جاهزية النتروجين نجد زيادة في امتصاص الفسفور والعكس صحيح) ومن هنا يبدأ التساؤل ، كيف نستطيع التوصل الى ان تحسن الحالة التغذوية للنتروجين تزيد من امتصاص الفسفور ؟ ولكي نجيب على هذا التساؤل نبين الاتي :

من المعروف ان النتروجين من اهم العناصر الغذائية التي تعمل على زيادة التشعبات الجذرية وهذا يعني ان كفاءة الجذور سوف تزيد من امتصاص العناصر نتيجة التشعبات الجذرية وهذه يترتب عليها حصول عنصر او عناصر لم تكن في متناول الجذر او لم تكن متوافرة بصورة يستطيع النبات ان يمتصها ، ومن هنا يأتي دور المايكورايزا حيث زيادة التشعبات نحصل عليها من الاسمدة النتروجينية او اضافة لقاحات المايكورايزا او الحصول على بعض التحورات في الجذور توصل النبات لمستويات فسفور جيدة يتطلبها النبات لتثبيت النتروجين الجوي . فان المحاصيل البقولية البذرية مثل فول الصويا وفستق الحقل والبقلاء تخضع الى نظام التعايش الثلاثي (النبات وبكتريا الرايزوبيا والمايكورايزا) حيث تكون الرايزوبيا والمايكورايزا نظاماً ثنائياً يرفد النبات بكل من عنصر النتروجين والذي يثبت بواسطة بكتريا الرايزوبيا بصورة مباشرة او غير مباشرة عن طريق زيادة قابلية النبات لامتصاص النتروجين بواسطة فطريات المايكورايزا وكذلك الفسفور الذي تمده المايكورايزا الى النبات .

ان حالة التداخل الثنائي بين المايكورايزا والرايزوبيا تمثل علاقة تأزر Synregism بين البكتريا والمايكورايزا ، هذه العلاقة تفيد اصلاح الانظمة البيئية المتصحرة ، فقد نفذ الباحث Requena وآخرون ،(2001) تجربتين استمرت (5

سنوات في نظام بيئي متوسط التصحر ، فوجد ان تلقيح النباتات البقولية بفطريات المايكورايزا الداخلية والبكتريا المثبتة للنتروجين ادى الى زيادة وتحسين خصوبة التربة ، وان التلقيح المزدوج ادى الى زيادة محتوى التربة من النتروجين والمادة العضوية وزيادة قابليتها على الاحتفاظ بالماء ، فضلا عن زيادة انتقال النتروجين من الانواع النباتية المثبتة للنتروجين الى الانواع الغير مثبتة المترافقة خلال التعاقب البيئي الطبيعي ، واستنتج الباحث بان اضافة الانواع المتواجدة اصلا Indigenous من النباتات المترافقة مع الاحياء المتعايشة ، يمكن عدها تقنية ناجحة لرفع مستوى اصلاح النظام البيئي المتصحّر .وان نقص الفسفور المتاح في الانظمة البيئية المتصحرة يحدد نمو البقوليات وتثبيت النتروجين في حالة عدم الاصابة بفطريات المايكورايزا.

كذلك هذه العلاقة تعمل على تحسين كفاءة التمثيل الضوئي Photosynthates وهذا يتم من خلال زيادة الهرمونات النباتية ، حيث تستطيع المايكورايزا والرايزوبيا تحسين الهرمونات النباتية وبالتالي تنظيم عملية النمو ، كما ان زيادة مستويات المغذيات في النبات البقولي تؤدي الى زيادة البناء الضوئي وبالتالي زيادة نواتج عملية التمثيل الضوئي المتاحة للعقد الجذرية ، فضلا عن انها تحسن الصفات النباتية وتحسين الـ Biomass في التربة . وجد بان هناك عوامل ترتبط بالتداخل الثنائي ما بين فطريات المايكورايزا وبكتريا الرايزوبيا ومن هذه العوامل :

أ- درجة الحرارة : حيث لوحظ ان درجة 16 م° هي افضل حالة لنجاح (VAM + الرايزوبيا) كلقاح لنباتات الـ (Subclover) والمهم في ذلك عند هذه الدرجة لا يوجد تنافس بين المايكورايزا والرايزوبيا المدخلة .

ب- المواد المثبطة للنترجة: هناك بعض المواد المثبطة لعملية النترجة تقلل من نسبة الاصابة وخصوصا اذا استخدمت تقنية التلقيح الثنائي (المزدوج) .

ج- تركيز النتروجين : وجد ان النتروجين بصيغة امونيوم او سلفات الامونيوم يثبط نسبة الاصابة وفسر هذا على اساس ان الامونيا ذو تاثير سيء على الجذور (شكل الجذور) ، ولها تاثير على عملية تثبيت النتروجين .

هـ- العناصر الغذائية في التربة : مغذيات التربة تلعب دورا مهما في فعالية التداخل الثنائي ما بين المايكورايزا والرايزوبيا ، ففي دراسة حالة التداخل بين المايكورايزا وبكتريا *R.leguminosarum bv. Viciae* مع كل من البزاليا والعدس في 12 موقع ، بينت نتائج الدراسة ان عدد سبورات المايكورايزا ونسبة الاصابة كانت اعلى في نباتات العدس مقارنة بالبزاليا ، كما ان المايكورايزا عملت على زيادة فعالية سلالات الرايزوبيا الاقل كفاءة ، وان اضافة السماد الفوسفاتي لم تغير من استجابة نباتات البزاليا لكل من (AM + الرايزوبيا) ، بينما سجلت زيادة معنوية في الحاصل ومستوى المغذيات في نباتات العدس الملقحة ، وأشارت الدراسة ايضا الى ان التلقيح الثنائي لكل من العدس او البزاليا اعطى تأثيرا مشابه او اكبر مقارنة باضافة (20) جزء بالمليون من الفسفور وعدم التلقيح.

التداخل بين المايكورايزا وبكتريا الرايزوبيا في نمو النبات

اهتمت العديد من الدراسات بالتاثير المتداخل بين المايكورايزا الداخلية وبكتريا الرايزوبيا لاهمية هذا التداخل في تحسين نمو النباتات البقولية وزيادة انتاجها ، فضلا عن دورها في خصوبة التربة وتحسين صفاتها ، ومن المعروف ان معظم الاراضي الزراعية في العراق تعاني من نقص كبير في محتواها من الفسفور الجاهز المهم في نمو النباتات البقولية وفي عملية تثبيت النتروجين الجوي ، الذي يمكن الحصول عليه عن طريق فطريات المايكورايزا ، وبذلك يكون لهذا التداخل دور في الحد من كميات الاسمدة المعدنية المستعملة ، ان استجابة النباتات البقولية الضعيفة او عدم استجابتها للمخصبات الحيوية كفطريات المايكورايزا او الرايزوبيا قد ترتبط بعدم او قلة كفاءة

السلاطات المستعملة ، او عدم امكانية نموها ووجودها بالتربة التي اضيفت اليها او ضعف قابليتها في اقامة العلاقة التعايشية مع النبات البقولي ، اضافة الى ان نوع المادة الحاملة للمخصب الحيوي وظروف خزنه يمكن ان تؤثر على استجابة النبات البقولي لهذه المخصبات الحيوية . فقد اشارت الابحاث العلمية الى استعمال سلاطات معروفة بكفاءتها وقدرتها على التعايش مع النبات البقولي وقدرتها على البقاء والتكاثر في منطقة الرايزوبيا بعد الانبات من اجل تحسين نمو وانتاجية النبات ، وقد وجد ان اضافة كل من الرايزوبيا والمايكورايزا مهمة لتكوين العقد الجذرية البكتيرية وتنشيط النتروجين الجوي ونمو وزيادة الحاصل ، وان استعمال هذه المخصبات يؤدي الى زيادة في انتاجية النباتات البقولية بنسبة تزيد عن 120 % ، فان نباتات البرسيم الابيض تستجيب استجابة كبيرة للتلقيح بالمايكورايزا لوحدها او مع بكتريا الرايزوبيا ، حيث ازدادت المادة الجافة بمعدل 380 و 422 % على التوالي مقارنة بالنباتات الغير ملقحة وازدادت هذه النسبة لتصل الى 657 و 726 % عند اضافة 26 كغم P / هكتار ، في حين لم تكن هناك زيادة في الوزن الجاف عند اضافة 77 كغم P / هكتار .

وفي ظروف حقلية درس التأثير المتداخل لكل من فطري المايكورايزا الشجرية *Glomus mosseae* والـ *Gigaspora spp* وبكتريا الرايزوبيا في نمو نباتات الباقلاء *Vicia faba* المزروعة تحت مستويات مختلفة من الفسفور (0 ، 20 ، 40 ، 60) كغم P / هكتار من قبل المفتي ، (2004) ووجد ان التداخل بين فطريات المايكورايزا وبكتريا الرايزوبيا اثر تأثيرا معنويا في زيادة الوزن الجاف للمجموع الجذري والعقد الجذرية وعدد العقد ، وسجل اعلى وزن جاف للعقد الجذرية عند معاملة الفطر *Glomus mosseae* وبكتريا الرايزوبيا وعند المستوى 40 كغم P / هكتار ، بينما اعلى نسبة اصابة للجذور المايكورايزية سجلت عند التداخل الثنائي بين فطر *Gigaspora spp* والرايزوبيا وعند المستوى 20 كغم P / هكتار .

2- التداخل الثنائي بين فطر المايكورايزا والبكتريا المثبتة للنتروجين لا تعايشيا

نتائج كثير من الباحثين اظهرت وجود حالة تداخل ايجابية بين فطر المايكورايزا والبكتريا الحرة المعيشة المثبتة للنتروجين بانواعها (ازوتوباكتر , ازوسبيرلم) وعزي سبب هذه الحالة الى عدة اليات منها :

- أ- التثبيت الحيوي للنتروجين: ان فطريات المايكورايزا لها القابلية على ازالة ايونات الامونيوم من مواقع تثبيت النتروجين وبذلك تطيل من مدى فعالية انزيم النتروجينيز ، وكذلك مقدرتها على تجهيز النبات بالفسفور من مصادره غير الجاهزة وبما أن عملية التثبيت الحيوي يمكن أن تثبط أو تتوقف بسبب نقص عنصر الفسفور الذي يعد ضرورياً لسد حاجة الطاقة اللازمة للبكتريا للقيام بعملية التثبيت الحيوي, لذلك فان هذا الامر اعتبره Ishac (2000) اساس لتقدير قيمة التداخل ما بين الكائنين. ففي احد الدراسات التي اجريت على الحنطة تبين ان كمية النتروجين المثبتة بواسطة الازوتوباكتر (*A.chroococcum*) وفطر المايكورايزا (*G.mosseae*) قدرت بحدود (12.5، 16.47) ملغم نتروجين. نبات¹ من الهواء الجوي في النباتات الملقحة بالازوتوباكتر لوحدها وبالازوتوباكتر مع فطر المايكورايزا على التوالي .
- ب- التأثيرات الهرمونية : ان لبكتريا الازوتوباكتر القدرة على انتاج منظمات نمو النبات ومنها الاوكسينات والجبرلينات والساييتوكينينات ، كما ان لبكتريا الازوسبيرلم المقدرة على افراز الهرمونات ومن اهمها الاوكسين (IAA) فضلاً عن افرازها للجبرلينات والمواد الشبيهة بالساييتوكينينات ، حيث ان الاوكسينات لها دور في السيطرة على تكوين الجذور وتوفير المرونة اللازمة لجدران الخلايا , كما تزيد الجبرلينات من معدل نمو الجذور والاوراق وتشارك الساييتوكينينات في اغلب العمليات الاساسية في مراحل نمو النبات المختلفة وكل هذه العمليات لها علاقة في تكوين المايكورايزا. فان هناك تاثيرين مهمين لمنظمات النمو في المزرعة البكتيرية الاول هو التنشيط المباشر للفعاليات الايضية للمايكورايزا والثاني زيادة حجم

الاوراق والتي تشجع من زيادة عملية التركيب الضوئي ومن ثم زيادة تجهيز المغذيات للمايكورايزا الداخلية في النبات .

ج- تشجيع امتصاص المغذيات : ان الهرمونات التي تفرزها البكتريا تزيد من اعداد الشعيرات الجذرية ، الجذور الفرعية ومن ثم كتلة الجذر، وان السعة الامتصاصية للنظام الجذري للمغذيات تتعلق بشكل مباشر بنمو الجذور او بشكل غير مباشر من خلال وجود مواقع اكثر لنمو وتطور فطر المايكورايزا, فان هذا يوضح الزيادة المعنوية في معدل امتصاص المغذيات من قبل النباتات الملقحة بلقاح مزدوج من فطر المايكورايزا والبكتريا المثبتة للنتروجين مقارنة بتلك الملقحة بصورة منفردة بفطر المايكورايزا. وهناك العديد من نتائج الباحثين التي سجلت تاثيرا معنوياً في معدل امتصاص (P , N , Ca , K , Mg , Zn , Cu) من قبل نباتات الذرة , وهذه النتيجة كانت متعلقة بزيادة نسبة الاصابة المايكورايزية نتيجة لاضافة لقاح الازوتوباكتر.

د- زيادة المقاومة للفطريات المرضية : من نتائج احدى الدراسات تبين انخفاض معدل الاوزان الجافة للنباتات المصابة بالامراض الى (64.4 %) مقارنة بالنباتات السليمة , في حين التلقيح بالمثبتات الحيوية الحرة المعيشة او المايكورايزا او كلاهما حسن من معدل الاوزان الجافة بنسبة (78.6 % , 96.4 % , 125 %) لكل من معاملات التلقيح وعلى التوالي ، وأشارت الدراسة ايضا الى ان النباتات المصابة بمرض تعفن الجذور المتسبب من الفطر (Fusarium) اظهرت مقاطعها خلايا غامقة في منطقة الـ (epidermal) والخلايا الخارجية للقشرة واعطت طبقات غير منتظمة غامقة اللون وبعض جدرانها كانت مشققة , اما في النباتات الملقحة باللقاح المزدوج (فطري + بكتيري) فان الخلايا كانت اقل اصابة وتلفا ، كما ان قطر الحويصلات (vascular) والاسطوانات (cylinder)

واللحاء الثانوي (secondary phloem) ازدادت في النباتات الملقحة وعزي السبب في ذلك الى ارتفاع نسب اللكتين فيها .

أ- التداخل الثنائي بين فطر المايكورايزا وبكتريا الازوتوباكتر

ان طبيعة علاقة التداخل الوثيقة ما بين الازوتوباكتر والمايكورايزا ذكرت من قبل العديد من الباحثين ، حيث لاحظ Trappe و Gerdmann ، (1974) تكون اغلفة شبيهة بالقشرة (تجمعات لخلايا الازوتوباكتر) تحيط بسبورات المايكورايزا ، ومن ثم بين Ho،(1988) ان سبورات المايكورايزا *G.mossea* كانت مغلفة بخلايا الازوتوباكتر في معاملات التلقيح المزدوج وكان هذا اكثر وضوحا" في المراحل المتأخرة من الزراعة فقد قام الباحث باعادة عزل البكتريا من على سطح سبورات المايكورايزا وليس من على سطح الجذور.

تشير الملاحظات الاولى للباحثين حول التداخل ما بين فطر المايكورايزا وبكتريا الازوتوباكتر (*A.paspali*) الى وجود اعداد اكبر لهذه البكتريا في جذور نبات الـ (*paspalum natatum*) المايكورايزية مقارنة باعدادها في النباتات غير المايكورايزية .ففي تجربة اصص باستعمال تربة معقمة وغير معقمة لدراسة حالة التداخل بين المايكورايزا نوع (*G.mosseae*) وبكتريا (*A.chroococcum*) اشار السامرائي (2003) الى ان اضافة التلقيح المزدوج تسبب في زيادة النسبة المئوية للاصابة (90%) وطول جذور المايكورايزا (719.7 سم .نبات¹) مقارنة بدون اضافة اللقاح (22.5% ، 134.8 سم .نبات¹) .

وعلى مستوى الحقل نفذت تجربة حقلية من قبل التميمي ، (2005) لدراسة تاثير فطر المايكورايزا (*Glomus mosseae*) وبكتريا (*Azotobacter chroococcum*) بصورة منفردة أو مجتمعة وبالتداخل مع مستويين من التسميد الكيميائي NPK (50 % و 100%) من التوصية السمادية لنباتات القمح (*Triticum aestevium* L.) على الصفات المايكروبيولوجية في التربة اظهرت نتائج التجربة ما يلي :

1- اضافة اللقاح الفطري المنفرد *G.mosseae* سببت زيادة معنوية في اعداد الازوتوباكتر المستوطنة في التربة مقارنة بمعاملة عدم اضافة اللقاح الفطري ، وسجلت اعلى نسبة زيادة عند مستوى السماد (50%) فبلغت (174.44%) .

2- اضافة اللقاح الفطري والبكتيري بصورة مزدوجة (*A.chroococcum* + *G.mosseae*) ادت الى زيادة معنوية في اعداد الازوتوباكتر مقارنة بمعاملة عدم اضافة اللقاح وسجلت اعلى نسبة زيادة عند مستوى السماد (50%) فبلغت (287.22%) .

3- اما اضافة اللقاح البكتيري المنفرد *A.chroococcum* فقد ادى الى رفع نسبة الاصابة المايكورايزية من 30% الى 52% واعداد السبورات من 55.5 سبور. 100 غم¹ تربة جافة الى 78.5 سبور. 100 غم¹ تربة جافة وباضافة 50% من التسميد الكيميائي .

4- اضافة اللقاح الفطري والبكتيري المزدوج *A.chroococcum* + *G.mosseae* حققت اعلى نسبة للاصابة المايكورايزية 74% واعداد السبورات 149 سبور. 100 غم¹ تربة جافة وباضافة 50% من التسميد الكيميائي .

هناك دراسات اشارت الى انخفاض نسبة الاصابة المايكورايزية او لم ينتج أي زيادة في نسبة الاصابة الداخلية للجذور وقد يكون هناك انخفاضاً في اعداد بكتريا الازوتوباكتر في معاملات التلقيح المزدوج عنها في حالة التلقيح المنفرد وعزي السبب في ذلك الى ان بكتريا الازوتوباكتر قد تكون محددة للاصابة من خلال تنافسها مع المايكورايزا على مواقع الجذور او التنافس على المغذيات او لكلا السببين معا او قد يرجع الى اختلاف وقت اضافة اللقاح وطريقة الاضافة المتبعة ونوع العائل النباتي.

اما التأثير المتداخل للتلقيح بالمايكورايزا والازوتوباكتر في نمو وانتاج النباتات ، فقد تطرقت اليه كثير من الابحاث واطهرت نتائج تلك الابحاث ان التلقيح المختلط

بالازوتوباكتر والمايكورايزا يعطي نموا افضل وانتاجا اعلى للنبات عنه في حالة استعمال كل لقاح لوحده بصورة منفردة ، وان هذا التداخل هو تداخل موجب على ان تكون هناك خصوصية لانواع الازوتوباكتر وانواع المايكورايزة الداخلية في تداخل واحد مع ملاحظة طريقة اضافة اللقاح البكتيري من الازوتوباكتر بعد او قبل حدوث الاصابة المايكورايزية ، ولغرض معرفة نوع التداخل يجب تحديد جنس الازوتوباكتر والمايكورايزا مع نوع النبات .

ان بكتريا الازوتوباكتر كما هو معروف لها القدرة على افراز مركبات Siderapheors وهي مركبات خالبة للحديد وعند تداخلها مع المايكورايزا تستطيع افراز هذه المركبات لخلب الحديد واعطائها الى النبات وبالتالي تعالج ظاهرة الاصفرار الحديدي ، فقد وجد في تجربة اصص لدراسة تاثير تلقيح نباتات الحنطة بفطر المايكورايزا (*G.fasciculatum*) وبكتريا الازوتوباكتر (*A.chroococcum*) ان لقاح المايكورايزا كان غير معنوي عند استعماله بصورة منفردة بينما استعمال لقاح الازوتوباكتر كان له تاثير منشط في نمو نبات الحنطة بوجود او غياب لقاح المايكورايزا واعطى التداخل بين المايكورايزا وبكتريا الازوتوباكتر احسن انتاج وكانت القيمة معنوية بالنسبة لمعاملة المقارنة.

وفي ظروف حقليّة نفذت تجربة حقليّة لدراسة تاثير المخصبات الحيوية الفطرية *Glomus mosseae* والبكتيرية *Azotobacter chroococcum* في نمو وحاصل نباتات الحنطة واظهرت النتائج ان اعلى قيمة لارتفاع النبات والوزن الجاف للمجموع الخضري كانت عند اضافة التلقيح المزدوج (*G.mosseae + A.chroococcum*) وان حاصل الحبوب تاثر معنويا في اضافة المخصبات الحيوية وبلغت اعلى قيمة للحاصل عند اضافة اللقاح المزدوج وكانت الزيادة المتحققة في الحاصل 23.8% (سهيل، 2008). ودرست حالة التداخل الثنائي ما بين فطر المايكورايزا نوع

(*G.mosseae*) مع بكتريا الازوتوباكتري نوع (*A.chroococcum*) في تجربة حقلية ايضا لمعرفة تاثير التداخل في نمو وحاصل نبات الحنطة صنف (اباء 99) وباستعمال اربعة مستويات سمادية NPK (0% , 25% , 50% , 100%) من التوصية السمادية للحنطة ولخصت النتائج (جدول 9-13) بما يلي :

1- ان اعلى استجابة للتلقيح الحيوي والسماد الكيميائي في حاصل الحنطة كانت عند اضافة اللقاح الحيوي الفطري والبكتيري المزدوج (*G.mosseae* + *A.chroococcum*) وبوجود (100%) من السماد الكيميائي (NPK) حيث تفوقت بنسبة (34.0% , 49.3%) لكل من وزن الحاصل البايولوجي وحاصل الحبوب مقارنة مع معاملة عدم اضافة لقاح حيوي .

2- في حالة اضافة اللقاح الحيوي الفطري والبكتيري المزدوج من (*G.mosseae* + *A.chroococcum*) وبوجود (50%) سماد كيميائي (NPK) فان الحاصل البايولوجي سجل قيمة لا تختلف معنويا عن قيمته في حالة اضافة (100%) سماد كيميائي (NPK) وبغياب التلقيح الحيوي ، كما اقتربت قيمة حاصل الحبوب (6103.33) كغم.هكتار⁻¹ في حالة اضافة اللقاح الحيوي الفطري والبكتيري المزدوج وبوجود (50%) سماد كيميائي من القيمة (6311.67) كغم.هكتار⁻¹ في حالة اضافة (100%) سماد كيميائي وبغياب التلقيح الحيوي . وهذا يعني ان (50%) من كمية السماد الكيميائي يمكن ان تقلل من تكاليف الانتاج في حالة استعمال السماد الحيوي من فطريات المايكورايزا وبكتريا الازوتوباكتري معا بصورة مشتركة .

جدول 9-13: تأثير اضافة اللقاحات الحيوية والاسمدة الكيميائية في وزن الحاصل البايولوجي وحاصل الحبوب لنبات الحنطة . (بشير، 2003) .

المعدل	نسب اضافة السماد الكيميائي من التوصية السمادية*				المعاملات الحيوية
	100%	50%	25%	0%	
	الحاصل البايولوجي (كغم . هكتار- 1)				
13340.83 c	17088.33 a	15233.33 d	12666.67 g	8375.00 j	بدون لقاح حيوي
13850.42 b	16183.33 bc	16251.67 bc	13100.00 fg	9866.67 i	<i>G.mosseae</i>
13835.00 b	16203.33 bc	15658.33 cd	13600.00 f	9878.33 i	<i>A.chroococcum</i>
14816.67 a	16816.67 ab	16665.00 ab	14560.00 e	11225.00 h	<i>G.mosseae</i> + <i>A.chroococcum</i>
	16572.92 a	15952.08 b	13481.67 c	9836.25 d	المعدل
	وزن حاصل الحبوب (كغم . هكتار- ¹)				
4422.50 c	6311.67 a	5261.67 e	3781.67 i	2335.00 l	بدون لقاح حيوي
4665.42 b	5825.00 c	5666.67 cd	4135.00 h	3035.00 k	<i>G.mosseae</i>
4712.50 b	5810.00 c	5500.00 d	4525.00 g	3015.00 k	<i>A.chroococcum</i>
5175.42 a	6145.00 ab	6103.33 b	4968.33 f	3485.00 j	<i>G.mosseae</i> + <i>A.chroococcum</i>
	6022.92 a	5632.92 b	4352.50 c	2967.50 d	المعدل

*التوصية السمادية (كغم.هكتار⁻¹) = اليوريا (100) ، الداب (160) ، كبريتات البوتاسيوم (80) .

ب- التداخل الثنائي بين فطر المايكورايزا وبكتريا الازوسبيرلم

اظهرت دراسات المجهر الالكتروني الى وجود بكتريا ترابطية شبيهة بالازوسبيرلم مابين هايفات او داخل جدران الهايفا لفطريات المايكورايزا , واطهر

فحص المقاطع المتعاقبة لانسجة المايكورايزا طبيعة التكوين المكاني للبكتريا في المواقع الخارجية حول الهايفا وفي المواقع الداخلية الدقيقة مكونة نسيج يشبه الشبكة حول الجذور , ان وجود هذه البكتريا الشبيهة بالازوسبيرلم في رايزوسفير المايكورايزا وداخلها يؤكد علاقة الترابط الوثيقة بين الكائنين، وان فحوصات الميكروسكوب الالكتروني اظهرت وجود هذه البكتريا ليس فقط على الهايفا ولكن ايضا على سطح السبورات وداخل الـ (sporo carps) للـ (*Glomus mosseae*) وكذلك داخل المواقع الدقيقة (microniches) المتكونة من قبل (peridial hyphae).

ومن نتائج احدى الدراسات تبين ان التلقيح المزدوج بفطر المايكورايزا من النوع (*Glomus mosseae*) او (*G. deserticola*) او اضافة التربة غير المعقمة كلقاح (المايكورايزا المستوطنة Indoginus) مع بكتريا الازوسبيرلم يمكن ان تؤثر في المجتمعات الحيوية في منطقة الرايزوسفير كميًا ونوعيًا فضلًا عن تأثيرها في حيوية الانزيمات (phosphatase) و (chitinase) و (esterase) والتي استعملت كدليل لتقدير التغيرات المايكروبيولوجية لاداء احياء التربة , واطهرت النتائج ان أي من الاحياء المثبتة للنتروجين لم يكن لها أي تأثير سلبي على بدء الاصابة المايكورايزية , كما ان الاصابة المايكورايزية احدثت تنشيطاً في التقديرات الكمية والنوعية للمجتمعات الحيوية البكتيرية المستعملة كلقاح وازداد نشاط الانزيمات بدرجات متفاوتة.

اما تأثير التداخل في نمو النباتات فقد اكد العديد من الباحثين اهمية استعمال بكتريا الازوسبيرلم مع فطر المايكورايزا في تحسين نمو النبات وزيادة الحاصل ومعدل امتصاص العناصر ومحتوى النبات من الكلوروفيل ومعدل التركيب الضوئي , وان طبيعة التداخل هذه هي طبيعة ايجابية , حيث ان المايكورايزا تعمل على تحفيز بكتريا الازوسبيرلم مما يؤدي الى زيادة امتصاص النتروجين والفسفور من قبل النبات , حيث وجد ان التلقيح ببكتريا الازوسبيرلم لوحدها لم يعط أي تأثير احصائي ايجابي ومعنوي بينما التلقيح بفطريات المايكورايزا لوحدها او التلقيح بالفطريات والبكتريا معاً شجع من

النمو وزاد من الوزن الجاف للمجموعين الخضري والجذري وبنسبة (50% و105%) على التوالي مقارنة بمعاملة التلقيح بالبكتريا لوحدها, كما ازداد محتوى المجموع الخضري والجذري من النتروجين بنسبة (88 % و 173%) ومحتوى الفسفور بنسبة (83 % و 158 %) على التوالي .

و درس بشير ،(2003) في تجربة حقلية (جدول9-14) حالة التداخل الثنائي ما بين فطر المايكورايزا نوع (*G.mosseae*) مع بكتريا الازوسبيرم نوع (*A.brasilense*) لمعرفة تأثير التداخل في نمو وحاصل نبات الحنطة صنف (اباء 99) وباستعمال اربعة مستويات سمادية NPK (0% , 25% , 50% , 100 %) من التوصية السمادية للحنطة وتوصل الى ان اعلى استجابة في قيم الحاصل البايولوجي وحاصل الحبوب حصلت عند اضافة اللقاح الحيوي الفطري والبكتيري المزدوج (*G.mosseae* + *A.brasilense*). كما بين ان استعمال اللقاح الحيوي الفطري والبكتيري المزدوج وبوجود (50%) سماد كيميائي اعطى قيم لكل من الحاصل البايولوجي وحاصل الحبوب لا تختلف معنويا عن القيم في حالة اضافة (100%) سماد كيميائي وبغياب التلقيح الحيوية ، هذه النتائج تؤكد اهمية استعمال اللقاح الحيوي المزدوج من فطريات المايكورايزا وبكتريا الازوسبيرم بغية تقليل الاسمدة الكيميائية المستعملة وبدون التأثير في كمية الحاصل .

جدول 9-41 : تأثير اضافة اللقاحات الحيوية والاسمدة الكيميائية في وزن الحاصل البايولوجي وحاصل الحبوب لنبات الحنطة .

المعدل	نسب اضافة السماد الكيميائي من التوصية السمادية*				اضافات الاسمدة الحيوية
	وزن الحاصل البايولوجي (كغم . هكتار ⁻¹)				
13340.83 d	17088.33 a	15233.33 c	12666.67 e	8375.00 h	بدون لقاح حيوي
13850.42 c	16183.33 b	16251.67 b	13100.00 e	9866.67 g	<i>G.mosseae</i>
14425.00 b	16683.33 ab	16750.00 ab	13933.33 d	10333.33 g	<i>A.brasilense</i>
15364.58 a	17350.00 a	17375.00 a	15050.00 c	11683.33 f	<i>G.mosseae</i> + <i>A.brasilense</i>
	16826.25 a	16402.50 b	13687.50 c	10064.58 d	المعدل
وزن حاصل الحبوب (كغم . هكتار ⁻¹)					
4422.50 d	6311.67 a	5261.67 d	3781.67 g	2335.00 i	بدون لقاح حيوي
44665.42 c	5825.00 bc	5666.67 c	4135.00 f	3035.00 h	<i>G.mosseae</i>
4942.50 b	5988.33 b	5998.33 b	4601.67 e	3181.67 h	<i>A.brasilense</i>
5366.25 a	6358.33 a	6346.67 a	5131.67 d	3628.33 g	<i>G.mosseae</i> + <i>A.brasilense</i>
	6120.83 a	5818.34 b	4412.50 c	3045.00 d	المعدل

*التوصية السمادية (كغم.هكتار⁻¹)= اليوريا (100) ، الداب(160) ،كبريتات البوتاسيوم (80) .

ج- التداخل الثلاثي ما بين فطريات المايكورايزا وبكتريا الازوتوباكتر والازوسبيرلم

هناك علاقة ارتباط وثيقة بين فطريات المايكورايزا والبكتريا المثبتة للنتروجين بانواعها المختلفة ويعتقد ان العامل الاكثر اهمية في تفسير طبيعة هذا التداخل هو قدرة المايكورايزا على تجهيز عنصر الفسفور للنبات والاحياء من مصادره غير الجاهزة (كما بينا سابقا) , حيث ان الفسفور يعد من اكثر العوامل المحددة لعملية التثبيت الحيوي للنتروجين وذلك من خلال كونه مصدراً مهماً يجهز الاحياء بالطاقة اللازمة . ففي تجربة حقلية لدراسة تاثير التلقيح بالبكتريا (*A.chroococcum + A.lipoferum*) في نشاط انزيم النتروجيناز ونسبة الاصابة المايكورايزية ونمو الحنطة صنف (Sakha 60) وباستعمال التوصية السمادية النتروجينية او نصفها وصخر الفوسفات كسماد فوسفاتي تبين ان نسبة الاصابة المايكورايزية تراوحت ما بين (26-32 %) وكانت اقل نسبة في معاملة المقارنة واعلى نسبة في معاملة اللقاح الخليط للبكتريا , وان نسبة الاصابة كانت الاعلى في جميع المعاملات التي استلمت نصف الكمية الموصى بها من الاسمدة المعدنية مقارنة مع تلك التي اضيف لها الكمية الكاملة من النسبة الموصى بها . وظهر الاتجاه نفسه في اعداد السبورات في (100) غم تربة جافة , اذ تراوحت الاعداد من (266-303) سبور في (100) غم تربة جافة وكان اقل عدد في معاملة المقارنة واعلى عدد في معاملة التلقيح باللقاح البكتيري المختلط , كما اظهرت النتائج انخفاضاً في اعداد السبورات في المعاملات ذات التسميد الكيميائي المرتفع مقارنة مع تلك التي اضيف اليها نصف الكمية الموصى بها .

اما تاثير التداخل في نمو النبات فقد اكدت الدراسات ان التلقيح بفطريات المايكورايزا وبكتريا الازوتوباكتر والازوسبيرلم يزيد من اطوال المجموعتين الخضري والجذري فضلاً عن انتاج حاصل حبوب ووزن مادة جافة وان التلقيح بهذه الاحياء

ليست فقط يزيد من الانتاج ولكنها ايضا توفر بحدود (50%) من الاسمدة الكيميائية ذات الكلفة العالية . ففي تجربة حقلية لدراسة تاثير التلقيح بفطر المايكورايزا نوع (*G.fasciculatum*) و كل من بكتريا الازوتوباكتر (*A.chroococcum*) والازوسبيرم (*A.brasilense*) بصورة منفردة وبتداخلاتها ومع ثلاثة مستويات سمادية في نمو نبات الذرة البيضاء, بينت النتائج ان الكتلة الحية واطوال المجموعين الخضري والجذري ازدادت بصورة خطية مع ازدياد نسب الاسمدة المعدنية وكانت معاملة اضافة ثلاثة ارباع النسبة الموصى بها من الاسمدة المعدنية (NPK) معنوية بالنسبة الى معاملة المقارنة , كما اعطت معاملة اللقاح الخليط من فطر المايكورايزا وبكتريا الازوتوباكتر والازوسبيرم اعلى كتلة حية للنبات, وكان اقل وزن رطب في معاملة المقارنة , وظهرالاتجاه السابق نفسه في معدلات الاوزان الجافة واطوال المجموعين الخضري والجذري ولجميع المعاملات .

الجدول (9-15) يبين نتائج تجربة نفذت في بيت زجاجي لدراسة حالة التداخل الثلاثي ما بين لقاح فطر المايكورايزا من النوع (*G.mosseae*) واللقاح البكتيري الخليط لكل من بكتريا الازوتوباكتر (*A. chroococcum*) وبكتريا الازوسبيرم (*A. brasilense*) في الاوزان الجافة للمجموعين الخضري والجذري ونسبة تجمع المادة الجافة لنباتات الحنطة وباستعمل نوعين من التوليفات السمادية ومدتين للنمو (60 و 90) يوما بعد الزراعة وان كل معاملة من المعاملات الحيوية قد اخذت نوعين من التوليفات السمادية ففي الحالة الاولى اخذت نسبة كاملة من السماد الكيميائي (NPK) وفي الحالة الثانية تم تغيب نوع السماد الذي يمكن ان تعوضه الاحياء المضافة في المعاملة وضمن الاحياء المختصة بكل عنصر وذلك بغية معرفة مدى مقدرة هذه الاحياء على سد حاجة النبات من هذا العنصر وتبين :

1- ان اضافة فطر المايكورايزا (*G.mosseae*) والبكتريا المثبتة للنيتروجين (*A.chroococcum+A.brasilense*) بصورة مجتمعة ادت الى ان اوزان

المادة الجافة للمجموع الخضري والجذري كانت اعلى معنويا من قيم تلك الاوزان في حالة اضافتها بصورة منفردة ولكلا مدتي النمو الاولى والثانية .

2- ان اضافة اللقاح الحيوي الخليط من فطريات المايكورايزا وبكتريا الازوتوباكتري والازوسبيرلم (*G.mosseae+A.chroococcum+* (*A.brasilense*) وبغياب عنصري النتروجين والفسفور من التوليفة السمادية المضافة اعطى قيما للاوزان الجافة للمجموع الخضري لاختلف معنويا عن قيمتها في حالة عدم اضافة سماد حيوي وبوجود الاضافة الكاملة من التوليفة السمادية للمغذيات الكبرى (NPK) ولكلا مدتي النمو الاولى والثانية . هذا يؤشر على مقدرة المخصبات الحيوية الفطرية والبكتيرية المضافة بصورة مجتمعة في تمكين نباتات الحنطة من الحصول على ما تحتاجه من عنصري النتروجين والفسفور وتقليل كمية الاسمدة الكيميائية المضافة .

جدول 9-15: تأثير اضافة اللقاحات الحيوية و الاسمدة الكيميائية في الازان الجافة للمجموعين الخضري والجذري ونسبة التجمع في المجموع الخضري (بشير ، 2003) .

لقاح فطري وبكتيري***		لقاح حيوي بكتيري**		لقاح حيوي فطري*		بدون لقاح حيوي	
NPK	N ₀ P ₀ K	NPK	N ₀ P ₀ K	NPK	NP ₀ K	NPK	N ₀ P ₀ K
مدة النمو الاولى (60) يوما							
الاوزان الجافة للمجموع الخضري (غم. 4 نبات ⁻¹)							
4.93 a	4.20 d	4.63 b	4.17 d	4.40 C	4.00 d	4.17 d	2.80 e
الاوزان الجافة للمجموع الجذري (غم. 4 نبات ⁻¹)							
2.70 a	2.50 ab	2.23 bc	2.10 cd	1.90 de	1.60 f	1.70 ef	1.30 g
نسبة تجمع المادة الجافة في المجموع الخضري(%)							
64.62 ed	62.69 e	67.51 b-d	66.49 cd	69.85 a-c	71.47 a	71.04 ab	68.41 a-d
مدة النمو الثانية (90) يوما							
الاوزان الجافة للمجموع الخضري (غم. 4 نبات ⁻¹)							
9.20 a	8.30 bc	8.60 b	8.00 c	8.67 B	8.00 c	8.13 c	6.83 d
الاوزان الجافة للمجموع الجذري (غم. 4 نبات ⁻¹)							
2.20 a	1.90 b	1.60 c	1.50 c	1.70 bc	1.50 c	1.50 c	1.20 d
نسبة تجمع المادة الجافة في المجموع الخضري(%)							
80.68 c	81.38 bc	84.32 a	84.24 a	83.58 ab	84.19 a	84.43 a	85.03 a

*(*G.mosseae*)

**(*A.chroococcum*+*A.brasilense*)

***(*G.mosseae*+*A.chroococcum*+*A.brasilense*)

تقدير النسبة المئوية للاصابة المايكورايزية

طريقة العمل (طريقة (Phillips و Haymann ، 1970) .

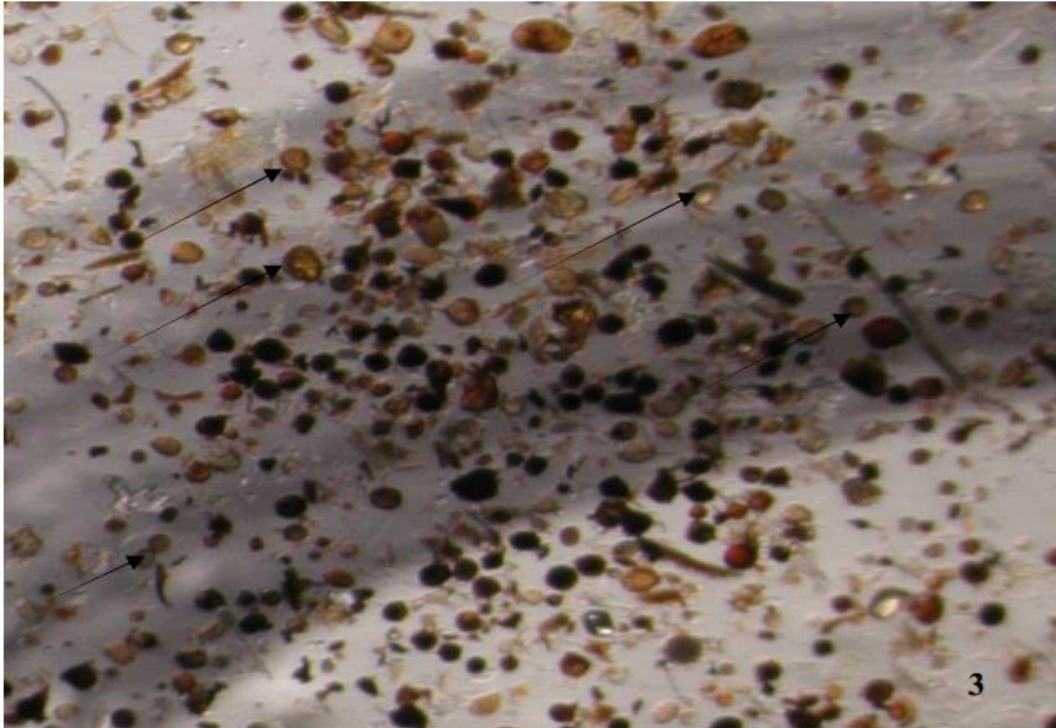
- 1- تاخذ عينات عشوائية من الجذور و تغسل من بقايا الطين والأتربة العالقة بها .
- 2- تقطع الجذور الى قطع صغيرة (طول القطعة الواحدة 1 سم) وتوضع في انبوبة اختبار .
- 3- يضاف محلول هيدروكسيد البوتاسيوم تركيز 10 % (المحضر من اذابة 10 غم من هيدروكسيد البوتاسيوم KOH في 100 مل ماء مقطر) ثم توضع في حمام مائي بدرجة 90 م 0 ولمدة 30 – 60 دقيقة .
- 4- تغسل القطع الجذرية بالماء الاعتيادي بعد استخراجها من الحمام المائي .
- 5- يضاف محلول حامض الهيدروليك تركيز 10 % (المحضر من اضافة 10 مل من حامض الهيدروليك المركز في 100 مل ماء مقطر لمدة 2- 3 دقائق ثم نسكب الحامض بدون غسل الجذور .
- 6- يضاف محلول صبغة Trypan blue لانبوبة اختبار، ثم توضع في حمام مائي بدرجة 90 م 0 ولمدة 15 -20 دقيقة .
- 7- يضاف حامض اللاكتيك Lactic acid بعد استخراجها من الصبغة . وبذلك يصبح النموذج جاهز للفحص المجهرى .
- 8- اختر عدد من القطع الجذرية وبصورة عشوائية لكل عينة وتوضع على شريحة زجاجية Slide عن طريق تقدير النسبة المئوية للقطع الجذرية المصابة حسب طريقة الشريحة Root Slide Method (Gerdman و Nicolson، 1963).
- 9- تفحص الجذور تحت المجهر وتحسب النسبة المئوية للاصابة حسب المعادلة التالية :

$$\text{النسبة المئوية للاصابة} = \frac{\text{عدد القطع الجذرية المصابة}}{\text{عدد القطع الكلية}} \times 100$$

عزل سبورات فطريات المايكورايزا من التربة

طريقة العمل

- 1- خذ وزن معلوم من التربة كأن يكون (100غم) من منطقة الرايزوسفير.
- 2- يحضر عالق من التربة والماء وذلك باضافة ايضا حجم معلوم من الماء (500 مل مثلا) ويرج جيدا .
- 3- تستخدم طريقة النخل الرطب والتصفية Wet sieving and decanting (Mosse et Boweny، 1968) ، وذلك بامرار العالق بمجموعة من المناخل ذات احجام مختلفة (100 ، 250 ، 400) مايكرون .
- 4- تغسل المناخل ويجمع ماء الغسل فوق كل منخل في طبق بتري نظيف ، ثم يفحص بواسطة المجهر . وعملية نقل السبورات اما بواسطة الماصات او بواسطة ملاقط خاصة . والشكل (9-18) يبين السبورات المستخلصة من التربة بواسطة النخل الرطب .



شكل 9-18 : يبين السبورات المستخلصة من التربة بواسطة النخل الرطب .

الفصل العاشر

فطر الترايكوديرما

مقدمة

ينتمي فطر *Trichoderma* spp الى صنف Hyphomycetes وهو من الفطريات الناقصة، له حوامل كونيدية متعددة التفرع والحامل الكونيدي ربما ينتهي بزائدة عقيمة Sterile appendages والخلايا المولدة للانواع قارورية الشكل Philalides تحمل فقط على الافرع الجانبية لبعض الانواع . السبورات شفافة Hyaline خضراء اللون احيانا ذات جدران ناعمة او خشنة ، وان السبورات الكلاميدية عادة توجد في الغزل الفطري للمزارع القديمة ،اما اذا كانت الخلايا المولدة للسبورات Philalides متقاربة بقوة strongly convergent فان الطور الجنسي يوضع تصنيفيا ضمن الجنس Gliogadium وعندما تكون قائمة straight ومتوسطة التقارب Moderately divergent توضع تصنيفيا ضمن الـ Verticillium.

ان فطر *Trichoderma* له المقدرة على تكوين الكلاميدوسبور في كلا الوسطين الغذائيين السائل والصلب وفي التربة المعقمة ومستخلصات التربة وفي مخلفات النبات الطبيعية. ويستوطن الفطر الترب بهيئة غزل فطري او ابواغ كونيدية او كلاميدية سواء اكانت ترب طينية ام رملية ام ترب حقول او غابات وخاصة في الاقاليم الدافئة . حيث ينتشر بشكل واسع في جميع انواع الترب فهو يتراوح وجوده من الترب الخفيفة النسجة الى الثقيلة خصوصا تلك التي تحتوي على نسب عالية من المادة العضوية ، وكذلك يتواجد على سطوح جذور العديد من النباتات ، حيث يتواجد على الخشب واللحاء المتفسخ .

يعد فطر الترايكوديرما *Trichoderma* spp من الفطريات الرمية والتي تستخدم كمبيد حيوي وذلك من خلال بعض الافرازات الايضية لهذه الفطريات والتي تكسب

العائل النباتي المقاومة لبعض مسببات المرضية في التربة فضلا على كونها جزءا" من مكونات الرايزوسفير الذي تتكاثر فيه مما يعزز نمو النبات من خلال دورها في دورات العناصر ومنها النتروجين والفسفور والكبريت .

ان فطر الترايكوديرما يفرز عددا من الانزيمات المحللة للبقايا النباتية في التربة واهمها انزيم السيليليز (cellulase) ، وان الفطر *Trichoderma harzianum* يفرز انزيم الـ cellulase ; B-1,3- glucalase ; chitinase في التطفل والقضاء على الفطر Pythium .

الظروف البيئية المناسبة لنمو فطر الترايكوديرما

1- مصادر الكربون والطاقة

يستعمل الفطر مدى واسع من المركبات كمصادر للكربون والنتروجين ، حيث ان متطلبات الكربون والطاقة يمكن ان يحصل عليها الفطر عن طريق السكريات الاحادية والثنائية والمتعددة والمعقدة والبيورينات والبريميدينات والحوامض الامينية والالديهيدات والحوامض العضوية والميثانول والميثيلامين ، حيث وجد ان نشاط هذه الفطريات يكون على اشده عندما يكون مستوى جيد من المادة العضوية ، فقد وجد الحديثي (2002) ان معاملات المادة العضوية اعطت زيادة في الاعداد السكانية لهذا الفطر مقدارها 32 % عند استعمال (15 – 60) طن . هكتار¹ مادة عضوية .

يعد الامونيوم من اكثر مصادر النتروجين جاهزية لفطر الترايكوديرما في الوسط الغذائي ، فضلا عن ان هناك مصادر اخرى للنتروجين كالاحماض الامينية ، اليوريا ، النتريت والنترات يمكن ان تستغل ايضا من قبل الفطر . ان الفطر يقل وجوده في التربة بزيادة العمق داخل التربة لانخفاض كمية الغذاء والاكسجين قياسا" بـ CO₂ .

2- الضوء

معظم انواع فطر الترايكوديرما تكون حساسة للضوء ،فهي تكون حلقات متعاقبة بين الداكنة والفاتحة متأثرة بتعاقب الضوء والظلام حيث تنتج الكونيديا اثناء مدة الاضاءة ، حيث ان تعريض المزارع لمدة 20 -30 ثانية للضوء بشدة 85 -90 لوكس تكون كافية لتكوين الابواغ ، وان نشاط التحفيز الضوئي Photoinduction وجد عند المدى 380 – 440 نانوميتر ،وتكوين الابواغ لا يحدث دون 254 نانوميتر او فوق 1100 نانوميتر .

3- الـ pH

ان اغلب انواع الترايكوديرما تعيش ضمن مدى واسع من تفاعل التربة الـ pH حيث يتراوح بين 4 -7، وقد يزداد النمو بالمدى 3.5- 4.5 وينخفض عند المدى 7.5 – 8.5 ، حيث وجد ان استجابة ابواغ الفطر للمغذيات تتأثر بالـ pH حيث يكون الانبات تحت الظروف الحامضية اكثر مما هو عليه تحت الظروف المتعادلة. حيث ان المستويات الحامضية عند الرقمين 3 و4 لها المقدرة على زيادة انتاج الفطر من الوحدات التكاثرية ولمدة تحضين امدها اسبوعين .

4- الحرارة

وجد ان فطر الترايكوديرما ينمو في مدى واسع من درجات الحرارة تتراوح بين 10 – 50 م⁰ ويتحمل درجات الحرارة المرتفعة ، فقد وجد ان النوعين *T.viride* و *T.polysporum* يتواجدان في المناطق ذات الحرارة الواطئة او المنخفضة ، بينما النوع *T.harzianum* يتواجد في المناطق المعتدلة الحرارة والعالية نسبيا.

5- الرطوبة

وجد ان جفاف التربة لمدة طويلة يؤثر على اعداد الفطر حيث تقل المجاميع السكانية للفطر بشكل ملحوظ ، فقد تبين ان عزلات من الفطر *T. harmatum* ، *T.pseudokonangii* قد نمت في تربة عالية الرطوبة .

اهمية فطر الترايكوديرما

1- معالجة المسببات المرضية (المكافحة الحيوية)

عرف فطر الترايكوديرما بقدرته المثبطة لنمو الفطريات منذ عام 1930 ، حيث تم استخدام العديد من الانواع (*T.harzianum* , *T.vireus* , *T.veese* , *T.hamatum*) في معالجة الفطريات المرضية للنباتات على العديد من المحاصيل ، حيث ان فطر الترايكوديرما له الامكانية على انتاج ايض ضد الفطريات حيث تم التعرف على الناتج السام للايض الحيوي لفطر الترايكوديرما لأول مرة من قبل Weindling (1934)، وعزلت مركبات ايضية على شكل بلورات من معلق الفطر الممرض سمي الناتج باسم gliotoxin ، وفي عام 1945 سجل مضاد حيوي ثاني ضد الفطريات سمي Viridin ينتجه الفطر *Trichoderma viride* (McGowan و Brian) (1945، ووجد انتاج مضادات حيوية اخرى قابلة للذوبان في الكلوروفورم مثل Trichodermin من الفطرين *Trichoderma viride* ، *Trichoderma polysporuse* ومضادات دهنية اخرى من الفطر *Trichderma harmatum* ، واوضح Altomare وآخرون (1999) ان الفطريات ومنها فطر الترايكوديرما لها القدرة على انتاج سموم فطرية كجزء من نواتج الايض الثانوي مثل Kaniginin, 6-Penty-alpha-pyron التي تعد من وسائل الفطر في مجال المكافحة الحيوية .

استعمل فطر الترايكوديرما في معالجة المسببات المرضية بطرق عديدة منها :

أ- معاملة التربة

ان معاملة التربة بالفطر اثبتت نجاحها في الحد من امراض الجذور التي تسببها الفطريات الممرضة لمحاصيل الباذنجان والبصل والخيار والطماطة والفلل والتفاح وبشكل يفوق استعمالاته الاخرى ، اضافة الى استعمالاته ايضا في مقاومة نيماتودا تعقد الجذور.

ب- معاملة البذور

لكبر المساحات المزروعة بالمحاصيل فضل استعمال التراكوديرما في معاملة البذور على معاملة الترب بالفطر حيث تحتاج هذه المساحات الى كميات كبيرة من الفطر ، ولذلك استعمل في معاملة بذور الذرة وفول الصويا والطماطة والقطن والخضراوات ذات البذور الصغيرة والفجل ضد الفطريات الممرضة .

ج- معاملة النباتات

بينت بعض الدراسات فشل مقاومة الفطر ضد المسببات المرضية عند معاملة النباتات بالتراكوديرما مباشرة ، ما عدا معاملة اماكن القطع في الاشجار ضد الفطريات البازيدية ومعاملة ثمار العنب والتفاح المصابة بالفطر *B.cinerea* ومعاملة جذور الشليك ضد الذبول الفرتسيلومي .

اما الاستعمالات التطبيقية للفطر لغرض معالجة المسببات المرضية فقد

استعمل بعدة صور :

1- الاستعمال المباشر : استعمل الفطر على هيئة كتلة مايسيليوم مع ابواغها تضاف

الى التربة ، واستعمل ايضا بهيئة معلقات بوجية ترش بها التربة او البذور ، كما

استعملت ابواغه الجافة في معاملة البذور والتربة ، يستخدم هذا النوع لاغراض

التجارب والبيوت الزجاجية ، ولا يفضل استخدامه في الحقول بسبب حاجة

الحقول الى كميات كبيرة من الفطر .

2- استعمال مواد حاملة للفطر : استعملت مع الفطر الكثير من المواد لغرض زيادة كفاءة الفطر في المقاومة او جعله اكثر تماسا مع المسبب المرضي ولعدم فقدانه من التربة بعد معاملتها به وخاصة منطقة الرايزوسفير ، حيث اشارت العديد من الدراسات الى خلط ابواغ الفطر مع زيت السيارات وطلاي مناطق القطع في الاشجار والخلط مع هلام البذور او خلطه مع بعض المبيدات السائلة المتحمل لها وبجرع مخففة .

3- انتاج مستحضرات من الفطر : لغرض الحصول على كميات كبيرة من الفطر وسهولة استعماله استعمل بهيئة مستحضرات بعد تنميته على مواد طبيعية او صناعية ، حيث تمت تنمية الفطر لمدة 70 يوما على تربة معقمة حاوية على 15% من محلول سكري اضيفت الى التربة بمعدل 140 كغم / هكتار ، وكذلك نمي على لحاء الاشجار وعلى مزيج من نخالة الحنطة ونشارة الخشب وعلى نخالة الحنطة المخلوطة مع مخلفات نباتية نصف محروقة ، كما نمي على مزيج من حبوب الشعير ولحاء الاخشاب الصلبة وروث الحيوانات واوراق الشجر الميتة ، وان استعمال حاويات عميقة DeepTanks يعد من اكثر الطرق انتاجية لمستحضرات الفطر حيث يتم فيها تخمير مخلفات زراعية متوفرة وغير مكلفة مثل الكلوكوز والنشا والذرة المهدرجة وفول الصويا ومصل اللبن ، واضيف اليها المولاس والخميرة ، وكذلك تم تحضير مساحيق قابلة للبلل عن طريق تجفيف كتلة المايسيليوم في الهواء الناتجة عن تخمير الفطر على النخالة والسكر والحنطة ، وانتجت مستحضرات حيوية من اربعة طرز حيوية جديدة للفطر *Trichoderma harzianum* Rifai هي (Th80k₃, Th80k₁ , Th60k₁) وذلك بعد تنميتها على ثلاثة انواع من المخلفات هي الذرة والبنجر السكري والحنطة ، وظهرت مخلفات الحنطة مقدرة عالية في انتاجية الفطر من

الابواغ ومن كمية المستحضر على اساس الكيلوغرام الواحد من المخلفات (محمد ، 1996).

4- استعمال الفطر في برامج الادارة المتكاملة للآفة Integrated pest management (IPM)

يعد فطر الترايكوديرما من اكثر الفطريات المستعملة في معالجة مسببات المرضية التي تصيب النباتات بهدف التقليل من استعمال المبيدات الكيميائية وعليه تم التوصل الى نظام الادارة المتكاملة للآفات الزراعية (IPM) الذي احد عناصره هو مكافحة الاحيائية التي تشمل استخدام الاعداء الحيوية في مكافحة مسببات المرضية للنبات والتقليل من ضررها ، وبسبب مقدرة بعض عزلات الفطر *Trichoderma spp* على تحمل مستويات عالية من المبيدات الكيميائية المستعملة ضد مسببات الممرضة الفطرية ، فقد تم استعمال هذا الفطر كواحد من عناصر المكافحة المتكاملة مع المبيد (PCNB) Pentachloro nitro benzene ضد الفطر *R.solani* المسبب لمرض سقوط البادرات لعدد من محاصيل الخضر ومع بروميد المثل في مقاومة *A.mellae, R.solani* ومع المبيد Benomyl في خفض اصابة الحنطة بالفطر *R. solani*.

من خلال عدة دراسات سجلت اهم الاليات التي يعمل بها الفطر *Trichoderma spp* ضد الاحياء المجهرية التي تعيش معه كمسببات مرضية في التربة ومنها:

1- التطفل الفطري Mycoparasitism : وهي علاقة تطفل مباشرة بين فطرين ،

اذ ان بعض عزلات الفطر *Trichoderma spp* تمتلك مقدرة طفيلية عالية على الفطريات الممرضة من خلال التقاف الغزل الفطري حول الغزل الفطري للفطر الممرض واذابة جدران خلاياه بواسطة الانزيمات المرافقة للاختراق المباشر مثل Chitinase, Cellulase حيث يظهر الغزل الفطري اشكالا متعددة عند تطفله كالخيوط اللولبية Hyphal Coils او الخطاطيف Hooks او ارسال

الممصات *Housteria* او اعضاء الالتصاق *Appressoria*. حيث ان للفطر جهاز استشعار وهو عبارة عن افراز انزيم *exochitinases* الخارجي بكميات قليلة عندما تلامس الجدار الخلوي لفطريات اخرى تؤدي الى تفكيك الكايتين من جدارها وهذه تحفز افراز كميات كبيرة من انزيم *exochitinases* وعندها تبدأ ساعة الصفر بالهجوم .

2- التضاد الحيوي *Antibiosis*: هي الطريقة التي يمكن من خلالها لكائن حي ابادته كائن حي اخر ليبقى على قيد الحياة او قدرة كائن حي على افرازه مواد ذات وزن جزيئي منخفض يستطيع من خلالها تثبيط نمو الكائنات الاخرى ، حيث ان معظم انواع الترايكوديرما تفرز مواد طيارة او غير طيارة تكون سامة ومثبطة لنمو الكائنات الاخرى وقد تكون هذه المواد مضادات حيوية *Antibiotic* وبعض الانزيمات الخارجية ، فقد اشارت العديد من الدراسات الى وجود عدد من المضادات الحيوية في رواشح الفطر *Trichoderma spp* منها *Trichodermin* (1 و 2 و 3 و 4) ; *Viriden* ; *Gliotoxin* ; *Demodinas* ; *Sesquiterpena* ; *Acetaidehyde* ، فضلاً على انتاج مضادات اخرى مثل *Isonitrites* ; *Polyketides* ; *Peptaibals* ; *pyron* ; *Diketopiperazines* ; *Steroide* (Harman، 2000) .

ان عملية التضاد التي يقوم بها الفطر *T.harzianum* تعتمد على افراز انواع من الانزيمات التي تقوم او تعمل على تحلل جدران خلايا الفطريات الممرضة للنبات والتي يهاجمها الفطر *T.harzianum* واهم هذه الانزيمات B-*Chitinase* ; *Lipase* ; *1,3-glucanase* . وان الفطر *T.harzianum* يستخدم ضد مدى واسع من مسببات الامراض النباتية وله مقدرة تضادية عالية وانتاج مواد حيوية تمكنه من السيطرة على عدد من الامراض النباتية ، حيث ادى كفاءة عالية في اختزال النمو الشعاعي للفطر *Rhizoctonia solani* الذي

يعد احد المسببات المرضية ،حيث ان رواشح مستعمرات انواع الفطر *Trichoderma* وفي جميع التخافيف قد عملت على التقليل من تجرثم الفطر الممرض *Fusarium oxysporum* وتقليص معدل اطوال الانابيب الجرثومية Germtubes لابواغه النابتة وهذا راجع الى مقدرة انواع الفطر *Trichoderma* على افراز الانزيمات الـ chitinolytic والتي تشمل انزيم الـ chitobiosidase والـ endochitinase وان عمل هذين الانزيمين معا يكون ذا فعالية اقوى مما لو عمل كلا على انفراد .

3- التنافس Competation : ويعني مقدرة فطر *Trichoderma spp* على منافسة المسببات المرضية على المكان والغذاء ، فله القدرة على النمو بسرعة بعد اضافته الى التربة وتكوينه اعداد هائلة من الابواغ ، اضافة الى متطلباته الغذائية البسيطة مما يزيد من قدرته التنافسية مع الاحياء الاخرى ، وهو من اكثر العوامل اهمية في تحديد الكثافة السكانية في الطبيعة ولذلك فلا بد من ان الخواص الفيزيائية والكيميائية للتربة ان تؤثر في نمو وتطور الفطر ،حيث لوحظ ان نمو *Trichoderma spp* في تربة ذات رقم تفاعل منخفض كان افضل من نمو الفطر الممرض *R.solani* وعزي السبب الى انخفاض الـ PH في التربة سبب توفر ايونات الحديد والمقدرة التنافسية للفطر *Trichoderma spp*. ووجد ان سلالات الفطر *T.harzianum* لها قدرة تنافسية عالية من خلال نموه وامتلاكه لطاقة لقاحية كافية التي تمكنه من السيطرة على الحيز البيئي لنمو الجذور مما ينعكس ايجابيا على نمو النبات.

4- المقاومة المستحثة Induced resistance : استعمال الفطر *Trichoderma spp* في هذه الالية يؤدي الى تحفيز الاستجابة الدفاعية الذاتية من خلال تصنيع مواد مثبطة لنمو المسببات المرضية فقد سجل زيادة تركيز التربينات وانزيم البيروكسيديات في بادرات القطن المعاملة بذوره بالفطر *Trichoderma*

virens ضد الإصابة بالفطر *R.solani* . كما ان انزيم الـ Xylanase المفرز من قبل *Trichoderma spp* يزيد من استحثاث المقاومة لدى مسببات الامراض لذا كان الفطر *Trichoderma spp* فعال في الـ S.A.R (Systemic Acquired Resistance) لاكتساب مظاهر المقاومة.

5- تثبيط انزيمات الفطر الممرض: تعمل هذه الالية من خلال افراز الفطر *Trichoderma spp* لبعض الانزيمات الى البيئة مما يؤدي الى تعطيل انزيمات المسبب المرضي ومنعه من مهاجمة العائل النباتي ، فقد تبين ان الفطر الممرض *Botrytis cinerea* يصيب العائل النباتي من خلال انتاجه لانزيمات Cellulolytic , Cutinolytic , Pectolytic المحللة لجدار خلايا العائل لاحداث الإصابة وعند رش النباتات بابواغ الفطر *Trichoderma harzianum* ينتج انزيم Serineprotease الذي له القدرة على تعطيل انزيمات المسبب المرضي وبهذا تثبطت قدرة المسبب المرضي على احداث الإصابة ، ووجد ان انزيم protease له دور في تثبيط قابلية المسبب المرضي لاصابة النبات وتثبيط انزيماته .

6- التسميد الحيوي وتحفيز الوسائل الدفاعية لدى النبات : تترافق سلالات الترايكوديرما دائما مع جذور النباتات، فهي قادرة على استعمار الجذور بطرق مشابهة للمايكورايزا وتنتج مواد تحفز نمو النبات ، ومما يساعد هذه السلالات على استعمار الجذور عدة عوامل منها ، قدرتها على تميز جذور النبات والالتصاق بها واختراق الجذور ومقاومتها للمواد السامة التي تنتجها النباتات ، حيث ان بعض السلالات يمكن ان تخترق حتى طبقة البشرة وهناك تبدأ بافراز او انتاج مركبات تحفز من المقاومة الجهازية او الموضعية للنبات .فقد اثبتت التجارب ان استعمار الجذور من قبل الترايكوديرما تساهم في تحفيز نمو الجذور وتطورها وزيادة انتاجية المحاصيل وقدرتها على مقاومة الاجهادات البيئية

المختلفة وفي زيادة قدرة النبات على الاستفادة من العناصر الغذائية المختلفة ، حيث عرفت الية جديدة للفطر *Trichoderma spp* يمكن ان تسهم في زيادة تحمل النباتات للاجهادات المسلطة عليه من الظروف البيئية المحيطة من خلال نمو و تطور جذور النباتات مما يساعد على تحمل الظروف البيئية غير الملائمة ،حيث ان فطر *T. harzianum* يعمل على تكوين مجموع جذري كثيف وعميق مما يحقق فوائد فسلجية للنبات وخاصة في فصل النمو الجاف فقد تستطيع الجذور المستعمرة بهذا الفطر من تحمل الجفاف .

وقد وجد ان الفطر يمكن ان ينتج مواد محفزة للنمو التي تزيد من سرعة انبات البذور وقوة نمو النبات مثل (الاوكسينات ، السيتوكينات ، والجبرلين ، الاثلين والزياتين) ، اضافة الى ذلك ان الفطر يمكن ان يزيد من حموضة الوسط من خلال انتاج الاحماض العضوية التي تجعل العديد من العناصر الغذائية قابلة للذوبان مثل الفسفور والعناصر الصغرى ، حيث له القدرة على تغيير بيئة الجذور من خلال قدرته على تغيير pH الوسط المحيط مما يجعله غير مناسب للكائن الممرض ، بما يجعله يناسب افراز انزيماته ويثبط من افراز الكائن الممرض لعوامله الامراضية . بالرغم من ان فطر الترايكوديرما ليس ضار للنبات الا ان النباتات كرد فعل لوجوده واختراقه لسطحها تقوم بعملية دفاع سواء من خلال افراز المركبات المضادة او من خلال تدعيم الجدار الخلوي بافراز ترسبات عليا وهذه ممكن ان تنتقل الى الاوراق والساق مما يحميها من خطر هجوم الممرضات .

7- دور فطر الترايكوديرما في اذابة وعزل العناصر الغذائية غير العضوية : وجد ان بعض العزلات من *Trichoderma spp* تستطيع ان تخترق الجذور وتشكل تراكيب فطرية في الجذور مشابه لما تحدثه المايكورايزا، وان قدرة الفطر في تكوين مثل هذه التراكيب قد اعطت ادلة علمية بان يقترح Brundert (1991)

ان التلقيح بفطريات *Trichoderma spp* يزيد من كفاءة امتصاص العناصر الغذائية بطريقة مشابهة نوعا ما لما يحدث عند التلقيح بالمايكورايزا ، فقد وجد ان سلالة T.22 من الفطر *T.harzianum* لها القابلية على تحسين كفاءة امتصاص النتروجين من قبل جذور نباتات الذرة وتؤدي دورا مهما في ذوبان العناصر الصغرى كالحديد والمنغنيز والزنك والنحاس في الظروف غير الحامضية (Altomare وآخرون، 1999) وأشار الباحثون انفسهم الى ان سلالة T-22 تعمل على تحسين امتصاص الحديد من قبل النبات كما ان المنغنيز من العناصر المهمة في العمليات المعاكسة في النبات بضمنها نمو النبات ومقاومة الامراض ، حيث ان العناصر التي تختزل النحاس والحديد والمنغنيز هي مواد احيائية يفرزها فطر الترايكوديرما . وان الفطر *Trichoderma spp* قادر على زيادة جاهزية الحديد من مركب اوكسيد الحديد Fe_2O_3 بتحويله الى الحالة المخلبية واختزال ايون الحديد غير الجاهز الى ايون الحديدوز الجاهز للامتصاص من قبل النبات وفي نفس الوقت غير جاهز للمسببات المرضية للنبات في التربة . وقد وجد ان للفطر الترايكوديرما نوع *T.viride* القدرة على اذابة الفسفور وزيادة جاهزيته للنبات من مركب ثلاثي فوسفات الكالسيوم من خلال خفض pH وسط الزراعة.

2- نمو وانتاجية المحاصيل الزراعية

بما ان المبيدات الحيوية ميدان عملها التربة لذا فان دورها لايتوقف عند مكافحة الحيوية لانها اصبحت جزءا من احياء التربة المجهرية ودورها الايجابي في تدعيم تغذية النبات وزيادة نسبة الانبات والانتاج، وعدت الية انتاج الهرمونات النباتية من الاليات المقترحة لتحفيز نمو النباتات الملقة بفطر الترايكوديرما حيث ان التأثير الايجابي لعزلات فطر *T.harzianum* في تحفيز نمو النبات يعود الى افراز منظمات نمو نباتية شبيهة بالاوكسينات التي تعمل توافقيا مع اليات اخرى كزيادة جاهزية

وامتصاص العناصر الغذائية ، حيث ان التلقيح بفطر *Trichoderma spp* له القدرة على افراز مواد شبيهة للاوكسينات والجبريلينات وهرمون الاثلين المحفز لنمو النبات وعلى زيادة جاهزية العناصر الغذائية كالنتروجين ، الفسفور ، البوتاسيوم ، الحديد ، المنغنيز ، الزنك والنحاس . فقد وجد ان الاوكسينات المنتجة من بعض انواع فطر الترايكوديرما تعمل على زيادة عدد الجذور الثانوية للنباتات الملقحة ومن ثم زيادة تركيز العناصر في المجموع الخضري .

واشار العديد من الباحثين الى ان اضافة فطر الترايكوديرما وخصوصا النوع *T.harzianum* سبب زيادة في انبات ونمو العديد من المحاصيل الزراعية ، فعند استعمال احدى عشرة سلالة من *Trichoderma spp* مع نبات الخس وجد ان هناك ثلاثة سلالات (20; 92; WT) وعند مستوى اضافة (0.75% و 1%) اعطت اعلى تحفيز للنظام الجذري والقمي مع ثباته طوال مدة النمو. ومن الدراسات التي تناولت هذا الموضوع دراسة الحديثي ، (2002) حيث نفذ تجربة حقلية ووجد ان معدل انتاج الطماطة زاد بمعدل 20% عند اضافة المادة العضوية و 25% عند استعمال الفطر *T.harzianum* وكان للتداخل بين المادة العضوية واللقاح الفطري زيادة في الانتاج مقدارها 40% ، وفي تجربة اخرى اشار الباحث نفسه الى ان اضافة *T.harzianum* وبالمستوى 2 غم. م⁻² ادت الى زيادة معدل انتاج الطماطة اذ بلغ 59.48 طن. هكتار⁻¹ قياسا" بمعاملة عدم اضافة الفطر والتي كانت 51.2 طن. هكتار⁻¹ بينما اعطت معاملة المبيد الكيماوي بنليت معدل انتاج قدره 59.35 طن. هكتار⁻¹ .

وعند تقييم تاثير المعاملة بفطر *T.harzianum* وطحلب كارا *Chara sp* والاسمدة الكيماوية (25% ، 50% ، 100%) والتداخل بينهما في نمو نبات البصل بين سهيل ، (2013) ان المعاملة المزدوجة (فطر + الطحلب) وبالتداخل مع المستوى 50% من السماد الكيماوي سجلت اعلى القيم من ارتفاع النبات ، طول الجذور ، عدد الاوراق ، قطر البصلة ، والوزن الرطب والجاف وبزيادة معنوية عن معاملة المقارنة واعتبر

هذه المعاملة المعاملة المفضلة لتوفيرها 50 % من السماد الكيميائي. و في دراسة حول تأثير التلقيح بفطر *Trichoderma spp* في نمو اصول الحمضيات وجد ان التلقيح بالفطر ادى الى زيادة معنوية في طول الساق الرئيسي ، عدد الاوراق ، المساحة الورقية، عدد الفروع ، الوزن الطري وتركيز عناصر النتروجين والفسفور والبوتاسيوم في الاوراق والكلوروفيل الكلي في الاوراق (الشمري، 2013).

التداخل الثنائي بين المايكورايزا والترايكوديرما

ان فطر الترايكوديرما من الفطريات الرمية ولذلك له القابلية على التهام السبورات او تثبيط البكتريا ، وبما ان الترايكوديرما يحد كثير من المسببات المرضية عن طريق افرازه بعض الانزيمات الى وسط الجذور وان هذه الانزيمات ربما تكون محفزة لمجموعة من الاحياء ومثبطة لمجموعة اخرى فان هناك رأيين حول هذا التداخل :

الاول : يقول ان التداخل بين الترايكوديرما والمايكورايزا هو تضادي ، حيث بينت بعض الدراسات ان اعداد اسبورات المايكورايزا انخفضت بدرجة معنوية حيث يعتقد انها هوجمت من قبل الترايكوديرما .

الثاني : يقول ان هذا التداخل هو من النوع الموجب ، حيث وجد الباحثين ان النسبة المئوية للاصابة المايكورايزية تحفز بواسطة الترايكوديرما .

وهذا يعني ان الاختلافات ما بين الاتجاهين لم تنشأ بسبب التداخل ، وانما نشأت بسبب طريقة الاضافة ، حيث وجد ان اضافة الترايكوديرما بشكل عالق يشجع النمو ، ولكن عند اضافته بشكل مسحوق يحصل اختلاف بالتداخل ، ثم ان طبيعة لقاح المايكورايزا المحضر يلعب دور كبير بهذا التداخل ، والمحصلة النهائية وجد ان تواجد الترايكوديرما في وسط نمو المايكورايزا في الغالب تكون محفزة ومشجعة لتكوين السبورات وتكون الاصابة وذلك من خلال عنصر الفسفور القادم من المايكورايزا ومشجعة لنمو العمليات الحيوية المهمة لفطر الترايكوديرما مثل بعض الانزيمات التي تقوم بحماية النبات من المسببات المرضية، حيث ان الـ *Trichoderma spp* تؤثر

في العلاقة التكافلية ما بين المايكورايزا والعائل النباتي ، فقد وجد ان هناك حالة تداخل من نوع (synergistic) بين المايكورايزا والترايكوديرما عند اجراء اختبارات انبات السبورات وكثافة المستعمرات المايكورايزية في جذور العوائل النباتية. واثبتت الدراسات المجهرية حول تداخل المايكورايزا والترايكوديرما ان هيافات الفطر *T.harzianum* موجودة بشكل واسع على سطوح السبورات ، فقد اشارت دراسة السامرائي (2003b) الى ان الاضافة المزدوجة من فطر *G.mosseae* + *T.harzianum* مع سجلت اعلى اعداد من السبورات اذ كانت 2720 سبورا مع الشعير مقابل 1283 سبورا مع الحمص بعد 12 اسبوعا" من الزراعة ، واوضح ان اعداد الوحدات السكانية (C.U.F) للترايكوديرما قد زادت عند اضافة *G.mosseae* + *T.harzianum* معا وعند جميع المدد الزمنية وان هذه الاعداد تميل الى الانخفاض مع تقدم الوقت .

الجدول (1-10) يبين نتائج دراسة حالة التداخل بين فطر المايكورايزا *G.mosseae* وخمسة انواع من الفطريات الرمية ومنها *T.harzianum* و *T.pseudokoningii* مع فول الصويا في تربة مخففة 2/3 واخرى 1/5 ومن هذه النتائج يتبين :

أ- ان النسبة المئوية للمستعمرات الجذرية المايكورايزية ازدادت بمعنوية مع

فطريات الترايكوديرما ولكلا التريبتين ، حيث كانت مع الفطر *T.harzianum*

لوحده 10.2% وازدادت الى 25.5% عند تداخل الفطر *T.harzianum* مع

G.mosseae، وكانت عند الفطر *T.pseudokoningii* لوحده 13.3%

وازدادت الى 54.4% عند تداخل فطر *G.mosseae* مع *T.pseudokoningii*

مقارنة بالفطر *G.mosseae* لوحده حيث كانت 9.6% في التربة المخففة 1/5 .

ب- اما في التربة المخففة 2/3 فكانت النسبة المئوية للمستعمرات الجذرية

المايكورايزية مع الفطر *T.harzianum* لوحده 10.4% وازدادت الى 15.2%

عند تداخل الفطر *T.harzianum* مع *G.mosseae*، اما عند الفطر

T.pseudokoningii فبلغت لوحده 15.8% وازدادت الى 42.3% عند تداخل فطر *G.mosseae* مع *T.pseudokoningii* وهذا يشير الى ان هناك توافق بين فطريات المايكورايزا وفطر الترايكوديرما .

وبينت نتائج نفس الدراسة في الجدول (10-2) ان التلقيح المزدوج بين المايكورايزا والترايكوديرما قد يسبب نموا اضافيا او توسعا مشتركا في نمو النبات الملقح ، حيث ان التلقيح بفطريات *T.harzinum* و *T.pseudokoningii* وعند مستويين من تخفيف التربة 2/3 و 1/5 ادت الى زيادة الوزن الجاف للمجموع الخضري والجذري لفول الصويا الملقح بهذه الفطريات في كلا الترتيبين ولكن ازداد الوزن الجاف للمجموع الخضري والجذري بمعنوية عند التلقيح المزدوج بين *Trichoderma spp* + *G.mosseae* في التربة المخففة 1/5 .

جدول 10-1: النسبة المئوية للمستعمرات الجذرية المايكورايزية لنبات فول الصويا النامي في تربة مخففة 2/3 و 1/5 وعند وجود وعدم وجود المايكورايزا *Glomus mosseae* (Alicia Godeas وآخرون ، 1999) .

وجود <i>G. mosseae</i>	عدم وجود <i>G. mossea</i>	الفطريات الرمية
22.1 bc	2.8 a	تربة مخففة 2/3
20.8 bc	20.4 cd	مقارنة
23.4 bc	21.6 c	<i>Wardomyces.inflatus</i>
15.2 b	10.4 b	<i>Gliocladium roscum</i>
36.1 de	16.1c	<i>Trichoderma harzianum</i>
42.3 ef	15.8 c	<i>Paecilomyce farinosus</i>
		<i>Trichoderma pseudokoningii</i>
9.6 a	1.1a	تربة مخففة 1/5
19.6 b	18.4 cd	مقارنة
24.1 c	22.3 d	<i>W.inflatus</i>
25.5 c	10.2 b	<i>G. roscum</i>
34.6 d	15.6 c	<i>T. harzianum</i>
54.4 f	13.3 bc	<i>P. farinosus</i>
		<i>T. pseudokoningii</i>

جدول 10-2: الوزن الجاف للمجموع الخضري والجذري (غم) لنبات فول الصويا
النامي في تربة مخففة 2/3 و 1/5 وعند وجود وعدم وجود المايكورايزا
. *Glomus mosseae*

وجود <i>G. mosseae</i>		عدم وجود <i>G. mosseae</i>		الفطريات الرمية
الجذري	الخضري	الجذري	الخضري	
1067 bc	1547 d	977 bc	1514 ab	تربة مخففة 2/3 مقارنة
1104 bc	1243 b	1337 e	1797 b	<i>Wardomyces.inflatus</i>
1278 c	1371 bc	1496 ef	1762 b	<i>Gliocladium roscum</i>
981 ab	1649 d	1145 d	1678 b	<i>Trichoderma harzianum</i>
1273 c	1645 d	1271 de	1526 ab	<i>Paecilomyce farinosus</i>
1003 b	1620 d	1500f	1667 b	<i>Trichoderma</i> <i>pseudokoningii</i>
871 a	1421 c	664 a	1391 a	تربة مخففة 1/5 مقارنة
905 a	975 a	749 a	1566 ab	<i>W.inflatus</i>
899 a	840 a	952 bc	1426 a	<i>G. roscum</i>
1237 c	1910 e	1222 de	1490 a	<i>T. harzianum</i>
1558 d	2745 f	847 b	1701 b	<i>P. farinosus</i>
1375 c	2640 f	1039 c	1784 b	<i>T. pseudokoningii</i>

الشكل (1-10) يبين نتائج تجربة حقلية نفذت في تربة مزيج طينية غرينية مصنفة على مستوى السلاسل (MW9) وذلك لدراسة تأثير فطر *Trichoderma harzianum* في التلقيح الحيوي من بكتريا *Azotobacter chroococcum* وفطر *Glomus mosseae* ونمو وحاصل نبات القمح عند مستويين من الاسمدة الكيميائية (50% و 100 %) من التوصية السمادية ويمكن تلخيص النتائج بما يلي :

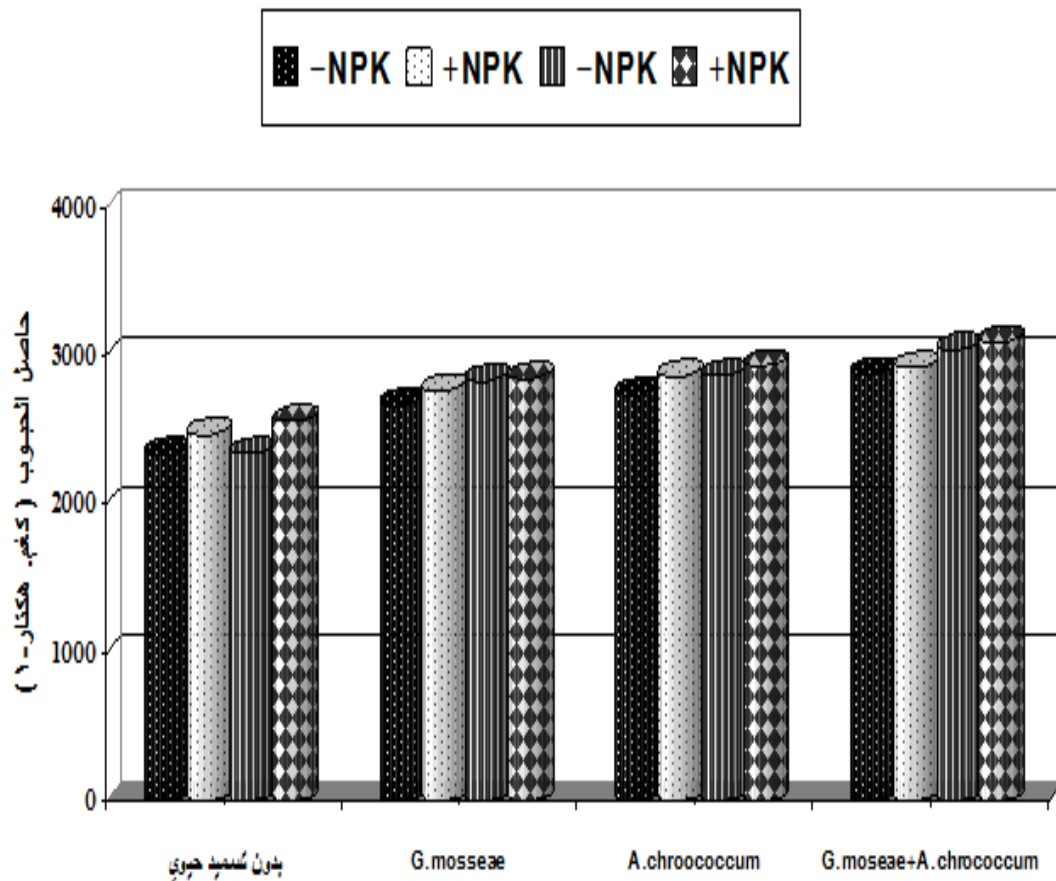
1- اضافة فطر الـ *T.harzianum* وبغض النظر عن اضافة المخصبات الحيوية والاسمدة الكيميائية حققت زيادة معنوية في حاصل الحبوب مقارنة بعدم اضافته ، وعزي سبب الزيادة المتحققة في الانتاج بعد اضافة الفطر الى نشاط الفطر الانزيمي في التربة .

2- ادت اضافة فطر المايكورايزا *G.mosseae* و بكتريا *A.chroococcum* الى زيادة معنوية في قيمة حاصل الحبوب ولكلا المستويين من السماد الكيميائي المضاف حيث بلغت (14.42% ، 17.33%) عند اضافة المايكورايزا والبكتريا لوحدهما و (21.01% ، 22.4%) عند اضافتهما مع فطر (*T.harzianum*) .

3- ان استعمال فطر الترايكوديرما سجل اعلى غلة انتاج من الحبوب عند كلا المستويين من السماد الكيميائي وتحت جميع معاملات المخصبات الحيوية المنفردة او المزدوجة، وبلغت اعلى قيمة لها عند اضافة المخصب الحيوي المزدوج (*A.chroococcum* + *G.mosseae*) مع اضافة 100% من السماد الكيميائي ، وبزيادة قدرها 25% مقارنة بمعاملة عدم اضافة سماد حيوي ومبيد حيوي وبوجود 100% من السماد الكيميائي .

4- من نتائج هذه الدراسة تبين ان اضافة المخصب الحيوي الفطري والبكتيري معا" وباضافة 50% من السماد الكيميائي وبوجود فطر الترايكوديرما اعطت قيم لحاصل الحبوب لا تختلف معنويا" عن قيمها في حالة اضافة (100%) من السماد الكيميائي ، وهذا انعكس ايجابيا" عند حساب الزيادة المتحققة من حاصل الحبوب ، اذ بلغت (20.69%) لمعاملة المخصب الحيوي الفطري والبكتيري المزدوج وبوجود 100% من السماد الكيميائي وعند اضافة الترايكوديرما ، وهذه كانت اقل من (30.03%) التي سجلت في حالة اضافة المخصب الحيوي نفسه ولكن باضافة 50% من السماد الكيميائي وعند اضافة فطر

الترايكوديرما ، ان ذلك مهم في تحقيق مردود اقتصادي من خلال ما توفره المخصبات الحيوية وبضمنها فطر الترايكوديرما لخفض معدلات التسميد الكيميائي المضافة بنسبة 50% مما يؤدي الى تقليل التكلفة ، فضلا عن انها تعمل على الحد من التلوث البيئي بسبب زيادة استعمال التسميد الكيميائي.



شكل 10-1: تأثير اضافة المخصبات الحيوية والاسمدة الكيميائية في حاصل الحبوب (كغم. هكتار⁻¹) في حالة اضافة وعدم اضافة المبيد الحيوي من فطر *T.harzianum* . (التميمي ، 2005) .

الفصل الحادي عشر

التحلل الميكروبي للمبيدات الكيميائية

مقدمة

المبيدات هي مواد كيميائية قد تكون عضوية او لا عضوية تستعمل للقضاء على الاحياء التي تهدد الانسان والحيوان والنبات ، فهي تستعمل لمقاومة الآفات الحشرية أو الفطرية أو العشبية واي آفة أخرى تلتهم المزروعات اللازمة للإنسان في غذائه وكسائه . وتنتمي المبيدات من الناحية الكيميائية الى مجاميع مختلفة وهي :

- 1- المبيدات الفسفورية العضوية : مبيدات شديدة متوسطة الثبات فى الطبيعة وهى تؤدي إلى تسمم الإنسان . ومنها الباراثيون والمالاثيون ودايكلوروفوس وديازينون .
 - 2- المبيدات الهيدروكربونية الكلورية : مبيدات سامة شديدة الثبات تذوب فى الدهون وحافزه لأمراض السرطان، وتشمل المبيدات الحشرية مثل الدرين وأندرين ومركب DDT وديلدرين وكيبون وهبتاكلور وكلوردين وجامسكان .
 - 3- المبيدات الكرباماتية : مركبات قليلة السمية للكائنات غير المستهدفة وتتميز بعدم تراكمها في البيئة وتختلف في سميتها من شديدة إلى معتدلة مثل الكارباريل والميثوميل .
 - 4- مبيدات القوارض : تسبب إتهاب فى الجهاز التنفسى للإنسان وحدوث بول دموى واورام دموية ، وتشمل فوسفيد الزنك وموانعات التجلط .
 - 5- مبيدات أخرى متنوعة : تشمل زرنبيخات الرصاص وزرنبيخات الكالسيوم وأكاسيد النحاس ومبيدات زئبقية وجميعها مركبات شديدة السمية.
- وتقسم المبيدات حسب المجموعة التي تستخدم في مقاومتها إلى :

1- مبيدات الحشرات Insecticides

2- مبيدات الأدغال Herbicides

3- مبيدات الفطريات Fungicides

4- مبيدات للبكتريا bactericides

5- مبيدات النيماتودا nematocides

والجدول 1-11 : يبين انواع المبيدات والجدول 2-11 : يوضح بعض الأمثلة على المبيدات المستعملة في الأنظمة الزراعية وطريقة تأثيرها .

جدول 1-11: انواع مبيدات الادغال والمبيدات الفطرية والحشرية . (Alok Bharadwaj واخرون ، 2016).

المبيدات	الصف	امثلة
Insecticides الحشرية	Organophosphates	Parathion,malathion,Methyl ,parathion ,Chlorpyrifos ,Diazinon, Dichlorvos, Phosmet, Fenitrothion , tetrachlorvinphos , azinphos methyl
	Carbamates	Aldicarb,Carbofuran(furadan), Phenoxycarb ,Carbaryl(sevin), Ethienocarb , Fenobucarb , Oxamyl
	Organochlorines (dichlorodiphenyle thanes and cyclodienes)	DDT,Dicofol, Heptachlor, Endosulfan, Chlordane ,Aldrin, Dieldrin, Endrin, Mirex , Pentachlorophenol
Herbicides مبيدات الادغال	Phenoxy and benzoic acids,Triazines, Ureas and Chloroacetanilides	Chlorophenoxy acids, Hexachlorobenzene (HCB) , Picloram , Atrazine, Simazine, Propazine, Diquat, Paraquat, Oxyfluorfen, Alachor, Fluroxypyr, 2,4,5-Trichlorophenoxy acetic acid (2,4,5-T) , Propanil , diuron. 2,4- dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), 2-methyl 4-Chlorophenoxyacetic acid (MCPA) , Monuron , 2,4- dichlorophenoxybutyric acid (2,4-DB) , Protham , 3-chloramben , Simazine, atrazine , Bromacil ,Butan ,Methazone , Dalapone , Linuron , Terbacil , Sulfonylurea , Cyanazine , NCPA .
Fungicides الفطرية	Substituted benzenes, Thiocarbamates, Thiophthalimides, Organomercury Compounds.. etc	Chloroneb,chlorothalanil,Hexachloro benzene, Ferbam ,Metamsodium,Thiram, Ziram, Ethylmercury ,Captan , Metham , Pentachlorophenol (PCP) , Trichlorophenol (TCP) ,Quinones(Chloranil) , Pentachloronitrobenzene (PCNB), Dalapon, Trichloroacetic acid (TCA) ,Tetrachloronitrobenzene (TCNB)

جدول 11-2 : بعض الأمثلة على المبيدات المستعملة في الأنظمة الزراعية وطريقة تأثيرها (مأخوذ من Wassila Riah وآخرون ، 2014)

النوع	العائلة الكيميائية	التأثير	المبيدات
Fungicide	Amide	Phenylamides affect RNA synthesis	Mefenoxam
	Amide	Phenylamides affect RNA synthesis	Metalaxy
	Antibiotic	Inhibition of peptidyl transferase enzymes	Chloramphenico
	Antibiotic	Inhibits enzyme trehalase	Validamycin
	Benzimidazole	Inhibition of tubulin formation	Benomy
	Benzimidazole	Inhibition of tubulin formation	Carbendazim
	Dinitroanilines	Disturb the production of energy in the fungus	Fluazinam
	Carbamates	Affect respiration process and production of energy	Mancozeb
	Imidazol	Disturb membrane function	Prochloraz
	Organochlorine	Affect respiration process and production of energy	Chlorothalonil
	Organochlorine	Affect respiration process and production of energy	Pentachlorophenol
	Organochlorine	Affect respiration process and production of energy	Trichlorophenol
	Phthalimide	Inhibiting respiration of numerous species of fungi	Captan
	Strobilurins	Quinone outside Inhibitors	Azoxystrobin
	Triazoles	Inhibition of demethylation in sterol biosynthesis	Propiconazole
	Triazoles	Inhibition of demethylation in sterol biosynthesis	Tebuconazole
Herbicide	Amide	Inhibition of carotenoid biosynthesis	Diflufenica
	Chloroacetanilide	Biosynthesis inhibitor which has a multiple-site	Butachlor
	Chloroacetanilide	Inhibition of mitosis and cell division	Metazachlor
	Dinitroanilines	Inhibition of mitosis and cell division.	Trifluralin
	Dinitrophenol	Disturb photosynthesis process	Dinoterb
	Glycine	Inhibitors of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase	Glyphosate
	Imidazolinone	Inhibition of acetolactate synthase (ALS)	Imazethapyr
	Nitriles	Inhibitors of photosynthesis at photosystem II Site	A Bromoxynil
	Sulfonylurea	Inhibition of acetolactate synthase	Rimsulfuron
	Sulfonylurea	Inhibition of acetolactate synthase	Aurora 40 WG
	Sulfonylurea	Inhibition of acetolactate synthase	Metsulfuron-methyl
	Triazine	Inhibitors of photosynthesis at photosystem II Site A	Atrazine
	Triazine	Inhibitors of photosynthesis at photosystem II Site A	Metribuzin
	Triazine	Inhibitors of photosynthesis at photosystem II Site A	Simazine
	Triazinone	Inhibitors of photosynthesis at photosystem II Site A	Primextra
	Ureas	Inhibitors of photosynthesis at photosystem II Site B	Diuron
	Ureas	Inhibitors of photosynthesis at photosystem II Site B	Linuro
Insecticide	Benzoylphenylurea	Chitin Synthesis Inhibitor	Novaluron
	Carbamates	Affect respiration process and production of energy	Methomyl
	Chloronicotinyl	Acetylcholine receptor agonists/antagonists	Acetamiprid

Dieldrin	Alter the movement of ions across the nerve cell membranes	Organochlorine	
Endosulfa	Alter the movement of ions across the nerve cell membranes	Organochlorine	
Cadusaphos	Inhibition of the enzyme acetylcholinesterase of nerve impulse	Organophosphate	
Chlorpyrifos	Inhibition of the enzyme acetylcholinesterase of nerve impulse	Organophosphate	
Dichlorvos	Inhibition of the enzyme acetylcholinesterase of nerve impulse	Organophosphate	
Ethion	Inhibition of the enzyme acetylcholinesterase of nerve impulse	Organophosphate	
Fenamiphos	Inhibition of the enzyme acetylcholinesterase of nerve impulse	Organophosphate	
Monocrotophos	Inhibition of the enzyme acetylcholinesterase of nerve impulse	Organophosphate	
Phorate	Inhibition of the enzyme acetylcholinesterase of nerve impulse	Organophosphate	
Profenofos	Inhibition of the enzyme acetylcholinesterase of nerve impulse	Organophosphate	
Quinalphos	Inhibition of the enzyme acetylcholinesterase of nerve impulse	Organophosphate	
Selectron	Inhibition of the enzyme acetylcholinesterase of nerve impulse	Organophosphate	
Cypermethrin	Interfere with the sodium channels of nervous system	Pyrethroids	

الآثار المترتبة عن الاستعمال المفرط للمبيدات الكيميائية

تعد الافات الزراعية بشكل عام وامراض النبات بشكل خاص من معوقات الانتاج الزراعي الامر الذي دفع الزراعيين التصدي لها ومكافحتها باستعمال المبيدات الكيميائية التي تعد اضافتها بهدف مقاومة المسببات المرضية او القضاء او الحد من الادغال أحد الطرائق شائعة الانتشار في زراعة المحاصيل الحقلية المختلفة والبستانية ، والتي يعتقد بانها الحل الامثل لمشاكل هذه الافات وذلك لفعاليتها العالية وسهولة تطبيقها والاستجابة السريعة لها ، الا ان الاستعمالات المفرطة لهذه المبيدات واختلاف تراكيبها وارتفاع نسب المواد السامة فيها اصبح ينذر بكارثة بيئية وذات تاثيرات سلبية في صحة الانسان ما لم تتخذ الاجراءات الجدية لمعالجتها والتخفيف من خطر التلوث الناتج عنها،

وبهذا فان الاعتماد على المبيدات وحدها يضر بالبيئة الزراعية قبل أن يضر بالبيئة المحيطة ومنها :

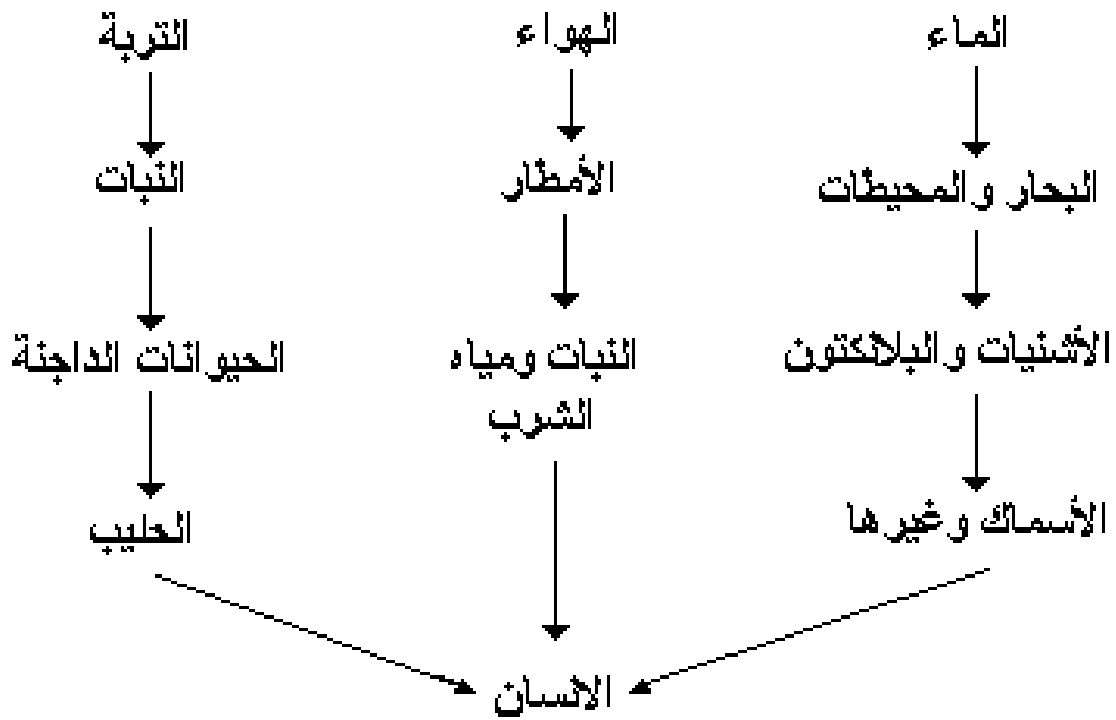
- 1- تحويل بعض الآفات الزراعية الثانوية لآفات رئيسية نتيجة موت أعدائها الطبيعية.
 - 2- زيادة قدرة الآفات على تحمل تراكيز عالية من المبيدات نتيجة تكرار الرش بنفس المركب أو مركبات متشابهة لعدة مرات .
 - 3- قتل الكثير من الكائنات والحشرات النافعة للإنسان .
 - 4- تلوث المحاصيل وخاصة الخضر والفاكهة نتيجة لجنيها بعد الرش وقبل الموعد المحدد.
 - 5- زيادة نسبة متبقيات المبيدات ونواتج تحطمها التي قد تكون أشد سمية من المركب الأصلي في التربة والهواء المحيط ومياه الصرف الزراعي .
 - 6- الإضرار بالحاصل الزراعي في حالة إذا ما تجاوز مستوى متبقيات المبيدات أعلى من الحد المسموح به.
 - 7- اكتساب بعض الآفات للمناعة من التراكيز المستخدمة مما يؤدي إلى زيادة التلوث أو تغيير المبيد إضافة مواد سامة جديدة .
- ان المبيدات لها المقدرة على الانتقال خلال عناصر البيئة المختلفة (التربة والماء والهواء) لكي تتراكم بدرجات مختلفة في النباتات ، حيث ان معاملة التربة مباشرة بالمبيدات يعد مصدرا مهما لتلوث التربة والمواد الغذائية ، كما تؤدي المبيدات المتطايرة نتيجة التبخر والرياح وغسل المبيدات بمياه الري دورا في تلوث الهواء والماء. ان حركة المبيدات في التربة تحصل بطريقتين ، الانتشار (diffusion) والانتقال الكتلي (mass flow) ، حيث تصل المبيدات الى التربة بعدة طرق ، منها تضاف مباشرة على سطح التربة ومنها تحقن تحت السطح وقسم آخر يرش على اوراق نباتات الادغال وهذه بدورها سوف تصل الى التربة (قاسم وعلي ،1989).

تتلوث المياه بالمبيدات اما عن طريق المعاملة المباشرة لمكافحة نباتات الادغال في قنوات الري والبزل او عن طريق غسل المبيدات من التربة بوساطة الامطار والري ، حيث ان المبيدات تغسل اما بانتقالها سطحيا بالانجراف او بحركتها الى اسفل التربة ثم وصولها الى تحت منطقة الجذور ثم انتقالها الى الماء الارضي وتلوثه عن طريق المغاض او النفوذ . تشكل المبيدات احد ملوثات الهواء المهمة ، اذ يمكن للمبيدات من الدخول الى الهواء بشكل حبيبات وقطرات وابخرة وروائح تعمل جميعها على تلوث الهواء، حيث وجد ان كمية مبيد HCH في الهواء تراوحت بين (2.6-12.5) ملغم. م¹ عند استعمال آلة الرش الارضية في حين تراوحت بين (14- 53.7) ملغم. م¹ عند استعمال الطائرات في رش المبيد . ان تلوث الهواء بالمبيدات يعتمد على الظروف المناخية وحجم دقائق المبيد ونوع المستحضر المستعمل ، فوجد ان مبيد الادغال الترفلان يزداد فقده بالتطاير الى الهواء مع زيادة التقرب من سطح التربة ورطوبة التربة وزيادة التركيز المستعمل .

ان النتيجة الحتمية لتلوث عناصر البيئة بالمبيدات لابد ان تكون له العديد من الآثار المباشرة وغير المباشرة على تلك البيئة ومنها : تلوث المواد الغذائية التي يتناولها الانسان والحيوان على حد سواء والتي ادت الى ظهور العديد من حالات التسمم الفردية والجماعية والحالات المرضية وحالات الاجهاض وتشوه الاجنة وظهور الاورام السرطانية . فضلاً على ذلك فان للمبيدات تاثيرات مهمة كدخولها في السلسلة الغذائية للحياة المائية والبرية كتاثيرها في الاسماك والطيور البرية ومياه الشرب ، حيث بينت الدراسات ان تعرض الانسان لمبيد الكلايفوسيت عن طريق الخطأ يؤدي إلى تهيج مسلك الجهاز الهضمي وتهيج الاغشية المخاطية والقناة المعوية وانخفاض ضغط الدم وخلل في وظيفة الجهاز التنفسي وقد يؤدي إلى الوفاة . وعند مسح الوجه باليد المستعملة لمعدات رش المبيد يحدث انكماش في جلد الوجه واكزيمة متكررة لليدين واخمص القدمين لمدة شهرين في الانسان ، وان التعرض لهذا المبيد قد يحدث عن

طريق استعماله الطبيعي وذلك بسبب وجود بقايا متراكمة لهذا المبيد في المحاصيل الغذائية ومن مياه الامطار المتساقطة في المصادر المؤدية لمياه الشرب ، وحصول زيادة في حالات الاجهاض وقلة الوزن وعدم انتظام الدورة الشهرية عند النساء اللاتي يتعرضن لاستعمال هذا المبيد . كما ان استعمال المبيدات البطيئة التحلل ولمدة طويلة يؤدي الى تراكمها في المواد الغذائية والتربة حيث يمكن تمثيلها بالنباتات وتراكمها في الاجزاء المأكولة من المحاصيل الجذرية.

سجلت العديد من الدراسات تأثيرا سلبيا للمبيدات في البيئة من خلال زيادة التلوث والاضرار في صحة الانسان والنبات والحيوان ، فضلاً على تطور سلالات مقاومة من مسببات المرضية الفطرية لبعض المبيدات المستعملة في مكافحتها . أن أخطر هذه المبيدات هي المبيدات الحشرية من الأنواع الهيدروكربونية الكلورية مثل D.D.T ، الدرين، الديلدن ، HCH ، والتي تتميز ببقائها فترة طويلة في التربة دون تغير في صفاتها وتستطيع البقاء في قيعان الأنهار والبحار لعشرات السنين والتي يجب ألا تزيد عن المعدل المسموح به في الماء (0.5 ميكروغرام/ لتر) وألا تزيد في الأسماك عن 0.3 جزء في المليون (مثل مبيد الديلدرين) ، حيث أن هذه المبيدات ذو قدرة عالية على التراكم في أجسام الأسماك و الأحياء المائية الأخرى، وخاصة الأجزاء الدهنية منها . وعند استهلاك هذه الأسماك لمدد طويلة فقد تسبب تراكم السمية للإنسان أو الحيوانات الأليفة على المدى الطويل، وذلك لان ذوبانها العالي في المواد الدهنية يؤدي الى تراكمها في انسجة الكائن الحي وانتقالها من كائن لآخر عبر السلسلة الغذائية ومن مميزاتها ايضا انها تقاوم التحلل ، صعوبة ايضها في انسجة الكائن الحي وصعوبة التخلص منها لذوبانها القليل جدا في الماء. والشكل (1-11) يوضح انتقال المبيدات بالسلسلة الغذائية إلى الإنسان .



شكل 1-11 : انتقال المبيدات بالسلسلة الغذائية إلى الإنسان

العوامل التي تتحكم بمصير المبيدات في التربة

ان العوامل الرئيسية التي تتحكم في مصير المبيدات يمكن تحديدها بسلوك المبيدات في التربة وان هذه العوامل مجتمعة هي التي تحدد مدى ثباتية أو زوال المبيدات من التربة وتعطي فكرة واضحة عن المصير النهائي لها ، ومن هذه العوامل هي :

1- التطاير Volatilisation : هي العملية التي بواسطتها تتحول حالة المادة من الصلبة أو السائلة إلى الغازية ، ومن ثم يؤثر في التراكيز المستعملة من المبيد ، هناك عوامل عدة تحدد مقدار فقد المبيد بالتطاير منها ، نسجة التربة ، تهوية التربة ، موقع اضافة المبيد في التربة ، تركيز المبيد ، المادة العضوية ، العوامل البيئية (الرطوبة ، الحرارة ، الرياح) والغطاء النباتي ، حيث ان التطاير يزداد مع انخفاض محتوى التربة من الطين والمادة العضوية ، وان فقد المبيد يزداد بارتفاع درجة الحرارة . وعند معاملة التربة الجافة بالمبيد فإن الفقد يكون أقل

من مثيله في التربة الرطبة، لأن التربة الجافة تكون فرصتها أكبر لامتزاج المبيد عن التربة الرطبة ، كما ان الري او المطر الغزير بعد المعاملة يساعد على تقليل الفقد وذلك لان الري او المطر الغزير يساعد على انتقال المبيد إلى داخل التربة. وأكدت الدراسات على ان المبيدات الكيميائية التي تضاف تحت سطح التربة يمكنها التحرك والانتشار الى السطح تحت الظروف الجافة ، حيث ان التركيز العالي على السطح قد يعطينا مؤشرا واضحا على فقد المبيد بالتطاير من سطح التربة ، وقد وجد ان المبيدات التي لها ضغط بخاري عالي والمستخدمه غالبا بالتعفير يمكن ان يحصل لها فقد من التربة الى الجو بالتطاير ، وتختلف نسبة الفقد بالتطاير اثناء وبعد الاضافة . وبينت الابحاث ان نواتج التحلل لبعض المبيدات قد تكون اكثر عرضة للتطاير من المبيد الاصلي المستعمل ، اذ وجد ان نواتج تحلل المبيدين الفطريين Captan و Zineb هي غازات سامة متطايرة على الرغم من انها مبيدات غير متطايرة .

2- الغسل Leaching: حركة المبيد الى الاسفل خلال مقد التربة تعرف بالغسل ، حيث تغسل المبيدات من التربة اما بطريق الانجراف والجريان السطحي او بطريق الحركة الى الاسفل والانتقال الى الماء الارضي مع مياه الصرف ، ان عملية غسل المبيدات تعتمد على عدة عوامل منها :

أ- الخصائص الكيميائية والفيزيائية للتربة

ب- درجة ذوبانية المبيد وقابلية ادمصاصه ومعدل تحلله

ج- كمية الماء المضافة وشدة الامطار.

فقد وجد ان المبيدات (metriabuzine , Ethyl Th iometei buzi) يزداد نشاطها وفعاليتها في الترب الطينية مقارنة بالترب الرملية بسبب عمليات الغسل الشديدة للمبيدات في الترب الرملية . وفي احدى الدراسات قسمت حركة ثمانية مبيدات ادغال تبعا لاستجاباتها المختلفة للغسل فمنها : شديدة

الحركة مثل Deethylatrazine ومتوسطة مثل Didealkylatrazine , Atrazine , Deisopropylatrazine و قليلة مثل Simazine , Metolachlor وشبه غير متحركة مثل Ammeline , Hydroxyatrazine , وتبين ان حركتها ارتبطت سلبيا مع محتوى المادة العضوية وايجابيا مع محتوى الرمل وتبين ان متبقيات مبيدي الادغال Metribuine, Prometryne كانت عالية في الطبقة تحت السطح عن الطبقة السطحية وعزوا ذلك الى غسل هذه المبيدات الى الطبقة تحت السطحية وعدم تحليلها بسبب قلة نشاط الاحياء المجهرية في هذه الطبقة . ووجد ان الزيادة الكبيرة بمياه الامطار قد تسبب غسل كامل لمبيدات الادغال ويجب التحكم بمياه الري لغرض الاحتفاظ بالمبيد لمدة اطول ، وان المبيد ذو القابلية البطيئة للذوبان يمتز ويثبت بقوة على الطبقات السطحية وتقل حركته للأسفل مما يجعله اكثر فاعلية في القضاء على الادغال ، حيث ان حركة المبيد الى اسفل التربة ترتبط بالامتزاز الى حد كبير ، فكمية المبيد التي تنتقل الى الاسفل مع ماء التربة هي التي لم يتم امتزازها على سطح غرويات التربة ، ولهذا فان النسبة العالية من الامتزاز ونسبة الذوبان المحدودة تؤخران انتقال المبيدات مع المياه الى اعماق التربة. فقد بينت الدراسات ان قابلية المبيدات الحشرية على الغسل تعتمد على درجة ذوبانها بالماء وعلى امتزازها على سطوح دقائق التربة وان كمية فقدها بالغسل تكون عن طريق الانجراف السطحي اكبر منها عن طريق التصريف . ولوحظ ان المبيدات الفطرية Vitavax , Benlate , Zineb تتميز بقلّة درجة ذوبانها وعدم قدرتها على الحركة والانتقال خلال طبقات التربة حيث اكتشفت على سطوح دقائق التربة المعاملة بها بعد مرور فترة زمنية طويلة .

3- الامتزاز Adsorption : يتم عن طريق امتزاز جزء من المبيد على سطح غرويات التربة ، فيقل تركيز المبيد في التربة ، وينقسم الامتزاز الى نوعين :

الاول: طبيعي عن طريق قوى غير محدودة وقصير الاجل Van der Waals وعن طريق هذه القوى ترتبط مبيدات مثل مركبات الترايزين واليوريا بالتربة ، **والنوع الثاني** هو الامتزاز الكيميائي وهو عبارة عن التبادل الايوني بين جزيئات المبيد المذاب في الماء وجزيئات الماء على المواقع التبادلية على سطوح الطين او المادة العضوية عن طريق الشحنات الموجبة او السالبة الموجودة في تركيب المبيد مع الشحنات السالبة الموجودة على مواد التربة العضوية او غير العضوية ومن ثم يصبح المبيد اقل سمية وبهذا يصبح غير جاهز للتحلل الحيوي مدة من الزمن ، حيث ان الامتزاز يؤثر في المبيدات فقد يؤدي الى خفض او منع الفقد الحاصل بها عن طريق التعرية والغسل والتطاير ، وايضا يسيطر على العمليات البايولوجية ضد المبيدات الفعالة وغير المرغوب فيها من خلال تقليل درجة سميتها في التربة.

ان بقاء المبيدات في التربة غالبا ما يرتبط مع الصفات الكيميائية والفيزيائية للتربة كاحتوائها على الطين والمادة العضوية ودرجة التفاعل (pH) . فقد لوحظ ان درجة امتزاز المبيدات تزداد بدرجة كبيرة كلما ازداد الكربون العضوي في التربة ، كما يعد تأثير المادة العضوية في الامتزاز عامل مهم ، حيث اشارت الدراسات الى ضرورة اضافة تراكيز عالية نسبيا من بعض مبيدات الادغال لتحقيق الهدف المرجو منه في التربة ذات المحتوى العالي من المادة العضوية ، كما وجد ان امتزاز المبيدات 2,4 - D و Atrazaine و Lindane يزداد بانخفاض (pH) التربة اقل من (6) وان امتزاز مبيد الادغال 2,4- D في الترب الطينية اعلى منه في الترب الرملية ، ولهذا فان كمية مبيدات الادغال الذي نحتاج اليها لكي نحصل على نتيجة مؤثرة من حيث القضاء على الادغال تعتمد على قابلية الترب المختلفة لامتزاز هذه المبيدات . والشكل (11-2) يبين مسارات اضافة المبيدات على المحاصيل .

4- التحلل Degradation : يطلق مصطلح التحلل على التغيرات التي تحصل على التراكيب الجزيئية للمبيدات او على مشتقاتها ، او يمكن اطلاقه على هدم او تحلل المبيدات الى مركبات ابسط واقل تعقيدا . والتحلل على نوعين هما :

أ – التحلل غير الحيوي Non-biological degradation (التحلل الكيميائي) :وهو نوعين : الاول : التحلل المائي hydrolysis degradation حيث تحتوي كثير من المبيدات على مجاميع كيميائية يمكن ان تتعرض للتحلل الكيميائي والثاني : التحلل الضوئي photoiysis degradation ويعني قدرة المبيدات على التحلل ضوئيا باشعة الشمس وبذلك يتم تثبيط فعالية المبيد عند تعرضه لاشعة الشمس ، فقد وجد انها وبمساعدة عوامل البيئة الاخرى تعمل على تحويل المبيد من الحالة السمية الى حالة اقل سمية ولهذا ينصح بوضع المبيد في قناني داكنة اللون، حيث ان بعض المبيدات تفقد من محاليلها بنسبة 85% عند تعرضها لضوء الشمس لمدة 48 ساعة ، ومن المبيدات الحساسة لتاثير اشعة الشمس هي S- triazines , Trifluralin , Amiben وبعض مبيدات مجموعة اليوريا. والجدول (3-11) يبين العوامل التي تتحكم في مصير بعض المبيدات .

ب- التحلل الحيوي biological degradation : من اهم العمليات التي تعمل على خفض وازالة متبقيات المبيدات من التربة هي عملية التحلل الميكروبي ، حيث ان مجموعة الاحياء في التربة تشكل نظاما كيميائيا حيويا له القابلية على انتاج الانزيمات التي بمقدورها تحليل انواع كثيرة من المبيدات ، ونوقش عدد من الباحثين الية التحلل الحيوي للمبيدات وبينوا ان كثير من الكائنات الحية التي عزلت من التربة اظهرت قابلية كبيرة لتحليل كثير من المبيدات ، واكدوا على امكانية استخدام الاحياء المحللة للمبيدات لغرض ازالة التاثير السام للمبيدات من

البيئة المحيطة بالنبات . (سوف نتناول هذا الموضوع بالتفصيل ضمن موضوع تقانة التحلل الحيوي للمبيدات ضمن هذا الفصل) .

اشارت الدراسات الى ان عمليات التحلل الحيوية والغير حيوية هي السبب الرئيسي لفقد المبيدات من التربة ، حيث وجدت احد الدراسات ان المبيدات الفطرية التابعة لمجموعة Dithiocarbamate ومنها مبيد Zineb تتعرض الى التحلل المائي الاولي ثم الى التحلل الثانوي المايكروبي ، بينما بينت دراسة اخرى ان اغلب مبيدات الادغال لا تتعرض لعمليات التحلل غير الحيوية مقارنة مع التحلل الحيوي الذي يعتمد على نشاط الاحياء في التربة.

ويتاثر التحلل الحيوي والغير حيوي بالخواص الفيزيائية والكيميائية للتربة مثل المحتوى الرطوبي ، المادة العضوية ، نوع الطين ، المغذيات ، الحرارة ، الملوحة والـ pH . ويمكن ان نوجز العوامل المؤثرة على التحلل الحيوي للمبيدات في التربة بما يلي :

1- عوامل خاصة بالبيئة

أ- وجود وعدد الاحياء المجهرية المناسبة .

ب- الاتصال بين الكائن المجهرى والمادة .

ج- الـ pH والحرارة والملوحة .

د- الماء الجاهز .

هـ- توفر الاوكسجين وجهد الاكسدة .

و- توفر المغذيات .

ز- وجود مواد الكربون البديلة .

ح- كمية وشدة الضوء .

ط- مستقبل الاكترون البديل

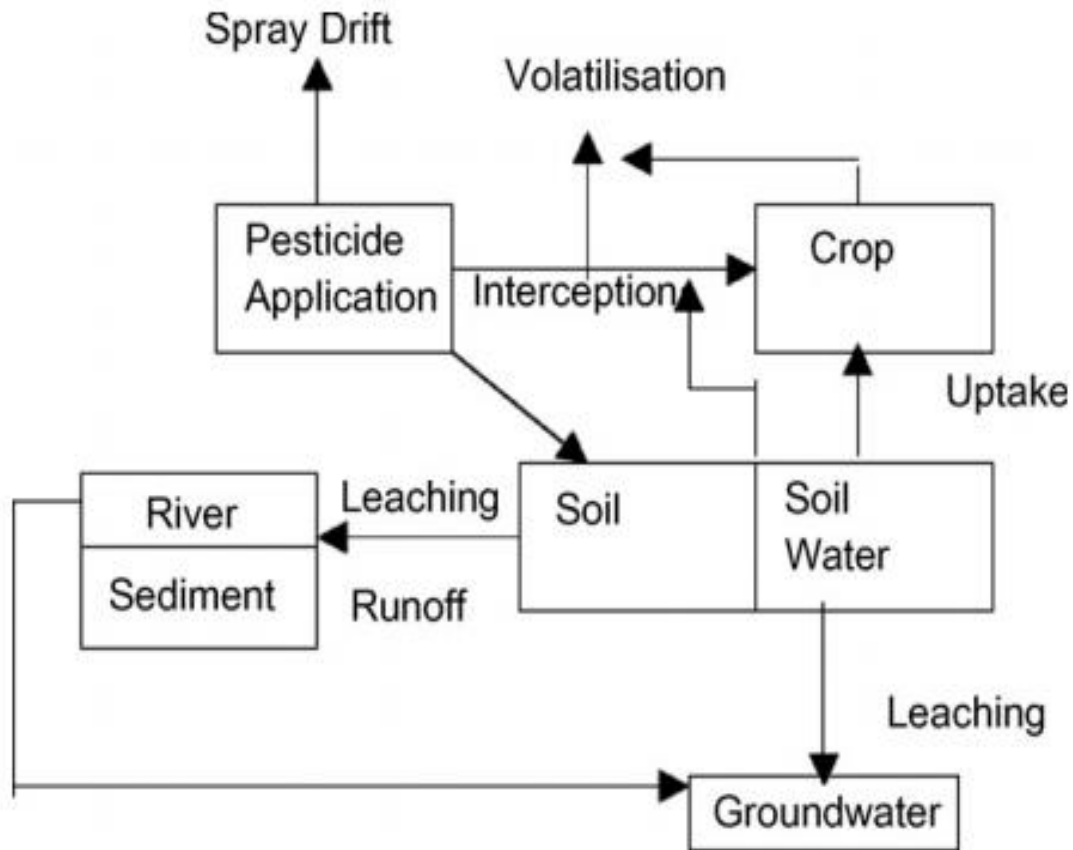
2- عوامل خاصة بالمبيد

أ- التركيب الكيميائي والوزن الجزيئي للمبيد

ب- المجموعة الوظيفية مثل: -OH , -COOH , -CH₃ , -CI

ج- التركيز والسمية .

د- ذوبان المبيد في الماء .



شكل 2-11 : مسارات اضافة المبيدات على المحاصيل ، واحد على الاقل يضمن الاتصال بالالة . (Lopez-Perez وآخرون ، 2006) .

جدول 11-3: مصير بعض المبيدات في التربة (مأخوذ من Adawiahbinti Ismail، 2008) .

المبيدات	التطاير	الغسل	ادمصاص على غرويات التربة	ادمصاص على المادة العضوية	امكانية عدم التحلل الحيوي	امكانية المعدنة	العوامل التي تساعد على التحلل الحيوي
DDT	واطىء	واطىء	واطىء	عالي	واطىء	واطىء الى متوسط	ظروف لاهوائية ، محتوى رطوبي عالي ، انخفاض جهد الاكسدة ، السطوح غير الايونية ، الانزيمات الفطرية ، المواد العضوية الصلبة الناعمة ، الظروف الهوائية واللاهوائية بالتناوب ، الاضافات الفطرية
DDD	واطىء	واطىء	واطىء	عالي	واطىء	واطىء الى متوسط	
DDE	واطىء	واطىء	واطىء	عالي	واطىء	واطىء الى متوسط	
2,4-D	واطىء	عالي	واطىء	واطىء الى متوسط	واطىء	متوسط الى عالي	ظروف لاهوائية ، محتوى رطوبي عالي ، الاضافات الفطرية
2,4,5-T	واطىء	عالي	واطىء	واطىء الى متوسط	واطىء	واطىء الى متوسط	ظروف لاهوائية ، محتوى رطوبي عالي ، الاضافات الفطرية

العلاقة بين المبيدات الكيميائية وحياء التربة المجهرية

إن استعمال المبيدات لاجل استهداف افة معينة فان 5% فقط من المبيد المستعمل قد تصل الى الافة المستهدفة ، اما باقي الكمية فتذهب الى احياء اخرى في التربة غير مستهدفة وبالتالي يحدث خلل في التوازن الميكروبي وقد يتعدى ذلك الى القضاء على احياء التربة المجهرية الاقتصادية ، ومنها بكتريا النترجة والبكتريا المثبتة للنيتروجين

الجوي والأحياء المحللة للمادة العضوية ،ولهذا فان الفائدة من المبيدات يجب ان يتم تقييمها على اساس التأثيرات التي تسببها على احياء التربة المجهرية ، هناك مبيدات تشجع وتزيد أعداد مجاميع الأحياء المجهرية وقسم اخر تموت أو يتوقف نموها وتتأثر سلباً وتسبب تغييراً في النظام البيئي والغذائي في التربة، وعموما اشارت العديد من الدراسات الى أن استعمال المبيدات بالمعدلات الحقلية الموصى بها لا يسبب اثارا ضارة على الاحياء المجهرية أو نشاطها الحيوي ، بينما اوضحت دراسات أخرى ان للمبيدات تأثيرات سلبية وأخرى ايجابية على أحياء التربة غير المستهدفة .

تتمثل آثار المبيدات على الاحياء المجهرية في التربة في انخفاض عددها ، تعديل النشاط الكيموحيوي ، والانخفاض الكمي والنوعي للمجتمع الميكروبي ، فعند استعمال المبيدات في الانظمة الزراعية فمن المحتمل ان تؤثر هذه المبيدات تأثيرا جانبيا في احياء التربة مما يترتب على ذلك تأثيرات في العمليات الايضية في النبات ، ولذلك فان علاقة التداخل بين احياء التربة المجهرية والمبيدات تحدث باتجاهين :

أ- الاتجاه الاول : ان بعض المبيدات تؤثر تأثيرات سلبية في الاحياء المجهرية وهذه التأثيرات تحكمها ثلاثة عوامل هي : نوع المبيد ، التركيز المستعمل ، ومدة بقاء المبيد بحالته السمية وهذه تعتمد على المادة الفعالة في المبيد .في حين نجد بعض المبيدات ليس لها تأثير، وقد تكون بعض هذه المبيدات غير سامة عند استعمالها بالتركيز الموصى به حقليا، ولكن الاستعمال المتكرر لهذه المبيدات ولمدد طويلة قد يظهر تأثيرها التراكمي (Residual effect) فينعكس على الاحياء المجهرية في التربة وعلى جذور النباتات والعمليات الحيوية كافة .

ب- الاتجاه الثاني : جميع المبيدات تقريبا تكون عرضة للتمثيل الغذائي (التحلل الحيوي) من احياء التربة المجهرية مما تؤدي الى تحفز نمو احياء التربة وتقليل خطر المبيدات .

بينت العديد من الدراسات ان للمبيدات تاثيرات محدودة على الفعاليات المايكروبية والتي ستنعكس على خصوبة التربة وذلك بسبب تواجد بعض المركبات في التربة وتطور مقاومة المبيدات من قبل احياء التربة أي التكيف للوضع Adaptation ، ولكن المبيدات الكيميائية باختلاف انواعها وتراكيبها اصبحت تستعمل بصورة واسعة ، ولهذا يجب الاهتمام بدراسة المبيدات في التربة لاحتمالات تاثيراتها السلبية في تثبيط أنشطة الاحياء المجهرية ذات الاهمية الاقتصادية في تحولات العناصر الغذائية في التربة ، ولذا فمن المهم معرفة تاثير هذه المبيدات على احياء التربة المجهرية :

1- تاثير المبيدات في الكتلة الاحيائية

ان المبيدات المضافة الى التربة مثل المبيدات الفطرية التي تضاف بكميات عالية قد تكون خطرة على المجتمعات الميكروبية ، بينما اضافة مبيدات الادغال بمعدلات قليلة فقد تكون غير سامة ، وعموما ان مدة تاثير المبيدات تكون ثابتة ومستمرة يحكمها التركيب الكيميائي والظروف البيئية ، فقد اوضحت الدراسات التي اهتمت باختبار التاثيرات الضارة للمبيدات في ميكروبات التربة ان غالبية الميكروبات لا تتاثر بالمبيدات وان اعدادها تنخفض انخفاضا قليلا وخاصة عندما تضاف بتركيز منخفضة كمبيدات الادغال ، وان المبيدات المضافة بتركيز عالية ليس لها نفس درجة التاثير على كل احياء التربة ، فقد تنخفض اعداد نوع من الاحياء ولا يتاثر نوع اخر الا بدرجة متوسطة في حين تقاوم بعض الانواع الاخرى مقاومة تامة.

يمكن اجراء تقييم للضرر المحتمل بعدة طرق ، حيث ان مادة الاساس يمكن ان تحتوي على مستويات مختلفة من المحاليل المغذية الملقحة بمزارع نقية او في وسط الاكار الملقح ، ولكن قد نجد صعوبة في تفسير النتائج لان التداخلات بين مكونات التربة والمواد السامة لن تكن واضحة في الاختبارات المختبرية ، والجدول (4-11) يبين الحدود السامة لبعض المبيدات الكيميائية على المجاميع الميكروبية .

جدول 4-11 : تأثير المبيدات على المجاميع الميكروبية .

المبيدات	البكتريا	الاكتينومايسيتات	الفطريات
التراكيز السامة (ppm)			
Dazomet	150	150	150
Metham	60	-	60
Nabam	50	-	50
PCP	2000	2000	2000
التراكيز الغير سامة (ppm)			
Aldrin	100	-	100
Atrazine	70	70	75
DDT	100	-	100
Diazinon	40	40	40
HCH	1000	1000	1000
Simazine	70	70	70

ان ميكانيكية التأثير السام للمبيدات تكون من خلال تأثير معظم المبيدات وخاصة مبيدات الادغال مباشرة في التصنيع الحيوي للمركبات المتنوعة في الخلية النباتية وذلك عن طريق اختزالها لكميات كبيرة من مركب ATP المهم في العمليات الحيوية، حيث ان كثير من المبيدات تقتل الكائن عن طريق التداخل مع عملية التنفس الخلوي و انتاج الطاقة في الماييتوكوندريا او عن طريق تغير التخليق الحيوي لبعض المركبات الضرورية لحياة الكائن كالاحماض النووية ونتيجة ذلك تؤثر على عملية التحلل السكري في الساييتوبلازم وعلى دورة كريبس والفسفرة التاكسدية في الماييتوكوندريا ، وايضا تؤثر في تخليق البروتين في الخلية وذلك بمنع دخول الحوامض الامينية اليها او تثبيطها، في حين نجد مجموعة اخرى من المبيدات تؤثر في عملية ايض السكريات كما تمنع تحرر الاوكسجين من الماء في اثناء عملية التركيب الضوئي ومنع تكوين مركب

ATP والـ NADPH الضرورية لعملية تثبيت غاز ثاني اوكسيد الكربون، كما تؤدي بعض المبيدات الى تعطيل بعض الانزيمات الضرورية في عملية التغذية ، حيث انها تعمل على تثبيط عمل انزيم Catalase و Peptidase والـ Proxidase.

ان استعمال مبيدات الادغال بالمستوى الموصى به في الحقل لا يسبب تغير في نمو المجاميع الميكروبية ، بينما استمرار استعمال نفس المبيدات ولسنوات متكررة قد ينتج عنه تغير في المجاميع الميكروبية والفعاليات الميكروبية ، وعموما ان تاثير مبيدات الادغال في الفعالية الميكروبية يتباين من عدم التأثير الى مثبط او محفز، فقد درست الاعراض الجانبية لاضافة مبيد الادغال glyphosate على احياء التربة المجهرية باستعمال اربعة تراكيز (0 , 2 , 20 , 200) مايكروغرام .غم⁻¹ لترب محصنة ومتابعة التغيرات في المجاميع الميكروبية خلال 27 يوما ، فوجد ان ليس هناك تاثيرات معنوية على اعداد البكتريا الكلية باستثناء الايام (1 ، 3 ، 9) عند التركيز (2 مايكروغرام .غم⁻¹) ، وازدادت اعداد البكتريا وقتيا عند التراكيز (20 ، 200) مايكروغرام .غم⁻¹ ، بينما لم يلاحظ تاثير على العدد الكلي للفطريات والاكتينومايسيتات (جدول 11-5). وعند دراسة معدل النمو لسبعة انواع من الفطريات في ثلاثة اوساط زرعية Malt extract agar, Water agar , Soil extract agar معاملة بمبيد الادغال glyphosate ولاربعة تراكيز (0, 2, 20, 200) مايكروغرام.غم⁻¹ تبين عدم وجود اختلافات معنوية في النمو عند جميع التراكيز باستثناء التركيز (200 مايكروغرام .غم⁻¹) الذي ادى الى خفض النمو ولبعض انواع الفطريات (جدول 11- 6).

جدول 5-11: تأثير مبيد glyphosate على العدد الكلي للبكتريا والفطريات والاكثينومايسيتات في عينات تربة.

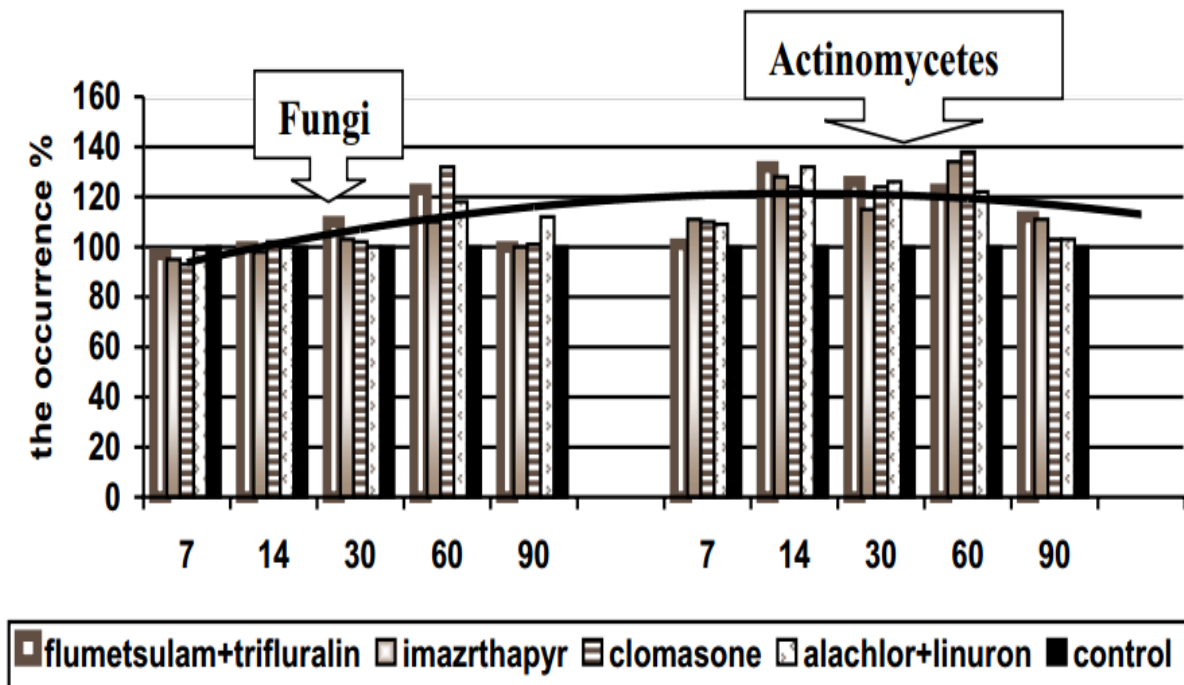
الوقت بعد اضافة المبيد					تراكيز المبيد مايكرو غرام .غم ⁻¹
27 يوم	9 ايام	3 ايام	يوم واحد	صفر يوم	
					البكتريا ($\times 10^8$.غم ⁻¹ تربة)
2.74 a	3.17 a	2.56 a	2.01 a	2.15 a	0
2.74 a	3.29 a	2.79 ab	2.28 ab	2.15 a	2
2.73 a	3.44 a	3.00 b	2.52 b	2.15 a	20
2.70 a	4.63 b	3.75 c	2.91 c	2.15 a	200
					الفطريات ($\times 10^5$.غم ⁻¹ تربة)
9.8 a	9.2 a	10.5 a	8.9 a	8.5 a	0
9.9 a	9.8 a	9.8 a	9.6 a	8.5 a	2
9.9 a	9.2 a	9.5 a	10.1 a	8.5 a	20
10.1 a	9.9 a	10.2 a	9.2a	8.5 a	200
					الاكثينومايسيتات ($\times 10^6$.غم ⁻¹ تربة)
1.33 a	1.29 a	1.50 a	1.46 a	1.45 a	0
1.33 a	1.25 a	1.43 a	1.51 a	1.45 a	2
1.29 a	1.26 a	1.41 a	1.44 a	1.45 a	20
1.30 a	1.24 a	1.39 a	1.42 a	1.45 a	200

جدول 6-11 : معدل النمو (ملم .يوم⁻¹) لسبعة انواع من الفطريات النامية في ثلاث اوساط زرعية المعاملة بتركيز من مبيد الـ glyphosat .

تركيز مبيد الادغال (مايكروغرام .غم ⁻¹)				انواع الفطريات
200	20	2	0	
8.97 a	9.15 a	9.15 a	9.23 a	Soil extract agar
8.56 b	10.79 a	10.90 a	10.90 a	<i>Mucor hicmalis</i>
11.27 a	11.50 a	11.09 a	11.01 a	<i>Morticrelia alpine</i>
7.86 a	7.72 a	7.82 a	7.82 a	<i>Trichoderma harzianum</i>
3.25 a	3.80 a	3.71 a	3.75 a	<i>Arthrinium sphaerospermum</i>
1.58 b	4.79 a	4.86 a	5.00 a	<i>Cladosporium cladosporioides</i>
1.68 b	1.04 a	1.15 a	1.22 a	<i>Fusarium oxysporum</i>
				<i>Penicillium nigricans</i>
				Water agar
3.10 b	6.06 a	6.42 a	6.16 a	<i>M. hicmalis</i>
2.76 c	5.92 b	7.56 a	7.60 a	<i>M. alpine</i>
4.62 c	9.36 b	10.96 a	11.12 a	<i>T. harzianum</i>
0.74 c	2.37 b	5.68 a	5.76 a	<i>A. sphaerospermum</i>
0.68 b	0.69 b	1.06 a	1.10 a	<i>C. cladosporioides</i>
2.20 b	2.41 b	4.36 a	4.50 a	<i>F. oxysporum</i>
0.43 c	1.49 b	1.84 a	1.88 a	<i>P.nigricans</i>
				Malt extract agar
8.74 a	9.23 a	9.23 a	9.73 a	<i>M. hicmalis</i>
5.06 c	5.40 b	7.32 a	7.10 a	<i>M. alpine</i>
7.29 c	10.16 b	13.50 a	13.88 a	<i>T. harzianum</i>
8.76 a	9.16 a	9.06 a	9.30 a	<i>A. sphaerospermum</i>
1.03 b	1.25 a	1.25 a	1.23 a	<i>C. cladosporioides</i>
1.25 a	1.28 a	1.32 a	1.31 a	<i>F. oxysporum</i>
1.60 b	1.55 b	1.33 a	1.30 a	<i>P.nigricans</i>

ونلاحظ من الشكل (3-11) ان اضافة مبيدات الادغال تحفز من الفطريات والاكتينومايسيتات ، حيث وجد ان بعد 7 ايام فقط من اضافة مبيد الادغال ادت الى

زيادة ملحوظة في اعداد الاكتينومايسيتات ، في حين لم تلاحظ اي زيادة في اعداد الفطريات ، وبعد 14 يوم من الاضافة ازدادت الاكتينومايسيتات بنسبة 35% عند اضافة المبيدات Rival (flumetsulam +trifluralin) و Linuron (alacholor + linuron) ، وسجلت اعلى القيم لاعداد الفطريات والاكتينومايسيتات بعد 60 يوما من اضافة المبيدات، حيث ان الفطريات كغيرها من الاحياء المجهرية تحتاج الى العناصر الغذائية لبناء اجسامها فقد تستفيد من تحلل المبيدات للحصول على الكربون والنروجين في بناء خلايا جديدة ولكن لبعض المبيدات تاثيرات سامة على الفطريات .



شكل 11-3: تاثير مبيدات الادغال على الفطريات والاكتينومايسيتات (ماخوذ من Nada واخرون ، 2002) .

وفي احدى الدراسات المحلية عزلت مستعمرات مايكروبية من 30 عينة لترب زراعية مختلفة النسجة (ناعمة ، ومتوسطة، وخشنة) واختبرت قابليتها على تحلل مبيد الادغال الكلايفوسيت glyphosate وظهرت نتائج الاختبار تفاوتت اعداد المستعمرات المايكروبية التي جرى عزلها من عينات التربة، حيث اظهرت المستعمرة التي عزلت من التربة المتوسطة النسجة ذات كفاءة عالية في النمو ، مقارنة

بالمستعمرات الاخرى المعزولة من الترب الاخرى ، ثم شخصت هذه المستعمرة على انها بكتريا *Pseudomonas aeruginosa*، واختبر نموها بتراكيز مختلفة من المبيد (5 ، 20 ، 40 ، 60 و 80) ملغرام. لتر⁻¹ وكان التركيز 20 ملغرام. لتر⁻¹ الافضل لنمو البكتريا ، حيث سجل اعلى عدد للخلايا الحية في المزارع السائلة ، بينما اقل عدد للبكتريا سجل عند اقل تركيز للمبيد (5 ملغرام . لتر⁻¹) (جدول 7-11) ، ولوحظ من نتائج هذه الدراسة ان مبيد الكلايفوسيت له تأثير تثبيطي لبكتريا *P. aeruginosa* وخاصة التراكيز العالية منه، حيث يعتقد ان هذا المبيد يعمل على تثبيط الفعاليات الانزيمية الحيوية وجعل البكتريا غير قادرة على تحلل المبيد والاستفادة منه مصدراً للطاقة .

جدول 7-11: نتائج اختبار كفاءة بكتريا *P.aeruginosa* المعزولة محلياً في تحلل تراكيز مختلفة من مبيد الكلايفوسيت (السعدي ، 2009) .

تركيز المبيد ملغرام لتر ⁻¹	عدد الخلايا البكتيرية الحية (10 ⁷) × cfu ml ⁻¹
المقارنة	-
5	5.2
20	9.3
40	8.3
60	6.1
80	5.0

اشارت العديد من الدراسات الى ان مبيدات الادغال ليس لها تأثير في فطريات المايكورايزا بقدر تأثيرها في النبات ، حيث درس تأثير ثلاثة مبيدات ادغال (chlorprophan , salfallatc , phemnedipham) في المايكورايزا ونمو النبات ووجد ان طريقة اضافة المبيدات الى التربة ليس لها تأثير معنوي في الجذور المصابة

بالميكورايزا لنبات الحنطة و الجت ولكافة التراكيز المستعملة ، بينما ادت الى قلة الوزن الجاف للمجموع الخضري متى ما اضيفت بتراكيز عالية ، اما اضافة المبيدات بالرش فليس لها تاثير معنوي في الجذور المصابة ايضا ، ولكن المبيد phemnedipham فقط ادى الى قلة الوزن الجاف لكلا النباتين وفي التراكيز العالية ، و اشارت الدراسة الى ان اضافة مبيد الادغال (phemnedipham) بعد اربعة اسابيع من عمر نبات الذرة البيضاء والجت اثرت في المادة الجافة للنباتين عند التركيز (8 ملغم. مل⁻¹) في النباتات الملقحة وعند التركيز (0.8 و 8 ملغم. مل⁻¹) في النباتات غير الملقحة ، ولم تؤثر معنويا في الجذور المصابة بالميكورايزا .

لخصت نتائج دراسة تاثير الرش وسقي التربة بمبيدي الفطريات Remiltine و Triadimefon على نباتات الفاصوليا واصابة جذورها بالميكورايزا تحت ظروف البيت الزجاجي وباستعمال تركيزين (2 ، 4) غم . لتر⁻¹ من كلا المبيدين في الجدول (8-11 ، 9-11) وكانت كالآتي :

أ- ان سقي الفاصوليا بمحلول مبيد الـ Triadimefon ادى الى خفض نسبة الاصابة معنويا من 70 % (المقارنة) الى 50 % و خفض الوزن الرطب للمجموع الخضري ولكلا التركيزين .

ب- السقي بمحلول مبيد الـ Remiltine ادى الى خفض نسبة الاصابة والوزن الرطب للمجموع الخضري عند التركيز (4) غم . لتر⁻¹ .

ج- الرش بمبيد Triadimefon فقد ادى الى زيادة معنوية في نسبة الاصابة في التركيز (2) غم . لتر⁻¹ وتساوت نسبة الاصابة مع المقارنة عند التركيز (4) غم . لتر⁻¹ وانخفض الوزن الرطب للمجموع الخضري ولكلا التركيزين .

د- الرش بالمبيد الـ Remiltine ادى الى خفض نسبة الاصابة معنويا لكلا التركيزين ، بينما ازداد الوزن الرطب للمجموع الخضري معنويا عند التركيز (4) غم . لتر⁻¹ .

جدول 11-8: تأثير سقي التربة بالمبيدات الفطرية (بعد اسبوعين من الانبات) على نمو نبات الفاصوليا ونسبة الاصابة المايكورايزية .

المبيدات الفطرية	التركيز (غم.لتر ⁻¹)	الوزن الرطب للمجموع الخضري	نسبة الاصابة
المقارنة	-	3.00 a	70 a
Triadimefon	2	0.28 c	50 b
	4	0.22 c	50 b
Remiltine	2	2.98 a	70a
	4	2.38 b	50 b

جدول 11-9 : تأثير الرش بالمبيدات الفطرية (بعد اسبوعين من الانبات) على نمو نبات الفاصوليا ونسبة الاصابة المايكورايزية .

المبيدات الفطرية	التركيز (غم.لتر ⁻¹)	الوزن الرطب للمجموع الخضري	نسبة الاصابة
المقارنة	-	4.90 b	70 b
Triadimefon	2	3.67 d	80a
	4	4.52 c	70 b
Remiltine	2	4.98 b	60c
	4	7.62 a	60c

الجدول (10-11) يبين نتائج تجربة حقلية لدراسة تأثير اضافة خليط مبيدات الادغال من (التوبك+لوكران) وبالتركيز الموصى به (250 + 600 سم³ .هكتار⁻¹ لنباتات القمح المسمدة بنصف التوصية الكيميائية (50%) من الـ NPK والتوصية كاملة (100%) والملقحة بصورة منفردة ومزدوجة ببكتريا الازوتوباكتر (*A.chroococcum*) وفطريات المايكورايزا (*G.mosseae*) في النسبة المئوية للاصابة المايكورايزية واعداد السبورات ، ويتضح من النتائج :

أ- ان اضافة خليط المبيدات ادت الى خفض نسبة الاصابة المايكورايزية واعداد السبورات انخفاضاً "معنوياً" بغض النظر عن اضافة المخصبات الحيوية والاسمدة الكيميائية ، وفسر سبب انخفاض السبورات نتيجة لانخفاض نسبة الاصابة المايكورايزية لتأثرها باضافة خليط المبيدات الكيميائية.

ب- اما بغض النظر عن اضافة الاسمدة الكيميائية فان اضافة خليط المبيدات الكيميائية ادت الى خفض نسبة الاصابة واعداد السبورات انخفاضاً "غير معنوي" وعند جميع المعاملات الحيوية المنفردة او المزدوجة وهذا يعطي دليلاً "واضحاً" لتأثير الاسمدة الكيميائية وتداخل المبيدات معها في خفض نسبة الاصابة المايكورايزية واعداد السبورات .

ج- اضافة فطر المايكورايزا او بكتريا الازوتوباكتر منفردة او مزدوجة فقد ادت الى تقليل تأثير خليط المبيدات الى تأثير غير معنوي وهذا يعطي مؤشراً "على اهمية اضافة المخصبات الحيوية الفطرية او البكتيرية منفردة او مجتمعة لتحليل خليط المبيدات .

جدول 10-11: تأثير اضافة خليط المبيدات الكيميائية من (التوبك+اللوكران) لنباتات الحنطة الملقة بالمخصبات الحيوية وتحت مستويين من السماد الكيميائي في النسبة المئوية للاصابة المايكورايزية واعداد السبورات . (سهيل والسمرائي، 2009 a) .

المعدل	اضافة خليط المبيدات الكيميائية			عدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية			اضافات المخصبات الحيوية
	المعدل	%100	%50	المعدل	%100	%50	
نسبة الاصابة المايكورايزية (%)							
29 d	26 e	22 i	30 hi	32 de	28 hi	36 gh	مقارنة
60.75 b	55.00 bc	48 ef	62 cd	66.5 ab	60 cd	73 b	<i>G.mosseae</i>
48.37 c	43.25 cd	30 hi	56.5 de	53.5 bc	45 gf	62 cd	<i>A.chroococcum</i>
70.75 a	64.50 ab	54 def	75 b	77 a	68 bc	86 a	+ <i>G.mosseae</i> <i>A.chroococcum</i>
		55.87 ab	55.87 ab		50.25 ab	64.25 a	المعدل
اعداد السبورات في 100 غم تربة جافة							
55.87 d	50 e	40 k	60 hi	61.75 e	58 ij	65.5 hi	مقارنة
144.75 b	128.75 cd	136 e	121.5 f	160.75 bc	181 c	140.5 de	<i>G.mosseae</i>
72.5 c	66.5 e	51 j	82 g	78.5 de	68 h	89 g	<i>A.chroococcum</i>
229.25 A	209.25 ab	273.5 b	145 d	249.25 a	321 a	177.5 c	+ <i>G.mosseae</i> <i>A.chroococcum</i>
		125.1 a	102.1 a		157 a	118.1 a	المعدل

واستعمل لنفس التجربة السابقة المبيد الفطري الكينولايت بدلا من مبيدات الادغال تعفيرا لبذور الحنطة وبنسبة 2 كغم .طن⁻¹ وبدون استعمال مستويات الاسمدة الكيميائية لمعرفة تأثيره في النسبة المئوية للإصابة المايكورايزية وتبين من نتائج الجدول (11-11) ان اضافة مبيد التعفير ادت الى خفض نسبة الإصابة المايكورايزية انخفاضاً "معنوياً" بغض النظر عن اضافة المخصبات الحيوية والاسمدة الكيميائية ، وان اضافة مبيد التعفير ادت الى خفض النسبة المئوية للإصابة المايكورايزية انخفاضاً معنوياً لجميع المعاملات الحيوية ، باستثناء معاملة اضافة المايكورايزا فان اضافة المبيد ادت الى خفض غير معنوي في النسبة المئوية للإصابة المايكورايزية ، ونلاحظ ان اعلى نسبة للإصابة تحققت عند اضافة لقاح البكتريا والمايكورايزا معا وعند اضافة وعدم اضافة مبيد التعفير .

جدول 11-11: تأثير اضافة المبيد الفطري الكينولايت تعفيرا لبذور الحنطة الملقحة بالمخصبات الحيوية في النسبة المئوية للإصابة المايكورايزية . (سهيل والسامرائي ، 2009 b).

اضافات المخصبات الحيوية	بدون اضافة المبيد	اضافة المبيد	المعدل
المقارنة	25 f	20 f	22.5 d
<i>G.mosseae</i>	58 bc	53 c	55.5 b
<i>A.chroococcum</i>	40 d	34 e	37 c
<i>A.chroococcum</i> + <i>G.mosseae</i>	65 a	59 b	62 a
المعدل	47 a	41.5 b	

ونفذ سهيل ، (2008) تجربة حقلية لنباتات الحنطة باستعمال مبيد الباساميد جدول (11-12) واستنتج الاتي :

- 1- ان اضافة مبيد الباساميد ادت الى خفض نسبة الاصابة المايكورايزية انخفاضا غير معنويا بغض النظر عن اضافة المخصبات الحيوية والاسمدة الكيميائية .
- 2- اضافة المبيد ادت الى خفض النسبة المئوية للاصابة المايكورايزية انخفاضا معنويا لجميع المعاملات الحيوية ولكلا المستويين من الازوتوباكتر (50% ، 100 %) ، باستثناء معاملة اضافة بكتريا الازوتوباكتر وعند 50% من السماد الكيميائي فان اضافة المبيد ادت الى خفض غير معنوي في النسبة المئوية للاصابة المايكورايزية .
- 3- نلاحظ ان اعلى نسبة للاصابة تحققت عند اضافة لقاح البكتريا والمايكورايزا معا وعند اضافة وعدم اضافة مبيد الباساميد وعند 50 % من السماد الكيميائي
- 4- اضافة الباساميد ادت الى خفض نسبة الاصابة انخفاضا غير معنوي وجميع المعاملات الحيوية وبغض النظر عن اضافة السماد الكيميائي ، وبهذا فان المخصبات الحيوية قد ادت الى تقليل تاثير المبيد الى تاثير غير معنوي مما يشير الى ان هذه الاحياء المجهرية عملت على تحليل المبيد .

جدول 11-12: تأثير اضافة مبيد الباساميد لنباتات الحنطة الملقة بالمخصبات الحيوية وتحت مستويين من السماد الكيميائي في النسبة المئوية للاصابة المايكورايزية (سهيل ، 2008) .

المعدل	اضافة الباساميد			بدون اضافة الباساميد			اضافات المخصبات الحيوية
	المعدل	%100	%50	المعدل	%100	%50	
نسبة الاصابة المايكورايزية (%)							
28 d	25.5 e	21 j	30 hi	30.5 be	26 ij	35 gh	مقارنة
52.75 b	56.5 b	50 ef	63 c	64 ab	56 cd	72 b	<i>G.mosseae</i>
40.75 c	38 cd	30 hi	46 f	43.5 c	37 g	50 ef	<i>A.chroococcum</i>
66.5 a	61 ab	55 de	67 bc	72 a	63 c	81 a	<i>+ G.mosseae</i> <i>A.chroococcum</i>
		39 b	51.5 ab		45.5 ab	59 a	المعدل

لمعرفة تأثير المبيد الحشري Carbaryl 10D في فطريات وبكتريا التربة ، أجريت مكافحة كيمياوية لحشرة الحميرة بإستخدام المبيد الحشري كارباريل لستة بسـاتين نخيل متجاورة في محافظة ذي قار - العراق ، حيث رش المبيد المذكور على أشجار النخيل بما يعادل 15 كغم / هـ وأضيف على دفتين متساويتين بفارق 13 يوماً عن بعضهما ، سجلت أعداد الفطريات والبكتريا قبل المكافحة وبعد 3 و 16 يوماً من الرش الأولى ، ووجد ان رش المبيد لم يؤثر معنوياً في أعداد الفطريات والبكتريا بعد 3 أيام من الرش الأولى في الترب المزروعة في حين أدى إلى زيادة أعدادها بعد 16 يوماً من المكافحة .

اكملت الدراسة باجراء تجربتين مختبريتين على بعض هذه الترب بإضافة المبيد خلطاً مع التربة بالتراكيز (0، 20، 40، 60، 80، 100) ملغم .كغم⁻¹ تربة لمعرفة تأثيره على اعداد البكتريا والفطريات وعلى النشاط الميكروبي فقد لوحظ :

أ- انخفاض معنوي في أعداد البكتريا والفطريات بعد ثلاثة أيام من الحضان بنسبة 18.9% و 26 % لكل منهما عند استخدام المبيد بتركيز 100 ملغم .كغم⁻¹ .

ب- ازدادت أعدادها بعد 16 يوماً من الحضان بنسبة 21.9% و 14 % عند نفس التركيز .

وهذا يوضح بأن أعداد الفطريات قد تأثرت بشكل أكبر من تأثر البكتريا سواء في نسبة انخفاضها بعد 3 أيام من الحضان أو في نسبة زيادتها بعد 16 يوماً من الحضان وهذا ربما يكون بسبب طبيعة تأثير المبيد في الأحياء المختلفة ، إذ يؤثر في إنزيم Acetyl cholinesteras أو ربما يعود إلى أن أعداد الفطريات الأولية هي أصلاً قليلة مقارنة مع البكتريا ، وبذلك تأثرت بنسبة أكبر، فضلاً عن أن قابلية الفطر في الوصول إلى المبيد أو وصول المبيد إلى الفطر بشكل أكبر نتيجة حجمه الأكبر من البكتريا .

أما تأثير المبيد في النشاط الميكروبي (المقاس من خلال كمية CO₂ المتحررة) فقد وضح في الجدول (11-13) حيث تأثر سلباً بوجود المبيد في الايام الاولى من الحضان ثم استقر النشاط وازداد بعد اليوم الثامن ، حيث يتضح أن المبيد قد اثر بشكل سلبي ومعنوي في الفعالية بعد يوم واحد من الحضان وأدى إلى خفضها بنسبة 22% و 34% عند اضافته بالتركيز (40 و 100) ملغم .كغم⁻¹ تربة ، إلا أن الكميات المتحررة من CO₂ أخذت بالتزايد بعد هذه المدة عند الاضافات العالية من المبيد ولم تختلف معنوياً بعد ثمانية أيام من الحضان عن الاضافات بالتراكيز الواطئة. واستمرت الاضافات العالية من المبيد بإعطاء أعلى فعالية ميكروبية عند مدة الحضان 16 يوماً

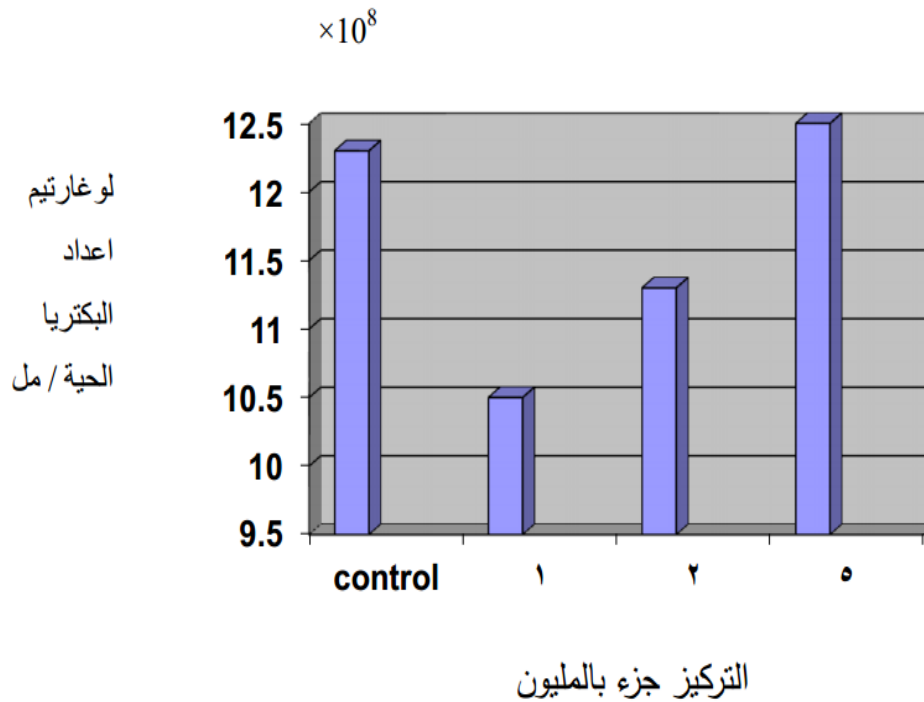
من خلال الكميات الأكبر من CO₂ المتحررة والتي بلغت 432 و 421 ملغم CO₂ 1000 غم⁻¹ تربة عند التركيز 80 و 100 ملغم.كغم⁻¹ تربة .

جدول 11-13: تأثير اضافة مستويات مختلفة من المبيد كارباريل في كمية (CO₂ ملغم / 100غم تربة) المتحررة خلال مدد حضان مختلفة (نغيمش واخرون ، 2011).

المعدل	مدد الحضان (يوم)						تركيز المبيد (ملغم.كغم ⁻¹)
	16	12	8	4	2	1	
224.8	372 b	332 a	267 a	203 a	111 a	64 a	0
214.3	385 b	311 ab	245 ab	195 ab	91 b	59 a	20
201.5	370 b	297 c	225 bc	175 bc	92 b	50 b	40
195.2	394 ab	301 bc	203 c	148 c	80 b	45 b	60
220.7	432 a	350 a	255 ab	166 c	75 b	46 b	80
214.7	421 a	344 a	242 ab	161 c	78 b	42 b	100
	395.7	322.5	239.5	174.7	87.8	51.0	المعدل

والشكل (4-11) يوضح نتائج تجربة مختبرية نفذت لدراسة تأثير المبيد الحشري أوكساميل Oxamyl بالتركيز 1 ، 2 ، 5 جزء في المليون في البكتريا *Pseudomonas aeruginosa* المعزولة من التربة المحيطة بجذور نباتات الباقلاء في حقول محافظة ذي قار- العراق . حيث يتضح إنخفاض أعداد البكتريا في الاوساط الزراعية المعاملة بالتركيز (1 ، 2) جزء في المليون الى $10^5 \times 10^8$ و 11.3×10^8 cfu.مل⁻¹ لكل منهما ، في حين ازدادت أعداد البكتريا في الاوساط الزراعية المعاملة بالتركيز العالي 5 جزء في المليون الى 12.5×10^8 cfu.مل⁻¹ مقارنة بمعاملة السيطرة 12.3×10^8 cfu.مل⁻¹ ويمكن ان يعزى سبب هذه الزيادة الى ان المبيد أوكساميل كان محفز لهذه البكتريا ، حث ان البكتريا قد استخدمت المبيد مصدرا

للكربون والفسفور والطاقة ، لاسيما ان مكونات الوسط السائل لهذه البكتريا كانت خالية من المصدر الكربوني والفسفوري والطاقة .



شكل 11-4: تأثير المبيد اوكساميل في لوغاريتم اعداد البكتريا الحية .مل⁻¹ بعد 18 - 12 ساعة من المعاملة (الجوهري ، 2014).

اختبر Mohammed وآخرون، (2015) في تجربة مختبرية نمو مايسيليوم لبعض الفطريات المرضية وغير المرضية في اربعة مبيدات فطرية وبخمس تراكيز (0 , 10 , 25 , 50 , 100) جزء بالمليون ولخصت نتائج التجربة بمايلي :

أ- ان المبيدات الفطرية المختبرة اختلفت في درجة تأثيرها في نمو الفطريات المدروسة ، حيث ان الفطر *T. harzanium* تفوق في تحمله لمبيد الـ Glodazim فقد بلغ نمو المايسيليوم (3.5) سم وتلاه الفطر *P. lilacinum* بنمو (2.9) سم اللذان سجلا نمو في جميع التراكيز ثم الفطر *T. viride* بنمو (2.3) سم الذي لم يسجل نمو في التركيز الرابع والخامس ، بينما الفطرين الممرضين لم يسجلا اي نمو في جميع التراكيز.

- ب- كان الفطر *R.solani* اكثر تحملا لسمية المبيد Premis فقد بلغ نمو المايسيليوم (5.6) سم ويليه الفطر *T. harzanium* بنمو (5.5) سم ثم الفطر *T. viride* (5.1) سم وسجل كل من الفطر *P. lilacinum* و *M. phaseoline* نمو بلغ (3.8) سم ، ونمى كل من الفطر *R.solani* و *T. viride* في جميع تراكيز المبيد ، بينما الفطريات الاخرى لم تسجل نمو للمايسيليوم عند التركيز السادس .
- ج- ان الفطر *T. harzanium* كان اكثر تحملا لسمية مبيد الـ Raxil حيث بلغ نمو المايسيليوم (3.7) سم وتلاه الفطر *P. lilacinum* (3.0) سم ، بينما سجلت الفطريات *R.solani* ، *T.viride* ، *M. phaseoline* نمو بلغ (2.9 ، 2.4 ، 1.6) سم ، ولوحظ ان الفطر *T. harzanium* و *R.solani* نما في جميع التراكيز ، ولم يلاحظ اي نمو للفطر *P. lilacinum* و *T. viride* عند التركيز السادس والفطر *M. phaseoline* عند التراكيز الاربعة الاخيرة .
- د- اما بالنسبة للمبيد Dividend فقد كان الفطر *P. lilacinum* اكثر تحملا لسمية المبيد حيث بلغ نمو المايسيليوم (4.3) سم وتلاه الفطر *R.solani* (4.1) سم ثم الفطر *T. harzanium* (3.8) سم ، الفطر *M. phaseoline* (2.9) سم والفطر *T.viride* (2.9) سم ، ولوحظ نمو جميع الفطريات في جميع التراكيز، باستثناء الفطر *M. phaseoline* لم ينمو في التركيز الخامس والسادس .
- والجدول 11-14: يوضح وصف تفصيلي لآثار المبيدات الكيميائية على المجتمعات الميكروبية في التربة .

جدول 11-14 : تأثير المبيدات على احياء التربة المجهرية (ماخوذة من Sarfraz Hussain وآخرون ، 2009) .

المبيدات	النوع الميكروبي	التأثير	المصدر
Atrazine, isoproturon, metribuzin, and sulfosulfuron	<i>Bradyrhizobium</i> sp.	Adversely affected <i>Bradyrhizobium</i> sp.	Khan وآخرون، (2006)
Phorate , carbofuran , carbosulfan , thiamethoxam , imidacloprid , chlorpyrifos , monocrotophos	Soil microflora	No significant change in total viable count of bacteria	Sarnaik وآخرون ، (2006)
Methamidophos	Soil microflora	Decreased microbial biomass (41–83%)	Wang وآخرون ، (2006)
Metsulfuron methyl	Soil microorganisms	Inhibited heterotrophic S-oxidizing and S-reducing bacteria but increased fungi	He وآخرون ، (2006)
Metalaxyl	Microbial biomass	Decreased microbial biomass	Sukul وSpiteller (2001)
Carbendazim , imazetapir, thiram	Soil microorganisms	Combination of fungicide and herbicide reduced while herbicide alone increased soil microorganisms	Niewiadomska (2004)
HCH, phorate, carbofuran, fenvalerate	Soil microorganisms, N ₂ -fixing bacteria, and P-solubilizing microorganisms	Increased soil microbial population	Mukherjee وDas (2000 a, 1998 a)
Phorate, malathion	Soil	Phorate decreased	Gonzalez- Lopez وآخرون (1993)

	total number of bacteria and N ₂ -fixing bacteria but malathion increased denitrifying bacteria. Nitrifying and fungal populations were not affected.	microorganism, N ₂ -fixing bacteria, nitrifying and denitrifying bacteria	
Fabra وآخرون، (1997)	Inhibited the growth of <i>Rhizobium</i> sp.	<i>Rhizobium</i> sp.	2,4-D
Adeleye وآخرون، (2004)	2,4-Damine was the most toxic of the herbicides and <i>Azotobacter vinelandii</i> was the most sensitive to the herbicides	<i>Rhizobium phaseoli</i> , <i>Azotobacter vinelandii</i>	Agroxone, Atranex, and 2,4-Damine
AbdAlla و Omar (1992)	Reduced respiration rate and protein contents of diazotrophs	<i>Azotobacter chroococcum</i> , <i>Azospirillum brasilense</i> , <i>Azospirillum lipoferum</i>	Brominal, fenvalerate, Cuprosan
Martinez-Toledo وآخرون، (1998)	Fungi, nitrifying and N ₂ -fixing bacteria significantly decreased while denitrifying bacteria increased	Aerobic N ₂ -fixing, denitrifying, nitrifying bacteria, fungi	Captan
Martinez-Toledo وآخرون، (1992a,b)	Decreased microbial populations	Aerobic N ₂ -fixing, denitrifying, nitrifying bacteria, fungi	Methylpyrimifos, chlorpyrifos, profenofos
Nowak وآخرون، (2004)	Increased bacterial count and decreased actinomycetes and fungi.	Nitroso-, nitro-, ureahydrolyzing bacteria, actinomycetes, fungi	Isoproturon

Min وآخرون، (2001)	Stimulated anaerobic fermentative and sulfate-reducing bacteria while inhibited acetogenic bacteria in paddy soil	Anaerobic bacteria	Butachlor
Ismail وآخرون، (1995)	The herbicide initially decreased bacterial and fungal populations significantly in clay loam and loam soils	Bacteria and fungi	Glufosinate ammonium
Nowak وآخرون، (2004)	Biodegradation of isoproturon favored bacterial growth while suppressed actinomycetes and fungi	Actinomycetes and fungi	Isoproturon
Wang وآخرون، (2006)	Population of some microbes increased in soil but the total biomass decreased	Soil microbes	Methamidophos

2- تأثير المبيدات في الفعاليات الحيوية لحياء التربة المجهرية

أ- تثبيت النتروجين اللاتعايشي (التثبيت الحر) Non Symbiotic N- fixation

من الاحياء المجهرية التي تعيش بصورة حرة في التربة والتي لها القابلية على

تثبيت النتروجين هي بكتريا: *Rhodospirillum*, *Azotobacter*, *Clostridium*

وبعض اجناس الطحالب الخضراء المزرققة، وتعد الازوتوباكتر والازوسبيرلر من

اكثر الاحياء حرة المعيشة المثبتة للنتروجين كفاءة، وان قابلية هذه الاحياء على تثبيت

النتروجين ووفرتهما تحددها عوامل عديدة، منها المبيدات بانواعها المختلفة. فقد

اجريت احدى الدراسات لمعرفة المعدلات الملائمة للتوصية الحقلية لمستوى الاضافة

للمبيد الفطري benomyl والمبيد الحشري Carbofuran وبتركيز (5) جزء بالمليون وتأثيرهما على اعداد البكتريا المثبتة للنتروجين بصورة حرة في ترب رسوبية ، استوائية وملحية حامضية وذات محتوى سيللوزي 5% ومجففة هوائيا وذلك باستخدام N^{15} في ترب شبه مغمورة وتحت ظروف مختبرية ، فتبين و من خلال جدول (11-15) ان بكتريا *Azospirillum* sp ازدادت اعدادها باستعمال المبيد الفطري benomyl في الترب الرسوبية والملحية الحامضية وبالمبيد الحشري Carbofuran في الترب الرسوبية فقط ، بينما بكتريا الازوتوباكتري لم تتأثر بالمبيدات المضافة للتربة ، اما بكتريا التثبيت اللاهوائي Anaerobic فان اضافة مبيد الـ benomyl ادت الى زيادة اعدادها معنويا في الترب الرسوبية فقط ،بينما المبيد الـ Carbofuran ادى الى زيادة اعداد البكتريا معنويا في كل من الترب الرسوبية والاستوائية . واستنتج بان تأثير المبيدات على الاحياء المجهرية المثبتة للنتروجين يعتمد على المبيد المستعمل ، نوع التربة ومجاميع احياء التربة المثبتة للنتروجين .

اما الجدول (11-16) فيبين نتائج اختبار تأثير ستة مبيدات فطرية وحشرية وبتركيز 5 مايكروغرام .غم⁻¹ مضافة بصورة منفردة او مجتمعة على تثبيت النتروجين باستخدام N^{15} في ترب شبه مغمورة وتحت ظروف مختبرية ويتضح بان هناك زيادة في تثبيت النتروجين لخمس مبيدات فطرية وحشرية وهي (benomyl ، Carbofuran ، Parathion ، Nitrofen و γ HCH) ، بينما مبيد الـ Diazinon قلل من تثبيت النتروجين ، وان اضافة المبيدات مجتمعة ادت ايضا الى زيادة تثبيت النتروجين ، حيث سجلت معاملة (Carbofuran + benomyl) اعلى زيادة لتثبيت النتروجين ، في حين اعطت المعاملة (benom+ Diazinon) اقل تثبيت للنتروجين. من هذه النتائج يتضح لنا التأثير التفاضلي للمبيدات والتوافق فيما بينها على مجاميع الاحياء المسؤولة عن تثبيت النتروجين .

جدول 11-15: تأثير المبيدات على الاحياء المثبتة للنيتروجين في ترب شبه مغمورة .

Anaerobic N ₂ fixers 10 ⁶ غم ⁻¹ تربة جافة			Azotobacter 10 ³ غم ⁻¹ تربة جافة			Azospirillum sp 10 ⁶ غم ⁻¹ تربة جافة			الترب
Ben- omyl	Carb- ofuran	عدم اضافة مبيد	Ben- omyl	Carb- ofuran	عدم اضافة مبيد	Ben- omyl	Carb- ofuran	عدم اضافة مبيد	
34.0	18.4	4.8	1.3	1.5	1.3	34.0	26	5.4	رسوبية
0.26	22	2.2	0.2	1.7	0.4	32.0	0.48	48	استوائية
7.0	5.6	18.4	0.6	0.8	1.0	9.0	1.6	3.2	ملحية حامضية

جدول 11-16: تأثير المبيدات الكيميائية على تثبيت النتروجين في ترب شبه مغمورة باستخدام N^{15} .

المعاملات	تثبيت النتروجين (ملغم.كغم ⁻¹ تربة) 30 يوم
بدون مبيد (مقارنة)	4.7
Carbofuran	13.2
Parathion	11.7
Benomyl	11.2
γ HCH	9.5
Nitrofen	7.8
Diazinon	3.1
Benomyl+ Carbofuran	15.7
Benomyl+ Parathion	13.0
Benomyl+ Nitrofen	10.9
Benomyl+ γ HCH	10.6
Benomyl+ Diazinon	7.7
Carbofuran+ Parathion	11.6
Carbofuran+ Nitrofen	12.6
Carbofuran+ γ HCH	12.8
Carbofuran+ Diazinon	11.6

وفي تجربة اصص اجريت من قبل السلطان (1999) لمعرفة تأثير بعض مبيدات الادغال (تويك ، لوكران ، 2,4-D) في نمو ونشاط الازوتوباكتر بينت النتائج ان عزلات البكتريا اظهرت اختلافا في استجابتها للمبيدات المدروسة وتفاوتت ثلاث عزلات في مقاومتها للمبيدات، اما العزلة الرابعة فقد ثبت نموها عند المستويات العالية

من المبيدات وان هذه المستويات ادت الى انخفاض معنوي في اعداد الازوتوباكتر في البيئات الصناعية الصلبة.

ودرس تأثير ثلاث تراكيز لاربعة مبيدات مختلفة اثنان مبيدات ادغال (Pyramin , Ro-Neet) وواحد مبيد فطري (Mankogal) واخر مبيد حشري (Lindan) على نمو ثلاث عزلات نقية من بكتريا *Azotobacter chroococcum* وبينت النتائج ان المبيدات الثلاث اختلفت في تأثيرها على عزلات البكتريا ، حيث ان جميع العزلات البكتيرية نمت في التراكيز الثلاث لمبيدي الادغال والمبيد الحشري ، بينما جميع التراكيز للمبيد الفطري سببت تثبيط لنمو العزلات الثلاث (جدول 11-17) .

جدول 11-17: تأثير تراكيز مختلفة من المبيدات في نمو عزلات من بكتريا *A. chroococcum* (Nastasija) واخرون ، 2002) .

المبيدات	التراكيز	<i>A. chroococcum</i> Strain 5	<i>A. chroococcum</i> Strain 8	<i>A. chroococcum</i> Strain 14
Pyramin	1	+	+	+
	2	+	+	+
	3	+	+	+
	0	+	+	+
Ro-Neet	1	+	+	+
	2	+	+	+
	3	+	+	+
	0	+	+	+
Lindan	1	+	+	+
	2	+	+	+
	3	+	+	+
	0	+	+	+
Mankogal	1	-	-	-
	2	-	-	-
	3	-	-	-
	0	+	+	+

و درس التميمي، (2005) في تجربة مختبرية لاختبار تأثير تراكيز مختلفة من خليط المبيدات (توبك + لوكران) في اعداد الخلايا البكتيرية لعزلات مختلفة من بكتريا *A.chroococcum* لتحديد اقل تركيز مثبط Minimum inhibitory concentration (MIC) لاعداد البكتريا ويمكن تلخيص نتائج الدراسة (جدول 11-18) بما يلي :

- أ- ان العزلات (I_3 , I_2 , I_1) المأخوذة من منطقة رايزوسفير جذور نباتات القمح في تربة معاملة بخليط المبيدات الكيميائية (توبك + لوكران) يمكن عدها عزلات محلية اكثر تحملا" لخليط المبيدات الكيميائية مقارنة بالعزلات (I_6 , I_5 , I_4) المأخوذة من المعاملات غير المعاملة بخليط المبيدات ،
- ب- ان العزلات (I_6 , I_5 , I_4) لم تسجل نموا عند مدة الحضان (3) ايام.
- ج- عزى حصول انعدام النمو لجميع العزلات عند اضافة تراكيز المبيدات الكيميائية عند مدة الحضان (3) ايام وزيادته بزيادة مدد الحضان الى (14) يوما" وانخفاض الاعداد عند (21) يوما" الى مرور البكتريا في طور السكون (lagphase) أي تتكيف وتتطبع على الظروف الطارئة (اضافة المبيد) عند المدة (3) ايام وبعد تلك المدة يحصل تأقلم لنمو البكتريا حيث إن البكتريا بدأت بتحطيم خليط المبيدات وتقليل درجة سميتها واستعمالها مصدرا" للغذاء والطاقة مما يفسر زيادة الاعداد عند مدة الحضان (14) يوما" مقارنة بالتركيز (صفر) الذي اعطى اعلى قيمة عند (10) ايام.

جدول 11-18: تأثير اضافة تراكيز مختلفة من خليط المبيدات الكيميائية (توبك + لوكران) في اعداد الخلايا البكتيرية من *Azotobacter* (10^4 CFU).

10 ايام				7 ايام				3 ايام				رقم العزلة
C ₃	C ₂	C ₁	C ₀	C ₃	C ₂	C ₁	C ₀	C ₃	C ₂	C ₁	C ₀	
1.5	6.5	7.5	50	0	2.5	6.5	27.5	0	0	0	12.5	I ₁
2.5	6	6	37.5	0	3.5	3.5	27.5	0	0	0	10.5	I ₂
10.0	16.5	22.5	52.5	2.0	8.5	13.5	32.5	0	2.5	2.5	13.5	I ₃
4.66	9.66	12	46.66	0.66	4.83	7.83	29.16	0	0.83	0.83	12.16	المعدل
0	5.5	7.0	32.5	0	1.5	5.0	18.5	0	0	0	12.5	I ₄
0	0	4.5	24.5	0	0	3.0	19	0	0	0	13.5	I ₅
0	0	9.5	25.5	0	0	2.5	19	0	0	0	10.5	I ₆
0	1.83	7	27.5	0	0.5	3.5	18.83	0	0	0	12.16	المعدل
21 يوم								14 يوم				رقم العزلة
C ₃		C ₂		C ₁		C ₀		C ₃	C ₂	C ₁	C ₀	
0		3		7		4.5		3.5	10	9	13.5	I ₁
0		3.5		5.5		4		4.5	8	7.5	13.5	I ₂
3		12		11		9		10	18.5	23.5	10.5	I ₃
1		6.16		7.83		5.83		6	12.1	13.33	12.5	المعدل
0		6.5		6		10.5		0	10	8.5	11.5	I ₄
0		0		5		10		0	0	7	12.5	I ₅
0		0		7.5		11.5		0	0	10.5	16	I ₆
0		2.16		6.16		10.66		0	3.33	8.66	13.33	المعدل
العزلة * التركيز = 6.831												L.S.D (0.05)
العزلة * الايام = 10.159												
C (التركيز) = 1.769												
العزلة = 2.166												
الايام*التركيز = 5.416												
D (الايام) = 1.978												

* تركيز خليط (التوبك + لوكران) C₀ = صفر C₁ = 75 سم³ + 25 ppm

C₂ = 150 سم³ + 50 ppm C₃ = 300 سم³ + 100 ppm

والنتائج في جدول (11-19) هي لدراسة مختبرية نفذت لمعرفة اقل تركيز مثبط Minimum inhibitory concentration (MIC) لمبيد الرونستار في اعداد الخلايا البكتيرية لعزلات مختلفة من بكتريا *A. chroococcum* من خلال اضافة اربعة مستويات من المبيد (0 , 375 , 750 , 1500) سم³ . دونم¹ الى ست عزلات من البكتريا ، ثلاث منها (A₅ , A₉ , A₃) معزولة من تربة الرايزوسفير المعاملة

بالمبيدات الكيميائية لعدة سنوات ، والثلاث الاخرى (A_{15} , A_{11} , A_{13}) معزولة من تربة الرايزوسفير غير المعاملة بالمبيدات الكيميائية ، ويتضح من النتائج :

أ- ان الـ (MIC) للعزلات (A_3 , A_9 , A_5) عند مدة الحضان (3 ايام) هو التركيز (375) سم³ . دونم¹ والتركيز (750) سم³ . دونم¹ عند مدة الحضان (7) ايام ، وعند مدة الحضان (10 ، 14) يوم سجلت نفس العزلات نموا واعداد عند جميع التراكيز المستعملة .

ب- ان اعداد الخلايا البكتيرية اختلفت باختلاف العزلات وعدت الدراسة العزلة (A_5) عزلة محلية اكثر تحملا من بين العزلات الثلاث ، اما العزلات (A_{15} , A_{13} , A_{11}) فانها لم تسجل نموا عند مدة الحضان (3) ايام ، بينما نمت فقط عند التركيز (375) سم³ . دونم¹ عند مدة الحضان (7 ، 10 ، 14) يوم ، وهذا يعني ان الـ (MIC) لهذه العزلات هو التركيز (375) سم³ . دونم¹ .

ج- ان العزلات المعزولة من تربة الرايزوسفير التي سبق معاملتها بالمبيدات الكيميائية كانت اكثر تحملا للمبيد الكيميائي المضاف ، حيث وجد ان نمو البكتريا في بيئة معينة معرضة للاستعمال المتكرر للمبيدات قد يسهم في اكساب هذه العزلات مقاومة للمبيدات وهذا يكون اما بسبب التأقلم على المبيدات او احداث طفرات وراثية .

جدول 11-19: ادنى تركيز مثبت (MIC) لمبيد الرونستار في اعداد خلايا
الازوتوباكتر (10^3 CFU) لمدد حضان مختلفة (الغزي ، 2006) .

مدة حضان 7 ايام					مدة حضان 3 ايام					رقم العزلة
المعدل	C ₃	C ₂	C ₁	C ₀	المعدل	C ₃	C ₂	C ₁	*C ₀	
15.9	9.0	10.3	12.3	32.0	4.5	0	0	0	18.3	A ₅
10.4	0	5.0	7.3	29.3	4.4	0	0	0	17.6	A ₉
9.3	0	4.6	5.5	27.3	4.3	0	0	0	17.3	A ₃
5.9	0	0	5.3	18.3	3.3	0	0	0	13.3	A ₁₃
6.3	0	0	3.3	22.0	3.7	0	0	0	15.0	A ₁₁
5.5	0	0	3.0	19.3	3.9	0	0	0	15.6	A ₁₅
A=3.03 C = 2.48 A*C = 6.07					A=1.63 C = 1.33 A*C = 3.27					LSD 0.05
مدة حضان 14 ايام					مدة حضان 10 ايام					
المعدل	C ₃	C ₂	C ₁	C ₀	المعدل	C ₃	C ₂	C ₁	C ₀	
17.0	12.	20.6	22.3	12.6	26.8	10.6	18.	21.	56.6	A ₅
10.6	6	5.6	11.6	13.3	18.3	2.6	6	3	54.3	A ₉
9.3	5.6	4.6	10.0	13.6	17.1	2.0	7.0	9.3	54.3	A ₃
	4.6						5.3	7.0		
5.0	0	0	7.6	12.3	9.7	0	0	6.6	56.6	A ₁₃
4.2	0	0	6.3	10.6	9.0	0	0	5.6	54.3	A ₁₁
4.2	0	0	5.3	11.6	7.4	0	0	4.3	54.3	A ₁₅
A=2.13 C = 1.74 A*C = 4.26					A=4.30 C = 3.51 A*C = 8.6					LSD 0.05

* تراكيز المبيد (سم³ . دونم⁻¹) C₃ = 1500 ، C₂ = 750 ، C₁ = 375 ، C₀ = 0

ويلخص الجدول (11-20) نتائج ثلاث تجارب مختبرية نفذت لدراسة تأثير ثلاث مبيدات كيميائية ، المبيد الفطري (بينوميل) ، المبيد الحشري (سوبرالتراسيديين) ومبيد الادغال (جراونداب) ولاربعة تراكيز لكل منهما (الموصى به واقل واعلى منه والمقارنة) في اعداد بكتريا *A.chroococcum* عند استعمال ثلاث تخافيف مختلفة من اللقاح البكتيري (10^{-4} ، 10^{-5} ، 10^{-6}) ولاربع مدد حضان (3، 6، 12، 18) يوم

لتحديد اقل تركيز مثبط (MIC) Minimum inhibitory concentration لاعداد خلايا البكتريا ، حيث تبين :

أ- ان اقل تركيز مثبط الـ (MIC) للمبيد الفطري هو (1.2) غم . لتر⁻¹ في التخفيف 10⁻⁴ و (0.6) غم . لتر⁻¹ في التخفيفين (10⁻⁵، 10⁻⁶) وعند مدة الحضانة (18) يوم .

ب- كان الـ (MIC) للمبيد الحشري هو (0.875) مل . لتر⁻¹ وعند مدة الحضانة (6)، (12، 18) يوم ولجميع تخافيف اللقاح المستعملة .

ج- الـ (MIC) لمبيد الادغال هو (20) مل . لتر⁻¹ في التخفيفين (10⁻⁴، 10⁻⁵) و (10) مل . لتر⁻¹ في التخفيف 10⁻⁶ عند مدة الحضانة (6) ايام، اما عند مدة الحضانة (12، 18) يوم فكان الـ (MIC) هو (10) مل . لتر⁻¹ في التخفيف 10⁻⁴ و (5) مل . لتر⁻¹ في التخفيفين (10⁻⁵، 10⁻⁶) .

د- ان المبيدات الثلاث اختلف تأثيرها على اعداد البكتريا ولذلك اختلف الـ (MIC) لكل مبيد وحسب مدد الحضانة المختلفة وان تخفيف اللقاح المستعمل يتاثر بتراكيز المبيدات المضافة ومدد الحضانة المختلفة حيث كانت البكتريا في التخفيف 10⁻⁴ اكثر تحملا لمستويات المبيدات المضافة مقارنة بالتخفيفين (10⁻⁵، 10⁻⁶) حيث كان الـ (MIC) لهذا التخفيف هو اعلى من الـ (MIC) للتخفيفين (10⁻⁵، 10⁻⁶) .

جدول 11-20 : الـ (MIC) للمبيدات في اعداد بكتريا الازوتوباكتر ولتخافيف مختلفة من اللقاح البكتيري ولمدد حضانة مختلفة (سهيل وفهمي ، 2009) .

تخافيف اللقاح	بينوميل (غم . لتر ⁻¹)	سوبرالتراسيدين (مل . لتر ⁻¹)	جراونداب (مل . لتر ⁻¹)
	18	6 12 18	6 12 18
	يوم	يوم	يوم
10 ⁻⁴	1.2	0.875	10 20
10 ⁻⁵	0.6		5 20
10 ⁻⁶	0.6		5 20

اما في ظروف الحقل فقد استعملت بذور الحنطة المعفرة بالمبيد الفطري الكينولايت بنسبة (2) كغم .طن⁻¹ المحملة باللقاح البكتيري *A.chroococcum* لمعرفة تاثير المبيد في اعداد البكتريا بوجود المخصبات الحيوية ،فقد بينت النتائج المعروضة في جدول (11-21) ان اعداد بكتريا الازوتوباكتر تراوحت ما بين (1.6 – 4.17) $\times 10^6$ cfu .غم⁻¹ تربة جافة عند عدم تعفير البذور ، في حين تراوحت بين (2.27 – 7.5) $\times 10^6$ cfu .غم⁻¹ تربة جافة عند تعفير البذور ، حيث ان مبيد التعفير ادى الى زيادة معنوية في اعداد البكتريا بلغت (58.73 %) ، وهذه الزيادة قد تعزى الى ان المبيد قد تعرض الى التحلل الميكروبي من قبل البكتريا ، فهو ادى الى تحفيز نمو البكتريا لاستعماله كمصدر للكربون والطاقة ، ونلاحظ ان اضافة المخصب الحيوي المزدوج (*G. mosseae* + *A.chroococcum*) وعند اضافة مبيد التعفير حققت اعلی قيمة لاعداد البكتريا وبزيادة قدرها (79.85 %) مقارنة بعدم اضافة المبيد ، وهذا يؤكد لنا بان التداخل بين فطريات المايكورايذا وبكتريا الازوتوباكتر كان ناحجا في زيادة اعداد البكتريا بوجود مبيد التعفير وذلك نتيجة لاستغلاله من قبل البكتريا والفطريات واستعماله كمادة غذائية ، وهذا ما اشارت اليه العديد من الدراسات الى ان بعض اجناس البكتريا والفطريات المتباينة التغذية تقوم بتحليل المبيدات الى CO₂ والعناصر الاصلية المكونة لها وقسم من الكربون المكون للمبيد سوف يدخل في بناء خلايا جديدة .

ان النتائج في البيئات الصناعية الصلبة قد لا تتطابق مع النتائج الحقلية وذلك لتداخل عوامل عديدة في الحقل تؤدي الى تقليل التركيز الفعال للمبيد ومنها ، المزرعة الخليطة من احياء التربة والتي يقوم قسم منها بمهاجمة المبيدات للحصول على مصدر للكربون والطاقة وابطال سميتها ،اضافة الى وجود عوامل اخرى كالطين والمادة العضوية التي تعمل على مسك المبيد على سطوحها ، حيث اشارت العديد من الدراسات ان تراكيز المبيدات التي تثبط نمو احياء التربة المجهرية في ظروف المختبر هي اقل من تراكيزها في ظروف الحقل .

جدول 11-21 : تأثير اضافة المبيد الفطري الكينولايت تعفيرا لبذور الحنطة الملقة بالمخصبات الحيوية في اعداد بكتريا الازوتوباكتر (cfu $\times 10^6$) (سهيل والسامرائي، 2009 b).

اضافات المخصبات الحيوية	بدون اضافة المبيد	اضافة المبيد	المعدل
المقارنة	1.6 d	2.27 cd	1.93 c
<i>G.mosseae</i>	1.81 cd	3.51 bc	2.66 c
<i>A.chroococcum</i>	3.46 bc	4.20 b	3.83 b
<i>A.chroococcum</i> + <i>G.mosseae</i>	4.17 b	7.50 a	5.84 a
المعدل	2.76 b	4.37 a	

ب- تثبيت النتروجين التعايشي Symbiotic N- fixation

اكثر العمليات الحيوية تاثرا من استعمال المبيدات هي عملية تثبيت النتروجين تعايشيا لطبيعة البكتريا التي تقوم بهذه العملية من حساسية لتغير الظروف البيئية مقارنة بعمليات أخرى . ان تأثير المبيدات الكيميائية في تثبيت النتروجين التعايشي تحكمه عدة عوامل :

- 1- حيوية ونشاط بكتريا الرايزوبيا.
- 2- التغيرات التي تطرأ عند اضافة المبيدات في منطقة الرايزوسفير والرايزوبلين وعلاقة المجاميع الاحيائية.
- 3- نوع ونمو العائل النباتي.
- 4- التوافق التعايشي بين نوع وسلالة بكتريا الرايزوبيا والعائل النباتي البقولي.
- 5- نوع وسرعة نمو الرايزوبيا.
- 6- نوع المبيد .

ان لمبيدات الادغال تأثيرات مباشرة وغير مباشرة في تثبيت الحوي للنتروجين ، حيث ان التأثيرات المباشرة تكون من خلال تقليل اعداد الرايزوبيا وفعاليتها ونشاطها الفسلجي وبالتالي تقليل العقد الجذرية وهذه تؤثر على تجهيز النتروجين للنبات ، في حين التأثيرات الغير مباشرة فتكون من خلال التأثير على عملية البناء الضوئي مما يؤدي الى التأثير في الفعاليات الايضية للنبات وبالتالي تضعف العلاقة التعايشية بين البكتريا والعائل النباتي .

ان لبعض مبيدات الادغال تأثيرات سلبية في تكوين العقد الجذرية او تثبيت النتروجين ، وان هذا التأثير ربما يكون على البكتريا المثبتة للنتروجين نفسها او النبات ومن ثم تتأثر عملية التثبيت بكلا الحالتين. وقد وجد ان مبيدات الادغال عموما تحفز من نمو احياء التربة وخاصة الرايزوبيا فيما لو اضيفت بنسب منخفضة ولكن التراكيز المرتفعة منها قد يكون لها تأثير مثبط لنمو هذه الاحياء. فقد اشارت عدد من البحوث ان التراكيز العالية من مبيدات الادغال تقلل عدد العقد الجذرية في النباتات البقولية وفعالية انزيم النتروجينيز وتثبط الـ bacteroid وتصنيع الـ ATP ، وقد استعملت مبيدات الادغال مثل MCPA , Bentazon وبتركيز 100 ملغم. مل⁻¹ وتبين بان ليس لها أي تأثير في نمو بكتريا *R.leguminosarm* , *R.trifolii* في بيئة صناعية ، بينما استعمال مبيد Dinoseb وبتركيز 100 ملغم. مل⁻¹ ادى الى منع نمو جميع انواع الرايزوبيا المختبرة.

وعند دراسة تأثير مبيدات الادغال (Allochlor ; 2,4-DB ; Glyphosate ; Tifluralin ; Metribuzin) في العقد الجذرية وتثبيت النتروجين لنبات فول الصويا ، وجد ان اضافة المبيدات بالتراكيز الموصى به حقليا" اثر بشكل واضح في تكوين العقد الجذرية وتثبيت النتروجين ، هذا مع العلم بان مبيد (Glyphosate) كان اقل سمية من المبيدات الاخرى. ويشير عدد من الباحثين الى ان حساسية الرايزوبيا لمبيدات الادغال هي صفة تختص بها السلالات وليس الانواع ، وان السلالات سريعة النمو

من الانواع *R.tifolii* ; *R. metiloti* ; *R.leguminosorum* تكون مقاومة للتراكيز العالية من المبيد (2,4-D) اكثر من مقاومة السلالات بطيئة النمو من الانواع *R.lupini* ; *R.japonicum* .

تسبب اغلب المبيدات الفطرية تثبيطا لنمو بكتريا الرايزوبيا ولكنها تختلف في درجة سميتها ،وان المعلومات المتوفرة حول تاثير المبيدات الفطرية في بكتريا الرايزوبيا حقليا اقل من المعلومات المتوفرة مختبريا ،حيث وجد ان تاثير المبيد الفطري Carboxin في بكتريا *R. trifolii* مختبريا ضمن الكميات المقترحة لا يؤثر حقليا الا اذا استعمل بكميات اعلى من الموصى بها ، وان انواع الرايزوبيا تختلف فيما بينها من حيث تاثيرها بالمبيدات الفطرية ، حيث اوضحت الدراسات ان النوع *R. meliloti* اكثر مقاومة لاغلب المبيدات الفطرية من الانواع الاخرى وعزت السبب في ذلك الى سرعة نمو هذا النوع مقارنة بالانواع الاخرى .

تتباين عملية تثبيت النتروجين باختلاف انواع المبيدات وتراكيزها ، حيث وجد ان عملية تثبيت النتروجين بواسطة بكتريا *R. trifolii* تاترت باستعمال مبيدات Ethylan , Oxycarboxin , Thiram ولكنها لم تتاثر باستعمال مبيدات Dodine , Captan , Benomyl , عند استعمالها بالتراكيز الموصى بها حقليا . ووجد ان استعمال المبيدات الفطرية Captan , Benomyl , Maneb لم تظهر اي تاثير في تثبيت النتروجين حتى لو اضيفت بثلاثة اضعاف التركيز الموصى بها حقليا .

اوضحت عدد من الابحاث ان المبيدات الحشرية قليلة التاثير في نمو الرايزوبيا عند استعمالها بالتراكيز الموصى بها حقليا وتاثيرها في الاوساط الصناعية اعلى منه في الحقل، حيث درس تاثير اربعة مبيدات حشرية Likithin , Nogos , Malathion , Dipterex , في نمو سلالات الرايزوبيا مختبريا، وتبين ان هذه المبيدات كانت قليلة التاثير عند استعمالها بالتراكيز الموصى بها حقليا او اقل منه وظهر التاثير المثبط

باستعمال التراكيز العالية واختلف التأثير حسب نوع السلالة ونوع المبيد . اما دراسة التأثير مختبريا وحقليا فقد وجد ان زيادة تراكيز المبيد الحشري Dipterex في الوسط الغذائي يقلل من نمو بكتريا *R. trifolii* و *R. leguminosarum* مختبريا ، اما تطبيق التجربة حقليا فقد قل التأثير وقد يرجع ذلك الى قدرة الرايزوبيا على تحليل المبيد انزيميا الى مركبات بسيطة اقل تعقيدا ، قد تختلف اجناس الرايزوبيا المثبتة للنتروجين من حيث حساسيتها للمبيدات الحشرية وبالتالي تتاثر عملية تثبيت النتروجين ، حيث اثبتت الدراسات ان اجناس الرايزوبيا *R. meliloti* و *R. japonicum* كانت مقاومة لستة مبيدات حشرية من مجموعة Organophosphorus ولثلاثة اخرى من مجموعة Carbamate ، في حين كانت الاجناس من نوعي *R. leguminosarum* و *R. trifolii* اكثر حساسية .

الجدول (11-22) يوضح تاثير تراكيز مختلفة من بعض المبيدات الفطرية والحشرية ومبيدات الادغال في نمو ستة عزلات من بكتريا *R. leguminosarum* مختبريا حيث يتضح لنا ان للمبيدات الحشرية ومبيدات الادغال تاثيرا واضحا في نمو الرايزوبيا لمختلف العزلات ، حيث انخفض النمو بدرجة واضحة بزيادة تركيز المبيد في البيئة ، فقد اصبح التركيز الاعلى من الموصى به لكل من المبيدين الحشريين Furadan و 85 Sevin ومبيد الادغال Eptam مثبطا تماما لنمو بعض العزلات من الرايزوبيا ومثبطا لنمو جميع العزلات لمبيد الادغال Treflan . في حين لا يوجد تركيز مثبط لنمو العزلات للمبيدين الفطريين . ومن هذا نجد ان المزارع المستعملة لم يتوقف نموها في وجود اي من المبيدات الفطرية والحشرية ومبيدات الادغال عندما تضاف بالتركيز الموصى به حقليا او اقل منه ، ولا يبدى التأثير المثبط الا في التراكيز العالية ، ويختلف التركيز الذي يبدى التثبيط باختلاف سلالة الرايزوبيا والمبيد المضاف ، حيث ان الاحياء تتكيف للاضافات المعتدلة من المبيدات وتحللها وتزيل اثرها السام ، اما التراكيز العالية فلها تاثير مثبط في عملية التحلل وقتل الاحياء .

جدول 11-22: تأثير بعض المبيدات في نمو عزلات من بكتريا العقد الجذرية *R. leguminosarum* (بشير ، 1996) .

المبيدات الفطرية (غم .لتر ⁻¹)						المبيدات الحشرية (غم .لتر ⁻¹)						بدون مبيد	العزلات
Benomyl			Ridomil			Sevin 85			Furadan				
0.1	0.05*	0.25	0.6	0.3*	0.15	0.1	0.05*	0.025	5	2.5*	1.25		
+	+	++	+	+	++	-	+	+	-	+	++	++	RI-1
+	++	++	+	++	++	+	+	++	+	++	++	++	RI-2
+	+	++	+	+	++	-	+	++	+	+	++	++	RI-3
+	+	++	-	+	++	-	+	+	-	+	++	++	RI-4
+	+	++	+	+	++	-	+	+	-	+	++	++	RI-5
+	++	++	+	++	++	+	+	++	+	++	++	++	RI-6
مبيدات الادغال (سم ³ . لتر ⁻¹)												بدون مبيد	العزلات
Eptam						Treflan							
0.012			0.008*		0.002	0.008		0.004*		0.002			
-			+		+	-		-		+		++	RI-1
+			+		++	-		+		++		++	RI-2
-			+		++	-		+		+		++	RI-3
-			+		+	-		-		+		++	RI-4
+			+		+	-		-		+		++	RI-5
-			+		++	-		+		++		++	RI-6

*التركيز الموصى به ، ++ نمو جيد ، + نمو ضعيف ، - لا يوجد نمو .

اوضحت نتائج السعيدى وحسن ،(2015) في الجدول (11-23) عند دراسة تعرض بعض المبيدات على حيوية بكتريا العقد الجذرية ان المبيد الحشري الكلوربيريفوس اثر على أعداد بكتيريا *R. meliloti* المعزولة من جذور نبات الحلبة ، حيث أدى المبيد الى تثبيط نمو البكتريا بعد حوالي 12 ساعة من المعاملة مع كافة التراكيز المستعملة، بينما استمرت البكتريا في النمو في معاملة المقارنة . اما تأثير مبيد الادغال الكلايفوسيت على أعداد بكتيريا *R. meliloti* فقد أدى الى تثبيط نمو البكتريا بعد حوالي 12 ساعة من المعاملة مع التركيزين ($\frac{1}{4}$ ، $\frac{1}{2}$ الكمية الموصى بها) واستمرت البكتريا في النمو بعد 12 ساعة وحدث تثبيط تام خلال 48 ساعة من زمن

التعرض مع الكمية الموصى بها وانخفض النمو خلال 12 ساعة ثم عادت البكتيريا إلى نشاطها واستمرت في النمو مع التركيزين (1.5 ، 2 من الكمية الموصى بها) ثم أصبح النمو في حالة مستقرة . وحدث انخفاض في اعداد البكتيريا خلال 12 ساعة الأولى من زمن التعرض لمبيد الادغال السنكور ثم استعادت البكتيريا نشاطها بعد حوالي 12 ساعة إلى 24 ساعة من زمن التعرض ثم حدث تثبيط تام لنمو البكتيريا خلال 48 ساعة من زمن التعرض .في حين كان تأثير مبيد الادغال اللنرون واضح على أعداد بكتيريا *R. meliloti* حيث حدث تثبيط تام في نمو البكتيريا خلال 12 ساعة من زمن التعرض مع كافة التراكيز المستعملة بينما استمرت البكتيريا في النمو في معاملة المقارنة .

جدول 11-23: تأثير المبيدات الكيميائية على أعداد بكتيريا العقد الجذرية *R. meliloti*

المبيدات	مدة الحضان (ساعة)	تضاعف الكمية الموصى بها					
		0	0.25	0.5	1	1.5	2
الكلوربيريفوس	0	2.200	296	390	430	368	422
	12	258	1	1	1	1	1
الكلايفوسيت	0	1.900	46	48	135	100	128
	12	580	2	7	4	2	3
	24	730	0	0	0	0	0
السنكور	0	2.200	498	378	194	288	240
	12	258	10	13	46	246	8
	24	5.600	386	260	400	140	490
	48	2.440	1	1	1	1	1
	72	99.999					
اللنرون	0	2.200	392	289	410	560	544
	12	258	1	1	1	1	1
	24	5.600					

جـ- عملية النترجة Nitrification

ان عملية النترجة هي عملية اكسدة بايولوجية للامونيوم لتحويله إلى نترات وتتم بخطوتين ، الأولى يتأكسد فيها الامونيوم إلى نترت NO_2^- بواسطة بكتريا هوائية مثل الجنس *Nitrosomonas* والثانية تحويل النترت إلى نترات NO_3^- بواسطة بكتريا *Nitrobacter* . ان الاستعمالات المفرطة للمبيدات الكيميائية قد تسبب اختلالاً في التوازن الطبيعي على اعداد بكتريا النترجة *Nitrosomonas sp* و *Nitrobacter sp* ، وقد تختلف المبيدات في تأثيرها في بكتريا النترجة باختلاف نوع وتركيز المبيد ، وتعد هذه الانواع من البكتريا الاكثر حساسية للمبيدات من غيرها من انواع البكتريا ، وتشير كثير من الدراسات الى ان مبيدات الادغال قد يكون لها تأثير تشجييعي او تثبيطي او ليس لها تأثير في عملية النترجة. فقد تختلف بكتريا النترجة من حيث حساسيتها لمبيدات الادغال ، فقد وجد ان مبيد Dinoseb اظهر تأثيرا تثبيطيا على بكتريا *Nitrobacter* بدرجة اكبر من تأثيره في بكتريا *Nitromonas* ، واختبر اكثر من 35 مبيد ادغال وكانت جميعها ذات تأثير قليل في عملية النترجة عندما تضاف بالكمية الموصى بها حقليا ، ولوحظ ان بعض المبيدات تشجع عملية النترجة عند اضافتها بالتراكيز الموصى بها ، فقد وجد ان مبيد الترفلان يشجع عملية النترجة ، و ان مبيد الادغال ترفلان ولينيورون تسببا في زيادة كفاءة بكتريا *Nitrobacter* اذ ارتفع محتوى النترات ، بينما المبيد بروميترين تسبب في تثبيط نشاط بكتريا *Nitrobacter* وقلل محتوى النترات لفترات تراوحت بين (3-4) اسابيع لكنه رفع محتواها في التربة فيما بعد.

واوضحت نتائج عبود وآخرون ، (2016) في الدراسة التي قام بها لمعرفة تأثير ملوحة التربة ومبيد الكلايفوسيت في اعداد بكتريا النترجة في ثلاث ترب مختلفة النسجة (الطينية ، المزيجة والرملية المزيجة) مسمدة باليوريا ومعاملة بمبيد الكلايفوسيت بتركيزات مختلفة مع تملح الترب بثلاث مستويات ملحية مختلفة وفي ظروف المختبر ان

هناك تأثير معنوي لمبيد الكلايفوسيت في اعداد بكتريا النترجة فقد انخفضت اعداد بكتريا *Nitrosomonas* و *Nitrobacter* بزيادة تراكيز المبيد ومستويات الملوحة ، وزيادة اعداد بكتريا النترجة في التربة الطينية مقارنة بالتربتين المزيجة والرملية المزيجة (جدول 11-24 ، 11-25) وعزي انخفاض اعداد بكتريا النترجة الى ان هذه البكتريا حساسة لاضافة المود الكيميائية ومن ضمنها المبيدات مما يؤدي الى تثبيط نمو هذه البكتريا .

ودرس تأثير المبيدات الفطرية Thiram , Verdesan , Captan في عملية النترجة وبتراكيز (10 ، 100 ، 250) ملغم .غم¹ تربة لكل مبيد على التوالي ووجد ان هذه التراكيز سببت تثبيط لعملية النترجة ، باستثناء التركيز (10) ملغم.غم¹ تربة لمبيد Thiram سبب تحفيز لعملية النترجة ، وعند استعمال المبيد الفطري Triadimefon بتركيز (5 و 10) ملغم .مل¹ بيئة لم يكن له تأثير مثبت في عملية اكسدة الامونيوم ، بينما ثبتت عملية اكسدة النتريت بقوة عند التركيز (10) ملغم .مل¹ .

ان اغلب المبيدات الحشرية تثبط عملية النترجة بشكل واضح ، ودرجة التثبيط تتأثر بعدة عوامل منها : نوع وكمية المبيد ونوع التربة ، استعملت تسعة مبيدات حشرية في احدى الدراسات ولوحظ عدم تأثيرها في عملية النترجة عند اضافتها بالتراكيز الموصى بها حقليا ، وان معظمها اظهر تأثيرا مثبتا في تكوين النترات عند التراكيز العالية (500) ملغم.غم¹ تربة ، وكذلك لوحظ ان مبيد الـ Carbofuran بالتركيز الموصى به حقليا ليس له تأثير تثبيطي في عملية النترجة ، في حين كان اكثر سمية لأكسدة النتريت من اكسدة الامونيوم عند اضافته بالتركيز (500) ملغم.غم¹ تربة حيث ادى الى تجميع النتريت في التربة عند هذا التركيز .

جدول 11-24: تأثير ملوحة ونسجة التربة وتركيز مبيد كلايفوسيت في اعداد بكتريا Nitrosomonas ($10^3 \times$ غم⁻¹ تربة جافة) خلال مدة حضن 15 يوم .

التربة	مستويات الملوحة	% المبيد من التوصية				المعدل	معدل النسجة
		100	75	50	0		
الطينية	4	21.49	24.44	26.70	29.42	25.51	22.95
	8	18.61	20.64	24.44	27.36	22.76	
	16	17.60	19.16	21.28	24.32	20.59	
المزيجية	4	16.72	22.44	29.48	29.48	24.53	20.39
	8	21.42	20.04	28.41	11.93	20.45	
	16	15.92	18.36	17.61	12.92	16.20	
الرملية المزيجية	4	11.58	35.02	9.020	32.77	22.09	20.32
	8	13.07	37.52	10.54	10.03	17.79	
	16	15.56	41.02	14.31	13.53	21.10	
LSD		المبيد				التداخل الثلاثي	
0.5		0.53				1.61	
		النسجة	الملوحة				
		0.46	0.46				

جدول 11-25: تأثير ملوحة ونسجة التربة وتركيز مبيد كلايفوسيت في اعداد بكتريا Nitrobacter ($10^3 \times$ غم⁻¹ تربة جافة) خلال مدة حضن 15 يوم .

التربة	مستويات الملوحة	% المبيد من التوصية				المعدل	معدل النسجة
		100	75	50	0		
الطينية	4	12.92	19.22	25.84	33.44	22.86	20.72
	8	11.48	18.24	20.52	29.64	19.97	
	16	12.92	19.78	18.76	25.84	19.33	
المزيجية	4	11.00	13.88	16.72	24.32	16.48	14.36
	8	9.47	10.88	11.16	16.72	12.06	
	16	6.08	9.43	9.12	11.92	9.14	
الرملية المزيجية	4	9.88	14.44	17.48	21.28	15.77	12.56
	8	7.22	12.16	16.72	19.76	13.34	
	16	8.640	12.16	14.35	18.24	13.96	
LSD		المبيد				التداخل الثلاثي	
0.5		0.57				0.27	
		النسجة	الملوحة				
		0.49	0.07				

يعد النتروجين من العوامل التي تحدد من انتاج الرز في العالم ولم يتم استخدام التسميد النتروجيني بصورة كفوءة لان الظروف البيئية لزراعة هذا المحصول تشجع على فقدان النتروجين بعمليتي النترجة وعكس النترجة ، ولتشخيص الية الفقد و/ او كفاءة التسميد النتروجيني في انتاج الرز بسبب الحاجة الى تحسين كفاءة استعمال النتروجين ، تقليل كلفة انتاج الرز وصيانة كميات كبيرة من الموارد الطبيعية الضرورية لانتاج السماد النتروجيني فقد جرى تقييم لفعالية مبيدات حشرية ومبيدات ادغال بالمستويات الموصى بها في حقول الرز في تاخير عملية النترجة عن طريق تقدير الزيادة في تركيز النترات $\text{NO}_3\text{-N}$ و / او الانخفاض في تركيز الامونيا $\text{NH}_4\text{-N}$ وبينت النتائج العروضة في الجدول (11-26) ان جميع المبيدات ادت الى تثبيط عملية النترجة خلال الايام العشرة الاولى من الحضان وبقيت بعض المبيدات بعد (60) يوما من الحضان مستمرة في تأخير عملية النترجة.

اشارت بعض الدراسات الى ان تاثير المبيدات على النترجة يختلف باختلاف نوع التربة ، حيث جرى قياس تاثير اضافة المبيدات الكيميائية على تثبيط النترجة في تربتين مزروعتين بالرز مختلفتي النسجة احدهما طينية والاخرى خشنة النسجة مزيجية غرينية ف لوحظ بعد 25 يوم من الحضان على درجة حرارة 25 م⁰ ان كل انواع المبيدات ادت الى تثبيط عملية النترجة واختلف ذلك باختلاف نوع التربة حيث ازداد التثبيط في التربة الطينية مقارنة بالتربة خشنة النسجة المزيجية الغرينية ، وتبين ان اعلى تثبيط حصل في الاضافات الواطئة لكل من مبيدي Terrazole و Sodium azide حيث ان صفات التربة اثرت على ذلك ، وان استخدام مزيج من المبيدات كما في Molinate + Carbofuran يكون اقل تاثيرا في التربة الطينية مما في التربة المزيجية الغرينية .

جدول 11-26 : تراكيز $\text{NH}_4\text{-N}$ و $\text{NO}_3\text{-N}$ المعاملة والغير معاملة في تربة طينية بعد اضافة 50 جزء بالمليون $\text{NH}_4\text{-N}$ الى تربة رطبة .

مدة الحضان										اشكال N	المعاملات
60	35	25	15	10	8	6	4	2	0		
0	11.9	22.7	32.6	37.5	40.5	45.4	48.4	55.3	59.3	$\text{NH}_4\text{-N}$	Propanil
90.2	75.4	64.8	49.0	39.8	36.5	29.8	24.0	19.2	15.4	$\text{NO}_3\text{-N}$	
0	15.8	21.7	29.0	35.6	38.5	45.4	46.4	51.4	57.3	$\text{NH}_4\text{-N}$	Furadan
87.8	71.5	56.6	49.4	38.9	34.6	28.8	23.0	17.8	13.4	$\text{NO}_3\text{-N}$	
0	25.7	31.6	37.5	41.5	46.4	49.4	49.4	51.4	58.3	$\text{NH}_4\text{-N}$	Molinate
91.2	65.3	54.7	43.7	34.1	30.7	25.4	21.6	16.8	13.9	$\text{NO}_3\text{-N}$	
4.9	25.7	33.6	39.5	42.5	44.5	49.4	51.4	57.3	60.3	$\text{NH}_4\text{-N}$	Furadan+ Molinate
89.3	62.4	47.5	41.3	31.7	30.2	25.4	20.2	17.8	13.9	$\text{NO}_3\text{-N}$	
53.4	71.1	69.2	63.2	63.2	63.2	63.2	61.3	61.3	59.3	$\text{NH}_4\text{-N}$	Sodium azide
41.3	13.9	12.0	13.0	13.4	13.0	13.4	13.4	13.9	14.8	$\text{NO}_3\text{-N}$	
83.0	75.1	68.2	66.2	61.3	61.3	59.3	59.3	57.3	61.3	$\text{NH}_4\text{-N}$	Nitrapyrin
14.4	13.9	13.4	13.4	12.5	12.5	13.4	13.4	11.0	14.4	$\text{NO}_3\text{-N}$	
84.0	67.2	61.3	57.3	59.3	59.3	51.4	51.4	51.4	57.3	$\text{NH}_4\text{-N}$	Terrazole
14.4	12.0	11.5	11.5	12.5	11.5	12.5	12.5	12.0	13.4	$\text{NO}_3\text{-N}$	
0	5.9	13.6	23.7	31.6	33.6	41.5	47.4	-	59.3	$\text{NH}_4\text{-N}$	Nontreated
86.9	75.8	53.3	41.8	30.2	30.2	26.4	23.0	-	13.9	$\text{NO}_3\text{-N}$	
40	44	45	48	50	56	56	56	54	56	$\text{NH}_4\text{-N}$	Modown*

* تراكيز $\text{NO}_3\text{-N}$ غير متوفرة

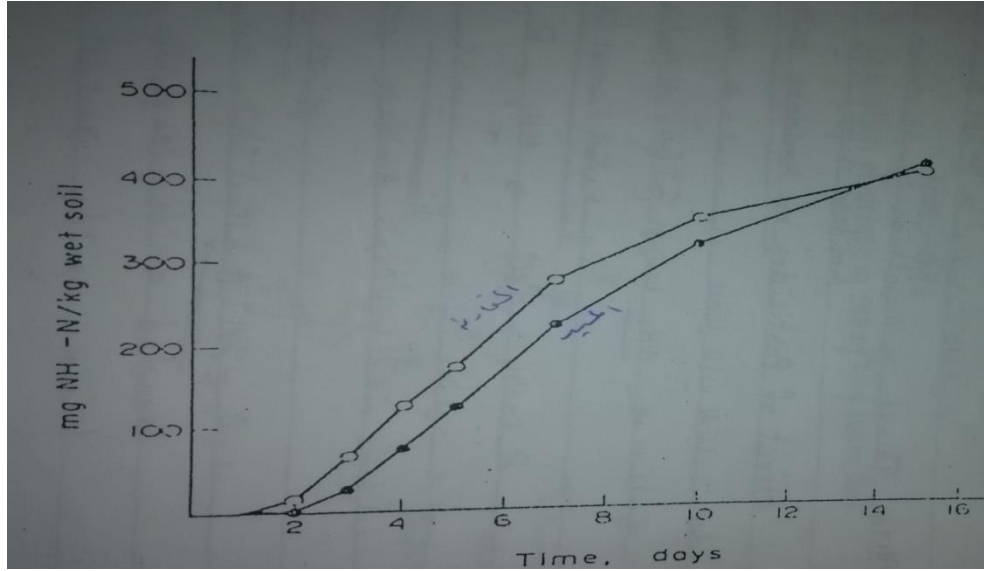
د- عملية النشطرة Ammonification

ان عملية هي عملية تحلل اليوريا والبروتين والأحماض الامينية وتكوين الامونيا NH_3 ، تقوم بها احياء التربة المجهرية المتباينة التغذية مثل بكتريا *Pseudomonas* ، *Proteus* ، *Bacillus* ، *Nocardia* ، *Clostridium* ، ومن الفطريات فطر *Penicillium* . اشارت الدراسات الى ان مبيدات الادغال ممكن ان تعمل على تحفيز عملية النشطرة وذلك لقتل كثير من النباتات والاحياء في منطقة الرايزوسفير مما

يوفر كميات من البروتين الجاهز، حيث وجد ان هناك تحفيز لبكتريا النشرة خلال 80-90 يوم التي اعقبت المعاملة بمبيدات الادغال Monolinuron , Linuron , Chloroxuron ، وهناك دراسات سجلت عدة انواع من مبيدات الادغال لها تاثير واضح في عملية النشرة ، فقد استعمل مبيد الاترازين Atrazine وبتركيز 4 كغم هكتار¹ ولفترات في تجربة لحقول بساتين وتبين انخفاض معدلات النشرة في الترب المعاملة بالمبيد عن معاملة المقارنة وزيادة الانخفاض مع الزمن (شكل 11-5) .

وعند استعمال المبيدات الفطرية Verdesan , Thiram , Captan لوحظ ارتفاع كمية الامونيوم المتكونة تصاعديا في التربة مع زيادة نسبة اضافة المبيدات بتركيز (5 – 250) ملغم .غم¹ تربة للمبيد الاول والثاني وبتراكيز (1 - 50) ملغم .غم¹ تربة للمبيد الثالث ، وكذلك اضافة المبيدات الفطرية Quintazen , Thiram , Captan ، Benomyl بكمية تعادل ضعف الكمية الموصى بها حقليا ادت الى زيادة في عملية النشرة ، في حين ثبطت عملية النشرة عند استعمال مبيدات Maneb , Anilazine , Metam-Sodium .

اظهرت كثير من الابحاث ان مركبات الامونيوم تتجمع في الترب المعاملة بالمبيدات الحشرية مقارنة بالترب غير المعاملة بها ، حيث ان للمبيدات الحشرية تاثيرا تحفيزيا لعملية النشرة وذلك من خلال قتل الحشرات في التربة وتحليلها مما يوفر موادا اولية لتغذية الاحياء المسؤولة عن عملية النشرة ، وفي دراسة استعمل فيها المبيد الحشري Flucythrinate وبتركيز (1) ملغم .غم¹ تربة وجد زيادة في عملية النشرة في الترب المختلفة النسجة ، في حين استعمال المبيد Aldicarb بتركيز (10) ملغم .غم¹ تربة ثبط عملية النشرة في التربة الطينية ولم يظهر اي تاثير في الترب الاخرى .



شكل 5-11 : معدل النشطرة في المقارنة (o) والاترازين (●) في التربة .

هـ فعالية الانزيمات

اشارت الدراسات الى ان بعض المبيدات الكيميائية لها تاثيرات سمية على الانزيمات ، قد تكون مباشرة او غير مباشرة، فالتاثيرات المباشرة تكون نتيجة تداخل المبيدات مع الفعاليات الاعتيادية داخل الخلية مما يسبب تغير في تركيب الانزيم او التنافس معه على مواقع الفعالة للمادة الاساس Substrate او تحفيز او اعاقا نشاط الانزيم من خلال الارتباط معه او مع مادة الاساس وتكوين مركبات معقدة من خلال التنافس مع الجزء غير البروتيني Cofactor للانزيم او تغير تركيب البروتين المرافق Coenzyme مما يسبب اختزالا في فعاليته ، اما التاثيرات غير المباشرة للمبيدات فهي اما ان تكون نتيجة التداخل مع سلسلة العمليات المتعاقبة لانتاج مصدر الطاقة ATP التي يحتاجها الانزيم او تثبيط بناء المرافق الانزيمي او المجموعة الفعالة للانزيم Prosthetic group او التاثير في الظروف التي يعمل فيها الانزيم ، فقد اكدت كثير من الدراسات على ان المبيدات الكيميائية المضافة للتربة تحت ظروف مختبرية تؤدي الى نقصان معنوي في اعداد الاحياء المجهرية في التربة وتقلل من فعالية بعض انزيمات التربة كانزيم Phosphatase , Saccharase , β -glucosidase, Urease

وقد ارتبط تأثير المبيدات على انزيمات التربة بنوع التربة والتركيب الكيميائي للمبيد المضاف . الجدول (11-27) يوضح فعالية بعض الانزيمات بعد الاضافات الطويلة لمبيد Atrazine بتركيز 4 كغم . هكتار⁻¹ حيث يتبين ان فعالية كل من الانزيمات Phosphatase , Saccharase , β -glucosidase , Urease انخفضت في التربة الى حوالي 50% او اكثر .

درس تأثير ثلاثة مبيدات حشرية حاوية على الفسفور العضوي وثلاث تراكيز (50 ، 200 ، 1000) جزء بالمليون في تجربة حضان استمرت 60 يوما في تثبيط انزيم الـ Urease وكانت هناك استجابة اولية للمبيدات الثلاث بحوالي 10-20% ، حيث ان التثبيط الحاصل بسبب مبيد Malathion بقي ثابتا الى 45% في بداية الفترة الزمنية وانخفض قليلا ثم ارتفع التثبيط ، اما مبيد Thimet فابدى تثبيط قوي للانزيم بعد الاضافة وتجاوز التثبيط 50% في نهاية المدة الزمنية ، وكان مبيد الـ Accothion الاقل تثبيطا للانزيم حيث لم تصل نسبة التثبيط 40% في نهاية المدة ، ورتبت المبيدات حسب نسبة تثبيطها للانزيم كالآتي

. Thimet > Malathion > Accothion

جدول 11-27 : تأثير مبيد الاترازين على بعض انزيمات التربة .

نشاط الانزيمات (ملغم المنتج لكل 100 غم تربة جافة خلال ثلاث ساعات				الانزيمات
11 شهر بعد اضافة المبيد		اسبوعين بعد اضافة المبيد		
المقارنة	الاترازين	المقارنة	الاترازين	
3.7	15.7	47.7	18.2	Phosphatase
3.85	0.85	3.92	1.00	Saccharase
20.10	2.40	21.2	4.83	β -glucosidase
5.5	2.0	8.2	5.2	Urease

من الانزيمات المهمة في التربة هو انزيم الـ Amidase وهو عامل مساعد للتحلل المائي للمركبات الامايدية الاليفاتية Aliphatic amides والتي تنتج الامونيا وتعد فعاليته مهمة خصوصا عند اضافة الاسمدة النتروجينية ، فقد درس تاثير 12 مبيد ادغال ومبيدين فطريين ومبيدين حشريين على فعالية انزيم الـ Amidase لثلاث ترب مختلفة ووجد ان اغلب المبيدات عملت على تثبيط عمل الانزيم ، وركز على ثلاث مبيدات مثبطة لفعالية هذا الانزيم وهي : Alachlor الحاوي على branched-amide و Butylate الحاوي على Linear-amide و Diazinon لا يحوي على مجموعة الـ amide من خلال قياس تاثير تركيز مادة الاساس (S) Substrate concentration على السرعة الابتدائية (V) Initial velocity لفعالية الانزيم بوجود وعدم وجود المبيد ووجد ان تاثير المبيدات الثلاث بصورة عامة كان كمثبطات غير تنافسية لنشاط الانزيم في التربة وقلت قيمة V_{max} بدون تعديل او تغيير في قيم K_m (جدول 11-28) ، وتبين ان مبيد الـ Butylate له تاثير تنافسي مع نشاط الانزيم لان الاثنان حاويان على Linear-amide ، حيث يجب ان تكون مجموعة الـ amide في النهاية الطرفية للجزيئة لتنافس الانزيم ، اما مبيد الـ Alachlor و Diazinon فسلوكهما كان غير تنافسي لعدم احتوائهما على مجموعة الـ Linear-amide وهذا يعني تاثيرهما على نشاط الانزيم قليل جدا في ظروف ادارة التربة الاعتيادية اي الاضافات بحدود معقولة .

ان الاحياء المجهرية التي تمتلك إنزيم النتروجيناز Nitrogenase المسؤول عن عملية التثبيت الحيوي للنتروجين ، لها القدرة على تثبيت النتروجين ، وعليه فان المبيدات التي تؤثر في اعداد البكتريا المثبتة للنتروجين وفي عملية تثبيت النتروجين كما بينا سابقا قد تؤثر في نشاط انزيم النتروجيناز ، حيث اشارت الدراسات الى حصول تثبيط في فعالية انزيم النتروجيناز عند معاملة نباتات اللوبيا بمبيدات الادغال وكذلك حصول انخفاض في فعالية الانزيم عند معاملة ادغال محصول البازاليا بالمبيدين Terbutlylozine و Prometrgu قبل البزوغ ومبيد Bentazone بعد البزوغ ،

في حين وجدت بعض الدراسات ان المبيدات تحفز نشاط الانزيم او ليس لها تاثير ، فقد لوحظ عند تاثير المبيدات الفطرية Captan و Thiram بتركيز (1.0) غم. كغم⁻¹ بذور ومبيدات الادغال , Diclofop , Trifluralin , Metribuzin , Linuron , Chporamaben بالتراكيز الموصى بها على نشاط انزيم النتروجينيز باستعمال اختزال الاستيلين عدم تاثر فعالية الانزيم بالمبيدات الفطرية ، في حين مبيد الادغال Linuron ثبت معنويا نشاط الانزيم وتحفزت فعالية الانزيم بوجود مبيد Trifluralin. وعند تقييم نشاط انزيم النتروجينيز باستعمال اختبار اختزال الاستيلين في تجربة حقلية استعمل فيها مبيد Methabenz thrazuron بمعدل (175 و 200) غم. هكتار⁻¹ (10 % اقل واعلى من التركيز الموصى به على التوالي) وجد زيادة في فعالية الانزيم مما يعني هذا بان استعمال المبيد بالتركيز تحت القاتل يؤدي الى تحفيز نشاط الانزيم . الجدول 11-29 : يبين ملخص للدراسات حول تاثير المبيدات على الفعاليات الكيميائية الحيوية في التربة . وتأثير المبيدات على الأنزيمات المختلفة بالتربة موضح بالجدول 11-30 .

جدول 11-28: تاثير بعض المبيدات على قيم K_m و V_{max} في التربة .

				المبيدات
$V_{\max}^*$	K_m mM	$V_{\max}$	K_m mM	
456	17.5	365	17.2	Alachlor
404	17.1	316	17.5	Butylate
423	17.5	337	17.6	Diazinon

* مايكروغرام NH_4-N المحررة . غم⁻¹ تربة . 2 ساعة⁻¹ باستعمال الـ Formamide كمادة اساس .

جدول 11-29: تأثير المبيدات على الفعاليات الكيميائية الحيوية في التربة (مأخوذ من Sarfraz Hussain وآخرون ، 2009) .

المبيدات	الفعاليات الكيميائية الحيوية	التأثير	المصدر
BHC, fenvalerate	C-mineralization	Increased	Murthy وآخرون ، (1991)
Organophosphates	N-mineralization	Total soil N decreased	Sato ، (1983)
Bensulfuron methyl, metsulfuron methyl	N-mineralization	Reduced	El-Ghamry وآخرون ، (2001)
Ridomil gold plus copper	N- and organic P-mineralization; ammonification	Increased	Demanou وآخرون ، (2004)
DDT, pentachlorophenol (blue), 2,4-D, 2,4,5-T	Nitrogen fixation	Herbicides inhibited nod-expression by 32–90% by disrupting plant–Rhizobium signaling	Fox وآخرون ، (2001)؛ Mclachlan (2001)
Carbendazin , imazetapir, thiram	Nitrogen fixation	Inhibited nodulation	Niewiadomska ، (2004)
Butachlor	Nitrogen fixation, nitrification	Increased in the beginning but reduced afterwards in paddy soil	Min وآخرون ، (2001)
Mancozeb, prosulfuron , chlorothalonil ,metal dithiocarbamates	Nitrification	Nitrification was inhibited by the pesticides	Arora وآخرون ، (2003) Kinney؛ وآخرون ، (2005)
Pentachlorophenol	Nitrification	Reduction in nitrification rates	Colores و Schmidt، (2005)
Fungicides	Nitrification	All of the 28 fungicides used inhibited nitrification of urea	Martens و Bremner (1993)

Monkiedje (2002) ، واخرون	Increased nitrification and ammonification but higher rates significantly decreased these processes	Nitrification, ammonification	Metalaxyl, mefenoxam
Menon واخرون ، (2004)	Inhibited	Arginine ammonification	Chlorpyrifos , quinalphos
Svensson و Leonardsson (1992)	Inhibition of denitrification occurred	Denitrification	Fenpropimorph
Kinney واخرون (2004) ،	Stimulated N ₂ O emission and CH ₄ consumption	N ₂ O, CH ₄	Prosulfuron , metachlor
Yao واخرون ، (2006)	Reduced respiration	Respiration	Acetamiprid

جدول 11-30 : تأثير المبيدات على الأنزيمات المختلفة بالتربة (مأخوذة من Sarfraz Hussain واخرون ، 2009) .

المصدر	التأثير	أنزيم التربة	المبيدات المضافة
Klose و Ajwa (2004) ؛ Schutter واخرون (2001) ،	Fumigants reduced the activities of enzymes by 76% and 28% for b- glucosidase and arylsulfatase , respectively	β- glucosidase, arylsulfatase	Methyl bromide, chloropicrin, propargyl bromide, Midas, InLine
Sukul ، (2006)	Activities of enzymes initially increased and then decreased	β- glucosidase, arylsulfatase	Metalaxyl
Arinze و Yubedee (2000) ،	Inhibited cellulase activity in <i>Fusarium</i> moniliforme	Cellulase	Benlate, calixin , captan
Ismail واخرون (2000) ،	Herbicide caused a significant reduction in	Invertase, amylase,	Metsulfuron methyl

	enzymes activities for the entire period of study (28days) in loamy sand and clay soils	xylanase	
(1995) ، Tu	Insecticides inhibited activity of this enzyme for 1week	Amylase	Imidachlor,cyfluthrin, tebupirimphos,Aztec, Amitraz
، واخرون Nowak (2004)	An increase in urease was observed in sand and loam soils	Urease	Isoproturon
(2006) ، Sukul	Urease activity continuously decreased while phosphatase activity initially increased and then decreased	Urease, phosphatase	Metalaxyl
(1995) ، Tu	Insecticides inhibited activities of these enzymes for 1week	Urease, phosphatase	Imidachlor,cyfluthrin, tebupirimphos,Aztec , Amitraz
(1981) ، Tu	Inhibited	Phosphatase	2,4-D, Nitrapyrin
واخرون Qian (2007) ،	Validamycin affected soil enzyme but recovered soon	Phosphatase and urease	Validamycin
، Niewiadomska ؛ (2004) و Niewiadomska (2005) ، Klama	Pesticides reduced nitrogenase activity in <i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. trifolii, <i>Sinorhizobium meliloti</i> , and <i>Bradyrhizobium</i> sp. in pot and field conditions	Nitrogenase	Carbendazim, imazetapir, thiram
Hammouda (1999) ،	Nitrogenase activity of <i>Anabaena doliolum</i> was	Nitrogenase	Carbofuran

Khan وآخرون ، (2006)	reduced by 38% after 48h Pre-emergent application of herbicides adversely affected nitrogenase activity and consequently nodule number and weight	Nitrogenase	Methabenzthiazuron, terbutryn, and linuron
Nweke وآخرون (2007)،	Herbicides stimulated dehydrogenase activity of the microbial community at lower and inhibited it at higher concentrations	Nitrogenase	Atrazine and Northrin
Kumar و Singh (2008)،	Nitrate reductase (41%) and arginine deaminase (22%) activities were declined at 43days	Soil enzyme	Acetamiprid

تقانة التحلل الحيوي للمبيدات الكيميائية

ان تحليل المبيدات من المواضيع المهمة لان تقدير الكميات الضئيلة من المبيدات وخاصة في المنتجات الزراعية وتشخيص نواتج تحللها في الكائنات الحية ومتابعة بقاياها في اجزاء المحيط الحيوي ذات اتصال مباشر بصحة الانسان وسلامة البيئة، فضلاً عن تشخيص نواتج التمثيل الحيوي metabolism للمبيدات داخل انسجة الكائنات الحية، و تشخيص المبيد في أثناء عملية الانتاج ، حيث ان المبيدات معرضة للتحلل من قبل احياء التربة المجهرية ومعظمها من البكتريا والفطريات والاكثينومايسيتات ، وان هذه الاحياء لها القابلية على تغيير جزيئات المبيد وتحويلها الى جزيئات غير فعالة ، وهناك عدة عوامل تحدد سرعة اختفاء المبيدات من التربة بتأثير النشاط الميكروبي منها :

1- التركيب الكيميائي للمبيد.

2- درجة ادمصاص المبيد من قبل غرويات التربة.

3- تهوية التربة .

4-pH التربة.

5- طبيعة نمو الاحياء المجهرية في التربة ، فقد اشارت الدراسات الى ان تحلل المبيدات في التربة يتاثر بسرعة نمو احياء التربة المجهرية ، حيث ان الاحياء السريعة اكثر قدرة على تحليل المبيدات من الاحياء البطيئة النمو، حيث وجد ان انواع من جنس بكتريا الرايزوبيوم وهي (*R.molilote* , *R.trifalii* , *R.loguminosarum* , *R.phaseol*) اظهرت مقاومة لمبيد (DNOC) بتركيز 250 جزء بالمليون أعلى من مقاومة الانواع (*R. japonicum* , *R. lupinil* , *Cowpea spp*) للمبيد بتركيز 25 جزء بالمليون وعزي ذلك الى تفوق سرعة النمو في الانواع الاولى .

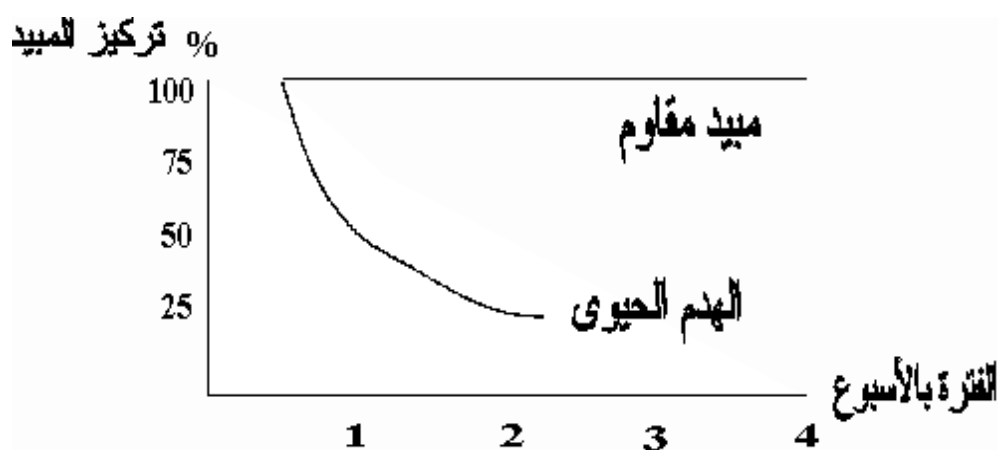
ان عملية التحلل تعتمد على انتاج الانزيمات من قبل الاحياء، حيث ان هناك انواعا عديدة من احياء التربة المجهرية لها القدرة على افراز الانزيمات المحللة والقيام بعملية التحلل حتى وان كانت اعدادها قليلة جدا، كذلك تمتلك الاحياء المجهرية انظمة انزيمية فعالة في تحليل المبيدات بعمليات كيموحيوية كالاكسدة والاختزال والتحلل وازلة المجاميع الاكليلية وازالة المجاميع الهالوجينية وازافة مجاميع هيدروكسيلية وكسر الحلقات. ان الاحياء المجهرية تستفيد من تحلل المبيدات باستعمالها كمصدر للكربون والطاقة ، حيث اوضحت العديد من الدراسات بان للاحياء المجهرية القدرة على تحليل المبيدات وتمثيلها غذائيا ، ومنها الاجناس *Mycoplana* ، *Bacillus spp* ، *Arthrobacter spp* ، *Pseudomonas spp* ، *Flavabacterium spp* ، *Npcardia spp* ، *Agrobacterium spp* ، *spp* ، *Trichoderma spp* ، *Actinomycetes spp* ، *Corynebacterium spp* .

فقد اختبرت قابلية بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* على تحليل مبيد الادغال الكلايفوسيت حيث استطاعت تحليل المبيد في التربة لاستعماله مصدراً للطاقة، وباستخدام تقنية HPLC و FTIR جرى الكشف عن ناتج التحلل وهو (Glycine) وعند تتبع حركات تحليل المبيد في الجدول (11-31) يتضح لنا انخفاض كمية المبيد المتحلل خلال المدد الزمنية للتخصيب ، حيث ان تركيز المبيد الباقي انخفض في المحلول. وان كمية المبيد المتحلل في المدة الزمنية الاولى من التخصيب كانت اكبر مقارنة بالمدد الاخرى ، وفسر سبب سرعة التحلل العالية الى نشاط العزلة البكتيرية المحلية *P. aeruginosa*، وزيادة اعداد خلاياها الامر الذي تطلب توافر مصدر للطاقة المتمثل بمبيد الكلايفوسيت، وايضا تبين ان النسبة المئوية لتحلل مبيد الكلايفوسيت اختلفت باختلاف نسجة التربة ، حيث ان التربة الناعمة كانت ذات نسبة تحليل منخفضة (67.64) مقارنة بالتربة المتوسطة والخشنة النسجة (75.76 و 85.41) ، وهذا قد يرجع إلى احتواء التربة الطينية على كمية من الطين والمادة العضوية اكبر من الترب الاخرى ، حيث ان زيادة كمية الطين والمادة العضوية سوف تزيد من امتزاز المبيد وبالتالي تقل جاهزيته للنشاط البكتيري مما يسبب انخفاضاً في كمية المبيد المتحللة.

جدول 11- 31: حركات تحليل مبيد الكلايفوسيت احيائياً بواسطة بكتريا *P. aeruginosa* (السعدي ، 2009)

نوع التربة	تركيز المبيد ملغرام لتر ⁻¹		تركيز المبيد بمدد التحضين ملغرام لتر ⁻¹					النسبة المئوية للمبيد المتحلل
	الممتز لعينة المقارنة	التركيز المتحلل لعينة التربة	الزمن (يوم)					
			3	6	9	12	15	
الناعمة	5.35	11.50	4.81	2.90	2.00	1.11	0.68	67.64
المتوسطة	3.98	12.88	5.50	3.23	2.24	1.19	0.72	75.76
الخشنة	2.38	14.52	6.30	3.65	2.33	1.40	0.84	85.41

ان المبيدات تستغرق وقتا طويلا لكي تتحلل إلى مركبات ابسط غير خطرة، وبعضها يحتاج إلى عشرات السنين كي تتحلل تبعا لمكوناتها وهذا يعتمد على مقدرة الأحياء المجهرية على تحلل هذه المبيدات و عمر النصف لكل مبيد . والشكل (6-11) يوضح الفرق بين مدى الهدم الحيوي لمركبين أحدهما سهل والآخر صعب التحلل ، فالمركبات الفسفورية تتأكسد بسرعة فاقدة محتواها السمي ، أما المركبات الهيدروكلورينية تبقى لفترة زمنية أطول قد تصل إلى عدة أسابيع أو إلى عدة سنين، وتعتمد هذه المركبات في مقاومتها على ذرات الكلور فزيادة ذرة واحدة تؤدي إلى زيادة الوقت اللازم لهدمها في التربة فمثلاً ينتهي مفعول مبيد الأدغال 2,4-D خلال أربعة أسابيع في حين أن زيادة ذرة من الكلور تؤخر نهاية مركب 2,4-D إلى 30 أسبوع . كما ان تحلل المبيد يعتمد على تركيبه الكيميائي فارتباط الحامض الدهني بحلقة البنزين في مبيدات مجموعة Phenoxy alkanoic acid تؤثر كثيرا في سرعة تحللها من قبل احياء التربة .

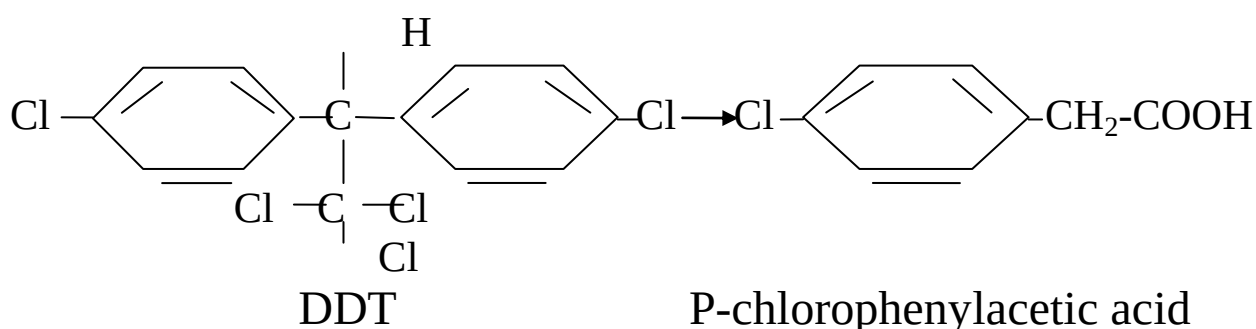


شكل 6-11 : يوضح هدم المبيدات الحشرية في التربة

1- دور البكتيريا في التحلل الحيوي

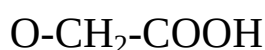
تقسم البكتيريا التي تستطيع تحليل المبيدات الى مجموعتين :

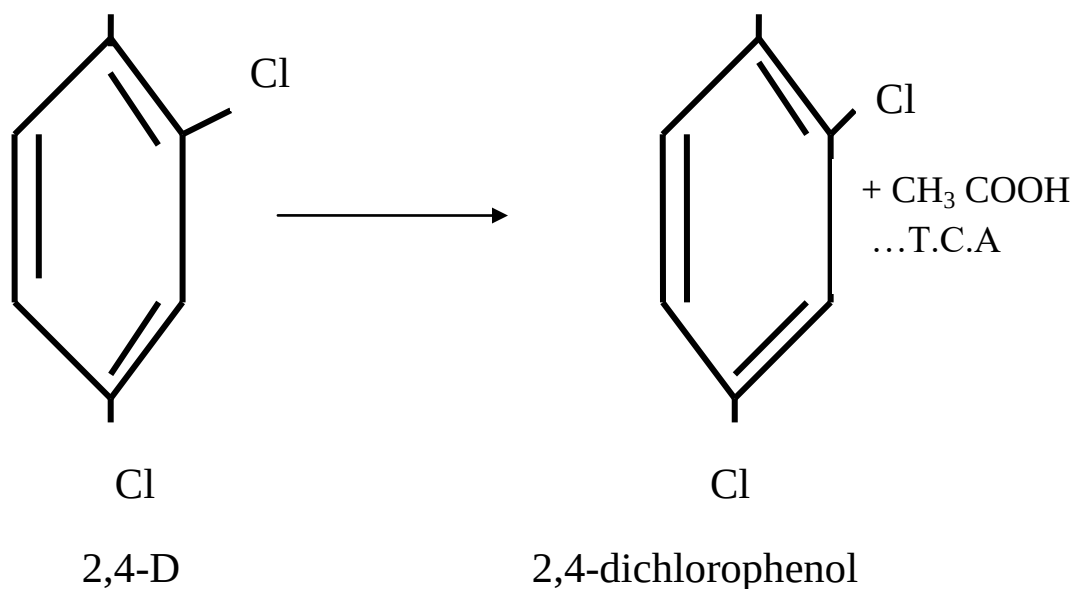
المجموعة الاولى: تعمل على تحليل المبيد دون استعماله مصدرا للكربون والطاقة الايضية المرافقة Cometabolism او الاكسدة المرافقة Cooxidation ، فوجد ان مبيدات الادغال (2, 4 – D ، 2, 3-6- TBA ، 2 – T ، 4 , 5 – T) يمكن ان تتحول الى 3,5 dichlorocatechol من دون استعمالها كمصدر للكربون والطاقة من قبل الكائن الحي ، وكذلك هناك بكتيريا تابعة للاجناس *Hydrogenomonas* و *Aerobacter* وخصوصا النوع *A.aerogenes* قادرة على تحليل المبيد الحشري DDT الى P-chlorophenylacetic acid من دون استعماله كمصدر غذائي (قاسم وعلي ، 1989).



المجموعة الثانية: تستعمل المبيدات مصدرا للكربون والطاقة والنيتروجين والكبريت احيانا وذلك من خلال آليات مختلفة منها:

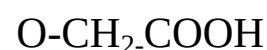
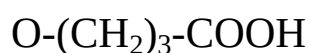
1- مقدرتها على تغيير جزيئات المبيد الفعالة (السامة) الى جزيئات غير فعالة (غير سامة) وتسمى هذه الحالة بازالة السمية (detoxification) كتحويل الـ (2, 4- D) بفعل الجنس *Arthrobacter spp* الى 2, 4 – dichlorophenol :

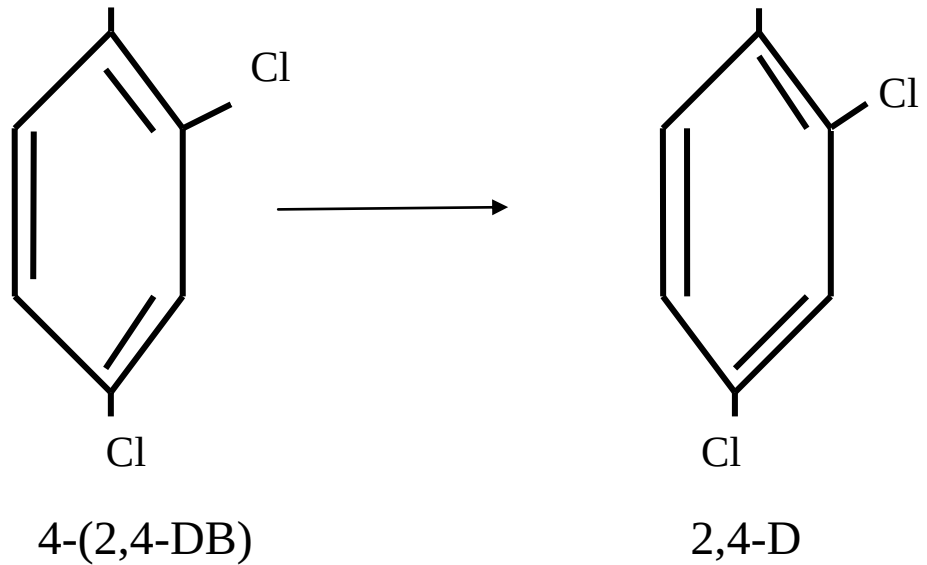




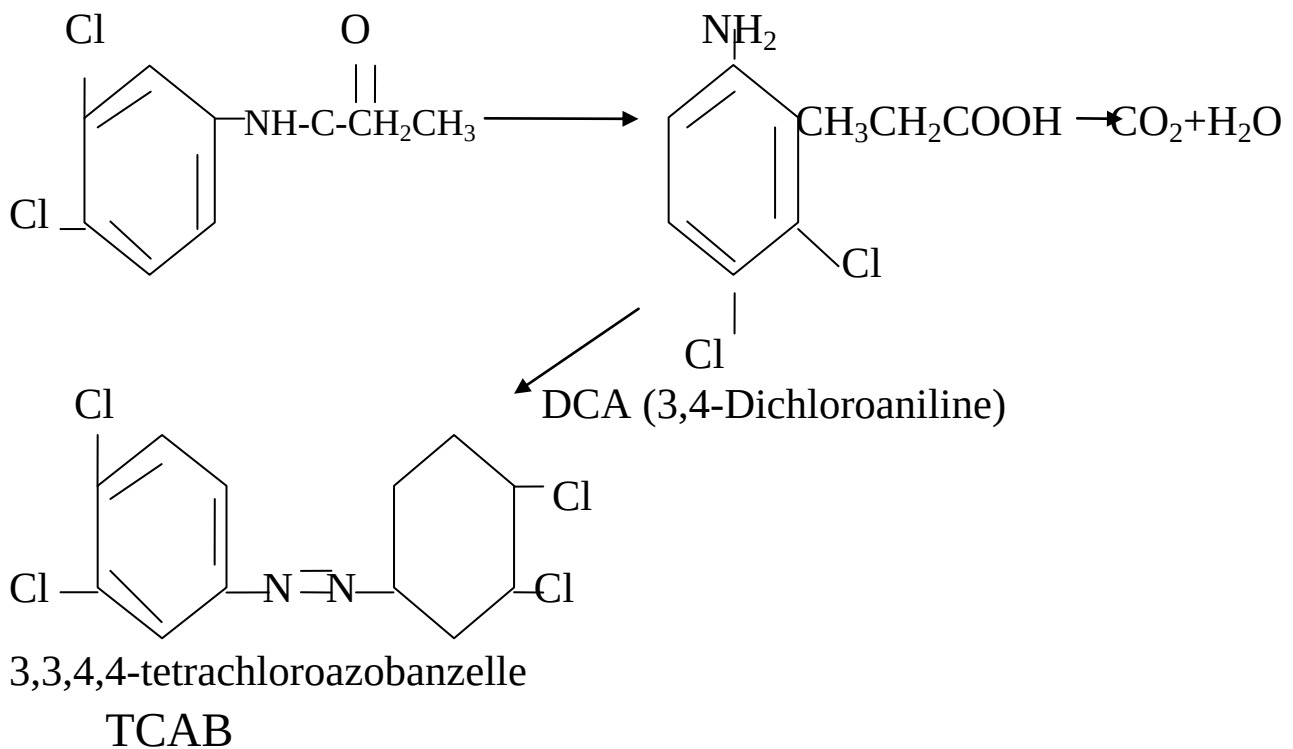
وكذلك تحليل مبيد الادغال 2,4-D بواسطة بكتريا *Azotobacter chroococcum* وانتاج المركبات P.chlorophenol و P.chlorophenoity aciticaciol حيث استعملتها البكتريا كمصدر للكربون ، ووجد ان بكتريا الـ *Rhizobium* لها امكانية تحلل مبيد Atrazine وتحويله الى hydroxyatrazine غير السام .

2- بعض البكتريا لها المقدرة على تحويل بعض المبيدات غير الفعالة (غير سامة) الى اخرى فعالة (مبيد سام) وهذه العملية تسمى بالتنشيط Activation كتحويل مبيد الادغال قليل السمية 4-(2,4-DB) الى مبيد ادغال اكثر سمية (2 ,4- D) .

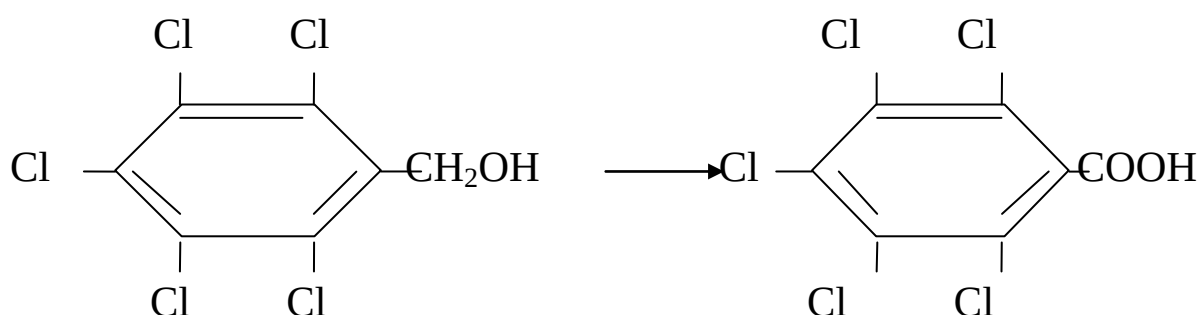




3- تعقيد المبيد Conjugation: تستطيع بعض انواع البكتريا من جعل المادة اكثر تعقيدا او تعمل على اتحاد المبيد بأحد نواتج التمثيل الغذائي وبهذا يتحول المبيد من الحالة السامة الى غير سامة كتحويل مبيد الـ (propanil) في التربة الى مركبات اكثر تعقيد ابوساطة بكتريا (*Arthrobacter* spp; *Achromobacter* spp) حيث ينتج عنه تكوين المركب DCA وان كل جزيئتين من هذا المركب تتكثف لتعطي جزيئا واحد ا من المركب TCAB وكما يلي :



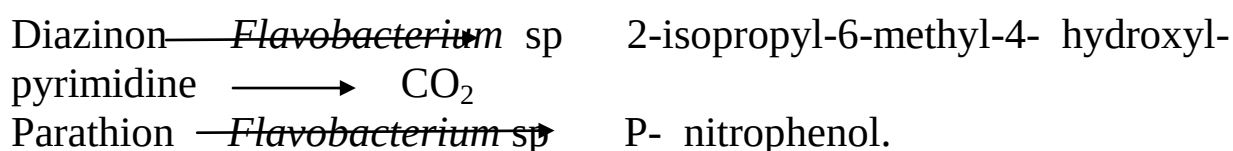
4- تحويل مجال السمية : تقوم بعض الاحياء المجهرية بتحويل مبيد معين يستعمل ضد نوع معين من الاحياء الى نوع اخر يقتل انواع اخرى تختلف عنها كتحويل المبيد الفطري Pentachlorobenzyl alcohol الى مبيد Pentachlorobenzoic acid الذي يؤدي الى موت النباتات .



Pentachlorobenzyl alcohol

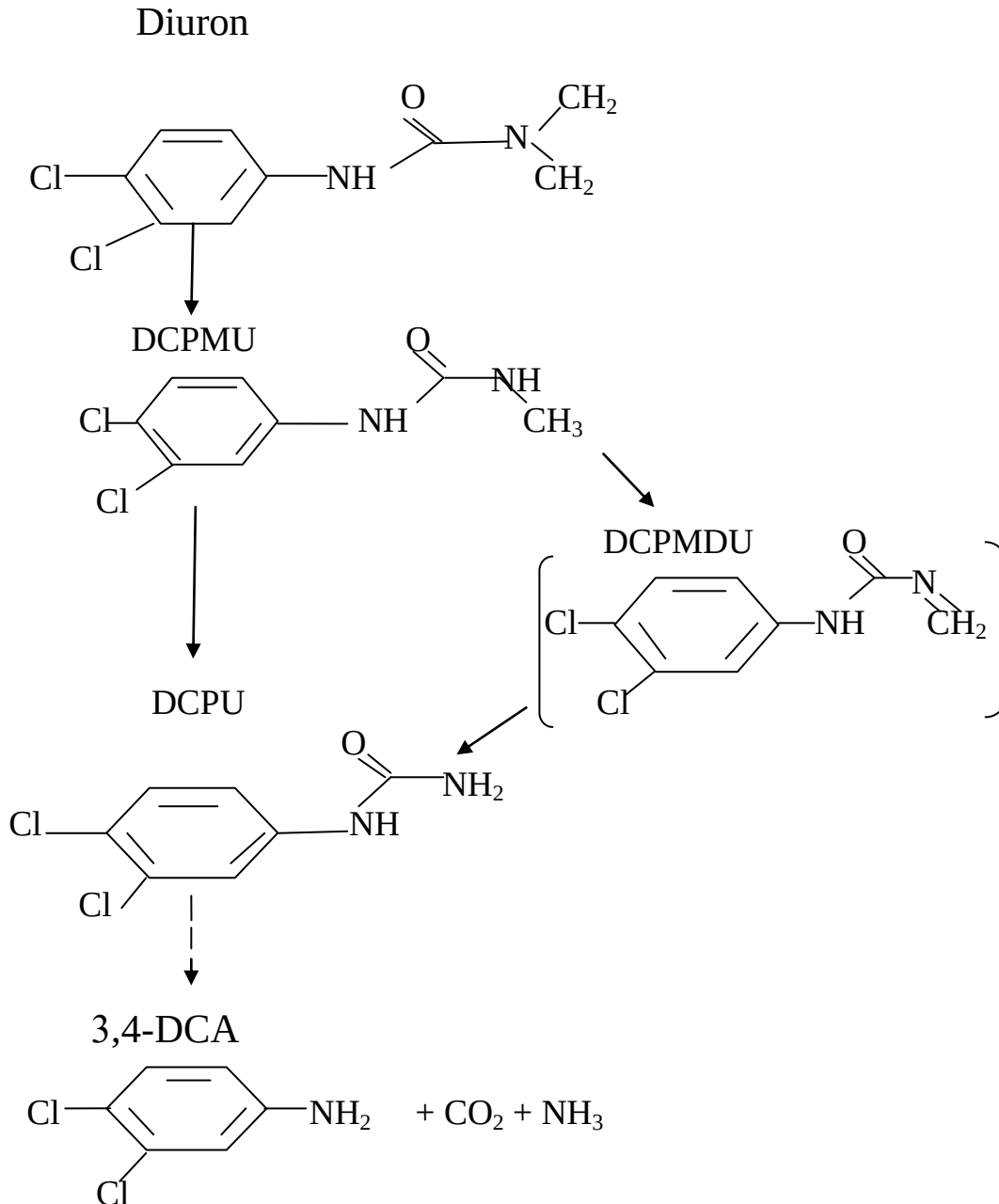
Pentachlorobenzoic acid

5- التحلل Biodegradation: وفيه تتحول المادة الكيميائية المعقدة الى نواتج بسيطة ، اذ تقوم اجناس معينة من البكتريا بتحليل المبيدات الى (CO_2 , H_2O) والعناصر المعدنية المكونة لها وقسم من الكربون المكون للمبيد لاستعماله في بناء خلايا جديدة (الراشدي، 1987) . فقد وجد ان بكتريا *Pseudomonas* spp تستطيع تحلل مبيد الادغال 2,4- dichlorophenol الى (CO_2 , Cl^{-1}) (Alexander ، 1977). اما بكتريا *Achromobacter* spp فلها المقدرة على تحليل مبيد الادغال (2,4-D) الى CO_2 وماء و Cl^{-1} وتستطيع بكتريا *Flavobacterium* spp من تحلل مبيد الادغال (2,4-DB) الى ماء و CO_2 . وبين Sethunathan و Yoshida (2017) ان بكتريا *Flavobacterium* sp استطاعت تحليل مبيد diazinon و parathion وكلاتي :

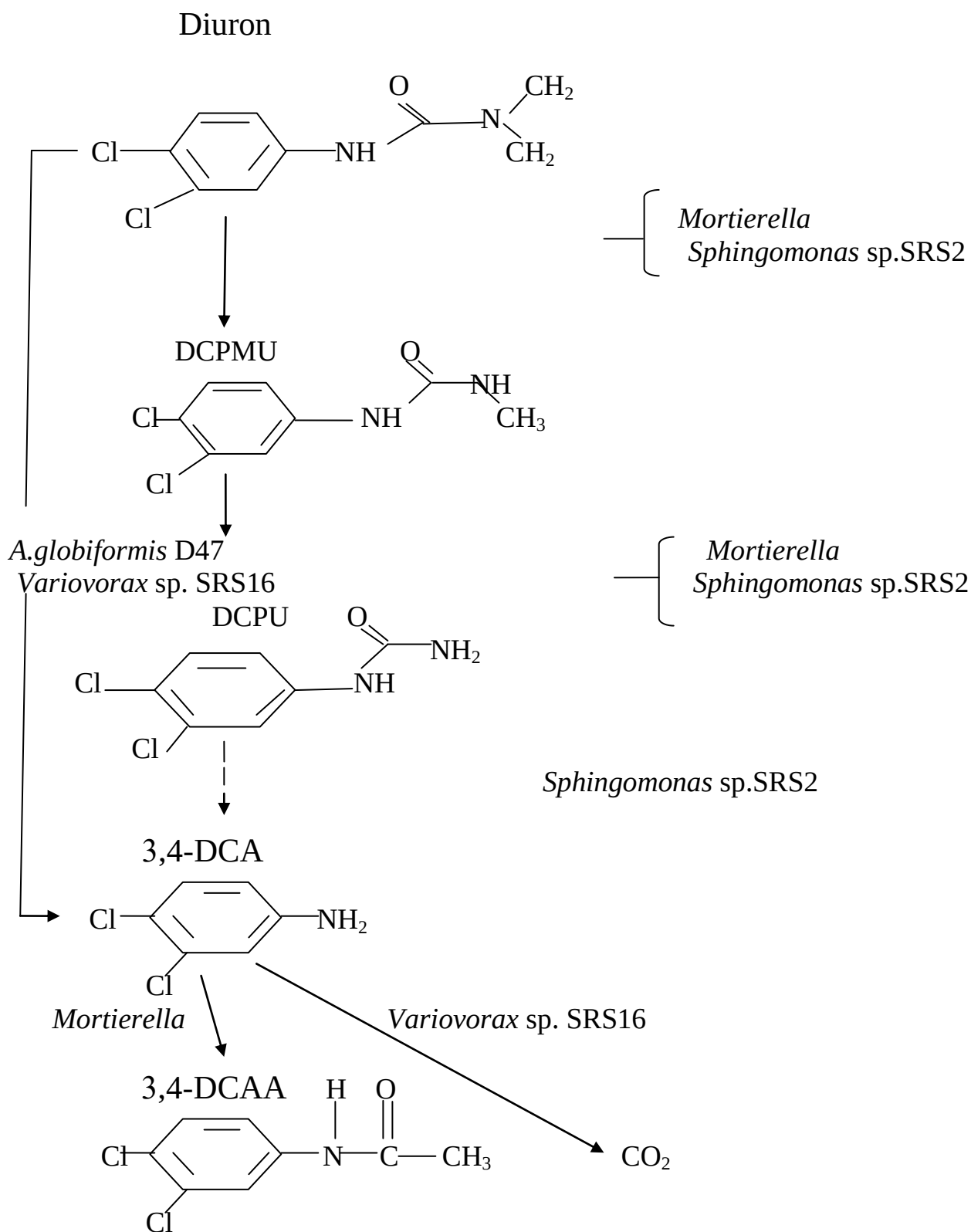


بعض الامثلة على تحلل المبيدات في التربة

1- هناك بعض اجناس من البكتريا مثل *Bacillus spp*, *Pseudomonas spp* لها القابلية على تحلل مبيدات الادغال المشتقة من اليوريا كمبيد (diuron) الى CO_2 وamonيا.

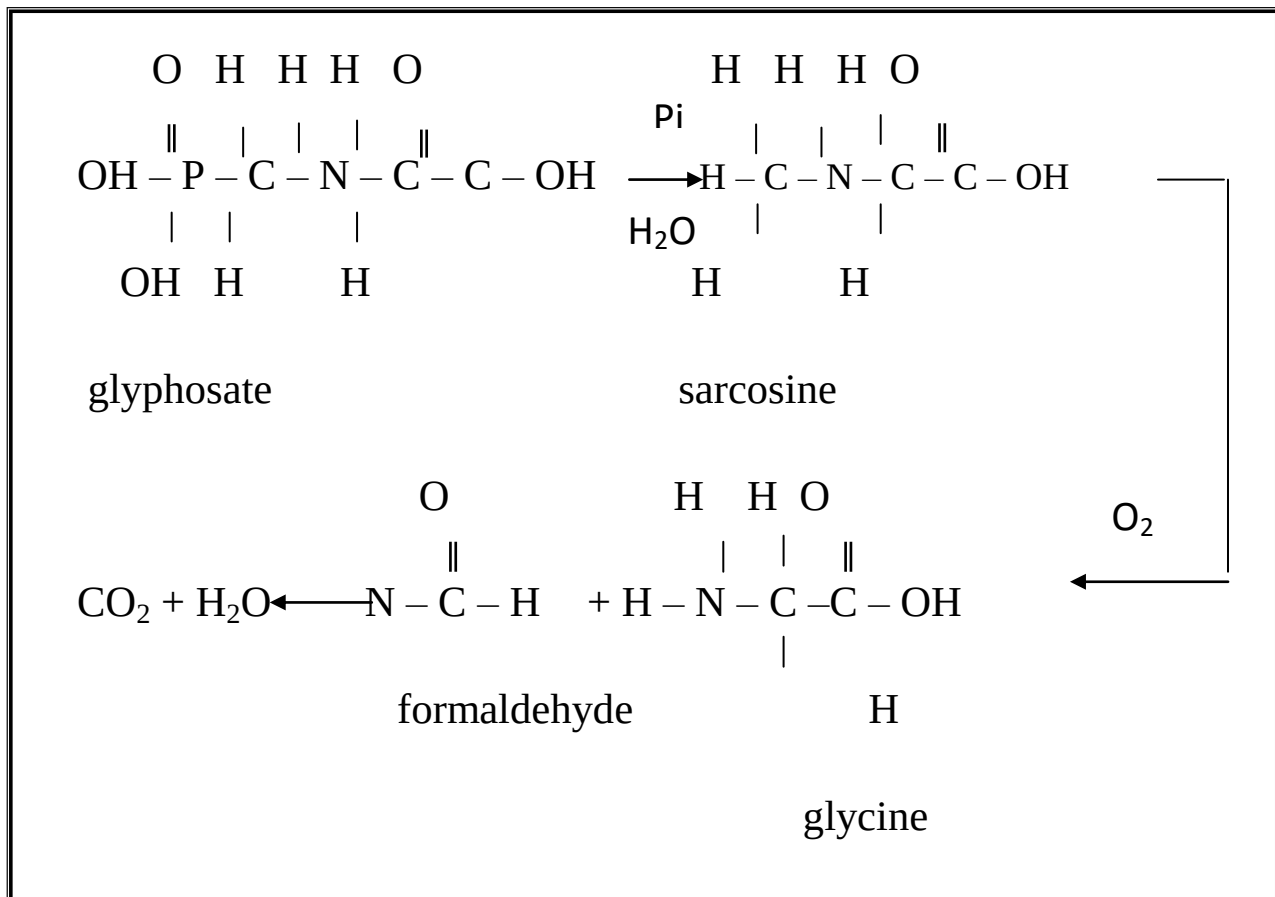


وفي ادناه مسار تحلل مبيد الـ Diuron بواسطة احياء مجهرية مختلفة كما بينه Lea و Ellegaard-Jensen ، (2012) .

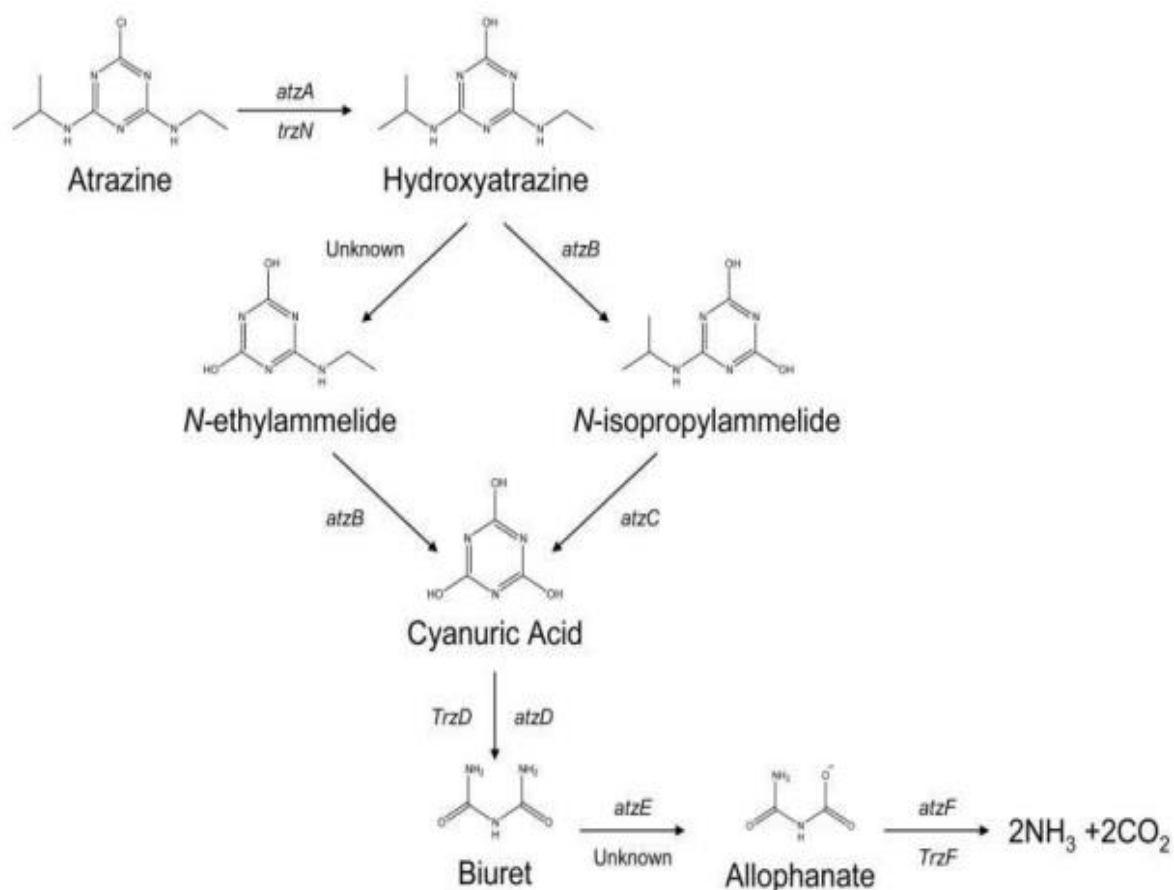


2- تستطيع بكتريا *PG2982 Pseudomonas* spp من كسر الاصرة بين الكربون والفسفور لمبيد الكلايفوسيت، حيث ينتج عن ذلك تحرر مجموعة الفوسفيت وجزئية الساركوزين (Sarcosine) بوجود انزيم Sarcosine oxidizing، وفي

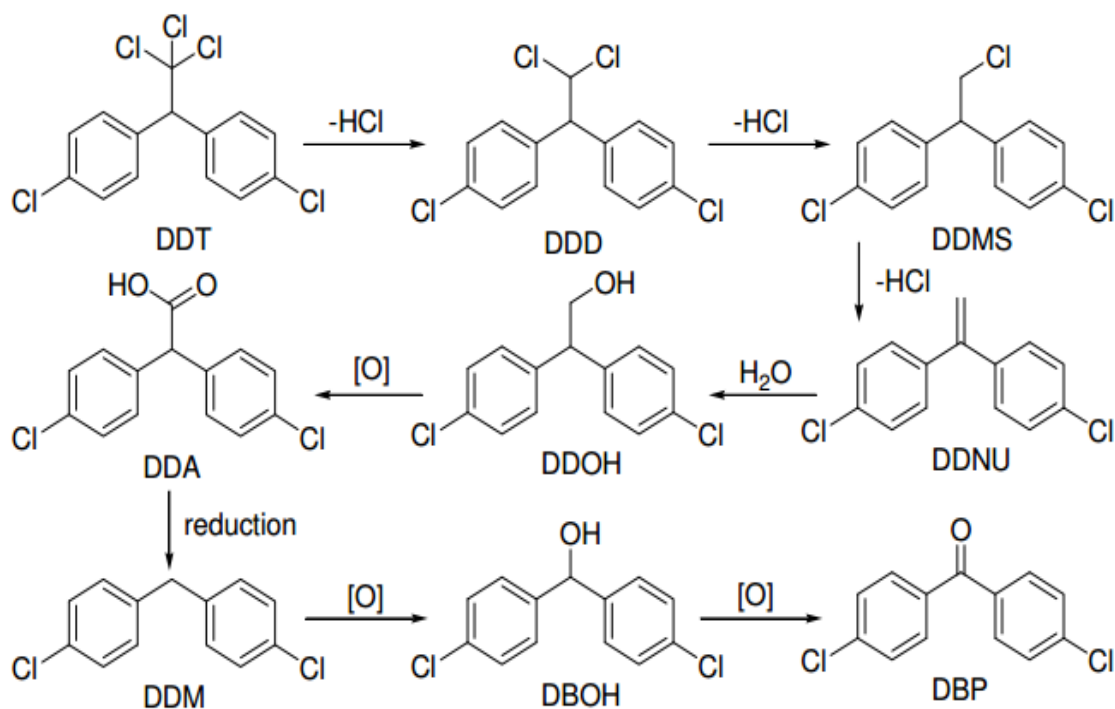
هذه البكتريا يجري تحول المبيد إلى sarcosine ومن ثم إلى glycine والفورمالديهايد، وان 50% تقريباً من الفورمالديهايد تدخل في بعض التفاعلات في حين الـ 50% الأخرى تتأكسد إلى غاز CO₂ . و إن تحليل مبيد الكلايفوسيت هو التحول المباشر إلى glycine ومن ثم يتحول بواسطة بكتريا *Pseudomonas spp* PG2982 إلى بروتين وحامض نووي، واكد ان كسر الاصرة C-P قبل او بعد تكوين glycine وتحرر الفسفور يتم بفعل الأحياء الدقيقة ، وبين في دراسته معلومات عن المسار التحليلي لمبيد الكلايفوسيت عن طريق كسر الاصرة C-P كخطوة اولى وكما موضح في ادناه :



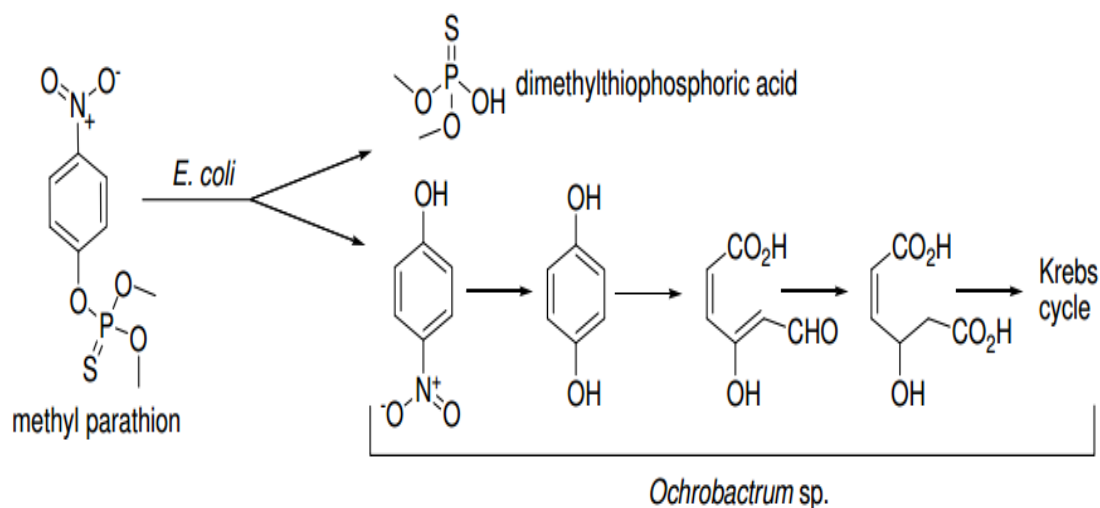
3- يتضمن المسار الايضي البكتيري لمبيد الاترازين Atrazine تحليل المبيد الى Biuret و CO₂ و NH₃ . (Krutz واخرون ، 2008) .



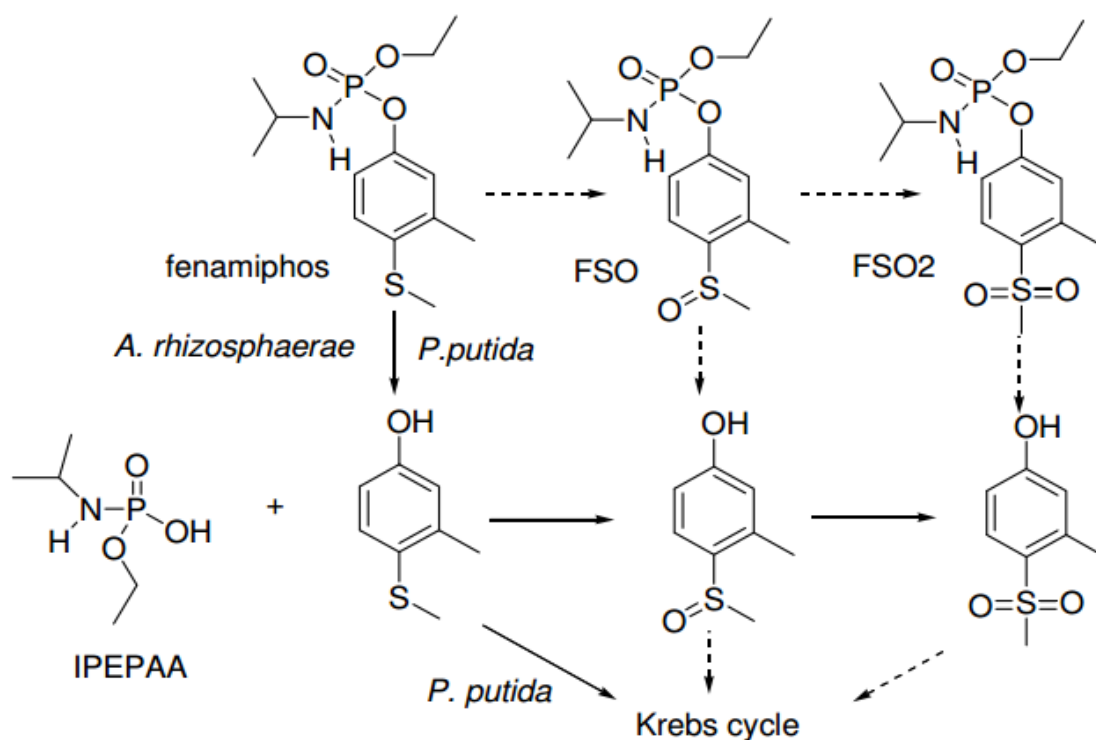
4- المسار المقترح للايض البكتيري لمبيد الـ DDT (Aislabie وآخرون، 1997).



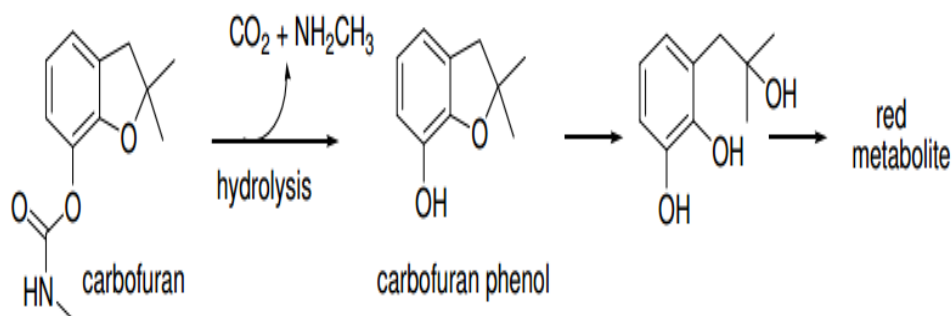
5- المسار المقترح للتحلل الحيوي لمبيد methyl parathion (MP) حيث يتحلل المبيد الى PNP و dimethylthiophosphoric acid ويتحلل PNP الى hydroquinone (Zhang وآخرون، 2008) .



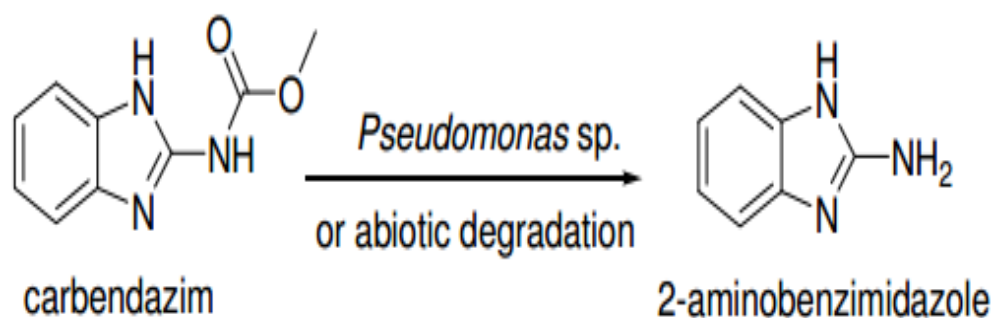
6- المسار الايضى لمبيد Fenamiphos (FEN) بواسطة عزلات من البكتريا حيث يتحلل الى sulfoxide (FSO) ثم الى sulfone (FSO₂) (Chanika وآخرون، 2011) .



7- التحلل الحيوي لمبيد carbofuran بواسطة *Sphingomonas* sp. حيث يتحلل اولا الى carbofuran phenol (Kim واخرون، 2004) .



8- التحلل الحيوي لمبيد carbendazim بواسطة *Pseudomonas* sp حيث يتحلل الى 2-aminobenzimidazole بواسطة عزلات من بكتريا *Pseudomonas* sp .

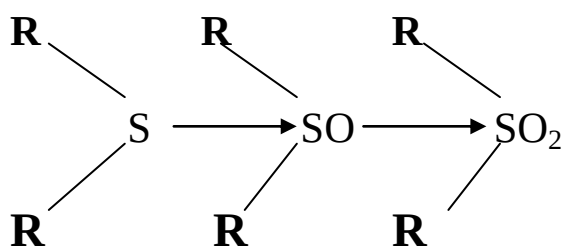


وفي ادناه التفاعلات التي تتم كخطوات اولية اثناء التمثيل الغذائي للمبيدات وقد تشترك انواع عديدة من التفاعلات في مهاجمة مبيد معين من المبيدات في التربة :

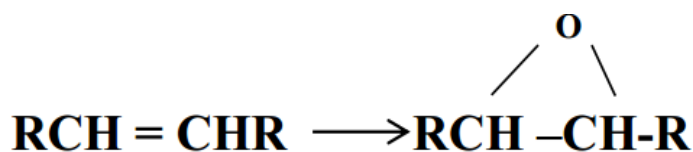
1- اضافة مجموعة هيدروكسيل (OH) $RCH_3 \longrightarrow RCH_2OH$

2- اكدسة مجموعة الامين الموجودة في تركيب بعض المبيدات $RNH_2 \longrightarrow RNO_2$

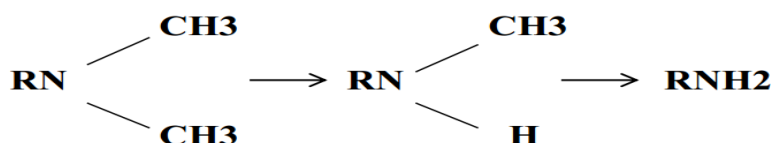
3- اكدسة الكبريت الموجود في تركيب بعض المبيدات .



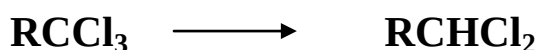
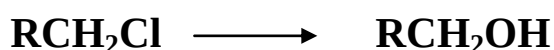
4- إضافة ذرة اوكسجين لرابطة مزدوجة ينتج عن ذلك مركب يسمى ايبوكسايد المقاوم لفعل الاحياء مدة طويلة.



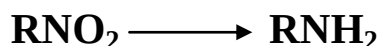
5- ازالة مجموعة مثيل



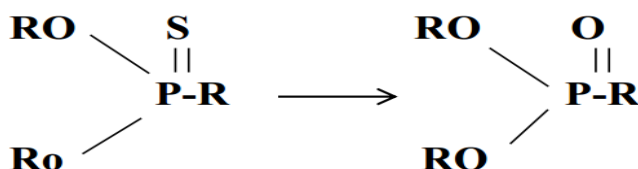
6- ازالة ذرة كلور او غيرها من الهالوجينات الموجودة في العديد من المبيدات.



7- اختزال مجموعة النترت



8- استبدال ذرة الكبريت بالأوكسجين

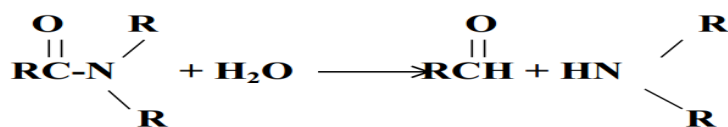


9- تحرك ذرة الكلور من موقع اتصالها في ذرة الكربون الى اخرى في التركيب الحلقي لبعض المبيدات عند اضافة مجموعة البيدروكسيل .

10- ازالة رابطة الايثر:



11- التحلل المائي وتكسير الجزئ عند اضافة الماء وتعرض بعض المبيدات لانواع مختلفة من تفاعلات التحلل المائي .



12- كسر الحلقة : ان هذا التفاعل مهم في الانحلال الحيوي الكامل لمبيدات الادغال والمبيدات الحشرية اذ تنتج بعد ذلك بعض المركبات التي تستخدم مصدر للكربون والطاقة في عمليات التخليق الحيوي.

وعموما يمكن ان نبين المبيدات التي تحللها بعض الاجناس البكتيرية ونواتج التحلل في الجدول (33-11، 32-11) .

جدول 32-11 : المبيدات والاجناس البكتيرية التي تحللها .

المبيدات التي تحللها	الاجناس البكتيرية
TCA , Monuron , 2,4-D , PCP, diquat, Dalapon, propanil ,atrazine glyphosate, malathion parathion Oxamyl Ridomil Gold , Aster , Paalas	<i>Pseudomonas</i> spp <i>P.melophthara</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Pseudomonas flourecens</i>
Dalapon	<i>Bacillus</i> spp
Dizeanin , Dalapon , TCA, DNOC, Propanil, DDT ,	<i>Arthrobacter</i> spp
MCPA , dalapon	<i>Agrobacterium</i> spp
Pendimathlin	<i>Azotobacter chroococcum</i>
2,4,5-T , 2,4-D ,2,4-DB Dalapon ,	<i>Flavobacterium</i> spp
Dalapon , propanil	<i>Acromobacter</i> spp
Diuron , monuron	<i>Sarcina</i>
Diuron , monuron , propanil	<i>Xanthomonas</i>
Glyphosate	<i>Alcaligenes</i> spp
Glyphosate	<i>E. coli</i>
DNOC	<i>Corynebacterium</i> spp

جدول 11-33 : نواتج تحليل المبيدات بواسطة بعض الانواع والاجناس البكتيرية .

الاجناس البكتيرية والفطرية	المبيدات التي تحللها	نواتج التحلل
<i>Pseudomonas</i> spp	Paraguant	Biuret , CO ₂ , H ₂ O
	Monuron	CO ₂ , NH ₃
	Diuron	
	2,4-Dichlorophenol	CO ₂ , Cl ⁻
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Glyphosate propanil	Glycine DCA(3,4-dichloroaniline)
<i>Bacillus</i> spp	Monuron , diuron DDT	CO ₂ , NH ₃ DDD
	parathion	Amino parathion
<i>Arthrobacter</i> spp	2,4-D 2,4,5-T	2,4- diclorophenol 3-5-Dichlorocatechol
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	Atrazine	CO ₂
<i>Azotobacter chroococcum</i>	2,4-D	P.chlorophenol P.chlorophenolty acitic acid
<i>Rhizobium</i> spp	Atrazine	Hydroxyl atrazine
<i>Acromobacter</i> spp	2,4-D 2,4,5-T	CO ₂ , Cl ⁻ ,H ₂ O 3-5-Dichlorocatechol
<i>Nocardia</i>	P- nitrobenzoic acid	Succinic acid
<i>Flavobacterium</i> spp	4-(2,4-DB)	2,4- Dichlorophenol
<i>Hydrogenomonas</i> <i>Aerobacter aerogenes</i>	DDT	P.chlorophenolty acitic acid
<i>Klebsiella</i> sp	propanil	DCA(3,4-dichloroaniline)

**جدول 11-34: ملخص الدراسات حول المبيدات والاحياء المجهرية التي تحليلها (من
Alok Baradwaj ، 2011 ، André Luiz Meleiro Porto
واخرون ، 2016).**

المبيدات	الاحياء المحللة	المصدر
PCP	<i>Arthrobacter</i> sp. <i>Flavobacterium</i> sp.	Finns و Stanlake (1982)، Mohn و Crawford (1985)
1,4-Dichlorobenzene	<i>Pseudomonas</i> sp.	Nishino و Spain (1987)
DDT	<i>Aerobacter aerogenes</i> <i>Trichoderma viridae</i> <i>Pseudomonas</i> sp <i>Micrococcus</i> sp. <i>Arthrobacter</i> sp. <i>Bacillus</i> sp <i>Pseudomonas</i> sp.	Wedemeyer (1966)، Patiil واخرون (1970)
Lindane	<i>Streptomyces</i> sp. <i>Bacillus</i>	Ninnekar و Kamanavalli (2005)، Benimeli واخرون (2008)، Mervat (2009)
DDE	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Bumpus واخرون (1993)
DDD	<i>Trichoderma</i> sp.	Ortega واخرون (2011)
Heptachlor	<i>Phlebia</i> sp.	Xiao واخرون (2011)
Toxaphene	<i>Bjerkandera</i> sp. <i>Trichoderma viridae</i>	Lacayo واخرون (2006)، Patil واخرون (1970)
Dieldrin	<i>Pseudomonas</i> sp.	Matsumura واخرون (1968)
Atrazine	<i>Acinetobacter</i> <i>Arthrobacter</i> <i>Chelatobacter</i> <i>Nocardioide</i> <i>Pseudomonas</i>	Singh واخرون (2004)، Zhang واخرون (2011)، Cheyins واخرون (2012)، Omotayo واخرون (2012)، Hernández واخرون (2008)

Stamper واخرون، (2002) Bouquard واخرون، (1997)	<i>Rastonia</i> <i>Rhizobium</i>	
Olawale واخرون، (2011)	<i>Pseudomonas putida</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>Acinetobacter faecalis</i>	Glyphosate
Barragan-Huerta واخرون، (2007)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>P.putida</i> ,	Organochlorine- DDT
Kaneva و Chen (1999)	<i>Pseudomonas</i>	Cypermethrin
Geetha و Fulekar (2008) Benimeli واخرون ، (2008)	<i>Pseudomonas</i> <i>Bacillus</i>	Oxyfluorfen
Martinez واخرون، (2001) Yang واخرون ، (2006) Chawla واخرون ، (2013)	<i>Pseudomonas</i> <i>Brucella</i> <i>Enterobacter</i>	Chlorphyrifos
Mercadier واخرون ، (1997)	<i>Pseudomonas</i>	Iprodion
Janregni واخرون ، (2003)	<i>Trichoderma</i>	Malathion
Singh واخرون ، (2011)	<i>Micococcus</i>	Cypermetherin
Philip و Kumar (2006)	<i>Pleurotus , Bjerkandera</i>	Terbufos
Philip و Kumar (2006)	<i>Pleurotus , Bjerkandera</i>	Azinphosmethyl
Philip و Kumar (2006)	<i>Pleurotus , Bjerkandera</i>	Phosmet
Aislabie واخرون ، (2005)	<i>Stenotrophomonas</i>	Chlorpyriphos
Mohamed واخرون ، (2011)	<i>Staphylococcus , Bacillus</i>	Endosulfan
Philip و Kumar (2006)	<i>Rhodococcus , Arthrobacter</i>	Metamitron

2- دور الفطريات في التحلل الحيوي

تقوم بعض الفطريات بتحليل المبيدات للحصول على الكربون والنتروجين في بناء خلايا جديدة ولكن بعض المبيدات لها تأثيرات سمية في الفطريات (قاسم وعلي، 1989). ان الفطريات المحللة للمبيدات المشتقة من الـ phenoxyacetic قليلة جدا وقد وجد ان الفطر *Aspergillus niger* له القابلية على اضافة مجموعة هيدروكسيل الى الحلقة العطرية فقط، بينما مبيدات الادغال المشتقة من اليوريا فهناك اجناس كثيرة من الفطريات المتخصصة بتحليل هذه المبيدات (monuron ,diuron) مثل *Trichoderma spp* ، *Aspergillus spp*, *Penicillium spp* يمتلك قابلية جيدة في تحليل المبيدات الكيميائية ذات المدى الواسع فضلاً على انه يستعمر التربة المعاملة بالمبيد اسرع من الاحياء الاخرى المنافسة لها ، فله المقدرة على تحلل مبيدات الادغال في التربة حيث يمتلك مقاومة وراثية لبعض المبيدات . ومن أكثر أجناس الفطريات القادرة على تحليل المبيدات وتفككها هي *Aspergillus* , *Alternaria spp* , *Calodosporium* .

بينت التجارب المختبرية امكانية بعض الفطريات المضافة الى الترب الملوثة في تحليل أو تبيض أو ربط العديد من الملوثات الباقية في التربة الى بعض مكونات التربة حيث تنخفض سميتها أو تكون أقل سمية ، حيث من المعروف أن الترب المختلفة تختلف في تركيبها الفيزيائي (المسامية واقطار القنوات الغازية) والكيميائي (المواد السامة أو المثبطة للفطر وفرة أو شحة المواد الغذائية والرطوبة) والحيائي (وجود الاحياء الدقيقة المنافسة أو المضادة) هذه العوامل تكون مؤثرة بشكل مؤكد على فعالية الفطر وقدرته على تحليل المواد الملوثة، كما أن المواد العضوية المتبقية في التربة يمكن أن تكون مدمصة أو مرتبطة بمكونات التربة المختلفة .فقد عزلت الفطريات

Penicillium chrysogenum ، *Digitatum sp.*، *Fusarium solani* و *Scedosporium apiosperm* من تربة ملوثة بالمركبات السامة PCB

polychlorinated Biphenyl وقد استطاعت هذه الفطريات من النمو على وسط يحتوي PCB (200ملغم / لتر) .

وتفسر النتائج التي توصل اليها اللوباوي وعلوان ،(2015) في دراستهم لتأثير نوعين من الفطر *Aspergillus sp* في تحليل بعض المبيدات الكيميائية ، أن المبيد الحشري Aster يؤثر على الفطر *A. niger* و *A. oryzae* بعد مدة (يوم أو ثلاث ايام) وعزي سبب ذلك الى أن المبيدات تحتاج الى وقت لكي تؤثر على الفطريات وليتمكن المبيد من التأثير على الفطر لابد من نفاذ المبيد بكميات كافية وبسرعة معقولة إلى داخل الجسم حتى يتمكن من التأثير على العمليات الحيوية بكفاءة ، اما مبيدات الادغال Chevalier و Paalas والمبيد الفطري Ridomil Gold ، فقد اثرت على الفطر مباشرة من زراعة الفطر في الوسط المسمم ولوحظ أن تأثير المبيدات يقل تدريجيا ولاسيما المبيدات Aster , Ridomil Gold , Chevalier يكون تأثيرها أعلى في الأيام الأولى ثم يقل تأثيرها حتى ينعدم ، وقد يعود ذلك إلى قدرة الفطر على تحطيم المادة السامة وتحويلها إلى مادة غير سامة حيث يقوم الفطر بتأيض المبيدات، اذ يقوم الكائن الحي بإفراز أنزيمات خاصة بايض المبيدات تؤدي عملها بطريقتين مترابطتين يتم في الأولى تغير التركيب الجزيئي للمبيد ليصبح اقل سمية من المادة الاصلية ، اما في الثانية فيتم تحويل الجزء إلى مركب أكثر قطبية وعندها يصبح أكثر ذوبانا في الماء ويمكن التخلص منه إلى خارج الجسم ،حيث تكون معظم المبيدات الكيميائية غير ذائبة في الماء وان أكسدتها أو تحللها مائيا يساعد على إدخال مجاميع قطبيه إلى الجزيئي ليصبح أكثر ذوبان في الماء مهيا للدخول في تفاعلات أخرى تدعى هذه الخطوة بالأبيض الأولي وفي معظم الأحيان يتم ارتباط المركب الناتج من الايض الأولي بمركبات طبيعية داخل أنسجة الكائن كالكسريات ،

تشير النتائج التي تم التوصل اليها نفس الباحثين في الجدول (11-35) الى ان الفطر *A. oryzae* اعطى اعلى نسبة مئوية لتحلل المادة الفعالة للمبيد Paalas ،اذ بلغت

97.0 % واطا نسبة مئوية ظهرت في معاملة المبيد Aster فقد بلغت 67.33 % ،
اما الفطر *A. niger* فقد اعطى اعلى نسبة مئوية لتحلل المادة الفعالة للمبيد Paalas ،
اذ بلغت 85.0 % واطا نسبة مئوية ظهرت في معاملة المبيد Ridomil Gold فقد
بلغت 66.66 %، وهذا يدل على ان هذه الفطريات قامت بافراز انزيماتها خارج
الخلوية في الوسط الحاوي على المبيد مما ادى الى تحليل المادة الفعالة للمبيدات بفعل
تلك الانزيمات اضافة الى كمية المبيد المتحللة ذاتياً .

استعملت كثير من الدراسات الاوساط السائلة لقياس مدى التكسير الحيوي وتبين ان
قابلية التكسير الحيوي كانت متباينة ما بين المبيدات وحتى الفطريات العائدة لنفس
الجنس الفطري الواحد وقد يعود سبب ذلك الى طبيعة النشاط الانزيمي لكل نوع ، حيث
اظهرت غالبية الانواع العائدة للجنس *Aspergillus* قابلية تكسير متفاوتة ، اذ املاك
النوع *A. terreus* قابلية تكسير عالية وهذا النوع عزل سابقاً حتى من ترب ملوثة
بالنفط الخام وله قابلية على تكسير المركبات الاروماتية المختلفة ، و ان الفطر *A. niger*
يمتلك قابليات انزيمية متنوعة وله المقدرة على ايض المركبات الاروماتية
المتعددة الحلقات، ووجد ان الفطر *A. Terreus* و *Fusarium sp* اظهرا أعلى قابلية
على التكسير الحيوي للهيدروكربونات حيث وصلت نسبة تكسير المركبات الاليفاتية
الى 100 % واطهرت الفطريات *Emercillia*, *A. terreus*, *A. niger*,
Aspergillus sp, *A. terreus* قابلية عالية لتكسير المبيدات في الوسط السائل ،وقد
يعزى ذلك الى طبيعة النظام الانزيمي الذي تعتمد هذه الفطريات في تكسير الملوثات،
فقد تستخدم بعض الفطريات اكثر من نظام انزيمي واحد لذلك تزداد قابليتها في تكسير
هذه المركبات ،اذ ان العديد من الفطريات تستطيع افراز انزيمات خارج خلوية
لاستعمالها في تكسير المواد العضوية ومنها المركبات الهيدروكربونية مثل انزيمات
Peroxidases بالاضافة لاستعمالها للانزيمات داخل الخلوية في عمليات التحليل وهي

انزيمات Cytochrome P-450 ومن الفطريات التي ثبتت مقدرتها على انتاج الانزيمات خارج الخلوية هي *Fusarium* و *Aspergillus* .

وفي احدى الدراسات لوحظ ان مبيد السيمازين Simazine حفز نمو الفطر *Pythium* sp. على بيئة Fries nutrient solution وان الفطريات *A.niger*, *Rhizopus stolonifer* *T.harzianum* لها القدرة على تحويل المبيد دايازينون الى مركبات اخرى ، وان بعض الفطريات الممرضة للنبات مثل *Alternaria* 494, *Pythium intermedium* , *Fusarium solani* لها القابلية على تمثيل مبيد الادغال 2,4-D للاستفادة منه كمادة غذائية . والجدول (11-36) يوضح المبيدات التي تحلل بواسطة بعض الاجناس الفطرية .

جدول 11-35: النسبة المئوية لتحلل المادة الفعالة لبعض المبيدات الكيميائية
وبواسطة *A. niger* , *A. oryzae* على الوسط الزراعي السائل
P.D.B بعد مرور 30 يوماً في درجة حرارة $25 \pm 2^\circ\text{C}$ والمقاسة بواسطة
جهاز Spectrophotometer .

المعدل	النسبة المئوية لتحليل المادة الفعالة لكل من المبيدات				الفطر
	Ridomil Gold	Paalas	Chevalier	Aster	
75.66	70.66	97.00	67.66	67.33	<i>A.oryzae</i>
75.83	66.66	85.00	77.00	74.66	<i>A.niger</i>
	57.10	60.77	70.99	51.10	المعدل
	10.57				L.S.D. 0.05

جدول 11-36 : بعض الاجناس الفطرية والمبيدات التي تحللها .

المبيدات	الفطريات
Diuron , monuron , 2,4-D , Dalapon Chevalier , Ridomil Gold , Aster , Paalas Oxamyl	<i>Aspergillus spp</i> <i>oryzae , A .niger</i> <i>Aspergillus flavus</i>
Oxamyl 2,4-D	<i>Fusarium oxysporum</i> <i>Fusarium solani</i>
TCA , Picloran Malathion دايازينون	<i>Trichoderma spp</i> <i>T.viride</i> <i>T.harzianum</i>
Diuron , monuron	<i>Penicillium spp</i>
2,4-D	<i>Pythium</i>
2,4-D	<i>Alternaria alternate</i>

**جدول 11-37: ملخص للدراسات حول بعض الاجناس الفطرية والمبيدات التي تحللها
(من Lea Ellegaard-Jensen ، 2012) .**

المبيدات	الفطريات	المصدر
Diuron, Chlortoluron and Isoproturon	<i>Rhizoctonia solani</i> (b) 90 species	Vroumsia وآخرون (1996)
Diuron, Chlortoluron and Isoproturon	<i>Bjerkandera adusta</i> (b) 100 species	Khadrani وآخرون (1999)،
Diuron	<i>Phanerochaete chrysosporium</i> (b)	Fratila-Apachitei وآخرون ، (1999)
Diuron	<i>Cunninghamella elegans</i> (z) <i>Mortirella isabellina</i> (z) <i>Beauveria bassiana</i> (a)	Tixier وآخرون (2000)،
Diuron	<i>Beauveria bassiana</i> (a) <i>Cunninghamella elegans</i> (z) <i>Aspergillus niger</i> (a) <i>Mortierella isabellina</i> (z)	Tixier وآخرون (2001)،
Diuron, Metalaxyl, Atrazine and Terbutylazine	<i>Coriolus versicolor</i> (b) 9 species	Bending وآخرون (2002)،
Isoproturon	<i>Mortierella</i> sp. (z) <i>Mucor</i> sp.(z) <i>Alternaria</i> sp. (a) <i>Phoma</i> cf. <i>Eupyrena</i> (a) Basidiomycete strain Gr177(b)	Rønhede وآخرون ، (2005)
Isoproturon	<i>Cunninghamella elegans</i> (z) 15 species	Hangler وآخرون، (2007)
Diuron, Chlortoluron, Isoproturon , Linuro	<i>Mortierella</i> sp. (z)	Badawi وآخرون، (2009)

(z): zygomycete, (a): ascomycete, (b): basidiomycete

المصادر

المصادر العربية

اسطيفان ، زهير عزيز ، واسماعيل خليل السامرائي ، باسمه جورج انطوان ، هديل بدري داود ونريمان داود سلمان. 2009. تأثير المايكورايزا في نيماتودا تعقد الجذور وفطـر الرايزوكتونيا على جذور نباتات الباذنجان تحت ظروف الظلة الخشبية . مجلة وقاية النبات العربية ، مجلد 27 ، عدد 2 : 145- 151 .

البهادلي ، ميثم علي 1994. مسح حقلي للفطريات الجذرية الداخلية في وسط العراق وتداخلها مع بعض المسببات المرضية واختيار افضل العوائل التكاثرية . رسالة ماجستير . جامعة بغداد .

التميمي ، فارس محمد سهيل. 2000 . دور فطريات المايكورايزا نوع *G.mosseae* في نمو نباتي الحنطة والذرة الصفراء. رسالة ماجستير . كلية الزراعة . جامعة بغداد .
التميمي ، فارس محمد سهيل . 2005 . تأثير التداخلات بين المبيدات الحيوية والكيميائية والتسميد الحيوي على نبات القمح *Triticum aestevium* . اطروحة دكتوراه – كلية الزراعة- جامعة بغداد .

الجوهري ، احسان فليح حسن . 2014. دراسة تأثير المبيد الحشري أوكساميل في بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* مختبريا . مجلة جامعة ذي قار للبحوث الزراعية ، المجلد 3 (1).

الحديثي ، بهاء عبد الجبار عبد الحميد . 2002. النشاط الانزيمي للفطر *T.harzianum* في التربة ونمو وحاصل نبات الطماطة . اطروحة دكتوراه – كلية الزراعة – جامعة بغداد.
الحديثي ، بهاء عبد الجبار عبد الحميد و العزاوي ، اشرف محمد شريف . 2014. تأثير التداخل بين فطر الـ *mycorrhiza* وفطر الـ *Aspergillus* في جاهزية فسفور الصخر الفوسفاتي لنبات الحنطة في تربة كلسية . مجلة ديالى للعلوم الزراعية. 6 (1) . 101-115 .
الحمودي ، علي عبدالله يونس . 1989. دراسات على المايكورايزا جذر- فطر من نوع الحويصلي- الشجيري في شمال العراق . رسالة ماجستير – كلية العلوم جامعة صلاح الدين .

- السامرائي ، اسماعيل خليل 2002. دور الاسمدة الحيوية في معالجة نقص الحديد في نباتات الحنطة . مجلة الزراعة العراقية . مجلد (8) . عدد (2) . 2002 .
- السامرائي , اسماعيل خليل. 2003a . التأثير المتداخل لفطر المايكورايزا وبكتريا الازوتوباكتريا في زيادة حاصل الحنطة . مجلة العلوم الزراعية . مجلد (34) . عدد (4) . 2003 .
- السامرائي , اسماعيل خليل. 2003b . التداخل بين فطريات المايكورايزا والترايكودرما في تكوين السبورات في تربة مزروعة بالنباتات المايكورايزية . مجلة الزراعة العراقية . مجلد (8) . عدد (2) .
- السامرائي ، اسماعيل خليل . 2002 . دور الاسمدة الحيوية في معالجة نقص الحديد في نباتات الحنطة . مجلة الزراعة العراقية . مجلد (8) . عدد (2) .
- السامرائي ، اسماعيل ، راهي ، حمدالله ، ابتهاج عبد الكريم احمد . 2007 . استجابة الذرة الصفراء للتسميد العضوي والحيوي - العلاقة بين حاصل الحبوب ومحتوى العناصر في الاوراق والتربة . مجلة العلوم الزراعية العراقية . 38 (1) . 55-64 .
- السامرائي , اسماعيل خليل والطائي , فزع محمود. 2003a . تأثير الملوحة من مصادر مختلفة على مكونات انبات سبورات المايكورايزا الداخلية . مجلة العلوم العراقية . مجلد (34) . عدد (2) .
- السامرائي , اسماعيل خليل والطائي , فزع محمود (2003b) . تأثير كاربونات وكبريتات الكالسيوم في انبات بعض ابواغ فطريات المايكورايزا الداخلية . مجلة العلوم العراقية . مجلد (34) . عدد (2) .
- السامرائي ، اسماعيل خليل وراهي ، حمدالله سليمان . 2006. تأثير التلقيح ببكتريا الازوتوباكتريا والازوسبيرلر في امتصاص بعض العناصر الغذائية وتركيز الهرمونات النباتية ونمو بادرات الطماسة . مجلة العلوم الزراعية العراقية . مجلد 37 . العدد (3) .
- الراشدي , راضي كاظم. 1987 . احياء التربة المجهرية . مطبعة جامعة البصرة .
- السعدي ، كريم عبيد حسن. 2009 . تحلل مبيد الكلايفوسيت بيكتريا *Pseudomonas aeruginosa* ومساره الحركي في التربة. اطروحة دكتوراه- كلية الزراعة جامعة بغداد .

- السعيدى، محمد علي ، وحسن ،هالة يوسف محمد . 2015. تأثير بعض المبيدات المتداولة على حيوية بكتيريا العقد الجذرية تحت ظروف البيئة المحلية وادي الشاطئ، ليبيا . مجلة علوم البحار والتقنيات البيئية. مجلد 1 . العدد (2) .
- السلمان ، توفيق بشير محمد . 1999. دور المبيدات العشبية في نمو وفعالية بكتيريا الازوتوباكتر واثرها في نمو الحنطة . رسالة ماجستير – كلية الزراعة والغابات – جامعة الموصل .
- الشمري ، منعم فاضل مصلح ، 2013 . تأثير التلقيح بفطر *Trichoderma spp* والتسميد العضوي في نمو بعض اصول الحمضيات. رسالة ماجستير . كلية الزراعة- جامعة ديالى .
- الغزي ، اسعد كاظم عبد الله . 2006. تأثير مبيد الرونستار في نمو بكتيريا الازوتوباكتر. رسالة ماجستير- كلية الزراعة- جامعة بغداد .
- الكرطاني ، عبد الكريم سبع والدوري ن عبد الله عبد الكريم ويوس، هبه محمد . 2013. عزل وتشخيص بكتريا *Azospirillum spp* من بعض النباتات النامية في التربة الجبسية وتقييم كفاءتها في تثبيت النتروجين وانتاج IAA . مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية . مجلد 13 . العدد (2) .
- اللوباوي ، سلوان عبد الزهرة جبار، وعلوان ، صباح لطيف . 2015. تأثير نوعين من الفطر . *Aspergillus sp* في تحليل بعض المبيدات الكيماوية في الترب والاسمدة العضوية المختلفة . مجلة الكوفة للعلوم الزراعية المجلد 7. العدد (2) .
- المفتي ، هدى فاروق زكي ، 2004 . التأثير المتداخل لفطري المايكورايزا الحويصلية الشجيرية (*Glomus mosseae* و *Gigaspora spp*) وبكتريا الرايزوبيا في نبات الماش والباقلاء النامية تحت مستويات مختلفة من الفسفور . اطروحة دكتوراه - كلية العلوم - الجامعة المستنصرية .
- بشير ، عفراء يونس . 1996 . تأثير المبيدات في بكتريا الرايزوبيا وتكوين العقد الجذرية في نبات الباقلاء . رسالة ماجستير – كلية الزراعة والغابات – جامعة الموصل .
- بشير ، عفراء يونس . 2003 . التداخل بين المايكورايزا وبكتريا الازوتوباكتر والازوسبيرلوم وتأثيره في نمو وحاصل الحنطة . اطروحة دكتوراه – كلية الزراعة – جامعة بغداد .
- حسن ، كريم عبيد . 2012. عزل البكتريا المذيبة لمفوسفات من التربة وتعيين الحوامض العضوية المنتجة منها . مجلة العلوم الزراعية العراقية , 43 (6) 71-77 .

حسن ، محمد صادق . السامرائي ، اسماعيل خليل ، وعلي عباس كاظم . 2013 . استخدام بكتريا *Azotobacter chroococcum* وفطر *T.harzianum* كمقاوم حيوي مع المادة العضوية ضد فطر *Rhizoctonia solani* المسبب لمرض القشرة السوداء على محصول البطاطا *Solanum tuberosum* L. مجلة الانبار للعلوم الزراعية. مجلد 11 العدد (1): 368-380. سلمان ، نريمان داود والسامرائي ، اسماعيل خليل . 2008. التداخل بين السماد الحيوي الفطري والتسميد بعنصري الفسفور والزنك واثره في نمو الطماطة . المجلة العراقية لعلوم التربة . مجلد (8) العدد (1) .

سهيل ، فارس محمد . 2008. تأثير الاسمدة الحيوية والكيميائية في نمو وحاصل نباتات الحنطة *Trichoderma harzianum* عند اضافة وعدم اضافة مبيد الباساميد . مجلة ديالى . 31. سهيل ، فارس محمد . 2013. تأثير التداخل بين التلقيح بفطر الترايكوديرما *Trichoderma harzianum* والتسميد النباتي بطحلب *Chara sp* والكيميائي في نمو نبات البصل *Allium cepa* L.) Onion . مجلة ديالى للعلوم الزراعية 5(2) 223-231 .

سهيل ، فارس محمد والسامرائي ، اسماعيل خليل . 2009 a . تأثير مستويات مختلفة من خليط مبيدات الادغال في نمو واعداد بكتريا الازوتوباكتر تحت مدد حضن مختلفة . مجلة ديالى للعلوم الصرفة . مجلد (6) عدد (4) .

سهيل ، فارس محمد والسامرائي ، اسماعيل خليل . 2009b . تأثير المبيد الفطري الكينولايت في التداخل بين فطريات المايكورايزا وبكتريا الازوتوباكتر واثرها في نمو وحاصل نبات القمح . مجلة الانبار للعلوم الزراعية . مجلد 7 . العدد 3 .

سهيل ، فارس محمد والسامرائي ، اسماعيل خليل إبراهيم ، زكريا حسن حميد . 2015. تأثير المايكورايزا في نظام الدفاع الأنزيمي لنباتي الذرة الصفراء وزهرة الشمس المعرضة للإجهاد الملحي. مجلة ديالى للعلوم الصرفة . مجلد 11 . عدد (4) .

سهيل ، فارس محمد وفهمي ، علاء حسن . 2009 . تحديد ادنى تركيز مثبط من المبيدات الكيميائية في اعداد بكتريا الازوتوباكتر تحت مدد حضن مختلفة . مجلة ديالى للعلوم الزراعية . مجلد (1) العدد (1) .

سهيل ، فارس محمد وفرحان ، لؤي داود وعبود ، محمد علي . 2011 . تأثير نوع ومستوى
الملح المضاف الى التربة في كفاءة بكتريا *Azotobacter chroococcum* ونمو
محصول الذرة الصفراء .مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية .مجلد 11. العدد (3) .
عبود ، ياسر هادي وجبار، محمد ابراهيم ، وسلمان ن فراس محمد. 2016 . تأثير ملوحة التربة
ومبيد الكلايفوسيت في اعداد بكتريا النتريجة لترب مختلفة النسجة . مجلة الفرات للعلوم
الزراعية . مجلد 8 . العدد (1) . 181-176 .
علي ، نور الدين شوقي ومجيد ، ندى حميد . 2016 . احياء الرايزوسفير وجاهزية الفسفور
للنباتات. مجلة العلوم الزراعية العراقية. 47 (2) 645-635 .
قاسم ، غياث محمد وعلي ، مضر عبد الستار. 1989. علم احياء التربة المجهرية . جامعة
الموصل، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي .
كريم ، اية خالد . 2015 . تأثير الملوحة في نمو ونشاط بكتريا الازوتوباكتر واثرها في نمو نبات
الحنطة . رسالة ماجستير . كلية التربية للعلوم الصرفة . جامعة ديالى .
محمد ، سعاد يحيى . 1996 . انتاج مستحضرات حيوية من الفطر *Trichoderma harzianum*
Rifai لاغراض المقاومة الحيوية. رسالة ماجستير.كلية الزراعة والغابات- جامعة الموصل .
نغميش ، رزاق غازي ، وهذيلي، كاظم حسن ، والياسري ، مهدي خلف . 2011 . تأثير المبيد
الحشري Carbaryl 10D في أعداد ونشاط الفطريات والبكتريا في التربة . مجلة ذي قار
للعلوم الزراعية . مجلد 2 العدد(4) .

- ADAWIAH BINTI ISMAIL .2008 . Isolation ,Characteriztion and Identif-ication of Microorganisms from soil contaminated with pesticide .
A thesis submitted in fulfillment of the requirements for the a ward of the degree of Bachelor of Chemical Engineering Biotechnology .
- Aislabie, J., Richards., N.K. and H.L Boul.,1997.Microbial Degradation of DDT and its Residues - A Review, New Zealand Journal of Agricultural Research, Vol. 40: pp. 269-282.
- Alexander, M. 1971. Microbial Ecology , John Wiley and Sons . Inc. New York.
- Alexander, M .1977. Introduction to Soil Microbiology . John Wiley and Sons , Inc.New York pp .467.
- Alicia Godeas., Sebastian Fracchia ., Maria and T.Mujica .1999. Influence of Soil impoverishment on the intraction between *Glomus mosseae* and Saprobe fungi mycorrhiza . 9:185-187 .
- Alok Bharadwaj, Nitin Wahi, Neha Nehra , Manaswi Gupta , Gaurav Pant, Ashok Kumar Bhatia.2016 . Bioremediation: An Eco-friendly Approach for Treating Pesticides . Advances in Bioreserach Adv. Biores., Vol 7 (3): 200-206 .
- Altomare , C.,W.A.Norvell., T.Bjorkman., and G.E.Harman.,1999 .Solubilization of phosphate and micronutrients by the plant growth promoting and bio control fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22 App 1. Environ, microbial 65 : 2926- 2933 .(citod from Harman, G.E. 2000).
- Anderson , A. J. 1956 . Effects of fertilizer treatments on pasture growth . Proc. 7th Internat . Grassl. Congr. 33-323 .

- André Luiz Meleiro Porto., Gliseida Zelayarán Melgar., Mariana Consiglio Kasemodel and Marcia Nitschke .2011. Biodegradation of Pesticides. www.intechopen.com.
- Archana, D.S.,M.S. Nandish., V.P.Savalagi and A.R. Alagawadi. 2013. Characterization of potassium solubilizing bacteria (KSB) from rhizosphere soil.Bioinfolet. vol. 10: 248-25.
- Arti S. Shanware., Surekha A. Kalkar., Minal M.Trivedi .2014. Potassium Solublisers: Occurrence, Mechanism and Their Role as Competent Biofertilizers. Int.J. Curr. Microbiol .App.Sci . 3(9): 622-629 .
- Asanuma ,S., Y.Komo.,H.Tanka and M.Yatazarma.1979. Effect of soil microganisms on the growth of roots of rice seedlings .I. Morphological modification in rootdevelopment . Soil Sci.Plant Nutr, 25:553-561.
- Barber,D.A.1969 . The influence of the microflora on the accumulation of ions by Ecological Aspects of the Mineral Nutrition of Plants , ed . Rorison, l.H., Blackwell, Oxford, 191-200 .
- Barber ,D.A. and J. M Lynch.,1977. Microbial growth in the rhizosphere . Soil Biol. Biochem .,9: 305 .
- Barber ,D.A. and J.K. Martin .1976 . The release of organic substances by cereal roots Into , New Phytol ., 76 : 69-80 .
- Barber, D.A.and A.D.Rovira. 1975 . Rhozosphere microorganisms and the absorption of phosphate by plants . Ann Rep.ARC Letombe Laboratory .1974: 27 -28.
- Barber, D.A.,J Sanderson and R.S.Russell. 1968. Influence of microoganisms on the distribution in roots of phosphate labeled with phosphorus.32, Nature .217: 644.

- Bhardwaj, K.K.R. 1972 .Note on the growth of *Rhizobium* strains of dhaincha (*Sesbania cannabina*) in a saline –alkaline soil ,Indian Journal of Agricultural Science , 42:432-433 .
- Bhat ,K.K.S.,P.H.Nye and J.P. Baldwin .1976 .Diffusion of phosphate to plant roots in soil. IV.The concentration distance profile in the rhizosphere of roots with root hairs in a low -P soil . Plant Soil, 44: 63-72 .
- Bolan .N.S. ,A.D.Robson and N.J.Barrow .1984.Increasing phosphorus supply can increase the infection of plant roots by VA-mycorrhizal fungi .Soil Biol. Biochem .16:419- 420 .
- Bowen .G.D. and A.D. Rovira.1966 .Microbial factor in short –term phosphate uptake studies with plant roots .Nature Lond.211 :665-666 .
- Bowen ,G.D. and A.D.Rovira.1976. Microbial coloization of plant roots. Ann.Rev. Phytopath., 14:121.
- Brian, P.W.,J.C.McGowan. 1945. Viridin :A highly fungistatic substance produced by *Trichoderma viride* . Nsture . 156: 144-145 .
- Brown, M.E. 1972 .Plant growth substances produced by microorganisms of soil and rhizosphere .J.appl. Bact.3 :443-451 .
- Brunder .M. 1991. Mycorrhizas in natural ecosystems Adv . Ecol. Res.21: 171- 313 .
- Champe,S.P. 1963.Bacteriophage reproduction. Ann. Rev. Microbiol., 17 : 87-114.
- Chanika, E.,D.Georgiadou. ,E.Soueref.,P. Karas., E.Karanasios.,G.T. Nikolaos., E.A.Tzortzakakis., and.D.G. Karpouzas. 2011. Isolation of Soil Bacteria Able to Hydrolyze Both Organophosphate and Carbamate Pesticides, Bioresource Technology, Vol.102: pp. 3184-3190 .

- Chen, Y. P., P. D. Rekha., A. B. Arunshen., W. A. Lai and C. C. Young.
2006. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their
tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Appl. Soil Ecol.* 34:33-41.
- Cole,C.V.,G.I. Innis., and J.W. B.Stewart.1977 . Simulation of phosphorus
cycling in semi-arid grasslands .*Ecology*, 58: 1-15 .
- Comandini ,O.M.,Contu and A.C.Rinaldi .2006. An overview of *Cistus*
Ectomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* . Vol. (6): PP. 381-395.
- Cooper,K.M. 1984.Physiology of VA-mycorrhizal association in VA
mycorrhiza (eds.) CL. Powell and D.J. Bagyaraj.: 155-186.Press.
Inc. Boca. Raton, Florida.
- Daet , P.J. and F.V.Mercer. 1964 . The legume rhizosphere , *Arch . Mikr-
obiol.*, 47 : 344-378 .
- Dave, Arti and Patel . 1999. Inorganic phosphate solubilizing soil
Pseudomonas .*Indian Journal of Microbiology*39:161-164. Halvorson
H O, Keynan A, Kornberg H L. 1990. Utilization of calcium phosph-
ates for microbial growth at alkaline pH.*Soil Biol Biochem.* 22: 887-
890.
- DeBary,A.1879.Die Erscheinung der Symbiose. Strasburg Trubner .
(cit)The soil interface. Academic Press, Inc . New York . Harley, J
.L., Rusell, R.S. (eds.) .
- Dobereiner , J .and A.B. Campelo,,1971 .Non- symbiotic nitrogen fixing
bacteria in tropical soil . *Pl. Soil , Spec.* Vol. 457 .
- Dobereiner,J. and J. Day. 1976. Associative symbiosis in tropical grasses.
Characterization of microorganisms and dinitrogenfixing sites. In:
Newton,W.E. and Nymans,C.J.(ed). *Proceeding of the Ist international
symposium on nitrogen fixation* . 2 : 518-538.

- Dobereiner, J., I.E. Marriell and M. Nery. 1976. Ecological distribution of *Spirillum lipoferum*, Beijerinck. Can. J. Microbiol. 22 : 1464-1476.
- Dunsiger Z., D. Atkinson., C.A. Watson .2003. Arbuscular mycorrhizal fungi: their role in the ability of crops to cope with stress. In: Proc BCPC Intl Congr Crop Sci and Technol, pp .433–439.
- Firew Elias, Delelegn Woyessa, and Diriba Muleta .2016 . Phosphate Solubilization Potential of Rhizosphere Fung Isolated from Plants in Jimma Zone, Southwest Ethiopia. Hindawi Publishing Corporation International Journal of Microbiology Volume 2016, Article ID 5472601, 11 .
- Frank, A.B. 1885. Uber di auf werzelsymbiose beruhende Ernährung gewisser Baume durch unterirdische pilze. Ber. Dtsch. Bot. Ges. 3: 128–145.
- Gerdemann, J.W., and J.M. Trappe. 1974. The Endogonaceae in the Pacific Northwest Mycologia Memoir 5 New York Botanical Garden Mycological Society of America, 1-76.
- Greaves , M.P. and J.F. Darbyshire. 1972 . The ultra structure of the mucilaginous layer on plant root , Soil Biol. Biochem . 4: 443-449 .
- Harman, G.E. 2000. Myths and dogmas of bio-control . Plant Disease 84(4): 377-393 .
- Hilda Rodríguez, Reynaldo Fraga .1999 . Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. Biotechnology Advances 17: 319–339 .
- Hildebrandt, U., F.O. Uziad., F.J. Marner, and H.B. The .2006. The bacterium *Paenibacillus validus* stimulates growth of the arbuscular mycorrhizal

fungi *Glomus intraradices* up to the formation of fertile spores . FEMS Microbiology letters .254:258- 267 .

Hiltner ,L. 1904 . Uber neuere Erfahrungen and problem of dem Gebirt der Bonden bakteriologie and unter besonderer Berucksichtigung der Grundung and Brache , Arb. Dtech. Landw ,Ges., 9: 59 -78 .

Ho,I. 1988. Interaction between VA mycorrhizal fungus and *Azotobacter* and their effects on growth of tall fescue. Plant and Soil. 105:291-293.

Hooker JE.,M.Munro.,A.Atkinson .1992.Vesicular–arbuscular mycorrhizal fungi induced alteration in poplar root system morphology. Plant Soil. 145:207–214.

Hu, X. F., J. Chen and J.F.Guo. 2006. Two phosphate and potassium solubilizing bacterial isolated from Tiannu Mountain, Zhijiang ,China. World J. Microbioology and Biotechnology. 22: 983-990.

Iguala, J., M.Valverdea.,E.Cervantesa and E.Velázquezb. 2001.Phosphate-solubilizing bacteria as inoculants for agriculture: use of updated molecular techniques in their study. 21: 561-568 .

Iman M., El-Azouni. 2008 . Effect of Phosphate Solubilizing Fungi on Growth and Nutrient Uptake of Soybean (*Glycine max* L.) plants. Journal of Applied Sciences Research, 4(6): 592-598.

Ishac,Y.Z. 2000. Interaction of *Azotobacter* and Vesicular Arbusicular Mycorrhizas In : *Azotobacter in sustainable Agriculture* ch.(9) . ed. Neeru Narula., India.

Joseph, M.H.,T.S. Dhargave., C.P.Deshpande and A.K.Srivastava. 2015. Microbial Solubilisation of Phosphate: *Pseudomonas* versus *Trichoderma*. Annals of Plant and Soil Research, 17: 227-232.

- Kim, I.S., J.Y. Ryu., H.G. Hur., M.B. Gu., S.D. Kim., and J.H. Shim., 2004. *Sphingomonas* sp. Strain SB5 Degrades Carbofuran to a New Metabolite by Hydrolysis at the Furanyl Ring, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 52, No. 8: 2309- 2314.
- Lea Ellegaard-Jensen .2012 .Fungal degradation of pesticides-construction of microbial consortia for bioremediation . PhD thesis. Academic advisor: Søren Rosendahl .
- Leiser ,A.T.1968 . A mucilaginous root sheath in Ericaceae , *Am .J.Bot.*, 55:391-398.
- Lo ´pez-Pe ´rez, G.C., M.Arias-Este ´vez., E.Lo ´pez-Periago., B.Sotogona ´lez., B.Cancho-Grande., J.Simal-Ga ´ndara., 2006. Dynamics of pesticides in potato crops. *J.Agric. Food Chem.* 54(5):1797-1803.
- Lungley ,D.R.1973 . The growth of root systems – a numerical computer simulation model , *pl. Soil* ,38: 145- 159.
- Luria,S.E. 1962. Genetics of Bacteriophage. *Ann. Rev. Microbiol.*, 16 : 205-240.
- Mahesh Borde., Madura Dudhane., Paramjit Kaur JITE . 2010. AM Fungi Influences the Photosynthetic Activity, Growth and Antioxidant Enzymes in *Allium sativum* L. under Salinity Condition . *Not Sci Biol* 2 (4) : 64-71.
- Martin ,J.K.1977 . Factors influencing the loss of organic carbon from wheat roots . *Soil Biol . Biochem .*, 9 : 1-7.
- Marx,H.D. 1976. Proceed.ings of conference of forestation and disturbed surface area. Birmingham, April. U.S.D. A. for serv. Station (C.F. Saad,R.N. 1982.Studies on mycorrhiza fungi.M.Sc. Thesis. Fac. Agric. Alexander Univ.)

- McGill, W.B. and C.V. Cole. 1981. Comparative aspects of cycling of organic C, N, S, and P through soil organic matter. *Geoderma* . 26: 287 -309 .
- Mohammad Saghir Khan N., Almas Zaidi., Parvaze A. Wani. 2007. Role of phosphate-solubilizing microorganisms in sustainable agriculture- A review. *Agron. Sustain. Dev.* 27 : 29–43.
- Mohammed Nedeem ., Kareem. A. Hassan., Hussein .A. Salim ., Faris. M. Sohail .2015. Efficacy of tolerance of bio-agents and plant pathogenic fungi to fungicides by food poison technique. *Europene Acaemic ResfarchE* .vol.II. Issue . 12.
- Muentz, A. 1890. Sur la decomposition des roches et la formation de la terre arable. *C R Acad Sci*, vol. 110: 1370-1372 .
- Mukerji, K. G., C. Manoharachary., J. Singh. 2006. Microbial Activity in the Rhizosphere. *Soil Biology*, Vol.7. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2006. dual alteration to root longevity of poplar. *Plant Soil* 172: 327–329.
- Nada. A., Milosevic and Mitar M. Govedarica .2002 . Effect of herbicides on Microbiological properties of soil . *Proceedings for Natural Sciences* , Matica Srpska Novi Sad, 102 : 5-21 .
- Nagarajah, S., A.M. Posner and J.P .Quirk. 1970 . Competitive adsorption of phosphate with poly-galacturonate and organic anions on kaolinite and oxide surfaces . *Nature* , Lond. 228, 83-85 .
- Nastasija, B., A. Cacic and M. Milic .2002. Effects of pesticides on *Azotobacter chroococcum* . *Natural Sciences* , Matica Srpska Novi sad , No. 102: 23-28 .

- Newman ,A.E.1978 . Root Microorganisms : their significance in the ecosystem . Biol. Rev.53 :511-554 .
- Nye P H and P.B.tinker.1977. Solute Movement in the Soil-root System . oxford: Blackwell Scientific Publications. p .342.
- Parker ,C.A.1957 .Non-symbiotic nitrogen fixing bacteria in soil. Lll.Total nitrogen changes in a field soil .J.Soil Sci. 8:48 .
- Phillips,J.M. and D.S. Hayman. 1970. Improved. proced.ures for clearing roots and staining parasitic roots and vesicular arbuscular mycorrhizal fungus for rapid assessment of infection . Trans. Br. Mycol. Soc. 55 : 158-161.
- Piccini A., R.Azcon. 1987. Effect of phosphate solubilizing bacteria and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi on the utilization of Bayovar rock phosphate by alfalfa plants using a sand vermiculite medium, Plant Soil 10: 45–50.
- Poter .W.M .1979. The moet probable number method for enumerating infective propagules of VA- Mycorrhizal fungi in Soil,Aust. J.Soil. Res.17: 515-519 .
- Prajapati, K.B. and H.A. Modi. 2012. Isolation and characterization of potassium solubilizing bacteria from ceramic industry soil. CIBTech J Microbiol. vol. 1: 8-14.
- Qureshi, M. A., Z. A. Ahmad., N. Akhtar., A. Iqbal., F.Mujeeb and M. A. Shakir . 2012 . Role of Phosphate Solubilizing bacteria (PSB) in enhancing P AVAIL ABILITY and Promoting cotton growth. The Journal of Animal & Plant Sciences, 22(1): 2012, Page: 204-210.

- Ratnayake,M.,R.T. Leonard and J.A.Menge. 1978. Root exudation in relation to supply of phosphorus and its possible relevance to mycorrhizal formation. *New Phytol.* 81: 543-552.
- Requena ,N., E.perez-Solis. ,C. Azcon-Aguilar ., P.Jeffries and J.M.Barea. 2001. Management of indigenous plant-microbe symbioses aids restoration of desertified ecosystem .*Appl. Environ .Microbiol.* 67(2): 495- 498 .
- Rovira ,A.D.1956.Plant root excetion in relation to the rhizosphere effect . IIA study of the properties of root exudates and its effect on the growth of microorganisms isolated from the rhizosphere and control Soil,Plant and soil .7:195 -208 .
- Rovira , A.D . 1965 . Plant root exudates and their influence upon soil microorganisms. In *Ecology of soil- born plant pathogens –Prelude to Biological control* , eds . Barker , K.F. and Snyder , W.C., University California . 170 -186 .
- Rovira , A.D.,R.C.Foster and J.K.Martin . `1978 . Origin , Nature and nomen clature of the organic materials in the rhizosphere. *Proceedings of an international symposium held in Oxford , England* .
- Rovira,A.D., R.C.Foster and J.K.Martin.1979.Noteon terminology :organ-isms.nature and nomenclature of the organicmaterials in the rhizospher . *In The Soil -Root Interface* . Eds .J.L.Harly and R.Scott- Russell. London,Academic Press. Pp . 1-14 .
- Russell ,R .1977 .Plant root systems: Their function and interaction with the Soil .British library cataloguing Puplication data .

- Sadia Alam S., S. Khalil., N. Ayub and M. Rashid. 2002. In vitro solubilization of inorganic phosphate by phosphate solubilizing microorganism (PSM) from maize rhizosphere. Intl. J. Agric. Biol. 4: 454-458.
- Siddiqui ,Z.A.,M.S.Akhtar and K.Futai.2008. Mycorrhizae : Sustainable Agriculture and Forestry .Springer Science. Business Media .B.V.
- Smith, S. E., and D.J.Read.1997. Mycorrhizal Symbiosis,2nd edn, Academic, London.
- Simth , S.E.and D.J.Read .2008. Mycorrhizal symbiosis . San diago CA ; academic Press.
- Srinivasamurthy, R. and K.J. Dayamani. 2014 .Characterization of Mineral Phosphate Solubilizing Gram-positive Bacteria . International Journal of Scientific and Research Publications,Volume 4, Issue 8,August .1-4.
- Sugumaran, P. and B.Janarthanam. 2007. Solubilization of potassium obtaining minerals by bacteria and their effect on plant growth. World J. Agric. Sci., 3(3): 350- 355.
- Sundara Rao WVB.,MK.Sinha.1963.Phosphate dissolving microorganisms in the soil and rhizosphere. Indian J Agric Sci; 33:272–8.
- Tarrand,J.J., N.R. Krieg and J.Dobereiner. 1978. A taxanomic study of the *Spirillum lipoferum* group with descriptions of a new genus , *Azospirillum* gen. nov. and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. Nov. and *Azospirillum brasilense* sp. Nov. Can.J.Microbio. 24: 967-980.
- Taylor.J.H., A.Waltenbaugh and Michelle Shields.2008. Impact of vesicular arbuscular mycorrhiza on root anatomy in *Zea mays* and *lycopersicon esculentum* African.J.of Agricultural research.Vol.3:(1) .

- Tien,T.m.,M.H. Gaskins and D.H.Hubbel. 1979. Plant growth substances produced. by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum L.*) Appl. Environ. Microbiol., 37 : 1016-1024.
- Tilak,S.T.1998.Aerobiology ' (series –II: Biology of living organisms)
 Edited by Dr.J.G.Vaidya, Satyajeen Prakashan .Pune ,India .347-382.
- Tinker ,P.B.1980. The role of rhizosphere microorganisms in phosphorus uptake by plants .In The role of phosphorus in Agriculture. Eds.F. Kwasanehand E.Sample. Madison :American Society of Agronomy .
- Vassilev, N., A. Medina., R. Azcon and M.Vasslev.2006. Microbial solubilization of rock phosphate media containing agro-industrial wastes and effect of the resulting. products on plant growth and P uptake. In: E. Velazquez, C Rodríguez-Barrueco (eds). First International Meeting on Microbial Phosphate Solubilization. Series: Developments in plant and Soil Sciences. Springer, Dordrecht, The Netherlands, pp: 77-84.
- Vikram A.,H. Hamzehzarghani., A.Alagawadi., PU.Krishnaraj and B.S Chand-rashekhar. 2007. Production of plant growth promoting substances by phosphate solubilizing bacteria isolated from vertisols. Journal of Plant Sciences .2(3): 326-333.
- Wang,B and Y.L.Qiu. 2006. Pholognetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants . Mycorrhiza , 16 : 299-363 .
- Weindling ,R.1934. Studies on lethal principle effective in the parasitic action of *Trichoderma lignorum* on *Rhizoctonia solani* and other fungi phyropathology .24:1153-1179 .
- Wuxing Liu. , Xushi Xu ., Xianghua Wu ., Qiyin Yang. , Yongming Luo1 and Peter Christie .2006 . Decomposition of silicate minerals by

Bacillus mucilaginosus in liquid culture. Environmental Geochemistry and Health . 28:133–140 .

Yoh- ichi Matsubara, Yumi Kayukawa and Hirokazu Fukui .2000. Temperature-Stress Tolerance of Asparagus Seedlings Symbiosis with Arbuscular Mycorrhizal Fungus through. Japanese Society for Horticultural Science (JSHS). (J. Japan. Soc, Hort Sci.)69 (5) : 570- 575.

Zaki Anwar Siddiqui, Mohd. Sayeed Akhtar and Kazuyoshi Futai.2008 .
Mycorrhizae : Sustainable Agriculture and forestry . *Sustainable Agriculture and Forestry* .1–35.

Zakira Naureen¹ ., Muhammad Aqeel., Muhammad Nadeem Hassan., Syed Abdullah Gilani¹., Nahla Bouqellah., Fazal Mabood¹., Javid Hussain¹., Fauzia Y. Hafeez .2015. Isolation and Screening of Silicate Bacteria from Various Habitats for Biological Control of Phytopathogenic Fungi . American Journal of Plant Sciences, 2015, 6: 2850-2859 .

Zhang, H., C. Yang., C.Li., L.Li., Q.Zhao., C.Qiao. 2008. Functional Assembly of a Microbial Consortium with Autofluorescent and Mineralizing Activity for the Biodegradation of organophosphates, Journal of Agricultural Food and Chemistry, Vol.56, No.17. pp.7897- 7902 .

Republic of Iraq
Ministry of Higher Education and Scientific
Diyala University

Concepts and applied of Soil microbiology



By

Prof. Dr. Ismeal KH. AL-Samerria

Prof. Dr. Faris M. Al-Tamimi

