Egypt. J. Exp. Biol. (Bot.), 6(1): 5 – 14 (2010) © The Egyptian Society of Experimental Biology

RESEARCH ARTICLE

هبة خلف رافع الحبيني

ظافر فخري عبد القادر الراوي*
محمد عبد الوهاب حميد العزاوي*
أحمد شهاب أحمد لافي*

استخدام بكتريا الأزوتوباكتر *Azotobacter* وفطر المايكورايزا Mycohorrhiza كسماد حيوي في تحسين نمو نبات الذرة الصفراء (*Zea mays*) باستعمال تربة معقمة

المستخلص:

تم في هذا البحث عزل وتشخيص بكتريا الأزوتوباكتر *Azotobacter* من ترب مواقع مختلفة بمدينة الرمادي لاستعمالها كمخصبات حيوية بديلة عن الأسمدة الكيميائية لزراعة نبات الذرة الصفراء. تم عزل 11 عزلة لبكتريا الأزوتوباكتر ، انتخبت عزلة واحدة كانت الأكفأ في تثبيت النتروجين من بين بقية العزلات أعطيت الرمز المحلي A1 ، كما تم عزل فطر المايكورايزا من جذور نبات الذرة الصفراء واستخدمت العزلات كسماد حيوي لبذور الذرة الصفراء.

نفذت التجربة البيولوجية باستعمال التصميم العشوائي الكامل داخل الأصص البلاستيكية سعة 10 كجم وبواقع ثلاث مكررات لكل معاملة وعبئت التربة المعقمة على الأصص وزرعت 10 بذور لكل أصيص ثم خففت بعد أسبوعين من الإنبات إلى 3 نباتات لكل أصيص وعوملت بتسع معاملات مختلفة بإستخدام الأزتوبكتر والميكورايزا وجرعات 50% و 100% من السماد النيتروجيني: إما منفردة أو متحدة.

وكانت النتائج كالتالي:

1- سجلت المعاملة Az+50% N أعلى معدل لارتفاع النبات وكان 97.3 سم. أما أعلى معدل للمساحة الورقية لنبات الذرة الصفراء فقد كانت في المعاملة Az وبلغت 18.3 دسم^2.

2- بلغ أعلى معدل لعدد الأوراق 14.6 ورقة/نبات وسجل في المعاملة My ، أما أعلى معدل لقطر الساق كان 1.9 سم و قد سجل في المعاملة Az+50% N.

3- بلغ أعلى معدل للوزن الجاف للجزء الخضري لنبات الذرة الصفراء 21.6جم/نبات وكان في المعاملتين My و My +50% N، أما بالنسبة للوزن الجاف للجزء الجذري فقد بلغ أعلى معدل 7.33 جم/نبات وقد سجل في المعاملة AzMy +50% N.

4- سجلت المعاملة Az أعلى معدل لكلوروفيل a وكان 4.65 ملجم/جم نبات، كما أعطت المعاملة My+50% N أعلى معدل للكلوروفيل b وكان 0.95ملجم/جم ، وقد سجلت المعاملة AzMy + 50% N أعلى معدل للكلوروفيل الكلي وكان 5.26 ملجم/جم نبات.

5- سجلت المعاملة My+Az أعلى معدل للكربوهيدرات في الجزء الخضري و الجذري وكان 14.73 جم/100جم للجزء الخضري، و 14.15 جم/100جم للجزء الجذري.

6- بلغت أعلى نسبة لمحتوى النبات من النيتروجين للجزء الخضري والجزء الجذري 2.77% و 2.52% على التوالي وسجل في المعاملة My + Az.

7- سجلت المعاملة My + Az أعلى معدل للفسفور في الجزء الخضري وكان 0.85%. في حين أعطت المعاملة AzMy + 50% N أعلى نسبة للفسفور في الجزء الجذري وكان 0.95%.

8- سجلت المعاملة My + Az أعلى معدل للنيتروجين المتبقي في التربة وكان 213ملجم/كجم. في حين أعطت المعاملة AzMy + 50%N أعلى معدل للفسفور المتبقي في التربة وكان 25.6 ملجم/كجم تربة.

الباحث الرئيسي:

ظافر فخري عبد القادر الراوي

E-mail: alrawi_daffer0@yahoo.com

* قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة الانبار

ARTICLE CODE: 02.02.10

المقدمة:

زاد الاهتمام بدور المخصبات الحيوية و أهمية استخدامها لحماية البيئة من التلوث بالأسمدة الكيماوية والحفاظ على صحة الإنسان و الحيوان والعودة إلى ما يطلق عليه الزراعة الآمنة بعيدا عن استخدام الكيماويات والعمل على إنتاج أغذية خالية من الملوثات خاصة وإننا سوف نواجه رفضا عالميا للمنتجات الزراعية إذا وجدت بها متبقيات كيماوية (الحداد ، 1998).

المخصب الحيوي هو كائن دقيق يمكنه إمداد النبات باحتياجاته الغذائية، فضلاً من أنه يمكن لهذه الكائنات أن تفرز مواد مشجعة ومنشطة لنمو النبات كالهرمونات مما ينعكس إيجابا على نمو المحصول فتتحول العناصر من صورها غير الميسرة إلى صورة ميسرة للنبات (المنظمة العربية للتنمية الزراعية، 1998).

تعتمد فكرة إنتاج المخصبات الحيوية على أن التربة الزراعية مليئة بالأحياء المجهرية النافعة التي تعمل على زيادة خصوبتها و تحليل المواد المعقدة بها وإمداد النبات بالعناصر الناتجة في صورتها الميسرة والصالحة للامتصاص ، وتلعب أحياء التربة المجهرية دورها الحيوي الهام في تحليل المخلفات النباتية والحيوانية وتقوم بتحليل ملوثات البيئة من كيماويات و مبيدات لتكتمل منظومة الحياة على كوكب الأرض ومن ثم تعود البيئة كحالتها الأصلية لذا يطلق على هذه الأحياء المجهرية إنها محركة الحياة ولولاها ما وجدت حياة على وجه الأرض (الحداد ، 1998).

يعد عنصرا النيتروجين و الفسفور من العناصر الضرورية لنمو وإنتاج النباتات ومنها الذرة الصفراء ويعاني التسميد المعدني بهما من مشاكل وخصوصا في الترب العراقية التي تتصف بمحتواها العالي من كربونات الكالسيوم وارتفاع الـ pH نسبيا ولهذا فان من خصائص هذه الترب قابليتها العالية على ترسيب الفسفور في التربة بشكل فوسفات الكالسيوم ولذلك فان معظم الفسفور المعدني المضاف كأسمدة فوسفاتية يتحول إلى فسفور غير فاعل

ومرسب في التربة كما يتعرض عنصر النيتروجين للفقد عن طريق الانجراف بالتعرية المائية والريحية أو يفقد بشكل غاز بعمليتي عكس النترجة و تطاير الامونيا مسببة مشاكل خطيرة من حيث تلوث البيئة (عبد الله، 1987).

تعد بكتريا الأزوتوباكتر *Azotobacter* من أكثر أنواع البكتريا الحرة المعيشة المثبتة للنيتروجين، حيث تعمل على تثبيت النيتروجين الجوي بكميات متفاوتة كما تعمل على تحسين نمو النبات من خلال إفراز بعض الهرمونات والإنزيمات والفيتامينات ومنظمات النمو مما ينعكس إيجابا على حالة نمو النبات وزيادة إنتاجيته (Narula, 2000).

أثبتت الدراسات الحديثة أن فطريات المايكورايزا تزيد من نمو المحاصيل وإنتاجيتها نتيجة تشجيعها لامتصاص العناصر المغذية في الترب التي تعاني نقص هذه العناصر ولاسيما الفسفور غير الجاهز، فضلا عن تأثيراتها الايجابية في نمو النبات من حيث إفرازها للمواد المنظمة للنمو وتحسين مقدرة الأحياء على التثبيت الجوي للنيتروجين (Tago, and Barker, 2000).

وتشير الدراسات إلى وجود حالة تداخل ايجابية بين فطر المايكورايزا والبكتريا الحرة المعيشة المثبتة للنيتروجين (Ishac, 2000).إذ أن التلقيح المزدوج يؤدي إلى تحسين حالة نمو النبات وزيادة الحاصل وتقليل الحاجات السمادية (السامرائي، 2003).

تهدف الدراسة الحالية إلى مايلي:

1- عزل كل من بكتريا الأزوتوباكتر Azotobacter من ترب مواقع زراعية مختلفة وفطرة المايكورايزا Mycorrhiza من جذور نبات الذرة الصفراء.

2- تحضير اللقاحات البكتيرية والفطرية.

3- استخدام هذه اللقاحات كمخصبات لنبات الذرة الصفراء وتحسين صفات النمو للنبات.

المواد وطرق البحث:

جمع عينات التربة:

جمعت 20 عينة من التربة ، عشرة منها من منطقة الحوز في مدينة الرمادي وعشرة منها من منطقة الجزيرة (البوبالي) في الخالدية. جمعت العينات باستعمال مجرفة معقمة بالكحول ومن أعماق تتراوح من صفر – 20 سم تقريبا، وقد كانت كمية العينة المأخوذة نحو 250 جم. ثم وضعت في أكياس معقمة وسجلت عليها كافة المعلومات المهمة، ونقلت إلى المختبر وحفظت بدرجة حرارة 4 مْ لحين إجراء التجارب عليها.

عزل بكتريا الأزوتوباكتر*Azotobacter* :

لقح الوسط السائل (Burks-N-Free medium Glucose 10جم، K2HPO4 0.8جم، KH2PO4 0.2جم، NaCl 0.2جم، MgSO4.7H2O 0.2جم، CaSO4.2H2O 0.1جم، FeSO4.9H2O 0.01جم، Na2Mo4O.H2O 0.01جم، Distal water 1000مللتر) بـ 1جم من التربة داخل قناني زجاجية سعة 100مللتر حاوية على 50مللتر من الوسط السائل. والذي حضر وعقم بجهاز التعقيم لمدة 15 دقيقة بدرجة حرارة 121مْ وبثلاث مكررات لكل عينة من التربة ثم رجت القناني الزجاجية بخفة ووضعت بصورة أفقية في الحاضنة وبدرجة حرارة 28مْ لمدة 4 أيام. استدل على وجود النمو بملاحظة تكون الغشاء البني الذي ظهر على سطح السائل في القناني الزجاجية.

بعدها تم نقل جزء من الغشاء الظاهر بوساطة عروة النقل إلى الوسط الصلب الخاص بعزل الأزوتوباكتر (Glucose 10 جم، K2HPO4 0.8 جم، KH2PO4 0.2 جم، NaCl 0.2 جم، MgSO4.7H2O 0.2 جم، CaSO4.2H2O 0.1 جم، FeSO4.9H2O 0.01 جم، Na2Mo4O.H2O 0.01 جم، Agar 20 جم، Distal water 1000 مللتر) وزرع بطريقة التخطيط وحضنت الأطباق في الحاضنة على درجة حرارة من 28 مْ لمدة 48 ساعة. أجريت عمليات تنقية المستعمرات وذلك بإعادة زرعها على الوسط الصلب ثلاث مرات متتالية.

تم تحضير أغشية من تلك المستعمرات النامية وصبغت حسب طريقة جرام وفحصت بالمجهر لدراسة الصفات المظهرية للخلايا ثم نقلت أجزاء من المستعمرات وتحت ظروف التعقيم وزرعت داخل الأنابيب الحاوية على الاجار المغذي المائل، وحضنت بالحاضنة لمدة 48 ساعة على درجة حرارة 28 مْ وبعدها نقلت إلى الثلاجة على درجة حرارة 4 ° م لغرض حفظ العزلات لحين استخدامها. وكررت عملية تنشيط العزلات ومن ثم حفظها مرة واحدة بالشهر.

اختبار كفاءة عزلات الأزوتوباكتر على تثبيت النيتروجين:

بعد عزل الأزوتوباكتر وتنقيتها تم الحصول على 11 عزلة ذات نمو جيد. ولغرض معرفة العزلة الأكثر كفاءة في تثبيت النيتروجين من بين العزلات تم تنشيط العزلات بتنميتها على الوسط السائل الخاص بتنشيط العزلات البكتيرية الموضح تركيبه بالجدول 1 (Thomas, 1975)، أذيبت مكونات الوسط في لتر من الماء المقطر ووزعت كل 50 مللتر في دورق مخروطي سعة 100مللتر وعقمت بجهاز التعقيم. استعمل هذا الوسط لتنشيط العزلات البكتيرية ثم حضنت على درجة حرارة 28 ° م ولمدة 48 ساعة.

جدول 1. وسط تنشيط العزلات البكتيرية السائل (Thompson & Skerman, 1979)

	المادة	الكمية (جم.لتر-1)
1	K2 HPO4	0.3
2	KH2PO4	0.7
3	MgSO4 .7H2O	0.2
4	FeSO4 .9H2O	0.05
5	CaCl2.2H 2O	0.1
6	Na2 Mo4O.H2O	0.005
7	Sucrose	20
8	Yeast extract	5
9	D.W.	100مللتر

عدل pH الوسط إلى 7.2

حضر الوسط الغذائي السائل المخصص لاختبار كفاءة عزلات الأزوتوباكتر في تثبيت النيتروجين الموضح تركيبه في الجدول 2 (Witham *et al*., 1971) ووضع 50 مللتر من هذا الوسط في دوارق زجاجية حجم 100مللتر ثم عقمت الدوارق الحاوية على الوسط في جهاز التعقيم بعدها بردت الدوارق ولقحت بـ 1مللتر من اللقاح النامي على الوسط الخاص بتنشيط العزلات ، حضنت الدوارق تحت درجة حرارة 28°م لمدة عشرة أيام. بعدها قدرت نسبة النيتروجين الكلي باستعمال جهاز كلدال بعد أن تم هضمها. لمعرفة أكفأ عزلة في تثبيت النيتروجين والتي اختيرت لاستخدامها في تنفيذ التجربة البيولوجية.

جدول 2. وسط اختبار كفاءة عزلات الأزوتوباكتر في تثبيت النيتروجين (Becking, 1992)

	المادة	الكمية (جم.لتر-1)
1	Glucose(sucrose)	20
2	K2 HPO4	0.8
3	KH2PO4	0.2
4	MgSO4 .7H2O	0.5
5	CaCl2.2H 2O	0.05
6	Na2 Mo4O.H2O	0.005
7	FeCl3.6H2O	0.1
8	D.W.	1000مل
	المادة	الكمية (جم.لتر-1)

عزل فطر المايكورايزا *Mycorrhiza* :

حضر وسط بطاطا دكستروز أجار PDA وعقم بجهاز التعقيم وصب في أطباق بتري لغرض استعماله في عزل فطر المايكورايزا ثم حضرت قطع من جذور نبات الذرة الصفراء بعد

أن أزيلت منها التربة غسلت بالماء المقطر المعقم وأخذت قطعة من الجذر وغرست داخل أطباق بتري الحاوي على الوسط وقبل أن يتصلب بصورة نهائية ثم حضنت بالحاضنة على درجة حرارة 25 ^{o}م ولوحظ النمو حول قطعة الجذر بعد 3 أيام من الزرع على شكل مستعمرات وردية اللون.

تشخيص بكتريا الأزوتوباكتر*Azotobacter* :

أجريت الفحوصات المزرعية والمجهرية والعديد من الاختبارات الكيموحيوية وحسب ما جاء في (Black, 1965; Baron and Finegold, 1990).

تحضير اللقاحات:

تحضير لقاح بكتيريا الأزوتوباكتر:

اختيرت عزلة بكتريا الأزوتوباكتر والتي أعطيت الرمز المحلي A1 والمشخصة من نوع *Azotobacter chroococcum* من بين 11 عزلة بكتيرية لاستخدامها في التجربة البيولوجية وذلك لتفوقها على بقية العزلات في تثبيت النيتروجين.إذ لقح بها وسط المرق المغذي المعقم و الموزع في أنابيب اختبار وحضنت لمدة يومين ثم استخدمت كسماد حيوي لوثت بها بذور نبات الذرة الصفراء.

تحضير لقاح فطر المايكورايزا:

حضر وسط بطاطا دكستروز السائل في دورق سعة 200 مللتر وعقم ثم برد بعدها لقح بفطر المايكورايزا وحضن في الحاضنة على درجة حرارة 25مْ لمدة 48 ساعة لغرض استخدامه كلقاح حيوي في التجربة البيولوجية.

الاختبار البيولوجي:

تهيئة التربة للزراعة:

جلبت التربة من منطقة الجزيرة في مدينة الرمادي وأجريت عليها التحاليل الفيزيائية والكيميائية اللازمة (جدول 3).

جدول 3. بعض الصفات الكيميائية و الفيزيائية للتربة قبل الزراعة

ت	الصفة	وحدة القياس	القيمة
1	الايصالية الكهربائية E.C.	ds/m	2.5
2	الرقم الهيدروجيني PH	-	7.13
3	النتروجين الكلي	%	0.12
4	الفسفور الجاهز	PPM	4.62
5	البوتاسيوم الجاهز	PPM	137
6	الكلس	%	29.107
7	الرمل	%	78.1
8	الغرين	%	9.2
9	الطين	%	12.7
10	النسجة	-	مزيجيه رملية

نخلت التربة بمنخل ذو قطر 2 مليمتر بعد التخلص من جميع الشوائب العالقة بالتربة وبعدها عقمت على دفعات في جهاز التعقيم عند درجة حرارة 121مْ وضغط 1.5 جو ولمدة 15 دقيقة وذلك بوزن 10 كجم من التربة المنخولة، وضعت داخل أكياس وعقمت التربة داخل الأكياس وكررت هذه العملية لمدة ثلاثة أيام لضمان التخلص من اكبر عدد ممكن من أحياء التربة المجهرية وأبواغها.

وزعت التربة بعدها على الأصص البلاستيكية المستعملة في الزراعة وبواقع 10 كجم لكل أصيص ولجميع المعاملات وبواقع ثلاث مكررات لكل معاملة.

معاملة البذور باللقاحات الحيوية (البكتيرية والفطرية):

1- حضر وسط المرق المغذي المعقم ولقحت به العزلة البكتيرية A1 وحضنت لمدة 48 ساعة على درجة حرارة 28مْ . وحضر وسط PD السائل المعقم ولقحت به العزلة الفطرية وحضن لمدة 48 ساعة على درجة حرارة 25^{o}مْ. لاستخدامهما كلقاح حيوي للبذور. غسلت بذور الذرة صنف إباء 99 بالماء المقطر بعدها غمست بمحلول السكرين ثم نقل قسم من البذور إلى طبق بتري معقم حاوي على 5 مللتر من لقاح العزلة البكتيرية A1 ، ونقل قسم آخر من البذور إلى طبق بتري حاوي 5مللتر من لقاح العزلة الفطرية. وطبق حاوي على 5 مللتر من اللقاح البكتيري و 5 مللتر من اللقاح الفطري مجتمعة ثم تركت 15 دقيقة وبعدها أخذت البذور وزرعت في التربة بالأصص البلاستيكية وحسب معاملات التجربة.

تهيئة معاملات التجربة:

لغرض اختبار قابلية عزلة بكتريا الأزوتوباكتر في تثبيت النيتروجين الجوي والتعرف على دور فطر المايكورايزا في المساعدة على نمو نبات الذرة الصفراء أجريت تجربة بيولوجية عاملية باستعمال التصميم العشوائي الكامل (CRD) وبواقع ثلاث مكررات لكل معاملة، استعمل 27 أصيص بلاستيكي ذات سعة 10 كجم تربة مثقبة من الأسفل. وكانت المعاملات المستعملة كما يلي (جدول 4).

2- معاملة المحكم.

3- معاملة ملقحة ببكتريا الأزوتوباكتر (Az).

4- معاملة ملقحة بفطر المايكورايزا (My).

5- معاملة ملقحة بخليط العزلتين (الأزوتوباكتر والمايكورايزا) (Az + My).

6- معاملة مسمدة بنصف الجرعة السمادية النيتروجينية (50% N).

7- معاملة ملقحة ببكتريا الأزوتوباكتر مع نصف الجرعة السمادية النيتروجينية (Az +50% N).

8- معاملة ملقحة بفطر المايكورايزا مع نصف الجرعة السمادية النيتروجينية (My +50% N).

9- معاملة ملقحة بخليط العزلتين (الأزوتوباكتر والمايكورايزا) مع نصف الجرعة السمادية النيتروجينية (Az + My + 50% N).

10- معاملة مسمدة بجرعة سمادية نيتروجينية كاملة (N %100).

حصدت النباتات بعد 8 أسابيع من الإنبات وقيست الصفات المورفولوجية للنبات (ارتفاع النبات، المساحة السطحية للورقة، عدد الأوراق وقطر الساق)، كما تم حساب الصفات الفسيولوجية للنبات (الكلوروفيل والكربوهيدرات)، وكذلك تم قياس النيتروجين و الفسفور في كل من النبات و التربة.

جدول 4. معاملات التجربة

رقم المعاملة	رمز المعاملة	المعاملات

T1	معاملة المحكم	معاملة المحكم (بدون لقاح و تسميد)
T2	Az	مع التلقيح ببكتريا الأزوتوباكتر
T3	My	مع التلقيح بفطر المايكورايزا
T4	Az + My	مع التلقيح ببكتريا الأزوتوباكتر + فطر المايكورايزا
T5	N % 50	مع التسميد بنصف الجرعة السمادية للنيتروجين
T6	+Az N % 50	مع التلقيح ببكتريا الأزوتوباكتر + نصف الجرعة السمادية للنيتروجين
T7	+My N%50	مع التلقيح بفطر المايكورايزا + نصف الجرعة السمادية للنيتروجين
T8	+ Az My N %50	مع التلقيح ببكتريا الأزوتوباكتر + فطر المايكورايزا + نصف الجرعة السمادية للنيتروجين
T9	الجرعة السمادية الكاملة	مع الجرعة السمادية الكاملة للنيتروجين

أضيف السماد الفوسفاتي بهيئة سوبر فوسفات ثلاثي قبل الزراعة لجميع المعاملات وحسب التوصيات السمادية الخاصة بنبات الذرة الصفراء، إذ أذيب السماد بماء الري وأضيف للمعاملات. أما السماد النيتروجيني فأضيف بهيئة يوريا وأضيف بدفعتين الأولى مع الزراعة و الثانية بعد أسبوعين من الإنبات وهذا بالنسبة للمعاملات التي استعمل فيها التسميد النيتروجيني.

الصفات المدروسة للنبات:-

الصفات المورفولوجية:

تم قياس بعض الصفات للنباتات قبل حصادها على النحو التالي:

قياس ارتفاع النبات:

قيس ارتفاع النبات من سطح التربة ولغاية قاعدة الورقة العليا باستعمال شريط القياس. واخذ معدل 3 نباتات في كل أصيص.

حساب عدد الأوراق:

حسبت عدد الأوراق لكل نبات واخذ معدل عدد أوراق النباتات لكل أصيص.

قياس المساحة السطحية للورقة:

تم إيجاد المساحة السطحية لأوراق النباتات ،إذ قيس طول الورقة الواقعة أسفل قاعدة الورقة العليا باستعمال المسطرة العادية وحسبت المساحة السطحية للورقة حسب المعادلات الآتية (Thomas, 1975):-

1. إذا كان عدد الأوراق من 11 – 13 ورقة

المساحة السطحية = (طول الورقة. دسم)^2 × 0.65

2. إذا كان عدد الأوراق من 14 – 16 ورقة

المساحة السطحية = (طول الورقة. دسم)^2 × 0.75

قياس قطر الساق:

تم قياس قطر ساق النباتات لجميع المعاملات والمكررات للنباتات قبل الحصاد بواسطة آلة القياس الفيرنة.

تقدير الوزن الجاف للمجموع الخضري و الجذري:

بعد حصاد واستخلاص وتجفيف الجزء الخضري والجذري حسبت الأوزان الجافة باستعمال الميزان الحساس.

الصفات الفسيولوجية للنبات:

تقدير محتوى الكلوروفيل في الأوراق:

قدر محتوى الكلوروفيل في الجزء الخضري الطري للنبات (الأوراق) بعد 50 يوماً من الزراعة (Witham *et al.*, 1971).

تقدير محتوى الكربوهيدرات:

قدرت الكربوهيدرات الذائبة في الجزء الخضري والجذري حسب الطريقة الموصوفة من قبل (Dubois *et al.*, 1956).

تقدير نسبة النيتروجين و الفسفور:

طحنت العينات النباتية المجففة عند درجة حرارة 70م^{o} لمدة 48 ساعة للمجموع الخضري والجذري كل على حده وتم خلطها بصورة متجانسة واخذ 1جم من كل جزء منها لأغراض التحليل وحسب المعاملات.

تقدير نسبة النيتروجين الكلي :

استخدمت طريقة كلدال لتقدير النتروجين الموصوفة في (Sawhney and Randhirs, 2000).

تقدير الفسفور: قدر عنصر الفسفور بالامتصاص اللوني بمعاملة النماذج المهضومة بمادة (Sulphomolybdic acid) لينتج عنه Phosphomolybdic acid الذي عومل لاحقا بكلوريد القصدويروز $SnCl_2$ المحضر آنيا ليعطي معقدا ذا لون ازرق بحسب (Sawhney and Randhirs, 2000) حسبت كمية الفسفور في النماذج حسب كثافتها اللونية بوساطة جهاز المطياف الضوئي وباستعمال المنحنى القياسي للفسفور.

تقدير محتوى النيتروجين والفسفور في التربة:

أخذت نماذج من ترب الأصص ثم اخذ 1 جم من تربة كل معاملة وهضمت لتقدير نسبة النيتروجين والفسفور للتربة بعد الحصاد. وتضمنت طريقة التقدير نفس الخطوات المتبعة في تقدير النيتروجين والفسفور في النبات.

التحليل الإحصائي

استعمل نظام التصميم CRD وقيمة L.S. D. (أقل فرق معنوي بين متوسطين) وبمستوى احتمال أقل من $P>0.05$ ، وحللت البيانات باستعمال برنامج GNS-332 الجاهز.

النتائج والمناقشة :

نتائج عزل وتشخيص الأزوتوباكتر*Azotobacter* :

أوضحت النتائج الحصول على 11 عزلة أعطت نتيجة موجبة من بكتريا الأزوتوباكتر المعزولة من 20 عينة تربة من مناطق مختلفة من مدينة الرمادي وكانت بواقع 5 عزلات من منطقة الحوز من بين 10 عينات تربة و6 عزلات من منطقة الجزيرة (البوبالي) من بين 10 عينات تربة أيضا (جدول 5).

جدول 5. المواقع التي جمعت منها نماذج التربة والمحاصيل المزروعة فيها

المصدر / الرمادي / الحوز			المصدر / الرمادي / الجزيرة (البوبالي)		
رقم العزلة	اسم المحصول أو الحقل	نتيجة العزل	رقم العزلة	اسم المحصول أو الحقل	نتيجة العزل
A1	فجل	-	A1	مشمش	-
A2	بطنج	+	A2	تفاح	+
A3	فلفل	+	A3	اجاص	-
A4	طماطا	-	A4	برسيم	-
A5	كرفس	-	A5	باقلاء	+
A6	سلق	+	A6	جت	-
A7	فستق	-	A7	خوخ	+
A8	ثيل	+	A8	رارنج	+
A9	فجل	+	A9	زيتون	+
A10	برتقال	-	A10	خضراوات	+

إن الاختلاف في تواجد الأزوتوباكتر قد يعود إلى طبيعة نسجة التربة و المحصول المزروع في التربة و بما أن عزل الأزوتوباكتر قد تم من عدد من المواقع و من ترب مزروعة بمحاصيل مختلفة و ليست من موقع واحد لذا فقد يكون اختلاف نسجة التربة سببا في اختلاف أعداد الأزوتوباكتر

المعزولة باختلاف مناطق جمع النماذج و هذا ما أكده Ishac and Yousef (1972)، أما الظفيري (1999) فقد بينا أن الاختلاف في أعداد الأزوتوباكتر في التربة يعود أيضا لاختلاف نسبة الكربون إلى النتروجين فيها. أظهرت نتائج الفحوصات الزرعية و المجهرية و الاختبارات الكيموحيوية الموضحة في الجدولين 6 و7 التي أجريت على 11 عزلة لبكتريا الأزوتوباكتر و بالاعتماد على المفتاح الخاص للتفريق بين الأنواع (Becking, 1992, Holt *et al.*, 1994) بان جميع العزلات تابعة لجنس *Azotobacter* .

جدول 6. الصفات المظهرية لمستعمرات بكتريا الأزوتوباكتر

الصفات المزرعية				الصفات المجهرية			
رقم العزلة	كثافة النمو	شكل النمو	لون المستعمرة	شكل الخلايا	تجمع الخلايا	تكوين الغلاف	صبغة كرام
A1	+++	شديدة اللزوجة	بنية غامقة	كروية	ثنائية	+	-
A2	++	لزجة	بنية غامقة	عصوية	مفردة	+	-
A3	+	غير لزجة	بنية فاتحة	كروية	ثنائية	+	-
A4	++	لزجة	بنية فاتحة	بيضوية	ثنائية	+	-
A5	+++	شديدة اللزوجة	بنية غامقة	بيضوية	مفردة	+	-
A6	+	لزجة	بنية فاتحة	عصوية	ثنائية	+	-
A7	++	لزجة	فاتحة	كروية	ثنائية	+	-
A8	++	لزجة	فاتحة	بيضوية	مفردة	+	-
A9	+++	لزجة	غامقة	كروية	ثنائية	+	-
A10	+	غير لزجة	غامقة	كروية	ثنائية	+	-
A11	+	غير لزجة	فاتحة	عصوية	ثنائية	+	-

جدول 7. الصفات الكيموحيوية لعزلات الأزوتوباكتر

رقم العزلة	النمو في 60°م	النمو في 0.1% فينول	Oxidase	Catalase	Motility	تحلل النشا	السكروز	الرامينوز	المانيتول
A1	++	++	+	+	+	+	+	+	+
A2	+	+	+	+	+	+	+	+	+
A3	+	++	+	+	+	+	+	+	+
A4	++	+	+	+	+	+	+	+	+
A5	++	++	+	+	+	+	+	+	+
A6	+	+	+	+	+	+	+	+	+
A7	++	++	+	+	+	+	+	+	+
A8	+	++	+	+	+	+	+	+	+
A9	+	+	+	+	+	+	+	+	+
A10	++	+	+	+	+	+	+	+	+
A11	+	+	+	+	+	+	+	+	+

اختبار كفاءة عزلات الأزوتوباكتر في تثبيت النيتروجين الجوي:

اختبرت كفاءة عزلات الأزوتوباكتر 11 في تثبيت النيتروجين باستعمال طريقة كلدال وذلك لاختيار العزلة الأكفأ في تثبيت النيتروجين. و أظهرت نتيجة الاختبار الذي اجري على جميع العزلات تفوق العزلة التي أعطيت الرمز المحلي A1 و المشخصة *Azotobacter* في كفاءتها على تثبيت النيتروجين إذ بلغت كمية النيتروجين المثبت 9.11 ملجم.لتر$^{-1}$ (جدول 8). تبين النتائج السابقة اختلاف في فعالية إنزيم النيتروجينيز لعزلات الأزوتوباكتر باختلاف قيم النيتروجين المثبت من قبل هذه العزلات. وقد يعود هذا الاختلاف إلى الظروف البيئية و العوامل المؤثرة في نمو العزلات وتثبيتها للنيتروجين، ومن هذه العوامل مصدر الكربون وتوفره في الوسط أو تعرض العزلات لظروف بيئية غير مناسبة مثل الارتفاع أو الانخفاض في درجة الحرارة وتعرض الوسط للجفاف وغيرها من العوامل. إذ وجد كل من مامندو واغاجان (1982) و الراشدي (1987) إن توفر عنصر الكربون من العوامل الرئيسة التي تحد من نشاط ومعدل تثبيت النتروجين تحت الظروف الهوائية و اللاهوائية، أما Abd-el–Malek *et al.* (1968) فقد لاحظوا إن أفضل معدل في تثبيت الأزوتوباكتر للنتروجين وزيادة في معدل النمو عند درجة حرارة 30°م إذ ينخفض هذا المعدل بزيادة أو انخفاض الحرارة عن هذه درجة.

جدول 9. تأثير المعاملات المختلفة في بعض الصفات المورفولوجية لنبات الذرة الصفراء

جدول 8. كفاءة العزلات في تثبيت النيتروجين الجوي

رقم العزلة	كمية N_2 المثبتة (ملجم.لتر$^{-1}$)
A1	9.11
A2	7.3
A3	7.0
A4	6.8
A5	6.3
A6	5.5
A7	4.6
A8	3.5
A9	3.2
A10	2.5
A11	2.2

الصفات المورفولوجية لنبات الذرة الصفراء:

ارتفاع النبات والمساحة السطحية للورقة:

أظهرت النتائج المبينة في جدول 9 أن هنالك زيادة معنوية في معدل ارتفاع النبات لجميع المعاملات ما عدا معاملة 50%N مقارنة مع معاملة المحكم ومعاملة الجرعة السمادية الكاملة إذ بلغ أعلى معدل لارتفاع النبات عند المعاملة Az+50% N ، وكان معدل الارتفاع 97.3 سم وبلغت نسبة الزيادة 24.26% مقارنة مع معاملة المحكم والتي بلغ معدل طول النبات فيها 78.3 سم.

كما وتبين النتائج في جدول 7 وجود زيادة معنوية للمساحة السطحية للورقة لنبات الذرة الصفراء لجميع المعاملات عدا معاملة 50% N مقارنة مع معاملة المحكم ومعاملة الجرعة السمادية الكاملة. وبلغ أعلى معدل للمساحة السطحية للورقة في المعاملة Az إذ كان 18.3(دسم^2)، وكانت نسبة الزيادة 96.7%.

نستنتج من ذلك أن بكتريا الأزوتوباكتر والمضافة كسماد حيوي وحدها أو مع نصف الجرعة السمادية استطاعت أن تمد النبات بما يحتاجه من النيتروجين، لان إضافة لقاح الأزوتوباكتر أدى إلى تثبيت النيتروجين وإفراز مواد منشطة للنمو مثل الاندول والجبرلين والسايتوكينينات(Govedarica *et al.*, 1994; Mezei *et al.*, 1998).

المعاملات	ارتفاع النبات (دسم)	المساحة الورقية (دسم ^{2})	عدد الأوراق (ورقة/نبات)	قطر الساق (سم)	الوزن الجاف للجزء الخضري جم/ نبات	الوزن الجاف للجزء الجذري جم/ نبات
معاملة المحكم	78.3	9.3	12.3	1.1	15.1	3.56
Azotobacter	97.1	18.3	14.3	1.7	20.3	6.13
Mycorrhiza	87.4	16.6	14.6	1.7	21.6	7.13
Az + My	92.9	16.6	14.3	1.4	21.0	6.03
50% جرعة N	78.6	10.3	12.3	1.2	16.6	3.66
%50+Az N	97.3	16.2	13.3	1.9	21.5	6.40
N %50+My	94.9	16.2	13.0	1.7	21.6	6.16
%50+AzMy N	94.2	17.3	12.6	1.7	21.3	7.33
جرعة سمادية	85.5	11.1	12.6	1.3	19.7	5.9
المعدل	89.57	14.65	13.25	1.522	19.85	5.81
LSD p>0.05	T=2.46	T=1.66	T=0.982	T=0.231	T=0.707	T=0.354

حيث أن: T = المعاملات

عدد الأوراق و قطر الساق:

يوضح جدول 9 أن هنالك زيادة معنوية في عدد الأوراق لنبات الذرة الصفراء للمعاملات Az و My و My + Az مقارنة مع معاملة المحكم ومعاملة الجرعة السمادية الكاملة، وسجلت جميع المعاملات ما عدا معاملة 50% N فرقا معنويا مقارنة مع معاملة المحكم ومعاملة الجرعة السمادية الكاملة. فقد كان أعلى معدل لعدد الأوراق في المعاملة My وكان 14.6ورقة وكانت نسبة الزيادة 18.6% مقارنة مع معاملة المحكم، تليها المعاملتان Az وMy + Az بمعدل 14.3 ورقة وبنسبة زيادة 16.2% مقارنة مع معاملة المحكم.

وبالعودة إلى جدول 9 نلاحظ أن معدل قطر الساق لنبات الذرة الصفراء سجل زيادة معنوية لمعظم المعاملات مقارنة مع معاملة المحكم ومعاملة الجرعة السمادية الكاملة، أما أعلى معدل لقطر الساق فكان عند المعاملة Az + 50 % N وبلغ 1.9سم وكانت نسبة الزيادة 46% مقارنة مع الجرعة السمادية الكاملة، أما نسبة الزيادة مقارنة مع معاملة المحكم فقد كانت 72.7%.

وان هذه النتيجة تتفق مع ما توصل إليه Hussain *et al.* (2007) الذي حصل على زيادة معنوية واضحة في قطر الساق لنبات الذرة الصفراء مقارنة مع معاملة المحكم عند معاملة البذور بلقاح الأزوتوباكتر.

الوزن الجاف للجزء الخضري و الجذري:

يبين جدول 9 وجود زيادة معنوية للوزن الجاف للجزء الخضري لجميع المعاملات مقارنة مع معاملة المحكم، وقد كان أعلى معدل للوزن الجاف للجزء الخضري في المعاملتين My و My + 50 % N وكان 21.6 جم/نبات وقد بلغت نسبة الزيادة 43% مقارنة مع معاملة المحكم و9.6% مقارنة مع الجرعة السمادية الكاملة، تليها المعاملة Az+50% N فقد كان معدل الوزن الجاف للجزء الخضري 21.5جم/نبات وبلغت الزيادة 42.3% مقارنة مع معاملة المحكم و8% مقارنة مع الجرعة السمادية الكاملة.

كذلك يبين جدول 9 وجود زيادة معنوية للوزن الجاف للجزء الجذري مقارنة مع معاملة المحكم. وكان أعلى معدل للوزن الجاف للجزء الجذري 7.33جم/نبات وقد سجل في المعاملة AzMy+50% N وكانت نسبة الزيادة 105.8% مقارنة مع معاملة المحكم و 24% مقارنة مع الجرعة السمادية الكاملة، تليها المعاملة My إذ كان المعدل 7.13جم/نبات وبلغت نسبة الزيادة 100% مقارنة مع معاملة المحكم و 20.8% مقارنة مع الجرعة السمادية الكاملة.

توضح النتائج السابقة أن استعمال السماد الحيوي البكتيري والفطري أو كليهما مع أو بدون إضافة نصف الجرعة السمادية النيتروجينية سبب زيادة بشكل واضح في معدل ارتفاع النبات والمساحة السطحية للأوراق وقد يعزى هذا إلى التأثير المباشر للأسمدة الحيوية في تهيئة العناصر الغذائية وجعلها أكثر جاهزية للنبات مما سهل وسرع في معدل امتصاصها ودخولها في مجرى الأيض (التمثيل الضوئي) نتيجة الزيادة الحاصلة في المساحة الورقية ومن ثم زيادة إضافية في الوزن الجاف لكل من المجموع الجذري و الخضري، وتتفق هذه النتائج مع ما توصل إليه بشير (2003) التي أكدت أن إضافة 50% من الجرعة السمادية أدت إلى زيادة معنوية في (مكونات) المجموع الخضري والجذري لنبات الحنطة.

كذلك أكد العيثاوي (2004) حدوث زيادة معنوية في الوزن الجاف للجزء الخضري لنبات الذرة الصفراء عند التلقيح بعزلة الأزوتوباكتر. ووجد التميمي (2000) زيادة مقدارها 33% للوزن الجاف للمجموع الخضري و31% للوزن الجاف للجزء الجذري لنبات الذرة الصفراء الملقحة بفطر المايكورايزا.

الصفات الفسيولوجية:

محتوى الكلوروفيل في الأوراق:

يلاحظ من جدول 10 ومن نتائج التحليل الإحصائي لقيم الكلوروفيل في نبات الذرة الصفراء الملقحة بعزلات الأزوتوباكتر وفطر المايكورايزا منفردة أو مجتمعة أعطت فروقا معنوية ما عدا معاملات الجرعة السمادية الكاملة ونصف الجرعة السمادية فلم تسجل أي فرق معنوي مقارنة مع معاملة المحكم، كما نلاحظ أن أعلى نسبة زيادة للكلوروفيل a كانت 99.5% مقارنة مع معاملة المحكم وسجلت في المعاملة Az، أما أعلى نسبة زيادة للكلوروفيل b فكانت عند المعاملة My +50% N وكانت نسبة الزيادة 82.6% مقارنة مع معاملة المحكم، وقد أعطت نفس المعاملة أعلى نسبة زيادة للكلوروفيل الكلي وكانت 84.5% .

يعزى السبب في زيادة قيمة الكلوروفيل إلى الدور الذي تقوم به الأزوتوباكتر في تثبيت النيتروجين الجوي حيث يزداد تركيز النيتروجين المتاح للنبات والذي يؤدي بدوره إلى زيادة في تخليق الكلوروفيل كما يؤدي إلى زيادة عدد الأوراق والمساحة السطحية للورقة التي بدورها تزيد من نسبة الكلوروفيل والذي ينتج عنه زيادة في عملية البناء الضوئي ، إذ أشار Tomar *et al.* (1995) إلى أن التلقيح بعزلة الأزوتوباكتر يزيد من النيتروجين الذي ينعكس إيجابا على محتوى الأوراق من الكلوروفيل، أما دور فطر المايكورايزا في امتصاص النيتروجين فقد أوضحه كل من Rhods and Gerdeman (1980) اللذين أشارا إلى مقدرة فطريات المايكورايزا على زيادة قابلية النبات في امتصاص النيتروجين من التربة على شكل NH_4 عندما تكون ايونات الامونيوم ثابتة نسبيا في التربة مقارنة بايونات النترات النشطة مما ينعكس على محتوى النبات من الكلوروفيل.

محتوى الكربوهيدرات في الجزء الخضري و الجذري:

توضح النتائج في جدول 10 وجود فروق معنوية في محتوى الكربوهيدرات في كل من الجزء الخضري والجذري لنبات الذرة الصفراء ولجميع المعاملات مقارنة مع معاملة المحكم كما إن معظم المعاملات لم تسجل أي فرق معنوي مقارنة بمعاملة الجرعة السمادية الكاملة. فقد وجد إن أعلى معدل للكربوهيدرات في الجزء الخضري كان في المعاملة Az+My وبلغ

14.73جم/100جم وبلغت نسبة الزيادة 119% مقارنة مع معاملة المحكم. كما بلغت نسبة الزيادة 32.8% مقارنة مع معاملة الجرعة السمادية الكاملة. وأعطت نفس المعاملة (Az+My) أعلى معدل للكربوهيدرات في الجزء الجذري وبلغ أعلى معدل للكاربوهيدرات 14.15 جم/100جم وكانت نسبة الزيادة 122.4% مقارنة مع معاملة المحكم. كما بلغت نسبة الزيادة 34% مقارنة مع الجرعة السمادية الكاملة.

جدول10. تأثير المعاملات المستعملة في بعض الصفات الفسيولوجية لنبات الذرة الصفراء (T = المعاملات)

المعاملات	كلوروفيل a (ملجم\جم)	كلوروفيل b (ملجم\جم)	الكلوروفيل الكلي (ملجم\جم)	الكاربوهيدرات في الجزء خضري (جم\100 جم)	الكاربوهيدرات في الجزء الجذري (جم\100جم)	النتروجين في الجزء الخضري %	النتروجين في الجزء الجذري %	الفسفور في الجزء الخضري %	الفسفور في الجزء الجذري %
معاملة المحكم	2.33	0.52	2.85	6.72	6.36	0.213	0.84	0.15	0.25
Azotobacter	4.65	0.59	5.24	12.95	11.93	1.306	2.24	0.46	0.68
Mychorrhiza	3.95	0.66	4.61	11.24	9.64	1.860	2.14	0.64	0.88
Az + My	3.88	0.92	4.80	14.73	14.15	2.773	2.52	0.85	0.92
50% جرعة N	2.39	0.56	2.95	7.13	5.96	0.420	0.58	0.16	0.26
z +50% N	3.59	0.92	4.51	11.49	10.44	1.586	1.68	0.49	0.79
My + 50% N	4.26	0.95	5.21	10.91	10.22	1.213	1.31	0.64	0.83
AzMy + 50% N	4.33	0.93	5.26	12.58	11.64	2.146	2.24	0.84	0.95
جرعة سمادية كاملة N	2.31	0.93	3.24	11.09	10.55	1.297	1.13	0.46	0.53
المعدل	3.521	0.775	4.296	10.98	10.098	1.423	1.63	0.52	0.67
LSD p>0.05	T=0.106	T=0.022	T=0.118	T=0.403	T=0.351	T=0.048	T=0.038	T=0.023	T=0.029

إن هذه النتائج تشير بوضوح إلى وجود حالة تداخل ايجابية بين بكتريا الأزوتوباكتر وفطر المايكورايزا في زيادة محتوى النبات من الكربوهيدرات وبدون إضافة أي من الأسمدة الكيميائية إذ زاد محتوى النبات من الكربوهيدرات في هذه المعاملات نسبة إلى زيادة النتروجين الذي تثبته بكتريا الأزوتوباكتر وتساعد في امتصاصه فطريات المايكورايزا وكذلك النتروجين يسبب زيادة في عدد الأوراق والمساحة السطحية للورقة الذي ينتج عنه زيادة في عملية البناء الضوئي والذي مما ينتج عنها زيادة الكلوروفيل وتكوين الكربوهيدرات وقد اتفقت هذه النتائج مع ما توصل إليه كل من خالد وبهاء الدين (1992) و (2005) Pacovasky .

محتوى النبات من النتروجين:

أظهرت نتائج الدراسة والمبينة في جدول 10 ومن نتائج التحليل الإحصائي وجود زيادة معنوية للنتروجين في الجزء الخضري والجذري للنبات ولجميع المعاملات مقارنة مع معاملة المحكم. بلغت أعلى نسبة للنيتروجين في الجزء الخضري 2.773% في المعاملة Az+My و بلغت نسبة الزيادة 1201.8% مقارنة مع معاملة المحكم و 113.8% مقارنة مع الجرعة السمادية الكاملة، وقد أعطت المعاملة Az+My أعلى المعدلات للنيتروجين في الجزء الجذري للنبات وبنسبة 2.52% وكانت نسبة الزيادة 723.5% مقارنة مع معاملة المحكم و 123% مقارنة مع الجرعة السمادية الكاملة. وقد أكد هذه النتائج Ishac (2000) الذي أشار إلى أهمية التداخل ما بين الأزوتوباكتر والمايكورايزا من حيث دور فطريات المايكورايزا في تجهيز النبات بعنصر الفسفور من مصادره غير الجاهزة . كما إن عملية التثبيت الحيوي للنتروجين يمكن أن تثبط أو تتوقف بسبب نقص الفسفور الذي يعد ضروريا لسد الطاقة اللازمة للبكتريا للقيام بعملية التثبيت الحيوي للنيتروجين.

وهذه النتائج تتفق مع كل من العيثاوي (2004) و المنصور (2002). كما تتفق مع ما توصل إليه إبراهيم وآخرون (2000) الذين أشاروا جميعا إلى أن تلقيح التربة بعزلات الأزوتوباكتر قد أسهم بشكل واضح في زيادة كمية النيتروجين في النبات مقارنة مع معاملة المحكم غير الملقحة بها مع استخدام مستويات محدودة من الأسمدة النيتروجينية لا تتجاوز نصف الجرعة السمادية مع هذه العزلات.

محتوى الفسفور في النبات :

نلاحظ من جدول 10 زيادة معنوية في تركيز عنصر الفسفور في الجزء الخضري و الجذري لجميع المعاملات مقارنة مع معاملة المحكم كما سجلت معظم المعاملات فروقا معنوية مقارنة مع معاملة الجرعة السمادية الكاملة. إذ أعطت المعاملة Az+My أعلى معدل للفسفور في الجزء الخضري وبنسبة 0.85% وكانت نسبة الزيادة 466.6% مقارنة مع معاملة المحكم و 84% مقارنة مع الجرعة السمادية الكاملة.

أما في الجزء الجذري فكان أعلى معدل للفسفور 0.95% إذ بلغت نسبة الزيادة 280% في المعاملة 50%+AzMy N مقارنة مع معاملة المحكم و 79% مقارنة مع الجرعة السمادية الكاملة.

إن هذه النتيجة تتفق مع ما توصل إليه الشيباني (2005) الذي وجد أن أعلى نسبة للفسفور في الأوراق عند إضافة 50% من الجرعة السمادية مع خليط العزلتين.

كما أشار Govedarica *et al.* (1994) إلى أن الأزوتوباكتر تقوم بإفراز بعض منظمات النمو مثل الاندول والجيرلين في وسط النمو والتي تؤدي إلى تشجيع نمو المجموع الخضري والمجموع الجذري فيصبح قادرا على امتصاص العناصر المغذية ومنها الفسفور، كما أن وجود فطريات المايكورايزا في بيئة الجذر قد تسهم في زيادة مقدرة النبات على استخلاص عنصر الفسفور (بشير، 2003).

وأظهرت هذه النتائج التأثير الايجابي لفطريات المايكورايزا في زيادة محتوى النبات من الفسفور بوجود أو بغياب الأسمدة الكيميائية، وعليه يمكن القول انه يمكن الاستفادة من فطر المايكورايزا كلقاح والاستغناء عن الأسمدة الكيميائية وان هذه النتائج تتفق مع عدد من الباحثين منهم خالد وبهاء الدين (1992) والسامرائي وبهاء الدين (1996).

النيتروجين والفسفور المتبقي في التربة:

تظهر النتائج المبينة في جدول 11 أن نتيجة التحليل الإحصائي أشارت إلى وجود زيادة معنوية لمحتوى التربة من النيتروجين و الفسفور لجميع المعاملات مقارنة مع معاملة المحكم، كما أعطت اغلب المعاملات فرقا معنويا مقارنة مع معاملة الجرعة السمادية الكاملة، وسجلت المعاملة My + Az أعلى

معدل لمحتوى التربة من النيتروجين المتبقي وكان 213 ملجم/كجم تربة وكانت نسبة الزيادة 475.6% مقارنة مع معاملة المحكم.

جدول 11. تأثير المعاملات المستعملة في محتوى التربة من النيتروجين و الفسفور (ملجم \ كجم) بعد الحصاد

المعاملات	النتروجين في التربة ملجم/كجم	الفسفور الجاهز في التربة ملجم/كجم
معاملة سيطرة	37	9.6
Azotobacter	172	18.9
Mychorrhiza	121	19.3
Az + My	213	20.0
50% توصية N	60	9.7
N %50+Az	131	20.6
N %50+My	121	23.5
N %50+AzMy	205	25.6
توصية سمادية	112	20.3
المعدل	130.2	18.61
LSD p>0.05	T=4.102	T=0.777

تشير النتائج السابقة إلى حالة التداخل الايجابية بين فطر المايكورايزا وبكتريا الأزوتوباكتر في زيادة محتوى التربة من النيتروجين، وهذا يتفق مع ما توصل أليه عدد من الباحثين (Hatwalne *et al.*, 1998) و(Azcon, 2005) و (Natarajan and Oblisami, 2005) الذين أكدوا وجود حالة تداخل ايجابية بين بكتريا الأزوتوباكتر وفطر المايكورايزا في تجهيز التربة من النتروجين وبالعودة إلى نفس الجدول نستطيع أن نجد أن أعلى معدل للفسفور في التربة وجد عند المعاملة N %50+AzMy وبلغ 25.6 ملجم/كجم تربة وبزيادة مقدارها 166.6% مقارنة مع معاملة المحكم.

إن تفسير هذه النتائج يتفق مع المحتوى النيتروجيني للتربة وهو تأكيد على حالة التداخل الايجابية بين فطر المايكورايزا وبكتريا الأزوتوباكتر ودورهما في تجهيز العناصر الغذائية للتربة ومن ثم للنبات إضافة إلى الدور الذي تقدمه فطريات المايكورايزا في تجهيز الفسفور من مصادره الغير جاهزة وذلك عن طريق إفراز بعض المواد العضوية التي لها المقدرة على إذابة المركبات المعقدة ومن ثم زيادة محتوى الفسفور الجاهز (Islam *et al.*, 1980).

نستنتج من كل ما سبق من نتائج أن الإضافة المشتركة من الأسمدة الحيوية الفطرية والبكتيرية بصورة مجتمعة بدون أو مع إضافة 50% من السماد النيتروجيني الموصى به أعطت أعلى قيمة للنيتروجين و الفسفور في التربة والنبات وان خفض كمية السماد إلى 50% من الكمية الموصى بها يعد مؤشرا جيدا لما يؤديه السماد الحيوي المضاف في تقليل كمية السماد الكيميائي الواجب استعماله والذي يقلل من تأثير التلوث البيئي لما يحويه من مواد كيميائية ضارة، وهذا ما أكدت عليه (بشير، 2003).

إن التأثير الايجابي للتسميد الحيوي الفطري والبكتيري الذي أدى إلى زيادة محتوى النيتروجين والفسفور في التربة والنبات يمكن أن يعزى إلى:-

1- التأثير الايجابي لفطريات المايكورايزا في عملية التثبيت الحيوي للنيتروجين بواسطة بكتريا الأزتوباكتر من خلال تيسيرها لعنصر الفسفور الضروري لسد حاجاتها من الطاقة اللازمة لعملية التثبيت الحيوي للنيتروجين (Ishac, 2000).

2- مقدرة فطريات المايكورايزا على إزالة ايونات الأمونيوم من مواقع تثبيت النيتروجين وبذلك تطيل من مدى فعالية إنزيم النيتروجينيز (Mostafa, 1990).

3- إفراز منظمات النمو من قبل البكتريا المثبتة للنيتروجين والذي ينعكس إيجابا في التنشيط المباشر للفعاليات الايضية لفطريات المايكورايزا ومن ثم مقدرة النبات على امتصاص المغذيات ومنها النيتروجين و الفسفور (Pacovasky, 2005).

4- التأثير المتداخل للفطريات و البكتريا مجتمعة في زيادة جاهزية المغذيات من نيتروجين و فسفور وهذا يؤدي إلى تحسين نمو النبات وتكوين مجموع جذري كثيف ذي سعة امتصاصية عالية (المنصور، 2002).

المراجــــــــــع العربية :

إبراهيم علي خليل ، مجيد عبد فريد ، رحاب رشيد طه وغفوري ياس خضير (2000). استجابة الذرة الصفراء (Zea mays) للتلقيح بالبكتريا Azotobacter chroococcum تحت مستويات مختلفة من النيتروجين ، مجلة الزراعة العراقية.5(7): 1- 11.

بشير عفراء يونس (2003). التداخل بين المايكورايزا وبكتريا الأزوتوباكتر و الازوسبيرلم وتأثيره في نمو وحاصل الحنطة. أطروحة دكتوراه – كلية الزراعة – جامعة بغداد.

التميمي فارس محمد سهيل (2000). دور فطريات المايكورايزا نوع Glomus mosseae في نمو نباتي الحنطة و الذرة الصفراء. رسالة ماجستير – كلية الزراعة – جامعة بغداد.

الحداد محمد السيد مصطفى (1998). دور الأسمدة الحيوية في خفض التكاليف وتقليل تلوث البيئة وزيادة إنتاجية المحصول. كلية الزراعة – جامعة عين شمس – الدورة التدريبية القومية حول إنتاج المخصبات الحيوية. المملكة الأردنية الهاشمية 16- 1998/5/21.

خالد عبد الطيف وهيب و بهاء الدين صدر الدين (1992). دراسة تأثير معدلات البذار والتسميد النيتروجيني على بعض الصفات النوعية لصفين من الحنطة تحت الظروف الديمية في شمال العراق. المجلة العراقية للعلوم الزراعية. زانكو. 6(1): 39 – 42.

الراشدي راضي كاظم (1987). علاقة التربة بالنبات. كلية الزراعة/جامعة البصرة.

السامرائي إسماعيل خليل (2003). التأثير المتداخل لفطر المايكورايزا وبكتريا الأزوتوباكتر في زيادة حاصل الذرة. مجلة العلوم الزراعية. 34(4).

السامرائي إسماعيل خليل و بهاء الدين صدر الدين (1996). تأثير فطريات المايكورايزا الداخلية و الفسفور على الحاصل ومكوناته لمحصولي فول الصويا والحنطة تحت الظروف الحقلية. مجلة زراعة الرافدين. 28(1).

الشيباني جواد عبد الكاظم (2005). تأثير التسميد الحيوي والعضوي و الإحيائي الفطري و البكتيري في نمو وحاصل نبات الطماطة. رسالة ماجستير – كلية الزراعة – جامعة بغداد.

الظفيري محمد إبراهيم جبار (1999). تأثير مستوى الكربون في المواد العضوية المضافة و التلقيح بـ Azotobacter vinelandii في تغير النيتروجين في التربة. رسالة ماجستير – كلية الزراعة – جامعة بغداد.

العيثاوي احمد محمد تركي (2004). دراسة وراثية أولية للحصول على عزلة بكتيرية مثبتة للنيتروجين الحيوي ومذيبة للفوسفات. أطروحة دكتوراه – كلية العلوم – جامعة الانبار.

مامندو ، نجيب اغاجان (1982). بعض التغيرات المايكروبيولوجية ذات العلاقة بالنيتروجين في الترب الصحراوية. رسالة ماجستير – كلية الزراعة – جامعة بغداد.

المنصور علي حازم عبد الكريم (2002). التحري عن عزلات عالية الكفاءة لبكتريا الأزوتوباكتر في ترب محافظة الانبار. رسالة ماجستير – كلية العلوم – جامعة الانبار.

المنظمة العربية للتنمية الزراعية (1998). الدورة التدريبية حول استخدام المخصبات الحيوية. المملكة الأردنية.

REFERENCES:

Abd-el-Malek Y, Abdalsalam MA, Monib M, El-Hadidy T. 1968. Effect of temperature on the rate of N2-fixation under calcareous soil conditions. B. Inst. Desert Egypte, 38(1): 127-135.

Azcon R. 2005. Selective interaction between free – living rhizosphere bacteria and Vesicular-Arbscular Mycorrhiza fungi. Soil. Boil. Biochem., 21: 639-644.

Baron EJ, Finegold SM. 1990. Diagnostic microbiology. Textbook for the isolation and identification of pathogenic organisms, 8th ed. St. Louis, Mosby-Year Book Inc.

Becking, J. H. (1992). The Family Azotobactereaceae. The Prokaryotes. 2nd ed. Ahandbook on the biology of bacteria : ecophyisology , isolation , identification , applications. Vol. 4. Springer. Berlin Heidelberg New York, pp. 3144 – 3170.

Black CA. 1965. Methods of soil analysis part (2). Chemical and Microbiological properties. AM. Soc. Agron. Inc. Puplisher, Madision , Wisconsin, USA.

Dubois M, Gilles KA, Hamiton JK, Robers DA, Smith F. 1956. Calovimetric method for determination for sugar and related substance. Anal. chem., 28: 350-360.

Govedarica M, Milic V, Gvozdenovic DJ. 1994. Specific relationship between azotobacter and some tomato varieties savtemend-poljprivreda (Yugoslavia). 42(1): 275-285

Hatwalne PV, Ingle RW, Thakare KG, Somani RG. 1998. Field performance of a symbiotic biofertilizers on grain yield of rain-fed kharif sorghum CSH-14. In: "Biofertilizers and Biopesticides, (Deshmukh AM. Ed.)". India.

Holt T, Krieg N, Sneath P, Staley J, Williams S. 1994. Bergy's Manual of Determinative bacteriology. 9th Ed. USA.

Hussain A, Arshad M, Hussain F. 2007. Response of maize (*Zae mays*) to Azotobacter inoculation. Biol. Fert. Soils, 4: 73-77.

Ishac YZ. 2000. Interaction of Azotobacter and Vescular Arbuscular Mycorrhizas In: Azotobacter in sustainable Agriclturech. 9th Ed. Narula N., India.

Ishac YZ, Yousef AN. 1972. A study on density and species of Azotobacter in soil , water and leaf sample from southern. Iraq. Technical Bulletion No. 42 of the Inst. Appl. Res. On Natural Resources Baghdad.

Islam M, Ayanoba A, Sanders FE. 1980. Response of Cowpea (*Vigan ungaiculata*) inoculation with VA-Mycorrhizal fungi and to rock phosphate fertilization in some unseterilized Nigerion Soils. Plant Soil, 54: 107-117.

Mezei S, Popovic M, Kovacevk L, Mrkovacki N, Nagl N, Malencic D. 1998. Effect of Azotobacter srains on sugar beet callus proliferation and nitrogen metabolism enzymes. Biol. plantarum, 40(2): 277-283.

Mostafa MI. 1990. Genotypic variation amongst Egptian crops with respect to chemical and biofertilizers. Ph. D. Thesis. Foc. Sci. Dundee Univ., Dundee UK.

Narula N. 2000. Azotobacter as an organism. In: "Azotobacter in sustainable Agriclture, (Neeru N. Ed.)". India.

Natarajan J, Oblisami G. 2005. Effect of bacterial inoculation maize. Nat. Symp. On BNF in relation to crop production, held at T. N. Agric. Univ. Combatore (Abst). 24.

Pacovasky RS. 2005. Influence of inoculation with Azotobacter chroococcum and Glomus fasciculatum on Zea mays nutrition. Plant Soil, 110: 283-287.

Rhods LH, Gerdeman JW. 1980. Nutrient translocation in VA-Mycorrhiza. In: "Cellular interaction in Soybosis and parasitism. (Cook CB, Pappas PW, Rudo Ed.)", Ohio State University Press, Columbus. pp. 173 – 195.

Sawhney SK, Randhirs S. 2000. Introductory practical biochemistry. Norsa publishing House. New Delhi.

Tago D, Barker SJ. 2000. The roles of Auxins and Cytokinins in Mycorrhizal symbiosis. J. Plant Growth Regul., (19)2: 144-154

Thomas H. 1975. The growth response to whether of simulated Vegetative swards of single genotype of lolium perenne. J. Agric. Sci. Camb., 84: 333-334.

Tomar RKS, Namdeo KN, Raghu JS, Tiwari KP. 1995. Effecacy of Azotobacter and plant growth regulators on Productivity of Wheat (*Triticum aestvum*) in relation to fertilizer, application. Indian Agric. Sci., 65(4): 256-259.

Witham FH, Baeds DF, Devlin RM. 1971. Experiments in plants physiology. Litton education publishing, Inc., New York.

UTILIZATION OF THE *AZOTOBACTER* AND MYCOHORRHIZA AS BIOFERTILIZER FOR IMPROVING THE GROWTH OF (*ZEA MAYS*) BY USING STERILE SOIL

Dhafer F. Al-Rawii, Mohammad A. Al-Azawii*, Ahmed Sh. A. Lafi*, Hiba Kh. Al-Hobaine

*Biology Department/College of Education for Pure Sciences/ University of Al-Anbar

This study was conducted to isolate and identify the *Azotobacter* from soils collected from several local sites in Al–Ramadi city to be used later as biofertilizer instead of chemical fertilizer for the growth of (*Zea mays*).

Eleven isolated of bacterial were isolates and identified as *Azotobacter* one isolate then selected as a sportier its ability to fix nitrogen.

Mycohorrhiza was also isolated from the corn roots and used with and without *Azotobacter* isolate as a biofertilizer as with corn seeds.

Fifty four plastic pots were filled with 10kg soil each. Half of these pots were filled with sterile soil. Ten corn seeds were sown in each pot which thinned into three plants after two weeks from planting. The experiment was setup in a completely randomized design with the following treatments which replicated three times:-

1- Control.

2- Seeds inoculated with *Azotobacter*.

3- Seeds inoculated with *Mycohorrhiza*.

4- Seeds inoculated with *Azotobacter* + *Mycohorrhiza*.

5- Soil with half of the recommended nitrogen (50% N).

6- *Azotobacter* + 50% N (Az + 50% N).

7- Mycohorrhiza + 50% N (My + 50% N).

8- *Azotobacter* + Mycohorrhiza +50% N (Az + My + 50% N).

9- Whole of the recommended nitrogen (100% N).

The parameters used in biological experiment were plant tall, leaf area, leaf number and stem diameter. The total content of chlorophyll and carbohydrates were estimated in plant tissues. The percentage of nitrogen and phosphors were also estimated in shoots and roots of the plant and in the soil. The results of this work show that:-

1- Plant height reached 97.3cm. In plant treated with Az + 50% N. The total leaf surface area was higher with (Az) treatment compared with other treatments 18.3 dm^2/plant.

2- Leaf number 14.6 leaf/plant treated with (My) treatment. The average diameter of stem was 1.9 cm/plant on plants treated with Az + 50% N.

3- The average dry weight of the shoot was 21.6 g/shoot with (My) or My + 50% N. The dry weight of the root reached an average of 7.33g/plants.

4- Higher amount of chlorophyll (A) was recorded with treatment (Az) 4.65 mg/g. On the other hand chlorophyll (B) was higher in plant treated with My + 50% N 0.95 mg/g. However, higher amount of total chlorophyll was recorded in plants treated with Az + My + 50% N 5.26 mg/g.

5- Higher amount of carbohydrates were recorded in plants treated with My + Az the amount of carbohydrates were 14.73 g/100g shoot and 14.15 g/100g in the tissues.

6- Using Az + My treatment resulted in higher percentage of Nitrogen 2.773% in the shoot. The percentage of Nitrogen in the root tissues was much higher in plants received Az + My treatment 2.52%.

7- The percentage of phosphorus in the shoot was much higher in plants treated with Az + My 0.85%. However, the percentage of phosphorus in the roots was the same 0.95% irrespective of the treatment or type.

8- The percentage of residual Nitrogen and phosphorus were estimated in the soil. The percentage of Nitrogen was 213 mg/kg Az + My treatment. The percentage of phosphorus was 25.6 mg/kg using Az + My +50%N treatment.

المحكمون:

أ.د. فتحي عواد منصور قسم النبات، علوم المنصورة

أ.د. تهاني محمد عبد الرحمن قسم النبات، علوم القاهرة