تأثير التداخلات بين المبيدات الحيوية والكيميائية والتسميد الحيوي على نباتات القمح (*Triticum aestevium*)

أطروحة مقدمة إلى

مجلس كلية الزراعة في جامعة بغداد

وهي جزء من متطلبات درجة دكتوراه فلسفة في

علوم التربة والمياه

(أحياء مجهرية)

من قبل

فارس محمد سهيل التميمي

1425هـ 2005 م

المستخلص

اشتملت الدراسة تنفيذ أربع تجارب ، فضلا" على عزل وتنقية وتوصيف بكتريا الـ(*Azotobacter chroococcum*) وذلك من خلال جمع (20) عينة تربة من رايزوسفير عدة محاصيل من مناطق مختلفة من محافظة بغداد وديالى . كانت التجربتان الأولى والثانية تجارب حقلية ، وذلك بهدف دراسة تأثير المبيدات الحيوية والكيميائية في التسميد الحيوي من فطر المايكورايزا (*Glomus mosseae*) وبكتريا (*Azotobacter chroococcum*) بصورة منفردة أو مجتمعة وبالتداخل مع التسميد الكيميائي (NPK) لنباتات القمح (Triticum aestevium L.) صنف طاقة (1) ، فضلاً على تأثيرهما في الصفات المايكروبولوجية في التربة . أما التجربة الثالثة والرابعة فقد نفذت مختبرياً بهدف قياس اقل تركيز مثبط للنمو (MIC) (minimum inhabitory concentration) .

1. عزل وتشخيص بكتريا الازوتوباكتر :

تم الحصول على (17) عزلة من بكتريا الازوتوباكتر والتي عزلت من تربة الرايزوسفير لحقول مزروعة بمختلف المحاصيل من مواقع مختلفة ضمن محافظتي بغداد وديالى.

أظهرت نتائج الفحص والتشخيص إن جميع العزلات الـ (17) هي تابعة للنوع (*A.chroococcum*) ، واختيرت العزلة (A17) كعزلة محلية استعملت كسماد حيوي للتجارب الحقلية على أساس نشاطها وكفاءتها العالية في تثبيت النتروجين الجوي عن طريق قياس كمية النتروجين المثبتة في الوسط التخصصي لها .

2. التجارب الحقلية :

نفذت تجربتان حقليتان في محافظة ديالى / قضاء المقدادية في تربة مزيجة طينية غرينية باستعمال تصميم القطاعات الكاملة المعشاة (RCBD) في الموسم الشتوي لعام (2002-2003) ، واشتملت كل تجربة على (48) وحدة تجريبية ، نتجت من التداخل ما بين (4) معاملات من التسميد الحيوي و (2) مستوى من السماد الكيميائي (NPK) و(± 2 مبيد حيوي و ± 2 خليط المبيدات) و (3) مكررات .

ظهرت النتائج ان اضافة الاسمدة الحيوية الفطرية والبكتيرية بصورة منفردة او مزدوجة سببت زيادة معنوية في قيم مكونات النمو وحاصل الحبوب عند اضافة وعدم اضافة المبيد الحيوي (*T.harzianum*) وخليط المبيدات الكيميائية (توبك + لوكران) مقارنة مع معاملة عدم إضافة سماد حيوي ، كما تفوقت معاملة التسميد الحيوي المزدوج معنوياً في حاصل الحبوب على معاملتي التسميد

الحيوي المنفرد الفطري والبكتيري عند إضافة المبيد الحيوي وغير معنوي عن عدم إضافته ، بينما تفوقت عند إضافة وعدم إضافة خليط المبيدات الكيميائية ولكنها لم تصل إلى درجة المعنوية .

ان استعمال المبيد الحيوي سجل أعلى غلة انتاج من الحبوب عند كلا المستويين من السماد الكيميائي وتحت جميع معاملات التسميد الحيوي المنفردة او المزدوجة وبلغت اعلى قيمة لحاصل الحبوب عند اضافة السماد الحيوي المزدوج مع اضافة (100%) من السماد الكيميائي ، اذ بلغت (3085.21) كغم . هكتار$^{-1}$ وهذه لا تختلف معنوياً عن قيمها في حالة اضافة (50%) من السماد الكيميائي ، اذ بلغت (3039) كغم . هكتار$^{-1}$. اذ ان الاضافة المزدوجة حققت زيادة قدرها (30% و 20.96%) و (23.07 % و 18.1 %) عند اضافة المستوى (50% و 100%) من السماد الكيميائي وفي حالة إضافة وعدم إضافة المبيد الحيوي على التوالي ، وبذلك فان التداخل الثلاثي ما بين الأحياء (*A.chroococcum* و *G.msseae* و *T.harzianum*) كان من النوع الإيجابي . ان الاضافة المزدوجة من الاسمدة الحيوية الفطرية والبكتيرية حققت زيادة قدرها (18% ، 18.12%) عند اضافة وعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية على التوالي بصرف النظر عن اضافة السماد الكيميائي .

عند جميع المعاملات ولكلا المستويين من السماد الكيميائي ، فاضافة المبيد الحيوي ادت الى زيادة اعداد الخلايا البكتيرية لبكتريا *A.chroococcum* والوحدات السكانية لفطر الترايكويرما ونسبة الاصابة المايكورايزية والسبورات مقارنة بعدم اضافته . وسجلت اعلى القيم عند اضافة السماد الحيوي المزدوج ، اذ حققت زيادة قدرها (32.42%،23.8%)و (81.42%، 60.5%) و (25.67%،19.35%) و (48.3%،28.57%) لكل من اعداد الخلايا الكتيرية والوحدات السكانية لفطر الترايكوديرما والنسبة المئوية للاصابة وعدد السبورات وعند اضافة (50%،100%) من السماد الكيمائي، على التوالي مقارنة بعدم اضافته .

اضافة خليط المبيدات الكيميائية ادت الى خفض اعداد الخلايا البكتيرية ونسبة الاصابة المايكورايزية وعدد السبورات مقارنة بعدم اضافته ولجميع المعاملات ولكلا المستويين من السماد الكيميائي وسجلت اعلى القيم عند اضافة السماد الحيوي المزدوج مقارنة بمعاملات التسميد الحيوي المنفرد ، وبلغت نسبة الانخفاض (10.57%،19.9%) و (13%،23.3%) و (13.54%،20.3%) لكل من اعداد الخلايا البكتيرية والنسبة المئوية للاصابة المايكورايزية واعداد السبورات وعند اضافة (50%،100%) من التوصية السمادية على التوالي ، مقارنة بعدم اضافته وبغض النظر عن اضافة الاسمدة الحيوية .

عند رفع نسبة السماد الكيميائي من (50%الى100%) من التوصية السمادية ادت الى خفض اعداد الخلايا البكتيرية ونسبة الاصابة المايكورايزية انخفاضاً معنوياً ولكلا التجربتين .

3. التجارب المختبرية :

اجريت تجربتان مختبريتان باستعمال تصيمم القطاعات الكاملة المعشاة (RCBD) ، تضمنت كل تجربة (144) وحدة تجريبية لكل مدة حضن . نتجت من (12) عزلة بكتيرية واربعة مستويات من خليط المبيدات الكيميائية (صفر والموصى به واقل واعلى منه) و (3) مكررات ، وحضنت لخمس مدد حضن (3 ، 7 ، 10 ، 14 ، 21) يوماً لحساب الـ (MIC) في نمو واعداد الخلايا البكتيرية .

اظهرت النتائج ان العزلات (I_1 , I_2 , I_3) والماخوذة من المعاملات التي عوملت بخليط المبيدات الكيميائية يمكن عدها عزلات محلية اكثر تحملا" لخليط المبيدات الكيميائية مقارنة بالعزلات (I_4, I_5, I_6) الماخوذة من المعاملات غير المعاملة بخليط المبيدات ، علماً ان العزلات الستة عزلت من المعاملات التي اضيف لها (50%) من التوصية السمادية ، اذ ان الـ (MIC) للعزلات (I_1 , I_2 , I_3) هو التركيز الرابع (C3) لمدة الحضن (3) ايام و واظهرت اكثر تحملا" عند جميع التراكيز عند مدد الحضن (7 ، 10 ، 14 ، 21) يوماً . بينما العزلات (I_4 , I_5 , I_6) لم تسجل نموا" واعدادا" عند مدة الحضن (3) ايام، اذ إن الـ (MIC) لها هو التركيز الثاني (C1) و MIC لها هو التركيز الرابع (C3)عند مدد الحضن (7 ، 10 ، 14 ، 21) يوماً .

بينت النتائج ان العزلات (I_7, I_8, I_9) والماخوذة من المعاملات التي اضيف لها خليط المبيدات يمكن عدها عزلات محلية اكثر تحملا" لخليط المبيدات الكيميائية مقارنة بالعزلات (I_{10}, I_{11} , I_{12}) والماخوذة من المعاملات غير المعاملة بخليط المبيدات الكيميائية وان جميع العزلات الستة عزلت من المعاملات التي اضيف لها (100%) من التوصية السمادية ، اذ ان الـ (MIC) للعزلات (I_7, I_8, I_9) هو التركيز الثالث (C2) لمدة الحضن (3 و 7) ايام والتركيز الرابع (C3) لمدة الحضن (21) يوماً و اظهرت اكثر تحملا" عند جميع التراكيز لمدة الحضن (10،14) يوماً ، بينما العزلات (I_{10}, I_{11} , I_{12}) لم تسجل نمواً واعداداً عند مدة الحضن (3) ايام اذ إن MIC لها هو التركيز الثاني (C1) وكان الـ (MIC) لها هو التركيز الثالث (C2)عند مدة الحضن (7) ايام و التركيز الرابع (C3) عند مدة الحضن (10 ، 14 ، 21) يوماً .

ان العزلات (I_1 , I_2 , I_3) الماخوذة من المعاملات المعاملة بخليط المبيدات مع اضافة (50%) من التوصية السمادية اظهرت اكثر تحملا" من العزلات (I_7, I_8, I_9) الماخوذة من المعاملات التي عوملت بخليط المبيدات مع اضافة (100%) من التوصية السمادية .

1-المقدمة

تقوم الزراعة الحديثة على الاستخدام المكثف للتقنيات الزراعية المتطورة بهدف زيادة الإنتاج الزراعي والحفاظ على الثروة المحصولية بالقضاء على الآفات والأمراض التي تصيب النبات والحيوان، ولعل استعمال الاسمدة الكيميائية والمبيدات من اكثر المدخلات الزراعية تأثيرا في رفع انتاجية الترب والمحاصيل الزراعية، ومن اجل هذا زاد استعمال الاسمدة الكيميائية والمبيدات في الحقل الزراعي بشكل اصبح يهدد بالخطر صحة الانسان والحيوان ، بل وعلى النبات نفسه، حتى اضحى الاثر الباقي والمتراكم لبعض الاسمدة والمبيدات يربو في بعضها على عدة سنين في باطن التربة الزراعية.

فالاستعمالات المفرطة للمبيدات الكيميائية تسبب اختلالآ في التوازن الطبيعي بين الآفة واعدائها الحيوية فضلا على تاثيراتها السلبية في عناصر البيئة والكتلة الاحيائية في التربة (Alexander , 1977) وذلك من خلال تثبيط هذه المبيدات لاعداد وانشطة الاحياء المجهرية المستوطنة في التربة مما يؤثر في العمليات الحيوية الجارية في التربة، وممكن ان يحصل التمثيل الغذائي لهذه المركبات بوساطة احياء التربة المجهرية مما يؤدي الى فقد سميتها او تنشيط لها او غيره من الاثار ، ولذا فقد تحول مفهوم الانتاج الزراعي اليوم من ستراتيجية الوصول الى ((اقصى انتاج)) الى ستراتيجية ((المستوى الامثل للانتاج)). أي الارتقاء بنوعية اقصى منتج يمكن تحقيقه ومن مواصفاته هو نظافة المنتج وخلوه من بقايا المبيدات وسميتها.

في هذا الاطار تعد تقنية استعمال المكافحة الحيوية والمخصبات الحيوية من اهم التقنيات الزراعية المتطورة من خلال الاستخدام المرشد والمتكامل للاسمدة الكيميائية والحيوية، لتقليل الاضافات المفرطة من الاسمدة الكيميائية والمبيدات على حد سواء من خلال اضافة المبيدات الحيوية والاسمدة الحيوية في انتاج عدد من المحاصيل البستنية والحبوب.

تعد فطريات المايكورايزا من احياء تربة الرايزوسفير وتتعايش مع عدد من العوائل النباتية، تكمن اهمية هذه الفطريات كون جزء منها ينمو داخل النظام الجذري والجزء الاخر ينمو داخل تربة الرايزوسفير وبهذه الخاصية فانها تنفرد عن باقي احياء التربة. اشارت العديد من المصادر الى ان فطر المايكورايزا يزيد من امتصاص المغذيات الكبرى وخصوصا عنصر الفسفور في الاوساط الغذائية ذات المحتوى المنخفض من مستوى العنصر (Sylvia et al., 2001) فضلا عن تاثيراتها الايجابية في نمو النبات من حيث افرازها للمواد المنظمة للنمو وتحسين مقدرة الاحياء على التثبيت الجوي للنتروجين (Barker and Tagu,2000) واهميتها في اكساب العائل النباتي العديد من التاثيرات الفسيولوجية مثل مقاومة الملوحة (Abbas, 1983 والسامرائي والطائي 2003 abc) وتحمل الجهد المائي (Nelsen and Safir, 1982) والمقاومة الحيوية (Mcgrow, 1983).

يعد جنس الازوتوباكتر من اجناس البكتريا الحرة المعيشة وذات المقدرة على تثبيت النتروجين الجوي والذي انتشر استعماله في استخدامات الاسمدة الحيوية، فضلآ على اهميتها في افراز بعض الهورمونات

والانزيمات والفيتامينات ومنظمات النمو في الاوساط الصناعية واوساط نمو النباتات (Haller and Stople, 1985 ; Abbas and Okon,1993 والسامرائي، 2002).

يعد فطر الترايكوديرما *Trichoderma spp* من الفطريات الرمية والتي تستخدم كمبيد حيوي (Harman,2000) وذلك من خلال بعض الافرازات الايضية لهذه الفطريات والتي تكسب العائل النباتي المقاومة لبعض المسببات المرضية في التربة (Elad et al.,1999) فضلا على كونها جزءا" من مكونات الرايزوسفير الذي تتكاثر فيه مما يعزز نمو النبات من خلال دورها في دورات العناصر ومنها النتروجين والفسفور والكبريت (Altomare et al., 1999).

تشترك هذه الاحياء في انواع من التداخلات منها (Microb- Plant) و (Microb – Microb – Plant) و (Microb –Microb) ذات التاثيرات الايجابية في نمو العائل النباتي وتحفيز هذه الاحياء بعضها مع بعض (Hatwalne et al.,1998 والسامرائي 2003a,b). استهدفت الدراسة الحالية الى ما يأتي:

1. دراسة حالة التداخل بين الاحياء (*G.mosseae ; A.chroococcum ; T.harzianum*) واثرها في نمو وحاصل نبات القمح.
2. تاثير اضافة المبيدات الحيوية والكيميائية في اعداد الخلايا لبكتريا *A.chroococcum* وفطر المايكورايزا *G.mosseae* وعلاقتها بنمو وحاصل نبات القمح.
3. امكانية الحصول على عزلات بكتيرية من *A.chroococcum* مقاومة لخليط مبيدات الادغال (توبك + لوكران) من منطقة الرايزوسفير المعاملة بهذه المبيدات ثم حساب اقل تركيز مثبط لهذه العزلات (M.I.C.) (minimum inhabition concentration).

2- مراجعة المصادر

2-1.الاسمدة والمبيدات الحيوية في الزراعة الحديثة

2-1-1.مفهوم التسميد الحيوي

يعد التسميد الحيوي واحدا من انجازات التقنية الحياتية، يتمثل بعزل وتنقية وتوصيف احياء مجهرية مختلفة تضاف كلقاحات الى وسط نمو النباتات بهدف زيادة امتصاص العناصر الغذائية، اذ تغير المحتوى الميكروبي في منطقة الرايزوسفير ويعتمد نجاحه على كفاءة الكائن الحي المستخدم ،مدى توافق الكائن المجهري مع العائل النباتي والمقدرة التنافسية مع الكائنات الموجودة اصلاً في التربة فضلاً على اعداد الاحياء في منطقة الرايزوسفير ومقدرتها على البقاء (الحداد،1998).

يؤثر التسميد الحيوي في العائل النباتي من خلال اليات مختلفة منها تثبيت النتروجين الجوي،انتاج منشطات النمو ،زيادة امتصاص العناصر الغذائية وحماية العائل النباتي من المسببات الممرضة. يعد استعمال الاسمدة الحيوية طريقة رخيصة وامينة من الناحية التطبيقية، اذ تستعمل للتقليل من اضافة الاسمدة الكيميائية بما لايقل عن (25%) (كذلك،2000) فضلا" على دورهافي الحد من مشكلات التلوث البيئي.

تشمل الاسمدة الحيوية على اسمدة بكتيرية ،فطرية وطحلبية . الاسمدة الحيوية البكتيرية تتضمن مثبتات النتروجين (بكتيريا الرايزوبيا ،الازوتوباكتر والازوسبيرلم) ومذيبات الفسفور وبكتريا السليكات. اذ تعد البكتريا المثبتة للنتروجين بنوعيها التعايشية (*Rhizobia spp*) وغيرالتعايشية من اهم انواع البكتريا المستعملة في مجال التسميد الحيوي، وتعد الازوتوباكتر والازوسبيرلم من اكثر الاحياء حرة المعيشة المثبتة للنتروجين كفاءة. فقد اشار Foriani et al.(1995) الى انه يمكن عزل بحدود (100) سلالة بكتيرية مثبتة للنتروجين من منطقة الرايزوسفير ولكن الازوتوباكتر والازوسبيرلم تعد من اكثرها كفاءة من حيث مقدرتها على تثبيت النتروجين الجوي، فضلاً على اهميتها في افراز بعض منظمات النمو ذات التاثير الفاعل في زيادة النمو (السامرائي، 2002).

هناك العديد من بكتريا التربة لها المقدرة على اذابة فوسفات الكالسيوم الثلاثية وتحويلها الى صورة جاهزة تمتص من قبل النباتات وقد يعد الجنس *Arthrobacter spp* من البكتريا المهمة المذيبة للفوسفات اذ تمثل (50-60%) من الميكروبات المذيبة للفوسفات بالتربة فضلاً على الاجناس (*Pseudomonas spp, Flavobacterium spp, Bacills spp, Achromobacter spp, Sterptomyces spp, Brevibacterium spp*) (الحداد،1998) فضلا على وجود بعض الانواع التي تقوم بتحليل المادة العضوية وافراز بعض منشطات النمو كبكتريا(*Xanthomonas*).

اشارت العديد من الدراسات الى نجاح استعمال بكتريا السيلكات كمخصبات حيوية، اذ لها المقدرة على تحليل سليكات الامونيوم في معادن الطين (البيوتيت، المسكوفيت، الميكروكلين، الارثوكلاز) مؤدية الى

تحرير عنصر البوتاسيوم مما يجعله جاهزا للامتصاص من قبل النباتات ومن هذه البكتريا (*Thiobacillus spp, Thiobacillus thioexidans, Enterobacter spp, Nitrobacter uniagradabyi*).

اما الاسمدة الحيوية الفطرية فتشمل مذيبات الفسفور وفطريات تحلل السليكات ، فان كثير من الفطريات مثل *Rhizopus, Aspergillus, Penicillium* لها المقدرة على اذابة الفوسفات. تعد فطريات المايكورايزا الداخلية من اكثر احياء التربة تأثيرا في امتصاص الفسفور بوساطة جذور النباتات وذلك لمقدرتها على تحوير بيئة الجذور ، اذ لها المقدرة على افراز الكثير من المركبات العضوية لاذابة المركبات المعقدة في منطقة الرايزوسفير وبذلك تتحول من مصادر الفسفور غير الذائبة الى ذائبة كليا مما يؤدي الى زيادة امتصاص الفسفور (Cooper,1984 والسامرائي وسلمان،2004) . توجد الكثير من الفطريات لها المقدرة على تحليل سليكات الامونيوم الموجودة في معادن الطين محررة بذلك عنصر البوتاسيوم ومنها فطريات (*Aspergillus, Mucor, Penicillium, Fusarium spp,Trichoderma lignorum*).

ومن الاسمدة الحيوية الطحلبية تعد الازولا والطحالب الخضراء المزرقة شائعتي الاستعمال في الاراضي الغدقة المزروعة بالرز من حيث مقدرتها على تثبيت النتروجين الجوي، اذ امكن تنمية الازولآ في مزارع مائية مناسبة لاستعمالها كلقاح في مزارع الرز كما يمكن تنميتها في مزارع الرز بعد اجراء عملية الشتل اذ ان الازولآ تؤدي الى زيادة حاصل الرز بنسبة 10% (EL-Bassel and Ghazi,1996). الطحالب الخضراء المزرقة لها المقدرة على افراز فيتامين B12 , G واوكسينات تسهم في تحسين نمو نبات الرز(محمود واخرون، 1988).

2-1-2. مفهوم المبيدات الحيوية

لقد رافق التطور في اساليب الزراعة اهتمام وتنام في استعمال طرائق متنوعة ومتعددة في مكافحة الآفات ومنها مكافحة المسببات 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 ايجاد بدائل للمبيدات التي ادت الى الاخلال بالتوازن الحيوي بين الكائنات الحية في البيئة، فبرز مفهوم المبيدات الحيوية في هذا المجال كوسيلة ناجحة في المكافحة سواء استعملت بمفردها او بمعية مواد اخرى.

تعرف المبيدات الحيوية بانها استعمال كائن حي في تثبيط او قتل او منع تكاثر كائن حي اخر غير مرغوب فيه (Deacon,1983) اذ اشار دلالي (1993) الى ان المبيدات الحيوية تعتمد على اسس مهمة هي امتلاك بعض الاحياء المجهرية المقدرة على ايقاف او تثبيط نمو احياء مجهرية اخرى عند وجودها في وسط واحد من خلال عدد من اليات تمتلكها تلك الاحياء.

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 Scabies*)

بالسماد النباتي الاخضر، اذ عزيت المكافحة الى بكتريا رمية تكاثرت اعدادها في المادة العضوية للسماد الاخضر مما اثر في المسبب الممرض (Mehrotra et al.1997) . واستمرت الدراسات حتى عقد الثمانينات عند ظهور اول مبيد حيوي في العالم مادته الفعالة ابواغ الفطريات لمكافحة مسببات مرضية فطرية او الديدان الثعبانية (نيماتودا)(Pietro,1995; Howell et al.2000).

على الرغم من تعدد انواع المبيدات الحيوية وخاصة الفطرية منها والتي تنتمي معظمها الى صنف (*Hyphomycetes*) مثل *Trichoderma spp; Gliocadium spp* ; *Penicillium spp* (Jensen and Wolffhechel,1995) وانواع من البكتريا مثل *Bacillus spp* ; *Pseudomonas* ; *Streptomyces spp* (Whipps,1997) الا ان معظم الدراسات ركزت على استعمال انواع الفطر *Trichoderma spp* بسبب سهولة عزله واكثاره ونموه السريع وعدم احتياجه الى متطلبات غذائية خاصة (Wells,1988) وتأثيره الايجابي في نمو النباتات فضلاً على تاثيره في عدة مسببات فطرية ممرضة لمحاصيل مختلفة (Harman,2000).

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* (Jatala,1986). بعدها توالت المستحضرات التجارية الحيوية وكما في الجدول (1).

3-1-2.الآثار المترتبة عن الاستعمال المفرط للمبيدات الكيميائية

تعد اضافة المبيدات الكيميائية بهدف مقاومة المسببات المرضية او القضاء او الحد من الادغال أحد الطرائق شائعة الانتشار في زراعة المحاصيل الحقلية المختلفة والبستنية، الا ان الاستعمالات المفرطة لهذه المبيدات ذات تاثيرات سلبية في صحة الانسان وظهور مشكلة التلوث البيئي (Michaelidon et al.,2000).

بغض النظر عن الهدف من اضافة المبيد او المكان المضاف اليه فان المبيدات لها المقدرة على الانتقال خلال عناصر البيئة المختلفة (التربة والماء والهواء) لكي تتراكم بدرجات مختلفة في النباتات (Hill and Wright ,1978). 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. لاحظ Letey and Farmer (1974) ان حركة المبيدات في التربة تحصل بطريقتين ، االانتشار(diffusion) والانتقال الكتلي (mass flow) . اذ 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). ان بقاء المبيدات في التربة غالباما يرتبط مع الصفات الكيميائية والفيزيائية للتربة كاحتوائها على الطين والمادة العضوية ودرجة التفاعل (Willems et al.,1996). فقد اشار Mc Gratlh (1996) الى ان امتزاز المبيدات 2,4 – D و Atrazaine و Lindane يزداد بانخفاض (pH) التربة اقل من

(6) بينما ذكر Judith et al. (1990) ان امتزاز مبيد الادغال 2,4- D كان اعلى في الترب الطينية واقل في التربة الرملية .

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. اذ 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 (Pothuluri et al. 1990; Bergstrom,1996)

جدول (1): المستحضرات الحيوية ومادتها الفعالة واستعمالاتها لمقاومة المسببات المرضية

اسم المستحضر	المادة الفعالة	الاستعمال	النوع النباتي المعامل	المصدر
Binab-T	Trichoderma spp	لمقاومة الفطريات chondros terem pupurenm ; Endothio parasitica ; Verticillium mathonsei	جروح الاشجار الناتجة عن التلقيم واشجار الكستناء والمشروم	
P.gsuspenion	الفطر phiebiagigantea	لمقاومة الفطر Heterobusidia annosum	الاشجار	
Mycostop	الفطر Sterptomyces spp	لمقاومة الفطر Alternaria brossicicola	الاشجار	
Dagger	البكتريا P.fluorescens	لمقاومة الفطرين P.ultimum; R.solani	القطن	
Norbac 84-c	البكتلريا Agrobacterium radiobacter	لمقاومة البكتريا Atumifacient	الاشجار	
Galltrol	البكتريا Agrobacterium radiobacter	لمقاومة البكتريا Atumifacient	الصليبيات	Lewis,1991
F-step	*Trichoderma spp*	لمقاومة مرض سقوط البادرات المتسببة عن الفطريات المستوطنة في التربة	محاصيل الباقلاء والبزاليا والذرة	
Gliogard	G-virens	لمقاومة فطريات التربة		Lewis et al.,1995
GI-21	G-virens	لمقاومة الفطرين R.solani ,Pythium spp	تعفن الجذور	
Soilgard	Gliocladium	لمقاومة فطريات التربة الممرضة		Mehrotra et al., 1997
Rootshield	العزلة T-22 للفطر T.harzianum	لمقاومة فطريات التربة الممرضة		
Trichoderma viride	T.viride	تعامل لاستحثاث المقاومة ضد مرض		Howell et al., 2000

		الذبول وتعفن الجذور		
التحدي	T.harzianum	يستعملان لمقاومة المسببات المرضية المستوطنة في التربة وكذلك الديدان الثعبانية	التربة	

تشكل المبيدات احد ملوثات الهواء المهمة ، اذ يمكن للمبيدات من الدخول الى الهواء بشكل حبيبات وقطرات وابخرة وروائح تعمل جميعها على تلوث الهواء، لقد اشار Wassermann(1966) الى ان كمية مبيدHCH في الهواء تراوحت بين (2.6–12.5) ملغم. م$^{-1}$ عند استعمال آلة الرش الارضية في حين تراوحت بين (14– 53.7) ملغم .م$^{-1}$ عند استعمال الطائرات في رش المبيد. ان تلوث الهواء بالمبيدات يعتمد على الظروف المناخية وحجم دقائق المبيد ونوع المستحضر المستعمل ، ذكر (Lingman (1975 ان ابخرة المبيد 2,4– D تقتل النباتات او تسبب تثبيط انبات البذور. ووجد (Spencer and Cliath (1974 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 الاثار 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 (شعبان والملاح، 1993) . فقد ذكر (Decker (1962 ان استعمال احد المبيدات بتركيز (3) رطل . ايكر$^{-1}$ على محصول الجت فان ادخال الابقار مباشرة في اليوم الاول بعد المعاملة ادى الى ظهور 9 اجزاء في المليون من بقايا المبيد في الحليب وخزنت كميات كبيرة من المبيد في الانسجة الدهنية للحيوان. فضلاً على ذلك فان للمبيدات تاثيرات مهمة كدخولها في السلسلة الغذائية للحياة المائية والبرية كتاثيرها في الاسماك والطيور البرية ومياه الشرب ، كما ان استعمال المبيدات البطيئة التحلل ولمدة طويلة يؤدي الى تراكمها في المواد الغذائية والتربة اذ يمكن تمثيلها بالنباتات وتراكمها في الاجزاء الماكولة من المحاصيل الجذرية.

سجلت العديد من الدراسات تاثيرا سلبيا للمبيدات في البيئة من خلال زيادة التلوث والاضرار في صحة الانسان والنبات والحيوان (Mehrotra et al.,1997 ; Milosevic and Govedarica,2002) فضلاً على تطور سلالات مقاومة من المسببات المرضية الفطرية لبعض المبيدات المستعملة في مكافحتها (Brent and Hollomon,1998).

4-1-2. دور الاحياء المجهرية في التحلل الحيوي للمبيدات الكيميائية

1-4-1-2. العوامل المؤثرة في تحلل مبيدات الادغال

ان العوامل الرئيسية التي تتحكم في مصير المبيدات يمكن تحديدها بسلوك المبيدات في التربة (Arnold and Briggs,1990) ومن هذه العوامل :

- التطاير Volatillisiation : ان تطاير مبيدات الادغال يصبح ذا اهمية اقتصادية عند تطايره مما يؤدي الى فقدان المبيدات ومن ثم يؤثر في التراكيز المستعملة من المبيد ، هناك عوامل عدة تحدد مقدار فقد المبيد بالتطاير منها ، نسجة التربة والمادة العضوية والرطوبة والحرارة ، اذ اشار(Charles et al .1987) الى ان التطاير يزداد مع انخفاض محتوى التربة من الطين والمادة العضوية ، وان فقد المبيد يزداد بارتفاع درجة الحرارة (Parochetti et al.1976).
- الغسل Leaching: حركة المبيد الى الاسفل خلال مقد التربة تعرف بالغسل ، اذ تغسل المبيدات من التربة اما بطريق الانجراف والجريان السطحي او بطريق الحركة الى الاسفل والانتقال الى الماء الارضي مع مياه الصرف (Milosevic and Govedarica,2002) ، عملية غسل المبيدات تعتمد على عدة عوامل منها ، الخصائص الكيميائية والفيزيائية للتربة ودرجة ذوبانية المبيد وقابلية ادمصاصه ومعدل تحلله (Anderson , 1983) فضلاً على كمية الماء المضافة وشدة الامطار (Khan et al,1976) . فقد وجد (Peek and Arnold (1989 بان المبيدات (metribuzine , Ethyl Th iometei buzi) يزداد نشاطها وفعاليتها في الترب الطينية قياسا" بالترب الرملية بسبب عمليات الغسل الشديدة للمبيدات في الترب الرملية . وقسم (Kruger et al. (1996 حركة ثمانية مبيدات ادغال تبعا لاستجابتها المختلفة للغسل، شديدة الحركة ، متوسطة ، قليلة وشبه غير متحركة وان حركتها ارتبطت سلبيا مع محتوى المادة العضوية وايجابيا مع محتوى الرمل، وذكر Di et al.(1998) بان 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 تحللها بسبب قلة نشاط الاحياء المجهرية في هذه الطبقة ، ونتيجه مشابه حصل عليها Kookana and Aylmore(1995) بالنسبة لمبيد الادغال Fenawiphos .

الامتزاز Adsorption : 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 غيرالعضوية ومن ثم يصبح المبيد اقل سمية وبهذا يصبح غير جاهز للتحلل الحيوي مدة من الزمن ولذا فان امتزاز مبيدات الادغال على اسطح التبادل يقلل من فقد المبيد عن طريق التعرية والغسل (Anderson,1983). اوضح Mc Gratlh(1996)

بان الامتزاز ارتبط ارتباطا قويا بمحتوى التربة من الكاربون العضوي (0.65 , 0.91 , 0.96 =r^2) للمبيدات Landan , Atrazine , D-4,2 ،على التوالي.

- التحلل الضوئي photoiysis degradation : للمبيدات المقدرة على التحلل ضوئيا باشعة الشمس وبذلك يتم تثبيط فعالية المبيد عند تعرضه لاشعة الشمس ولذا ينصح بوضع المبيد في قناني داكنة اللون، ومن المبيدات الحساسة لتاثير اشعة الشمس هي , S-triazines Amiben , Trifiluralin وبعض مبيدات مجموعة اليوريا (Anderson, 1977) . بين(Wolfe et al.(1990 ان اشعة الشمس وبمساعدة عوامل البيئة الاخرى تعمل على تحويل المبيد من الحالة السمية الى حالة اقل سمية.

وبما ان الدراسة تهدف الى فهم حالة التداخل بين المبيدات الكيميائية والحيوية مع احياء التربة المجهرية فسوف نركز اهتمامنا على التحلل الحيوي.

2-4-1-2. تقانة التحلل الحيوي لمبيدات الادغال

من اهم العمليات التي تعمل على خفض وازالة متبقيات المبيدات من التربة هي عملية التحلل الميكروبي ، اذ ان مجموعة الاحياء في التربة تشكل نظاما كيميائيا حيويا له القابلية على انتاج الانزيمات التي بمقدورها تحليل انواع كثيرة من المبيدات ، نوقشت الية التحلل الحيوي للمبيدات من قبل العديد من الباحثين (Bollag and Liu,1990 ; Cain and Head ,1991) ووجدوا ان كثير من الكائنات الحية التي عزلت من التربة اظهرت قابلية كبيرة لتحليل كثير من المبيدات .

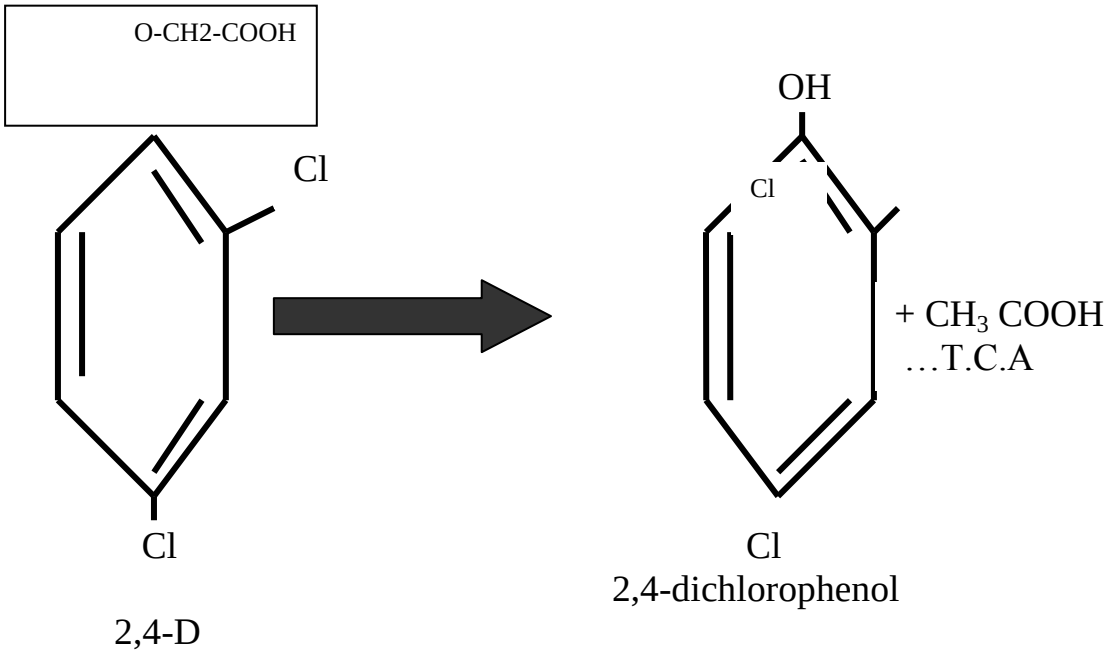
1-2-4-1-2. دور البكتريا في التحلل الحيوي لمبيدات الادغال

تقسم البكتريا التي تستطيع تحلل المبيدات الى مجموعتين :

المجموعة الاولى: تعمل على تحليل المبيد دون استعماله مصدرا للكاربون والطاقة الايضية المرافقة cometabolism او الاكسدة المرافقة cooxidation ، فوجد ان مبيدات الادغال (D – 4، 2 ، TBA -3-6، 2 او T – 5 ، 4 ، 2) يمكن ان تتحول الى dichlorocatechol 3,5 من دون استعمالها كمصدر للكاربون والطاقة من قبل الكائن الحي (قاسم وعلي ، 1989).

المجموعة الثانية: تستعمل المبيدات مصدرا للكاربون والطاقة والنتروجين والكبريت احيانا (Kaufman,1974) وذلك من خلال آليات مختلفة منها:

1. مقدرتها على تغيير جزيئات المبيد الفعالة الى جزيئات غير فعالة (غير سامة) كما اوضحها (Kaufman,1974) كتحويل ال(D -4 ، 2) بفعل الجنس *Arthrobacter spp* الى 2 ، 4 – dichlorophenol :



2. بعض البكتريا لها المقدرة على تحويل بعض المبيدات غير الفعالة (غير سامة) الى اخرى فعالة (مبيد سام) كتحويل مبيد الادغال قليل السمية ethyl (Dicholoro phenol sodium – (– 2 ، 4– sulfate) الى مبيد ادغال اكثر سمية (D –4، 2) (Anderson,1983) .

3. تعقيد المبيد : 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 تعقيدا بوساطة بكتريا (*spp* *Arthrobacter spp*; *Achromobacter*) .

3. التحلل : وفيه تتحول المادة الكيميائية المعقدة الى نواتج بسيطة ، اذ تقوم اجناس معينة من البكتريا بتحليل المبيدات الى (H2O , CO2) والعناصر المعدنية المكونة له وقسم من الكاربون المكون للمبيد لاستعماله في بناء خلايا جديدة (الراشدي، 1987) . فقد ذكر Alexander (1977) ان بكتريا *Pseudomonas spp* تستطيع تحلل مبيد الادغال 2,4-dichloro phenol الى (CO_2,Cl^{-1}). اما بكتريا *Achromobacter spp* فلها المقدرة على تحليل مبيد الادغال (2,4-D) الى CO_2 وماء و Cl^{-1} (Lynch,1983). وتستطيع بكتريا *Flavobacterium spp* من تحلل مبيد الادغال (2,4-DB) الى ماء و CO_2 .

هناك بعض اجناس من البكتريا مثل*Bacillusspp, Pseudomonas spp* لها القابلية على تحلل مبيدات الادغال المشتقة من اليوريا كمبيد (monuron , diuron) الى CO_2 وامونيا. كمابين (Tu and Bollen 1968) بان مبيد parquat يستهلك كمصدر للكاربون والنتروجين في البيئة الغذائية الخاصة بنمو بكتريا التربة (*Agrobacterium spp* , *Bacillus spp* , *Pseudomonas spp*) . وذكر (Lynch (1983 ان هناك

سلالات بكتيرية تابعة للاجناس *Flavobacterium spp , Corynelaterium spp , Arthrobacter spp* *Achromobacter spp* , *Mycoplana spp* , تستطيع النمو على البيئات الصلبة الحاوية على مبيد الادغال (2,4-D) مؤدية الى تحلله.

اظهرت العديد من الدراسات التي اجريت باستعمال بكتريا *Achromobacter* على احتواء الخلايا النامية فوق ال (2,4-D) على انزيمات تساعد على تأكسد عدد من الكلوروفينولات (chlorophenols) والكلوروكاتيكول (chlorocatechol) (Steenson and Walker,1956 ; Steenson and Walker,1957) . واشار الجوهري (1998) الى ان لبكتريا *Pseudomonas spp* فعالية اكبر في تحليل مبيد الادغال البروبانيل.

تختلف المبيدات من حيث تحللها فمنها قابل للتحلل بوساطة بعض انواع البكتريا الموجودة في التربة اعتمادا على التركيب الكيمياوي للمبيدات، اذ تستطيع بكتريا *Pseudomonas spp* من تحليل مبيدات الادغال (Dalapon , TCA , DNBP , Monuron) وبكتريا *Agrobacterium spp* لها المقدرة على تحلل المبيدات (Dalapon , MCPA) . اما بكتريا *Corynebacterium spp* فتستطيع تحلل المبيد (DNOC) (باقر واخرون ، 1989). ارتباط الحامض الدهني بحلقة البنزين في مبيدات مجموعة phenoxyalkanoic acid يؤثر كثيرا في سرعة تحللها من قبل الاحياء (Kuafman and Kearney ,1976).

تشير العديد من البحوث الى ان الاحياء السريعة النمو اكثر مقدرة على تحلل المبيدات من الاحياء البطيئة النمو، فقد اشار Hamdi and Tewfik (1970) الى ان انواع من جنس بكتريا الرايزوبيوم وهي (*R.trifalii , R.molilote , R.loguminosarum , R.phaseol*)اظهرت مقاومة لمبيد (DNOC) بتركيز 250 جزء بالمليون أعلى من مقاومة الانواع (*Cowpea spp , R. lupinil , R.japonicum*) للمبيد بتركيز 25 جزء بالمليون وقد عزا ذلك الى تفوق سرعة النمو في الانواع الاولى. وعزا Salama et al.(1975) سبب مقاومة الرايزوبيا للمبيدات المختلفة الى مقدرة بعض السلالات على تحطيم هذه المبيدات وتقليل درجة سميتها.

2-2-4-1-2 . دور الفطريات في التحلل الحيوي لمبيدات الادغال

تقوم بعض الفطريات بتحليل المبيدات للحصول على الكاربون والنتروجين في بناء خلايا جديدة ولكن بعض المبيدات لها تأثيرات سمية في الفطريات (قاسم وعلي،1989). ان الفطريات المحللة للمبيدات المشتقة من ال 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 *Aspergillus spp, Penicillium spp* .اشار Perring and Mellanby (1977) الى ان من اهم العوامل التي تؤدي الى فقدان مبيد الادغال البروبانيل من الحقول هو التحلل الحيوي، اذ تتمكن بعض الفطريات من تحلله مثل (*Fusarium spp , Penicillium spp*) .

ان الفطر *Trichoderma spp* يمتلك قابلية جيدة في تحلل المبيدات الكيميائية ذات المدى الواسع فضلاً على انها تستعمر التربة المعاملة بالمبيد اسرع من الاحياء الاخرى المنافسة لها (Munnecke,1972). وبين Radosevich et al (1995) ان الفطر *Trichoderma spp* له المقدرة على تحلل مبيدات الادغال في التربة اذ يمتلك مقاومة وراثية لبعض المبيدات.

5-1-2. تأثير مبيدات الادغال في فاعلية التسميد الحيوي

عند استعمال المبيدات ومنها مبيدات الادغال في الانظمة الزراعية ، فمن المحتمل ان تؤثر هذه المبيدات تأثيرا جانبيا في احياء التربة مما يترتب على ذلك تأثيرات في العمليات الايضية في النبات.

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 ان مبيدات اخرى تحفز نمو الاحياء واخرى 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 التراكم (Residual effect) فينعكس على الاحياء المجهرية في التربة وعلى جذور النباتات والعمليات الحيوية كافة (Alexander,1977) .

1-5-1-2. العلاقة بين التسميد الحيوي البكتيري واضافة المبيدات

1-1-5-1-2 . التثبيت الحر للنتروجين الجوي

هناك عدد من اجناس البكتريا ذات المقدرة على تثبيت النتروجين الجوي بطريقة غير تعايشية، يعد جنس الازوتوباكتر واحدا منها والذي انتشر استعماله في استعمالات الاسمدة الحيوية والتي تعد من الاسمدة الحيوية واسعة الانتشار في الطبيعة ووفرتها تحددها عوامل عديدة ، منهـا المبيدات بانواعها المختلفة (Helmeezi et al. 1984) . ووجد Audus (1970) ان بكتريا الازوتوباكتر تنشط باستعمال مبيدات ACPA ; Atrazine ; Promelrne . واوضح Martinez – Tole Do et al. (1991) بدراستهم حول تأثير مبيد الادغال Simazine وبالمستويات (10 ، 50 ، 100 ، 200 ، 300) مايكروغرام . مل $^{-1}$ في نشاط الازوتوباكتر بان المبيد لايؤثر في نمو الازوتوباكتر ، بينما تراكيز المبيد ادت الى تشجيع عملية تثبيت النتروجين في كل من الترب المعقمة وغير المعقمة.

بينما ذكر Vanschreven et al. (1970) ان مبيد Dalapon بمستوى (13 -128) كغم. هكتار$^{-1}$ ادى الى تثبيط نمو الازوتوباكتر قي التربة. ولاحظ Torstenson et al. (1975) ان استعمال مبيدي Dinoseb ; Bentazon وبتركيز 100 ملغم . مل$^{-1}$ سبب تثبيطا في عملية تثبيت النتروجين الجوي بوساطة بكتريا *Azotobacter chroococcum* . واشار Vlassak et al. (1976) الى ان استعمال مبيد Dinoseb بمستوى (3 – 6) كغم . هكتار$^{-1}$ ادى الى تثبيط اختزال الاستيلين بسبب تثبيط انزيم النتروجينيز في التربة ومن ثم فان عملية تثبيت النتروجين الحر سوف تنخفض وهذا ناتج عن التأثير في الازوتوباكتر المسؤولة عن هذه العملية. ايضا بين Tam and Trevors (1981) ان اضافة مبيد sodium penta chlorophenol

بتركيز 50 ملغم. مل$^{-1}$ ادى الى تثبيط عملية اختزال الاستيلين وبزيادة التركيز زاد التثبيط اذ ادى استعمال التراكيز (100 ، 200 ، 250) ملغم.مل$^{-1}$ الى التثبيط بنسبة (18 ، 33 ، 51) % على التوالي قياسا" بمعاملة المقارنة. كذلك وجد Jana (1990) نفس حالة التثبيط عند استعماله لمبيدات ; Thioderm ; Roger Metacystex . كما لاحظ Strezelec (1987) ان مبيدات الادغال Paraqual ; Atrazine ; Dinoseb سببت تثبيط نمو بكتريا الازوتوباكتر المثبتة للنتروجين عند التركيز 50 ملغم. غم$^{-1}$ تربة. بين Milosevic and Govedarica (2002) ان اضافة مبيدات الادغال (flumetsulam+Trifluralin) و (mazethapr; clomsone; alachlor+linurn) ادت الى خفض اعداد خلايا الازوتوباكتر عند (7−30)يوما، وان اعلى خفض للاعداد كان عند (14) يوما بعد الاضافة، اذ كانت نسبة الانخفاض (62%) عند مبيد (flumetsulam+Trifluralin) و (78%) عند المبيد (alachlor+linurn) وبعد مدة (30) يوما ارتفعت الاعداد وتساوت مع معاملة المقارنة عند (90) يوما ولجميع المبيدات.

من المبيدات التي لها تأثير سلبي مثبط في تثبيت النتروجين واستهلاك الاوكسجين والنمو في المزارع النقية لبكتريا *Azotobacter vinelandi* هي: (Na-pcp ; 2,3-6-T ; 2,4-5-T ; 2,4-D). ولكن بين Martinez –ToleD et al. (1991) ان الاضافات المتعددة لمبيد الادغا ل simazine لم تكن ضارة على تثبيت النتروجين من قبل بكتريا الازوتوباكتر وان التركيز العالي لهذا المبيد قد يحفز فعالية انزيم النتروجينيز. كما اشار Milosevic and Govedarica (2001) الى ان بكتريا الازوتوباكتر ليس لها وجود في جذور فول الصويا بعد (28) يوما من اضافة مبيد الادغال prometryne في التربة ولكن بعد (45)يوما من الاضافة كانت اعداد البكتريا 10.76*10^2غم$^{-1}$تربة.

وفي تجربة اصص اجريت من قبل السلمان (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 وتفوقت ثلاث عزلات في مقاومتها للمبيدات، اما العزلة الرابعة فقد ثبط نموها عند المستويات العالية من المبيدات وان هذه المستويات ادت الى انخفاض معنوي في اعداد الازوتوباكتر في البيئات الصناعية الصلبة.

2−1−5−1−2. تثبيت النتروجين تعايشيا"

ذكر Gross bard (1975) بان تأثير مبيدات الادغال في التثبيت النتروجيني 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.

لبعض مبيدات الادغال تأثيرات سلبية في تكوين العقد الجذرية او تثبيت النتروجين (Tu,1981) ، فقد أشار Jones et al.(1992) ان هذا التاثير ربما يكون على البكتريا المثبتة للنتروجين نفسها او النبات ومن ثم تتأثر عملية التثبيت بكلتا الحالتين.

لاحظ Tu and Bollen (1968) 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. ان استعمال مبيدات الادغال مثل Bentazon , MCPA وبتركيز 100 ملغم. مل$^{-1}$ ليس له 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(Torstensson et al.,1975).

ذكر Rankov et al.(1966) ان استعمال المعدلات الموصى بها حقليا لمبيد prometryne سبب تحفيز وزيادة في اعداد العقد الجذرية لنبات الفاصوليا. بينما لاحظ Avrov (1966) ان استعمال المبيد نفسه سبب خفضا" في اعداد العقد الجذرية وحجمها في نبات البزاليا. في دراسة لمعرفة تأثير بعض مبيدات الادغال في بكتريا *R.trifoli*i وتكوين العقد وتثبيت النتروجين في نبات فول الصويا ، وجد Garcia and Jordan (1967) ان مبيد Dalapon ليس له أي تأثير في عدد العقد الجذرية او الوزن الجاف للنبات ، بينما خفض مبيد 2,4-DB كلا الصفتين وأثر قليلا في كفاءة تثبيت النتروجين.

ان تأثير مبيدات الادغال لايقتصر على نمو الرايزوبيا وانما يشمل عملية تكوين العقد الجذرية وتثبيت النتروجين ونمو النبات البقولي ، اذ بين عدد من الباحثين ان مبيد الترفلان عندما يستعمل بمستويات تراوحت بين (0.36 – 2) كغم . هكتار$^{-1}$ يثبط تكوين العقد الجذرية مسببا تشويهات في النبات ويقلل الحاصل وان التاثير يزداد مع زيادة الكمية المستعملة (Parker and Dowler,1976) . وكذلك لاحظ Peters and Zbiba (1979) انخفاض معدل تكوين العقد في نبات الجت والبرسيم بعد معاملتها بمبيدات ; 2,4- DB EPTC ولكن الانخفاض في تكوين العقد عادة صاحبه انخفاض في نمو النبات سببه الهدم او التلف الذي حصل للنبات نتيجة تأثير مبيدات الادغال.

درس عدد من الباحثين تأثير مبيدات الادغال (Allochlor ; 2,4-DB ;Glyphosate ; Tifluralin Metribuzin ;) في العقد الجذرية وتثبيت النتروجين لنبات فول الصويا ، لاحظوا ان اضافة المبيدات بالتراكيز الموصى به حقليا" اثر بشكل واضح في تكوين العقد الجذرية وتتثبيت النتروجين ، هذا مع العلم بان مبيد (Glyphosate) كان اقل سمية من المبيدات الاخرى(Mallek and Tesfai,1985).

اوضحت الباحثة بشير(1996) ان مبيد (Trifuralin) عند التركيز 0.40 سم^3. م$^{-2}$ ادى الى تقزم نبات الباقلاء وانخفاض اعداد العقد الجذرية. ودرس كل من Schenlle and Hensley (1990) تأثير سبعة مبيدات ادغال منها مبيد Bentazon في تثبيت النتروجين فوجدوا عند اضافة المبيد بثلاثة اضعاف التركيز الموصى به حقليا ادى الى انخفاض كمية النتروجين المثبت خلال 48 ساعة من اضافة المبيد.

يشير عدد من الباحثين الى ان حساسية الرايزوبيا لمبيدات الادغال هي صفة تختص بها السلالات وليس الانواع (Nomdeo and Dube,1972 ; Pantera,1974) واشار Kaszubiak(1966)

الى ان 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* .

3-1-5-1-2. عملية النترجة Nitrification

تختلف المبيدات في تأثيرها في بكتريا النترجة باختلاف نوع المبيد والتركيز، وتعد هذه الانواع من البكتريا الاكثر حساسية للمبيدات من غيرها من انواع البكتريا (Paul and Clark,1989).

تشير كثير من الدراسات الى ان مبيدات الادغال قد يكون لها تأثير تشجيعي او تثبيطي او ليس لها تأثير في عملية النترجة. فقد تختلف بكتريا النترجة من حيث حساسيتها لمبيدات الادغال اذ اشار Torstensson et al.(1975) الى ان مبيد Dinoseb يؤثر على بكتريا *Nitrobacter* اكثر مما يؤثر في بكتريا *Nitromonas* .

لوحظ ان بعض المبيدات تشجع عملية النترجة عند اضافتها بالتراكيز الموصى بها ، فقد وجد ان مبيد الترفلان يشجع عملية النترجة (Rankov and Elankov,1970 ; Davies and Marsh,1977) . وذكر جدوع (1979) ان مبيدي الادغال ترفلان ولينيورون تسببا في زيادة كفاءة بكتريا *Nitrobacter* اذ ارتفع محتوى النترات ، عند استعمالهما ، بينما المبيد برومیترین تسبب في ثبط نشاط بكتريا *Nitrobacter* وقلل محتوى النترات لفترات تراوحت بين (3-4) اسابيع لكنه رفع محتواها في التربة فيما بعد.

وجدت الباحثة الشماع (1997) بان اعلى معدل للعد الاحتمالي (M. P. N) لبكتريا *Nitrobacter* كان في التربة المعاملة بمبيد الادغال الاترازين. وفي الجانب الاخر اجرى Turner (1979) دراسة لتقييم فعالية المبيدات في حقول الرز في تأخير عملية النترجة فلاحظ ان جميع المبيدات وبالمستويات الموصى بها ادت الى تثبيط عملية النترجة خلال الايام العشرة الاولى من الحضن وبقيت بعض المبيدات بعد (60) يوما من الحضن مستمرة في تأخير عملية النترجة.

اوضح Martens and Bremner (1993) ان مبيد الادغال البروبانيل تثبط عملية النترجة في التربة الرملية عند استعماله بتركيز (50) مايكروغرام. غم$^{-1}$ تربة. واشار التميمي (1999) الى ان استعمال مبيد الاترازين بالمستويات (0 ، 1.6 ، 2.4) كغم مادة فعالة. هكتار$^{-1}$ ادى الى خفض اعداد بكتريا النترجة لمدة (72) يوما بعدها تسبب في زيادة الاعداد عند المستوى الاول.

وجد Domsh and Paul (1974) ان استعمال خمسة وثلاثين مبيدا ليس لها تأثير في عملية النترجة عند استعمالها في التراكيز الموصى بها، وهذه تتفق مع ما حصل عليه Grossbard and Marsh (1974) اذ بينوا ان استعمال مبيد Linuron لم يظهر تأثيرا تثبيطيا في عملية النترجة حتى بالتركيز (500) جزء بالمليون . بينما ذكر Gadkari (1984) ان عملية النترجة تتأثر بتركيز المبيد اذ وجد ان مبيد metribuzin ليس له تأثير في عملية النترجة عند استعماله بمعدلات من (5-30) مايكروغرام. مل$^{-1}$ ولكن التركيز العالي من (50-100) مايكروغرام. مل$^{-1}$ ادى الى تثبيط اكسدة الامونيا.

2-1-5-2. العلاقة بين التسميد الحيوي الفطري (فطر المايكورايزا) واضافة المبيدات

اشارت العديد من الدراسات الى ان مبيدات الادغال ليس لها تأثير في فطريات المايكورايزا بقدر تأثيرها في النبات ، اذ درس OC Ampo and BaRea (1985) تأثير ثلاثة مبيدات ادغال (chlorprophan , salfaltatc , phemnedipham) في المايكورايزا وذكروا ان طريقة اضافة المبيدات الى التربة ليس لها تأثير معنوي في الجذور المصابة بالمايكورايزا لنبات الحنطة ونبات الجت ولكافة التراكيز المستعملة وان طريقة اضافة المبيدات بالرش ايضا لا تؤثر معنويا في الجذور المصابة بالمايكورايزا ولكن المبيد phemnedipham ادى الى قلة الوزن الجاف للمجموع الخضري لنبات الحنطة ونبات الجت في التراكيز العالية للمبيد، واشار الباحثون انفسهم 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 . بين GaRcia – Romera et al (1988) ان مبيد الادغال cyanazine بالمستويات (0 ، 0.001 ، 0.05 ، 0.1) ملغم. مل$^{-1}$ لايؤثر معنويا في الاصابة المايكورايزا الا عند التركيز (0.1) ملغم. مل$^{-1}$ بينما اثرت على وزن المادة الجافة عند التركيز (0.05) . واشار Abd- Alla et al (2000) ان اضافة المبيدات ادت الى تثبيط معنوي للمستعمرات الجذرية وعدد السبورات في النباتات البقولية ، ولكن عملية السبورات تطورت عند معاملة البقوليات بالمبيدات بعد (60) يوما من الانبات. وقد يعزى السبب الى تاثير المبيدات على العائل النباتي (المجموعين الجذري والورقي) مما ينعكس ذلك في تعايش فطر المايكورايزا على الجذور والمستعمرات المايكورايزية.

2-2 . تأثير الاسمدة والمبيدات الحيوية في نمو وانتاجية نباتات القمح

2-2-1 . الاسمدة الحيوية البكتيرية والفطرية

2-2-1-1. بكتريا الازوتوباكتر *Azotobacter spp*

بكتريا الازوتوباكتر تابعة لعائلة*Azotobactereaceae* وهي مجموعة بكتيرية هوائية غير ذاتية التغذية قادرة على تثبيت النتروجين الجوي في الاوساط الفقيرة او الخالية من النتروجين ، اذ توجد اربعة اجناس من هذه العائلة هي :

Beijerinkia, Derxia, Azomonas, Azotobacter (Becking,1981) ويعدجنس *ال Azotobcter* من اهمها واشهرها اذ اكتشفت لاول مرة من قبل العالم Beijerink سنة 1901 ويضم الانواع: *A. beijernkia ; A. vinlandii ; A. paspali ; A.* chroococcum (Tchan and Peter, 1984 و Bergeys manual, 1984).

تعد صفة تعدد الاشكال Pleomorphism صفة شائعة للازوتوباكتر ، فتكون خلاياها عصوية قصيرة او بيضوية او كروية ، وتوجد بشكل سلاسل او تجمعات ثنائية او رباعية ولها المقدرة على تكوين غلاف

خارجي سميك حولها يسمى (Slime) ويعتمد تكوينه على طبيعة الوسط النامية فيه البكتريا (Jarmana et al., 1978). وتعد صفة انتاج الصبغات من الصفات الاساسية لتشخيص البكتريا فالنوع (*A.chroococcum*) يتميز بتكوينه صبغة بنية معتمة غير ذائبة في الميلانين وتظهر غالبا في المزارع القديمة كنتيجة لاكسدة النايروسين وهو حامض اميني حاوي على النحاس، وينتج ال *A.beijerinkia* صبغة صفراء وال *A.paspali* ينتج صبغة صفراء مخضرة (Shivprasad and Page, 1989).

فسيولوجيا تحتاج البكتريا الى رقم pH متعادل او مائل للقلوية والحرارة المثلى لنموها 30 م ^{0} (Dobereiner, 1974) جميعها سالبة لصبغة جرام (Joerger and Bishop,1988) وهي بكتريا متحركة باسواط محيطية او غير متحركة ، هوائية ولكن تنمو تحت ظروف نقص الاوكسجين (Holt at al., 1994) .

وبكتريا الازوتوباكتر من الاحياء المتباينة التغذية تعتمد على المواد العضوية كمصدر للكاربون والطاقة وهذا يحدد نشاط عملية تثبيت النتروجين الجوي، اذ ان اضافة سكر المنيتول الى تربة ملقحة بالازوتوباكتر ادى الى زيادة في تثبيت النتروجين (مامندو ، 1982). توجد هذه البكتريا في التربة والمياه وعلى سطوح النباتات ، فان وجدت على سطوح جذور النباتات فستكون انشط لانها ستستفيد من افرازرات الجذور كمصدر للكاربون (قاسم وعلي، 1989).

2-1-2-2. دور الازتوباكتر في انتاجية القمح

تشير العديد من الدراسات الى ان الفائدة من استعمال بكتريا الازوتوباكتر تتعدى كونها بكتريا مثبتة للنتروجين، فهي لها المقدرة على انتاج العديد من منظمات النمو واهمها ال IAA (Indole 3-acetic acid) (Lee et al., 1970 و الكبيسي،1989) والجبرلين (Gibberllin) والسايتوكينين (Cytokinin) وجميع هذه المواد شخصت في المزارع القديمة للبكتريا (Vancura,1961). ولهذا تستطيع بكتريا الازوتوباكتر ان تعمل على تحسين نمو وانتاجية المحاصيل ، اذ اشار Saric and Relic(1988) في دراسة قاموا بها عند استعمال 10 اصناف من الحنطة لقحت بـ10 سلالات من الازوتوباكتر مزروعة في اطباق بتري تحتوي على اوراق ترشيح ومغذيات، الى ان اطوال النباتات ونسبة النتروجين قد زادت مع التلقيح بهذه السلالات البكتيرية.

وفي دراسة اجراها Bhandari et al.(1989) حول التداخل بين المغذيات الكبرىـ NPK وتلقيح بذور الحنطة بـ A.chroococcum فوجدوا زيادة في الحاصل نتيجة التلقيح مع اضافة (20، 33، 40) كغم. هكتار$^{-1}$ NPK على التوالي. ولاحظ Zambre and Konde (1990) انه عند تلقيح بذور الحنطة بـ *A.chroococcum* ادى الى زيادة في حاصل الحبوب بمعدل 3.85 طن . هكتار$^{-1}$ قياسا" بالبذور غير الملقحة 3.32 طن . هكتار$^{-1}$.

في تجربة حقلية بين Lakshminarayan et al.(1992) ان تلقيح بذور الحنطة *A.chroococcum* ادى الزيادة في انتاج الحبوب واوضح ان استعمال 60 كغم نتروجين. هكتار$^{-1}$ مع اللقاح الحيوي اعطى انتاج بمعدل 4.08 طن. هكتار$^{-1}$ وكان هذا الانتاج مقاربا للانتاج الذي حصل عليه باضافة 120 كغم نتروجين.

هكتار[1-] ومن دون تلقيح ونتيجه مشابه حصل عليها Singh et ; Hooda(1993) ; Gill et al.(1993) al.(1993) عند استعمالهم التداخل بين التسميد NPK والتلقيح بالازوتوباكتر. ووجد Narula(2000) ان استعمال الازوتوباكتر كسماد حيوي زاد معدل انتاج الحنطة بحدود(0 – 25%) قياسا"بمعاملة المقارنة من دون وجود أي مصلحات او اضافات اخرى وبحدود (8 – 15 %) عندما استعملت معها اضافات من الاسمدة المعدنية من (NPK) او مواد عضوية.

وفي تجربة حقلية اشارت الباحثة بشير (2003) الى ان اضافة السماد الحيوي *A.chroococcum* لبذور الحنطة ادى الى زيادة معنوية في وزن الحاصل البايولوجي وحاصل الحبوب قياسا" بمعاملة المقارنة وتحت جميع المستويات السمادية المضافة وبلغت نسبة الزيادة (18% و 29%) لكل من الحاصل البايولوجي وحاصل الحبوب، على التوالي قياسا" مع معاملة عدم اضافة السماد الحيوي ومن دون اضافة الاسمدة الكيمياوية.

3-1-2-2. فطريات المايكورايزا الداخلية Vesicular Arbusculr Mycorrhizae

المايكورايزا شكل من اشكال العلاقات التعايشية تبادل المنفعة (mutualism) بين جذور النباتات والفطريات ، فالمايكورايزا تساعد النبات في حصوله على الماء والمغذيات من التربة ، في حين يقوم النبات بتزويدالفطر ببعض نواتج التمثيل الضوئي (St.John,1996). ولكي تتحق هذه العلاقة بين النبات والفطر يتطلب حصول تداخل معقد يتضمن العديد من الاليات في كل من طرفي العلاقة (الفطر والنبات) (Maldonado- Mendoza et al.,2002). اذ بين Taylor and Harrier (2001) حصول استجابة جهازية ضمن نظام النبات تجاه الاصابة بالمايكورايزا.

تقسم المايكورايزا بصورة عامة الى نوعين(Barker et al.,1998) وهما:

1. المايكورايزا الخارجية Ectomycorrhizae

هذا النوع يحصل بين الشجيرات والاشجار وفطريات تابعة الى (*Basidiomycetes* ; *Ascomycetes*) اذ تتكون طبقة حول الجذر وترتبط مع خلايا الجذر بوساطة ما يعرف بال(Hartignet) دون ان تخترق مايسليوم الفطر الخلايا الحية للجذر (Guinel and Hirsch,2000).

2. المايكورايزا الداخلية Endomycorrhizae

يتميز هذا النوع بمقدرته على اختراق انسجة قشرة الجذر ، اذ ذكر Smith and Smith (1997) بان هناك شكلين رئيسين من استيطان الفطر لانسجة القشرة هما (Paris and Arum) وذلك اعتمادا على النبات المضيف و/ او انواع الفطريات (Cavagnaro et al.2001). فالنوع Paris يتميز بتقدم هايفات الفطر داخل الخلايا باتجاه انسجة القشرة الداخلية وتكوين (Hyphalcoils ; Arbusculate Coils) . اما النوع Arum فان نمو الهايفات فيه يكون بين الخلايا وداخلها باتجاه القشرة الداخلية مع تكون القليل من (Hyphal coils) ثم تدخل الهايفات في معظم القشرة الداخلية مكونة تراكيب

متفرعة تعرف بالشجيرات (Arbuscules) والتي تعد المواقع الاساسية لتبادل المغذيات بين الفطر والنبات (St John,1992 ; Genre and Bonfant,2002) وبذا تعرف بالمايكورايزا الشجيرية (Arbuscular mycorrhizae) وفي بعض الحالات تتكون تراكيب اخرى تعرف بالحويصلات (Vesicules) والتي يعتقد بان لها علاقة بخزن المركبات الفسفورية وفي هذه الحالة تسمى بالمايكورايزا الشجيرية- الحويصلية VAM (Vesicular Arbuscular Mycorrhizae) (Harrison,1997 ; Gianinazzi- Peorson,1990) . وحسب Bago et al. (2000) فان فطريات ال VAM تعد اجبارية في اقامتها للعلاقة التعايشية حيث تستعمر خلايا الجذر للحصول على مصدر الكاربون. وبين Paterson et al.(2001) بانه تم التعرف على منطقة في الحامض النووي DNA للفطر Glomus moseae تحتوي على جينات التحسس للكاربون الخارجي الموجود في المحيط.

تستطيع المايكورايزا زيادة جاهزية بعض المغذيات الكبرى خاصة الفسفور من خلال عدة اليات مختلفة منها تقليل المسافة التي يقطعها الفسفور بالانتشار(Barea and Gonzalez,1986)، زيادة المساحة السطحية للامتصاص (Abbot and Robson,1977) ، الالفة العالية بين الفسفور والجذور المايكورايزية (Cress et al ,1979) استغلال مصادر الفسفور غير الجاهزة كمسحوق العظام والفسفور العضوي وصخر الفوسفات (Islam et al.,1980) فضلاً على قدرتها على زيادة تركيزعناصر اخرى في انسجة النبات كالنتروجين (Barer and Gonzalenz,1986) والزنك (Gilmore,1971 والتميمي،2000) والبوتاسيوم والمغنيسيوم (Saif,1987).

كما اشارت العديد من الدراسات الى الدور المهم للمايكورايزا في تحسين العلاقات المائية وزيادة مقاومة العائل للجفاف (Nelsen and Safir,1982) فضلاً على دورها في زيادة مقاومة النبات لتحمل الدرجات العالية من الملوحة (Ojala et al.,1983 ، السامرائي والطائي، 2003 abc). فضلاً على ذلك فان لفطريات المايكورايزا دورا مهما في اكساب العائل النباتي المقاومة للاصابة بالعديد من الامراض الفطرية والبكتيرية والنيماتودا وذلك لافرازها منظمات النمو (auxins ; cytokinins ; gibberellins) (Barker and Tagu,2000).

4-1-2-2. دور المايكورايزا الداخلية في انتاجية القمح

نظرا للاهمية الاقتصادية للعديد من المحاصيل الزراعية، فقد اولي اهتمام كبير بدراسة تأثير المايكورايزا في نمو النبات، اذ انها تزيد من نمو وانتاجية الكثير من المحاصيل الاقتصادية البقولية والنجيلية ومنها نباتات القمح ، فقد ذكر العاني (1993) ان تلقيح نباتات القمح وفول الصويا بفطر المايكورايزا نوع (*G.etunicatum ; G. leptoticum*) لكل منهما على التوالي اعطى اعلى قيم للوزن الجاف للمجموع الخضري والنسبة المئوية للجذور المصابة وزيادة محتواها من عناصر ال (NPK ; Zn) الممتصة في المجموع الخضري ولكلا النباتين.

في دراسة اجريت من قبل Mohammad et al.(1995) بين ان التلقيح بالمايكورايزا نوع (*G.mosseae*) ادى الى زيادة في الوزن الجاف للمجموع الخضري واطوال الجذور وزيادة تركيز الفسفور والزنك في اوراق نباتات القمح الملقحة قياسا" بالنباتات غير الملقحة. أشار السامرائي واخرون (1996) الى ان تلقيح نباتات القمح بالمايكورايزا نوع (*G.leptoticum*) وباضافة مستويين من الفسفور (0 ، 100) كغم P_2O_5 .هكتار$^{-1}$ ادى الى زيادة في حاصل الحبوب بلغت 7 % ولكنها لم تصل لحد المعنوية، وبينوا ان اللقاح المضاف له المقدرة على رفع نسبة الاصابة في الجذورعلى الرغم من وجود المايكورايزا المستوطنة مؤدياً الى زيادة الحاصل ومكوناته وبعض الصفات النوعية.

ان النتائج التي حصل عليها Al- karaki and Raddad (1997) في دراستهم لمعرفة تأثير المايكورايزا المستوطنة (Indogenous) في نمو ومقاومة الجفاف لنوعين من الحنطة (RO57 ; ROO6) والتي زرعت تحت مستويات منخفضة من الفسفور 4 ملغم. كغم−1 كان اجمالي غلة المواد الجافة وغلة الجذور واجمالي طول الجذور اعلى في النباتات المايكورايزية قياسا" بغير المايكورايزية وفي كلا النوعين من الحنطة.

وفي تجربة اصص احتوت على تربة معقمة وغير معقمة اشار Omar (1998) الى ان التلقيح بالمايكورايزا نوع (*G.Constricutm*) مع اضافة صخر الفوسفات كسماد معدني ادى الى زيادة الوزن الجاف لنبات القمح وتحت جميع الظروف التجريبية.

وفي تجربة اصص اجريت من قبل التميمي (2000) وجد ان التلقيح لنباتات القمح والذرة بالمايكورايزا نوع (*G.mosseae*) مع اضافة اربعة مستويات من الفسفور وثلاثة مستويات من الزنك ادى الى زيادة معنوية في الوزن الجاف للمجموعين الخضري والجذري وللنباتين. واشار Dekkers and Vanderwerff (2001) الى ان اضافة الفسفور بمعدل 52.5 كغمP .هكتار−1 مع التلقيح بالمايكورايزا اعطت علاقة موجبة واعلى انتاج للمادة الجافة الكلية لنباتي القمح الشتوي والشعير الربيعي. واوضح السامرائي (a 2003) ان معدلات حاصل الحبوب والنسبة المئوية للزيادة المتحققة في حاصل الحبوب لثلاثة اصناف من القمح (اباء 99 ، تموز / 2 ، ابو غريب) سجلت فروق معنوية بالمعاملات الملقحة بالمايكورايزا نوع (*G.mosseae*).

5−1−2−2. التداخل الثنائي بين المايكورايزا وبكتريا الازوتوباكتر

ان طبيعة علاقة التداخل الوثيقة ما بين الازوتوباكتر والمايكورايزا ذكرت من قبل العديد من الباحثين ، اذ لاحظ Gerdmann and Trappe (1974) تكون اغلفة شبيهة بالقشرة (تجمعات لخلايا الازوتوباكتر) تحيط بسبورات المايكورايزا ، واشار Ho (1988) الى 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.

ان تلقيح نباتات القمح المزروعة حقليا بمزرعة خليطة من الازوتوباكتر للنوعين *A.chroococcumm ; A.vinelandii* شجعت من نسبة الاصابة المايكورايزية وانتاج السبورات للمايكورايزا المستوطنة (Indogenous) في التربة (Ishac et al.,1986a) ، وفي دراسات اخرى على نبات القمح عززت هذه النتائج من قبل(Ishac et al ., 1986b). وبينت النتائج

التي حصل عليها (1988) .El-Demerdash et al عند تلقيح نباتي الذرة الرفيعة والبصل بالمايكورايزا والازوتوباكتر ان نسبة الاصابة المايكورازية زادت بنسبة 12 ، 10 % في الذرة والبصل، على التوالي.

في تجربة حقلية وجد (2000) .Manske et al ان جميع اصناف القمح الملقحة وغير الملقحة بالازوتوباكتر كانت مصابة بالمايكورايزا المستوطنة وان نسبة الاصابة المايكورايزية للجذور كانت اعلى عند التلقيح المزدوج قياسا" بالمعاملات غير الملقحة او الملقحة بصورة منفردة. ان اضافة التلقيح المزدوج (*G.mosseae + A.chroococcum*) باستعمال نبات القمح بتربة رملية معقمة ادت الى زيادة اعداد السبورات المايكورايزية واعداد الخلايا البكتيرية مع زيادة معنوية في النسبة المئوية للاصابة بالمايكورايزا (السامرائي ، 2002).

في تجربة اصص باستعمال تربة معقمة وغير معقمة لدراسة حالة التداخل بين المايكورايزا نوع (*G.mosseae*) وبكتريا (*A.chroococcum*) اشار السامرائي (2003a) الى ان اضافة التلقيح المزدوج تسبب في زيادة النسبة المئوية للاصابة وطول جذور المايكورايزا في كلا التربتين.

تشير النتائج التي حصلت عليها بشير (2003) الى ان اعداد خلايا الازوتوباكتر والسبورات ونسبة الاصابة المايكورايزية زادت عند التلقيح المزدوج (G.mosseae + A.chroococcum) باستعمال نبات القمح حقليا قياسا" عند التلقيح المنفرد، الا ان اعداد خلايا البكتريا والسبورات ونسبة الاصابة سجلت انخفاضا معنويا تحت المستويات السمادية العالية (100 %) من المغذيات الكبرى (NPK).

6-1-2-2. أثر التداخل الثنائي بين المايكورايزا والازوتوباكتر في انتاجية القمح

ذكر (1990) Mostafa ان للمايكورايزا المقدرة على زيادة تثبيت النتروجين وعزا ذلك الى القابلية العالية للمايكورايزا على تجهيز الفسفور من مصادره غير الجاهزة وازالة ايونات الامونيوم من مواقع تثبيت النتروجين ثم قابليتها على اطالة مدى فعالية انزيم النتروجينيز ،اذ ان عملية تثبيت النتروجين يمكن ان تثبط او تتوقف بسبب عنصر الفسفور الذي يعد ضروريا لسد حاجات الطاقة اللازمة للبكتريا للقيام بعملية التثبيت، لذا يمكن عدها الاساس لتقدير قيمة التداخل ما بين الكائنين (Ishac,2000).

فقد اوضح (1986 a) .Ishac et al ان تلقيح بذور الحنطة بالازوتوباكتر حقليا وباستعمال سماد نتروجيني بمعدل 15 كغم. هكتار$^{-1}$ وسماد عضوي بمعدل 0.5 % ادى الى ظهور تحفيز في معدل نمو النبات ونسبة الاصابة المايكورايزية وزيادة معدل امتصاص النبات للفسفور وكان التحفيز اكثر وضوحا عند استعمال نصف كمية السماد النتروجيني.

درس (1986 c) .Ishac et al التاثير المتداخل بين المايكورايزا والازوتوباكتر بصورة منفردة او مزدوجة في انتاج الحنطة واظهرت النتائج ان التلقيح المزدوج اعطى افضل نمو وانتاجا اعلى لنبات القمح قياسا" باستعمال اللقاح المنفرد.

في تجربة اصص لدراسة تأثير تلقيح نبات القمح بالمايكورايزا نوع *G.fasciculatum* والازوتوباكتر *A.chroococcum* . اشار (Manske et al. (2000 الى ان لقاح المايكورايزا كان غير معنوي عند استعماله منفردا، بينما لقاح الازوتوباكتر كان له تأثير منشط في نمو نبات القمح بوجود او غياب لقاح المايكورايزا واللقاح المزدوج اعطى احسن انتاج وذات قيمة معنوية بالنسبة لمعاملة المقارنة.

في تجربة حقلية لدراسة تأثير التلقيح المزدوج (المايكورايزا والازوتوباكتر) في عشرة اصناف من الحنطة ذكر (Manske et al. (2000 ان التداخل ادى الى زيادة معدل امتصاص النتروجين لجميع اصناف الحنطة وان التلقيح المزدوج شجع من تجمع الفسفور في المجموع الخضري في مرحلة تكوين الافرع وعزوا السبب في تحسين نمو النباتات الملقحة بالازوتوباكتر الى انتاجها للسايتوكنين والذي له دور مهم تحت ظروف التسميد النتروجيني العالي، اذ ان السايتوكينات تشترك في اغلب العمليات الاساسية في مراحل النمو المختلفة، وهذه العمليات لها علاقة بتكوين المايكورايزا (Paleg and West, 1972) . فقد ذكر (Carr (1981 ان هناك تأثيرين مهمين لمنظمات النمو في المزرعة البكتيرية ، الاول هو التنشيط المباشر للفعاليات الايضية للمايكورايزا والثاني ، زيادة حجم الاوراق التي تشجع من زيادة عملية التركيب الضوئي ومن ثم زيادة تجهيز المغذيات للمايكورايزا الداخلية في النبات.

قامت الباحثة بشير (2003) بدراسة حقلية لدراسة حالة التداخل بين الاسمدة الحيوية الفطرية والبكتيرية (المايكورايزا والازوتوباكتر) في نمو نبات القمح، اظهرت النتائج ان اضافة الاسمدة الحيوية بصورة منفردة او مجتمعة تسببت في زيادة معنوية في قيم مكونات النمو والحاصل البايولوجي وحاصل الحبوب قياسا" مع معاملة عدم اضافة سماد حيوي كما تفوقت معاملة التلقيح المزدوج معنويا على معاملتي التسميد الحيوي الفطري والبكتيري المنفرد . واوضحت ان اضافة التلقيح المزدوج (*G.mosseae + A.chroococcum*) وتحت 50 % من التوصية السمادية من NPK اعطت قيما لحاصل الحبوب لاتختلف معنويا عن قيمتها في حالة اضافة 100 % من التوصية السمادية الكيميائية.

2-2-2. المبيد الحيوي

1-2-2-2. فطر الترايكوديرما

ينتمي فطر Trichoderma spp الى صنف Hyphomycetes وهو من الفطريات الناقصة، له حوامل كونيدية متعددة التفرع والحامل الكونيدي ربما ينتهي بزائدة عقيمة Sterileappendoges 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 Philaides متقاربة بقوة strongly covergnet فان الطور الجنسي يوضع تصنيفا ضمن الجنس Gliogadium وعندما تكون قائمة straight ومتوسطة التقارب Moderatly diverget توضع تصنيفيا ضمن الVerticillium ، الطور الجنسي للفطر هو كيسي Ascomato يعود للجنس Hypocrea

بين (Lewis and Papaviza (1983 , 1984 ان الفطر *Trichoderma* له المقدرة على تكوين الكلاميدوسيور في كلا الوسطين الغذائيين السائل والصلب وفي التربة المعقمة ومستخلصات التربة وفي مخلفات النبات الطبيعية. يستوطن الفطر الترب بهيئة غزل فطري او ابواغ كونيدية او كلاميدية (Domsch et al.,1980) سواء أكانت ترب طينية ام رملية ام ترب حقول او غابات وخاصة في الاقاليم الدافئة .

تستعمل انواع الفطر مدى واسعا من المركبات كمصادر للكاربون والنتروجين ، اذ 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 . هكتار$^{-1}$ مادة عضوية.

ان الفطر يقل وجوده في التربة بزيادة العمق داخل التربة لانخفاض كمية الغذاء والاوكسجين قياسا" ب CO_2 وتغيرات كمية الرطوبة والحرارة مع العمق (Kauri,1982) استجابة ابواغ الفطر للمغذيات تتاثر بـ pH اذيكون الانبات تحت الظروف الحامضية اكبر من الظروف المتعادلة (Danielson and Davey,1973) كما اظهرت المستويات عند pH يساوي 3 و 4 مقدرة على زيادة انتاج الفطر من الوحدات التكاثرية (محمد ، 1996).

اشار (Saddler (1986 الى ان الترايكوديرما يفرز عددا من الانزيمات المحللة للبقايا النباتية في التربة واهمها انزيم السيليليز (cellulase)كما ذكر Harman et al (1981) و (Elad et al (1982 ان الفطر *Trichoderma harzianum* يفرز انزيم ال chitinase ; B-1,3- glucalase ; cellulase في التطفل والقضاء على الفطر pythium

2-2-2-2. تأثير اضافة المبيد الحيوي في

1-2-2-2-2. انتاجية المحاصيل الزراعية والخضر

بما ان المبيدات الحيوية ميدان عملها التربة لذا فان دورها لايتوقف عند المكافحة الحيوية لانها اصبحت جزءا من احياء التربة المجهرية ودورها الايجابي في تدعيم تغذية النبات وزيادة نسبة الانبات والانتاج، فقد اشار Henis et al.(1978) الى ان اضافة الفطر *T.harzianum* للتربة سبب زيادة في انبات بذور الفجل، كما وجد (Elad et al. (1980 ان مستحضرات نخالة الحنطة للفطر *T.harzianum* سببت زيادة في نمو نباتات الباقلاء عند اضافتها للتربة . ان معاملة شتلات الشليك بالفطر *T.harzianum* سجلت زيادة 20 % في الحاصل (Elad et al., 1981).

ذكر عبود واخرون (1989) ان الترايكوديرما سببت زيادة في نمو نباتات الخيار والباذنجان، وان اضافة هذا الفطر حسن بعض معايير النمو والحاصل في زهرة الشمس قياسا" مع المعاملة غير المضاف لها الفطر ، اذ تراوحت الزيادة في حاصل النبات الواحد بين (51.1-55.9%) (فياض، 1997).

وجد (Kleifield and Chet (1992 ان بعض العزلات من *Trichoderma spp* تستطيع ان تخترق الجذور وتشكل تراكيب فطرية في الجذور مشابه لما تحدثه المايكورايزا، ان قدرة الفطر في تكوين مثل هذه التراكيب قد اعطت ادلة علمية بان يقترح (Brundert (1991 الى ان التلقيح بفطريات *Trichoderma*

spp يزيد من كفاءة امتصاص العنلصر الغذائية بطريقة مشابه نوعا ما لما يحدث عند التلقيح بالمايكورايزا. ذكرت سعد (2001) ان فطر *T.koningii* احدث زيادة معنوية في بعض معايير نمو الباذنجان ، واضاف الزوبعي (2000) ان مبيد التحدي ومادته الفعالة (*T.harzianum*) سبب زيادة معنوية في معايير النمو في البطاطا .

عند استعمال احدى عشرة سلالة من *Trichoderma spp* مع نبات الخس وجد ان هناك ثلاثة سلالات (WT; 92; 20) وعند مستوى اضافة (0.75% و 1%) اعطت اعلى تحفيز للنظام الجذري والقمي مع ثباته طوال مدة النمو (Margeret et al., 1994). في تجربة حقلية اوضح الحديثي (2002) 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 الكيمياوي بنليت معدل انتاج قدره 59.35 طن.هكتار$^{-1}$.

2-2-2-2-2 . معالجة المسببات المرضية

يعد فطر الترايكوديرما من اكثر الفطريات المستعملة في معالجة المسببات المرضية التي تصيب النباتات بهدف التقليل من استعمال المبيدات الكيميائية وعليه تم التوصل الى نظام الادارة المتكاملة للافات الزراعية (IPM) وتعد المكافحة الحيوية احد مرتكزاتها الاساسية اذ ظهرت مبيدات حيوية مادتها الفعالة احياء مجهرية من فطريات وبكتريا (Hebber et al.,1991) .

ادى استعمال *Trichoderma spp* الى خفض معنوي في نسب المرض التي يحدثها الفطر الممرض *Rhizoctonia solani* في نباتات القطن (Howell, 1987 ومصطفى محمود، 2000) وفي الحنطة (ديوان وعباس ، 2001) وفي الطماطة (Cuevas et al., 1995).

ان فطر *Trichoderma spp* احدث اختزال معنوي في نسب الاصابة لكل من مرض الذبول المتسبب عن الفطر الممرض *Fuarium spp* للبطاطا (الزوبعي، 2000) ومرض سقوط البادرات المتسبب عن الفطر *Pythium spp* للخيار (Harman et al., 1991) وللطماطة والفلفل (Sivan et al.,1984). وبسبب مقدرة بعض عزلات الفطر *Trichoderma spp* على تحمل مستويات عالية من المبيدات الكيميائية المستعملة ضد المسببات الممرضة الفطرية ، فقد تم استعمال هذا الفطر كواحد من عناصر المكافحة المتكاملة مع المبيد pentachloro nitro benzene (PCNB) ضد الفطر *R.solani* المسبب لمرض سقوط البادرات لعديد من محاصيل الخضر (Elad et al.,1980) ومع المبيد Benomyl في خفض اصابة الحنطة بالفطر *R. solani* (ديوان وعباس، 2001). اشار Sivan and Chet (1989) الى 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-1,3-glucanase Chitinase ; Lipase . واكد Haran et al. (1996) ان الفطر *T.harzianum* استخدم ضد مدى واسع

من مسببات الامراض النباتية وله مقدرة تضادية عالية وانتاج مواد حيوية مكنته من السيطرة على عدد من الامراض النباتية. وبين Stephan et al.(1998) ان الفطر *T.harzianum* ادى كفاءة عالية في اختزال النمو الشعاعي للفطر *Rhizoctonia solani* الذي يعد احد المسببات المرضية . واوضح Harman (2000) 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 ال chitinolytic والتي تشمل انزيم ال chitobiosidase وال endochitinase وان عمل هذين الانزيمين معا يكون ذا فعالية اقوى مما لو عمل كلاً على انفراد (Lorito et al.,1994).

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 الفطريMy coparasitism : وهي علاقة تطفل مباشرة بين فطرين ، اذ ان بعض عزلات الفطر *Trichoderma spp* تمتلك مقدرة تطفلية عالية على الفطريات الممرضة من خلال التفاف الغزل الفطري حول الغزل الفطري للفطر الممرض واذابة جدران خلاياه بوساطة الانزيمات المرافقة للاختراق المباشر (Benhamou and Chet, 1993) اذ يظهر الغزل الفطري اشكالا متعددة عند تطفله كالخيوط اللولبية او الممصات او الخطاطيف او اعضاء الالتصاق (Cuevas et al.,1995 ; Lo et al.,1998) .
2. التضاد الحيوي Antibiosis : اشارت العديد من الدراسات الى وجود عدد من المضادات الحيوية في رواشح الفطر Trichoderma spp منها Trichodermin (1 و2 و3 و4) ; Demodinas ; Viriden) ; Gliotoxin ; Sesquiterpena ; Acetaidehyde Wells,1988) فضلاً على انتاج مضادات اخرى مثل pyron (Ghisalberti et al.,1990) Mehrotra,1997 و Steroide ; Diketopiperazines ; Peptaibals ; Polyketides ; Isonitrites (Harman,2000) .
3. التنافس Competation : مقدرة فطر *Trichoderma spp* على منافسة المسببات المرضية على المكان والغذاء وهو من اكثر العوامل اهمية في تحديد الكثافة السكانية في الطبيعة ، لذا فان الخواص الفيزيائية والكيميائية للتربة لابد ان تؤثر في نمو وتطور الفطر اذ لوحظ ان نمو *Trichoderma spp* في تربة ذات رقم تفاعل منخفض كان افضل من نمو الفطر الممرض *R.solani* وعزي السبب الى انخفاض الPH في التربة سبب توفر ايونات الحديد والمقدرة التنافسية للفطر *Trichoderma spp* (Wells,1988) .
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 البيروكسيدات في بادرات القطن المعاملة بذوره بالفطر

Trichoderma virens ضد الاصابة بالفطر *R.solani* (Howell et al.,2000). كما ان انزيم ال Xylanase المفرز من قبل *Trichoderma* يزيد من استحثاث المقاومة لدى مسببات الامراض لذا كان الفطر *Trichoderma spp* فعال في ال S.A.R (Systemic Acquiered Resistance) لاكتساب مظاهر المقاومة (Yedidia et al.,1999).

5. تثبيط انزيمات الفطر الممرض: تعمل هذه الالية من خلال افراز الفطر *Trichoderma* لبعض الانزيمات الى البيئة مما يؤدي الى تعطيل انزيمات المسبب المرضي ومنعه من مهاجمة العائل النباتي ، فانزيم protease له دور في تثبيط قابلية المسبب المرضي لاصابة النبات وتثبيط انزيماته (Elad et al.,1999).

اما دور الفطر *Trichoderma spp* في اذابة وعزل العناصر الغذائية غير العضوية 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 et al.,1999) واشار 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 نموالنبات ومقاومة الامراض (Graham and Webb,1991).

عرفت الية جديدة للفطر *Trichoderma* 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 اذ وجد Windham et al. (1986) ان اضافة الفطر *T.harzianum* ; *T.koningii* التربة معقمة ادت الى زيادة معنوية في بزوغ بادرات الطماطة والتبغ قياسا" بمعاملة المقارنة كذلك ازداد الوزن الجاف للمجموع الجذري والخضري للنبات.

3-2-2-2. التداخل الثنائي بين المايكورايزا والترايكوديرما

بين Dix and Webster (1995) ان الفطريات الرمية ومنها ال *Trichoderma spp* تؤثر في العلاقة التكافلية ما بين المايكورايزا والعائل النباتي ، اذ اشارت العديد من الدراسات الى وجود حالة تداخل من نوع(synergistic) بين المايكورايزا والترايكوديرما عند اجراء اختبارات انبات السبورات وكثافة المستعمرات المايكورايزية في جذور العوائل النباتية (Mc Alliste et al.,1994 ; Fracchia et al.,1998).

اشار Rosseau et al (1996) في دراستهما المجهرية حول تداخل المايكورايزا والترايكوديرما الى ان هايفات الفطر *T.harzianum* موجودة بشكل واسع على سطوح السبورات بين Geodeas et al. (1999) في دراسة حول تداخل فطر المايكورايزا *G.mosseae* وخمسة انواع من الفطريات الرمية ومنها *T.harzianum* و *T.pseudokoningii* مع فول الصويا ان اعلى نسبة من المستعمرات الجذرية المايكورايزية كانت (25.5 و 54.4) عند تداخل الفطر *G.mosseae* + *T.harzianum* وفطر *G.mosseae* + *T.pseudokoningii* ، على التوالي قياسا" بالفطر *G.mosseae* لوحده حيث كانت 9.6 . ذكر السامرائي (2003b) ان الاضافة المزدوجة من فطر *G.mosseae* + *T.harzianum* معا 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 *T.harzianum + G.mosseae* معا وعند جميع المدد الزمنية وان هذه الاعداد تميل الى الانخفاض مع تقدم الوقت.

ان التلقيح المزدوج بين المايكورايزا والترايكوديرما قد يسبب نموا اضافيا او توسعا مشتركا في نمو النبات الملقح ، اذ ذكر Camprubi et al. (1995) بان التلقيح المزدوج *T.aureoviride + G.intradices* ادى الى زيادة في نمو النبات بشكل معنوي في اثنين من طبقات تحت سطح التربة. اكد Ravivi et al. (1998) بان تلقيح نبات الخس بالمايكورايزا والترايكوديرما ادى الى زيادة وزن النبات وتركيز الكلوروفيل قياسا" بالنبات غير الملقح.

وجد Geodeas et al. (1999) ان فطريات *T.harzinum* و *T.pseudokoningii* وعند مستويين من تخافيف التربة 2/3 و 1/5 ادت الى زيادة الوزن الجاف للمجموع الخضري والجذري لفول الصويا الملقح بهذه الفطريات في كلا التربتين ولكن ازداد الوزن الجاف للمجموع الخضري بمعنوية عالية عند التلقيح المزدوج بين *Trichoderma spp + G.mosseae* في التربة المخففة 1/5 وزيادة معنوية في الوزن الجاف للمجموع الجذري في كلا التربتين.

وعند دراسة تأثير تلقيح الجذور بالمايكورايزا وفطر *T.harzinum* لثلاثة انواع من نباتات الزينة، اظهرت النتائج التي حصل عليها Sramek et al. (2000) ان تداخل هذه الاحياء كان معنويا على اساس تحسن النمو واللون والاطوال الكلية للاغصان لجميع انواع النباتات.

3-المواد وطرائق العمل

3-1 . جمع عينات التربة وعزل البكتريا

جمعت 20 عينة من تربة منطقة الرايزوسفير من حقول مزروعة بالطماطة والجت والذرة البيضاء والدخن وزهرة الشمس والقطن والماش ضمن محافظتي بغداد وديالى . اعتمد جمع العينة المركبة من خلال جمع العينات من الحقل الواحد والمحصول المحدد وخلطها مع بعضها وذلك لتقليل نسبة الخطأ والتجانس في اخذ العينات لتكوين عينة ممثلة للحقل ، جميع العينات وضعت في اكياس بلاستيكية معقمة بالكحول وحفظت في الثلاجة الى حين استعمالها. الجدول (2) يبين ارقام عينات الترب واسماء المناطق والحقول التي عزلت منها البكتريا.

3-1-1 . عزل بكتريا الازوتوباكتر *Azotobacter spp*

حضرت تخافيف لكل عينة من عينات التربة وذلك باضافة 10 غم من عينة تربة الى 90 مل من المحلول الملحي الفسلجي (N.S) والمعقم في دوارق سعة 250 مل ، مزجت جيدا واجريت تخافيف متسلسلة(10^{-1}-10^{-6}) وذلك بنقل 1 مل من عالق التربة الى انابيب اختبار تحوي على 9 مل من المحلول الملحي المعقم ولكل عينة من عينات التربة ، استعمل الوسط (Sucrose Mineral Salts) (ملحق 1) لتلقيح تخافيف التربة (Becking,1981) . اخذ 1 مل من تخافيف التربة المحضرة اعلاه لتلقيح انابيب اختبار تحتوي على 9 مل من الوسط اعلاه، الذي حضر وعقم بجهاز المؤصدة لمدة 20 دقيقة على درجة حرارة 121 م^{0} وضغط 15 باوند. انج^{2} وبواقع ثلاثة مكررات لكل تخفيف ، حضنت الانابيب على درجة حرارة 28 م ^{0} ولمدة 2-3 أيام. فحصت الانابيب بملاحظة تكون غشاء رقيق بني على السطح والذي يعد مؤشرا لنمو بكتريا الازوتوباكتر. اخذ 0.1 مل من الانابيب التي اعطت مؤشرا للنمو ونشرت على سطح طبق بتري يحتوي على الوسط الصلب (sucrose mineral salts agar) (ملحق 1).حضنت الاطباق على درجة حرارة 28 م ^{0} ولمدة (2-3) يوم، اعيد التخطيط لثلاث مرات متتالية وذلك للحصول على مستعمرات نقية من البكتريا. بعدها تم الحصول على مستعمرات بنية تم عزلها بصورة نقية على بيئات صلبة واعطيت رموزا وارقاما حسب المنطقة التي عزلت منها. تم تنشيط العزلات باستعمال الوسط الموصوف من قبل Thompson and Skerman (1979) (ملحق 2).

جدول(2): ارقام عينات الترب واسماء المناطق والحقول التي جمعت منها

رقم النموذج	اسم المنطقة	اسم الحقل
1	مقدادية – ديالى	حقل جت
2	مقدادية – ديالى	حقل ذرة بيضاء
3	مقدادية – ديالى	حقل قطن
4	مقدادية – ديالى	حقل زهرة الشمس
5	مقدادية – ديالى	حقل طماطة
6	بعقوبة – ديالى	حقل طماطة
7	بعقوبة – ديالى	حقل زهرة الشمس
8	بلدروز – ديالى	حقل جت
9	بلدروز – ديالى	حقل ذرة بيضاء
10	بلدروز – ديالى	حقل قطن
11	بلدروز – ديالى	زهرة الشمس
12	هبهب – ديالى	زهرة الشمس
13	هبهب – ديالى	حقل جت
14	هبهب – ديالى	حقل دخن
15	هبهب – ديالى	حقل ماش
16	راشدية – بغداد	حقل دخن
17	راشدية – بغداد	حقل ذرة بيضاء
18	راشدية – بغداد	حقل جت
19	راشدية – بغداد	حقل زهرة الشمس
20	راشدية – بغداد	حقل طماطة

2-1-3. تشخيص بكتريا الازوتوباكتر *Azotobacter spp*

1. الصفات الزرعية Cultural properties

سجلت الصفات المظهرية للمستعمرات النامية على الوسط التخصصي الصلب (sucrose mineral salts agar) (ملحق 1). اذ تضمنت الشكل، الحجم واللون ومدى مقدرتها على افراز الصبغات وحسب ما جاء في (Black,1965a).

2. الصفات المجهرية Microscopic properties

اجري الفحص المجهري لخلايا البكتريا بعد تصبيغها بصبغة كرام وتم ملاحظة شكلها وحجمها، طريقة تجمعها وتكوينها للغلاف (microcyst) وقابليتها على الاصطباغ وحسب ما جاء في (Black, 1965a).

3. الاختبارات الكيموحيوية Biochemical tests

- النمو في 1% كلوريد الصوديوم NaCl . نميت البكتريا في الوسط الزرعي sucrose (mineral salts) السائل والصلب (ملحق 1) الحاوي على 1% كلوريد الصوديوم لمدة 3–4 ايام وبدرجة حرارة 28 م ^{0} وبعد ظهور العكارة في الوسط السائل وظهور المستعمرات على الوسط الصلب دليلا على مقدرة البكتريا على النمو وحسب طريقة (Tchan and Peter, 1984).
- النمو في درجة حرارة 37 م ^{0} . نميت البكتريا في الوسط الزرعي الصلب sucrose mineral (salts agar) (ملحق 1) لمدة 3–4 ايام بدرجة حرارة 37 م ^{0} ، وبعد ظهور المستعمرات في الوسط الصلب دليلا على مقدرة البكتريا على النمو وحسب ما اشار اليه Thompson and Skerman (1979) .
- اختبار النمو في وسط بيرك Burks media . يستعمل هذا الوسط للتمييز بين انواع البكتريا (ملحق 3) اذ استعمل فيه 10 غم. لتر $^{-1}$ من بنزوات الصوديوم بدلا من الكلوكوز اذ تنمو في هذا الوسط بكتريا A.vinelandii ولا تنمو فيه الانواع الاخرى (Allen,1959).
- اختبار استهلاك المصادر الكاربونية المختلفة. تم اختبار مقدرة العزلات على الاستفادة من المصادر الكاربوهيدراتية الاتية: Mannitol ; Sucrose ; Rhamnose ; Starch كمصادر كاربونية ، اذ اضيفت بصورة منفصلة الى وسط (Walksman No77) (ملحق 4) بعد تعقيمها بصورة منفصلة بالترشيح واضافتها بنسبة 1% وزن. حجم $^{-1}$ (1 غم. 100 مل $^{-1}$ بيئة) ثم حضنت على درجة 28 م ^{0} ولمدة ثلاثة ايام حسب ما ذكر في Shankarappa and Madhav Rao (1998) .

4. اختبار كفاءة العزلات على تثبيت النتروجين الجوي

تم تحضير بيئات سائلة خالية من النتروجين (ملحق 4) اذ وضع 50 مل من البيئة السائلة في قناني سعة 250 مل واضيف لكل منها 1% من محلول mannitol ولقحت القناني باضافة 1 مل من المزرعة السائلة للعزلات المختلفة وحضنت بالحاضنة لمدة 3 اسابيع على درجة حرارة 28 م ^{0} وقدرت كمية الامونيا المتكونة في البيئة بجهاز microkildahl والموضح من قبل (Bremner 1965) .

3-1-3. اضافة الاسمدة والمبيدات الحيوية والكيميائية

3-1-3-1. السماد الحيوي الفطري Glomus mosseae

استعمل لقاح فطر المايكورايزا نوع (**Glomus mosseae**) تم الحصول عليه من مركز الربيع ضمن مشروع الاسمدة الحيوية- هيأة البحث والتطوير الصناعي / وزارة الصناعة والمعادن والمتكون من (سبورات + جذور مصابة + تربة جافة) .

3-1-3-2. السماد الحيوي البكتيري *Azotobacter chroococcum*

اختيرت اكفأ عزلة من الازوتوباكتر تحمل الرمز (A-17) ومن النوع *A.chroococcum* واستعملت في التجارب الحقلية وذلك لكفاءتها العالية في تثبيت النتروجين. نمت هذه البكتريا على الوسط الزرعي السائل (ملحق 2)، وذلك بوضع 50 مل من هذا الوسط في دورق مخروطي سعة 100 مل ولقح من مزرعة بكتيرية عمرها يوم واحد باستعمال الناقل، حضنت في الحاضنة على درجة حرارة 28 م ^{0} ولمدة 2-3 ايام. ولغرض تحضير كمية كافية من اللقاح لغرض استعمالها في التجارب الحقلية تم تهيئة دوارق مخروطية سعة 250 مل يحوي كل منها 100 مل من الوسط الزرعي اعلاه، وبعد تعقيمها لقح كل منها باضافة 1 مل من المزرعة السائلة وذلك باستعمال ماصات معقمة. حضنت هذه الدوارق في الحاضنة على درجة حرارة 28 م ^{0} ولمدة 2-3 ايام ، قدرت كثافة البكتريا قبل استعمالها في التلقيح وذلك بطريقة التخافيف والعد بالاطباق وحسب ما ذكره Black (1965a) وكانت كثافة اللقاح المستعمل 1.63 * 10^{7}وحدة تكوين مستعمرة. مل$^{-1}$.

3-1-3-3. المبيد الحيوي Trichoderma harzianum

تم الحصول على فطر T.harzianum المحمل على مواد عضوية بشكل لقاح والذي يحمل الاسم التجاري (مبيد التحدي) من منظمة الطاقة الذرية وهي عزلة مصدرية ، يحتوي الغرام الواحد من المبيد على 1*10^{9}سبور. غم $^{-1}$ مادة حاملة.

3-1-3-4. المبيدات الكيميائية

استعملت في الدراسة نوعان من مبيدات الادغال وهما التوبك (Topic 100Ec) واللوكران (extra Logran 64 wG) وهي من المبيدات الحديثة في العراق المستعملة في حقول الحنطة للقضاء على الادغال رفيعة وعريضة الاوراق ، على التوالي وهي من المبيدات الجهازية التي ترش بعد بزوغ الادغال، اذ يتم امتصاصها من خلال الاوراق والجذور وتضاف بمعدل 600 سم^{3} . هكتار $^{-1}$ ، 250 غم. هكتار $^{-1}$ على التوالي . جدول (3) يبين اسماء المبيدات المستعملة وبعض المعلومات الخاصة بها.

3-2. صفات تربة الدراسة الكيميائية والفيزيائية والحيوية

اجريت التحليلات الكيميائية والفيزيائية والحيوية للتربة قيد الدراسة حيث شملت:

- تفاعل التربة في مستخلص العجينة بجهاز PH- meter حسب ما اوضحه (Richards,1954).
- التوصيل الكهربائي في مستخلص العجينة بجهاز التوصيل الكهربائي EC-meter وحسب ما اوضحه (Richards,1954).

- استخلص الفسفور الجاهز حسب طريقة (Olsen) المعدلة وقدر حسب طريقة (John (1970 .
- تم تقدير النتروجين الجاهز بمحلول كلوريد البوتاسيوم (2N) باستعمال بجهاز مايكرو كلدال وحسب الطريقة المتبعة من قبل (Bremner 1965).
- قدرت السعة التبادلية الكاتيونية حسب (Polemio and Rhoades (1977 .
- قدرت مكافىء كاربونات الكالسيوم حسب طريقة (Bascomb (1961 .
- قدرت المادة العضوية حسب طريقة Walkely – Black وحسب ما اوضحه (Jackson (1958 .
- قدر التوزيع الحجمي لدقائق التربة بطريقة الهايدروميتر (Black,1965b).
- قدرت اعداد البكتريا الكلية في التربة بطريقة التخفيف والعد بالاطباق باستعمال وسط Nutrient Agar (ملحق 5) وحسب ماجاء في (Black (1965a .
- قدرت اعداد الفطريات الكلية في التربة بطريقة التخفيف والعد بالاطباق باستعمال وسط (PDA) وحسب ماجاء في (Black (1965a .
- قدرت اعداد بكتريا الازوتوباكتر بطريقة التخفيف والعد بالاطباق باستعمال الوسط التخصصي لها وحسب ماجاء في (Black (1965a .
- قدرت الوحدات السكانية لفطر الترايكوديرما بطريقة التخفيف والعد بالاطباق باستعمال الوسط (PDA) (ملحق 7) . جدول (4) يبين الصفات الكيميائية والفيزيائية والحيوية لتربة الدراسة.

3-3. مراحل تنفيذ الخطة البحثية

1-3-3. التجارب الحقلية

1-1-3-3. التجربة الحقلية الاولى

نفذت تجربة عاملية بتصميم القطاعات الكاملة المعشاة (RCBD) في الموسم الشتوي لعام 2002 في محافظة ديالى – قضاء المقدادية في تربة مزيجة طينية غرينية مصنفة على مستوى السلاسل (MW9) وحسب تصنيف (AL- Agaidi, 1976). وذلك لدراسة تاثير المبيد الحيوي ***Trichoderma harzianum*** في التسميد الحيوي لنباتات القمح .Triticum aestevium L صنف طاقة (1) من بكتريا ***Azotobacter chroococcum*** وفطر ***Glomus mosseae*** ونمو وحاصل نبات القمح . تضمنت التجربة اربع معاملات من الاسمدة الحيوية واضافة وعدم اضافة المبيد الحيوي ومستويين من الاسمدة الكيميائية وبثلاثة مكررات وكانت المعاملات كالاتي:

1. معاملات الاسمدة الحيوية
    1. السماد الحيوي البكتيري ***Azotobacter chroococcum*** عزلة محلية.
    2. السماد الحيوي الفطري ***Glomus mosseae*** عزلة محلية مصدرية.
    3. التداخل بين السماد الحيوي البكتيري والفطري *G.mosseae + A.chroococcum*

4. من دون اضافة سماد حيوي.

2.اضافة وعدم اضافة المبيد الحيوي (*T.harzianum*).

3. الاسمدة الكيميائية : اضيفت بمستويين (NPK 50 %) (NPK 100%) من التوصية السمادية. اذ ان نتائج دراسات سابقة ذكرت ان الاسمدة الحيوية ساهمت في تقليل 50% من السماد الكيميائي (بشير ،2003) وعليه اعتمدنا 50% و 100% من التوصية السمادية ، فضلا على ان التجربة الحالية لا تهدف لتحديد المستويات السمادية من الـ NPK .

(4) معاملات اسمدة حيوية * +¯ 2 مبيد حيوي * 2 مستويات سمادية * 3 مكررات=48 لوح.

والجدول (5) يبين معاملات التسميد الحيوي والكيميائي واضافة وعدم اضافة المبيد الحيوي.

جدول(4): بعض الصفات الكيميائية والفيزيائية والحيوية لتربة الدراسة قبل الزراعة.

التوصيل الكهربائي	ديسيسيمنز. م $^{-1}$	2.0
درجة التفاعل		8.4
السعة التبادلية الكاتيونية	سنتي مول. كغم $^{-1}$	20.5
المادة العضوية	غم. كغم $^{-1}$	13.3
مكافىء كاربونات الكالسيوم		168
النتروجين الجاهز	ملغم. كغم $^{-1}$	64
الفسفور الجاهز		5.66
البوتاسيوم الجاهز		360
الرمل	غم. كغم $^{-1}$	150
الغرين		470
الطين		380
النسجة		مزيجة طينية غرينية
البكتريا الكلية	C.F.U غم$^{-1}$ تربة	10^{7}*3

الفطريات الكلية		10^5*36
بكتريا الازوتوباكتر		10^6*1.54
فطر الترايكوديرما		10^5*2.2

جدول (5) : يبين معاملات التسميد الحيوي والكيميائي في حالة اضافة وعدم اضافة المبيد الحيوي (*T.harzianum*).

رقم المعاملة	معاملات التسميد الحيوي	*-T.harizanum* *		*+T. harizanum*	
		$N_1P_1K_1$	$N_2P_2K_2$	$N_1P_1K_1$	$N_2P_2K_2$
1	من دون اضافة تسميد حيوي	%50	% 100	%50	% 100
2	*G.mosseae*	%50	% 100	%50	% 100
3	*A.chroococcum*	%50	% 100	%50	% 100
4	*G.mosseae* + *A.chroococcum*	%50	% 100	%50	% 100

*50و100 %من التوصية السمادية والبالغة (112) كغم. هكتار $^{-1}$ داب، 120 كغم. هكتار $^{-1}$ K2SO4 ، 200 كغم. هكتار $^{-1}$ يوريا. (البرنامج الوطني لتطوير محصول الحنطة – وزارة الزراعة).

2-1-3-3. التجربة الحقلية الثانية

نفذت تجربةعاملية بتصميم القطاعات الكاملة المعشاة (RCBD) في الموسم الشتوي لعام 2002 وفي نفس موقع التجربة الاولى. وذلك لدراسة تأثير اضافة خليط المبيدات (توبك + لوكران) في التسميد الحيوي لنباتات القمح من بكتريا *A.chroococcum* وفطر *G.mosseae* ونمو وحاصل ومكونات نبات القمح .Triticum aestevium L صنف طاقة (1). تضمنت التجربة اربع معاملات من الاسمدة الحيوية واضافة وعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية (توبك + لوكران) ومستويين من الاسمدة الكيميائية وبثلاثة مكررات وكانت المعاملات كالاتي:

1. **معاملات الاسمدة الحيوية**

1.السماد الحيوي البكتيري ***Azotobacter chroococcum*** عزلة محلية.

2.السماد الحيوي الفطري ***Glomus mosseae*** عزلة محلية.

3.التداخل بين السماد الحيوي البكتيري والفطري G.mosseae + A.chroococcum

4.من دون اضافة السماد الحيوي.

2. اضافة وعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية (توبك + لوكران).

3. الاسمدة الكيميائية : اضيفت بمستويين (NPK 50 %) (NPK 100%) من التوصية السمادية.

(4) معاملات اسمدة حيوية * +¯ 2 خليط المبيدات * 2 مستويات سمادية * 3 مكررات=48 لوح.

والجدول (6) يبين معاملات التسميد الحيوي والكيميائي واضافة وعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية (توبك + لوكران).

جدول (6): معاملات التسميد الحيوي والكيميائي واضافة وعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية (توبك + لوكران).

رقم المعاملة	معاملات التسميد الحيوي	من دون اضافة خليط المبيدات الكيميائية *		اضافة خليط المبيدات الكيميائية	
		$N_1P_1K_1$	$N_2P_2K_2$	$N_1P_1K_1$	$N_2P_2K_2$
1	من دون اضافة تسميد حيوي	%50	% 100	%50	% 100
2	*G.mosseae*	%50	% 100	%50	% 100
3	*A.chroococcum*	%50	% 100	%50	% 100
4	*G.mosseae* + *A.chroococcum*	%50	% 100	%50	% 100

3-1-3-3. العمليات الزراعية المشتركة في تنفيذ التجارب الحقلية

1. **تهيئة الارض:** اعدت الارض ونفذت عمليات حراثتها وتنعيمها وتسويتها وتقسيمها الى ثلاثة قطاعات كبيرة وقسم كل منها الى الواح ابعادها (2*3) م^2 وفصلت هذه الالواح بكتوف لحماية المعاملات بعرض (0.5) م. شكل (1 و 2).

2. **اضافة الاسمدة الكيميائية:** استعملت في التجربتين مستويين من الاسمدة الكيميائية NPK والتي تمثل (50% و 100%) من التوصية السمادية للحنطة، وحسب ما بين بالجدول (7).

جدول (7) : التوصية السمادية وكمية الاسمدة المضافة في التجارب الحقلية.

السماد الكيميائي	التوصية السمادية كغم/هكتار	الكميات المضافة للوح غم. 6 م^2	
		100%	50%
الداب	112	67.2	33.66
K2SO4	120	72	36
اليوريا	200	120	*60

* اضيفت بدفعتين. اذ اضيف سمادي الداب وكبريتات البوتاسيم والدفعة الاولى من سماد اليوريا نثرا على سطح التربة وقبل الزراعة، واضيفت الدفعة الثانية من اليوريا بعد 45 يوما من الانبات وحسب المعاملات.

3. طريقة اضافة الاسمدة الحيوية والمبيدات الحيوية والكيميائية

1. السماد الحيوي البكتيري: خلط 500 مل من المزرعة السائلة لبكتريا A.chroococcum عزلة A17 مع 0.5 كغم مادة عضوية كحامل ، مغسولة ومعقمة بالمؤصدة على درجة 121 م^0 وضغط 15 باوند/ انج^2 ولمدة ساعة. مزج 1 كغم بذور مع 100 مل من معلق الصمغ العربي والمحضر بنسبة 1 : 10 (صمغ : ماء) لزيادة التصاق اللقاح بالبذور ، اضيف خليط اللقاح والحامل الى البذور وخلطت جيدا وتركت لمدة ساعة قبل استعمالها في الزراعة بعيدا عن مصدر الشمس. واضيف الى معاملة المقارنة الحامل مع ماء خالي من اللقاح البكتيري.

2. السماد الحيوي الفطري : خططت الالواح الى 12 خط المسافة بين خط واخر بحدود 15 سم، اضيف لقاح المايكورايزا G.mosseae نثرا على الخطوط وبمعدل 50 غم لكل خط.

3. المبيد الحيوي:: اضيف المبيد الحيوي (T.harzianum) للتجربة الحقلية الاولى بمعدل 2 غم. م $^{-2}$ ، اذ اضيف بشكل عالق بالماء بنسب 2 غم / 100 مل ماء. م −2 ، أي اضيف 12 غم / 600 مل ماء / لوح (6 م^{2}) مع اضافة 5 غم دبس لكل لوح كقاعدة غذائية (الحافظ، 2001) ووزعت على الخطوط. وعمل العالق عند الزراعة وبتاريخ 2002/11/23.

4. المبيدات الكيميائية: اضيف خليط المبيدات الكيميائية (توبك + لوكران) للتجربة الحقلية الثانية رشا بعد 60 يوما من الانبات وبعد بزوغ نباتات الادغال وبتاريخ 2003/2/6، اذ اضيف المستوى الموصى به حقليا لكل مبيد ممزوجا بـ (100 لتر ماء) لكل دونم ، وحسب ما بين في الجدول (8).

جدول (8): التركيز الموصى به وكمية المبيدات المضافة للتجربة الحقلية الثانية

نوع المبيد	التركيز الموصى به	الكميات المضافة للوح 6 م^{2}	
توبك	600 سم^{3}. هكتار$^{-1}$	0.36 سم^{3}	+240 سم^{3} ماء
لوكران	250سم^{3}. هكتار$^{-1}$	0.15 غم	

1. **الزراعة وعمليات الخدمة** : زرعت الالواح بمعدل 120 كغم. هكتار $^{-1}$ أي 5.5 غم للخط الواحد وتمت زراعة البذور غير الملقحة اولا لتجنب التلوث ثم زرعت البذور الملقحة باللقاحات البكتيرية وحسب المعاملات. اجريت عمليات الخدمة والسقي حسب حاجة المحصول ، واخذت نماذج التربة والنبات بعد مرور 14 اسبوعا" من موعد الانبات وبتاريخ 2003/3/14 وذلك لاجراء التقديرات المايكروبايولوجية.

2-3-3. التجارب المختبرية

1-2-3-3.تجربة تحديد أقل تركيز مثبط لنمو بكتريا الازوتوباكتر Manimum Inhabitory Concentration (MIC)

جمعت 12 عينة من منطقة الرايزوسفير لنباتات القمح الملقحة بالازوتوباكتر وذلك بعد خمسة اسابيع من اضافة خليط المبيدات الكيميائية (توبك + لوكران) من معاملات التجربة الحقلية الثانية، نفذت تجربة مختبرية بتصميم RCBD لاختبار تاثير خليط المبيدات في نمو عزلات مختلفة من بكتريا *A.chroococcum* لتحديد اقل تركيز مثبط لنمو البكتريا (MIC) (Rana et al.,1998) وحسب

طريقة تخافيف التربة (Becking,1981) . تم عزل وتشخيص 12 عزلة من بكتريا *A.chroococcum* . جدول (9) يبين المعاملات التي عزلت منها البكتريا وارقام العزلات .

تم تحضير بيئة المانيتول– اكار (ملحق 4) واضيف اليها المبيدات التي تم تعقيمها باستعمال المرشح البكتيري (Seitz Filter) قبل تصلبها وباربعة مستويات مستعملين التركيز الموصى به حقليا ومستويين يمثلان التركيز الواطى والتركيز العالي اضافة لمعاملة المقارنة (من دون مبيد) وحسب جدول (10). وباستعمال الناقل تم تخطيط الاطباق وبثلاثة مكررات لكل تركيز ولكل عزلة، حضنت على درجة حرارة 28 م^0 ولمدد حضن (3، 7 ، 10 ، 14 ، 21) يوما" وسجل نمو العزلات البكتيرية خلال مدد الحضن. وكانت معاملات التجربة كما يلي:

12عزلة * (4) تركيز *3 مكرر= 144 وحدة لكل فترة حضن

2-2-3-3.تجربة قياس اقل تركيز مثبط (MIC) لاعداد الخلايا البكتيرية من *A.chroococcum*

نفذت تجربة مختبرية بتصميم RCBD لدراسة تاثير خليط المبيدات الكيميائية في اعداد خلايا 12 عزلة من بكتريا *A.chroococcum* مأخوذة من تربة رايزوسفير نباتات القمح الملقحة بالازوتوباكتر والمعاملة بخليط المبيدات الكيميائية (كما في التجربة المختبرية الاولى) وذلك لتحديد اقل تركيز مثبط (MIC) لاعداد خلايا البكتريا. حضرت مزرعة سائلة من كل عزلة بكتيرية ، اذ تم تنميتها في بيئة المانيتول (ملحق 4) السائلة الخالية من النتروجين وبعد اسبوع من الحضن ، تم اجراء التخافيف المتسلسلة وتم تحضير بيئة المانيتول – آكار (Allen,1961). واضيف لها المبيدات التي تم تعقيمها قبل تصلبها وباربعة مستويات (C_3 , C_2 , C_1 , C_0) (جدول 10) . ولقحت الاطباق (Black,1965a) باضافة 1 مل من المزرعة السائلة لكل عزلة ، حضنت الاطباق في الحاضنة على درجة حرارة 28 م^0 ولمدد حضن (3، 7 ، 10 ، 14 ، 21) يوما" . عدت المستعمرات النامية لكل عزلة بكتيرية في الاطباق خلال مدد الحضن. وكانت معاملات التجربة كما يلي:

(12) عزلة * (4) تراكيز *(3) مكرر= 144 وحدة لكل مدة حضن. وقد تم اجراء الحضن كل على حده.

جدول (9): المعاملات التي عزلت منها الازوتوباكتر وارقام العزلات في التجارب المختبرية

رقم الانموذج	المعاملات التي عزلت منها البكتريا	رقم العزلة
1	اضافة خليط المبيدات+ $N_1P_1K_1$ A.chroococcum	I_1
2	اضافة خليط المبيدات+ $N_1P_1K_1$ A.chroococcum	I_2
3	اضافة خليط المبيدات+ $N_1P_1K_1$ +A.chroococcum	I_3
4	عدم اضافة خليط المبيدات+	I_4

	$N_1P_1K_1$+ A.chroococcum	
5	عدم اضافة خليط المبيدات+ $N_1P_1K_1$+ A.chroococcum	I_5
6	عدم اضافة خليط المبيدات+ $N_1P_1K_1$+ A.chroococcum	I_6
7	اضافة خليط المبيدات+$N_2P_2K_2$ + A.chroococcum	I_7
8	اضافة خليط المبيدات+$N_2P_2K_2$ + A.chroococcum	I_8
9	اضافة خليط المبيدات+ $N_2P_2K_2$ + A.chroococcum	I_9
10	عدم اضافة خليط المبيدات A.chroococcum+ $N_2P_2K_2$+	I_{10}
11	عدم اضافة خليط المبيدات A.chroococcum+ $N_2P_2K_2$+	I_{11}
12	عدم اضافة خليط المبيدات A.chroococcum+ $N_2P_2K_2$+	I_{12}

جدول (10): مستويات خليط المبيدات الكيميائية المستعملة في تجربة (MIC)

نوع المبيد	التراكيز المستعملة			
	C0	C1	C2	C3
توبك ppm مادة فعالة	0.00	75	*150	300
لوكران ppm مادة فعالة	0.00	25	50	100

* التركيز الموصى به حقليا

4-1-3-3. القياسات النباتية

1.قياس اطوال النباتات

2. الوزن الجاف للمجموع الخضري بعد (14) اسبوعا" من الانبات

3. وزن حاصل الحبوب (كغم. هكتار$^{-1}$)

4. مكونات الحاصل (عدد السنيبلات ، عدد الحبوب . سنبلة$^{-1}$ ، وزن 1000 حبة).

3-3-1-5. التقديرات المايكروبايولوجية

1. تقدير نسبة الاصابة المايكورايزية في الجذور، وحسب طريقة (1980) .Kormanik et al
2. تقدير اعداد السبورات في التربة ، حسب طريقة (1986) Ianson and Allen
3. تقدير اعداد الخلايا البكتيرية للازوتوباكتر في التربة بطريقة التخافيف والعد بالاطباق وحسب (Black (1965a .
4. تقدير المجتمع السكاني (C.F.U) لفطر الترايكوديرما حسب (1965a) Black
5. تقدير اعداد الخلايا البكتيرية للازوتوباكتر في الاوساط الصناعية الصلبة عند قياس اقل تركيز مثبط (MIC). (Rana et al.,1998).

3-4. التحليل الاحصائي

تم استخدام نظام التحليل الاحصائي الجاهز (SAS , 2000) تحت نظام التشغيل Windows لاجراء التحليلات الاحصائية. واستخدم تصميم القطاعات الكاملة المعشاة (RCBD) وتمت مقارنة المتوسطات باستعمال اختبار دنكن لتحديد نوع ومستوى المعنوية بين متوسطات المعاملات المختلفة للتجارب الحقلية. واستعمال اختبار اقل فرق معنوي (L.S.D) عند مستوى احتمال 0.05 لاختبار الفروق المعنوية بين المتوسطات للتجارب المختبرية.

4.النتائج والمناقشة

4-1.جمع وتشخيص العزلات البكتيرية

4-1-1.تقدير اعداد الخلايا البكتيرية لعزلات الازوتوباكتر

اظهرت نتائج عزل البكتريا الحصول على 17عزلة من بكتريا الازوتوباكتر مأخوذة من حقول مختلفة مزروعة بالطماطة والجت والذرة البيضاء والدخن وزهرة الشمس والقطن والماش من محافظة بغداد وديالى ، اذ عزلت البكتريا من تربة الرايزوسفير لهذه المحاصيل باستعمال الوسط الغذائي(Sucrose Mineral Salts Agar) لكونه وسطا "ملائما "لنمو هذه البكتريا .الجدول (11)يبين ارقام العزلات ومناطق جمعها ومصدر العزل واعداد خلاياها .تبين نتائج الجدول وجود بكتريا الازوتوباكتر *Azotobacter spp* في جميع نماذج التربة وبكثافات نمو مختلفة ، وتباينت قيم اعداد خلايا البكتريا حسب تباين مناطق الجمع بين بغداد وديالى وضمن المحافظة نفسها ، اذ تراوحت قيم الاعداد لعزلات البكتريا بين($4.34*10^2$-$8.12*10^5$) و ($3.22*10^2$-$6.3*10^5$) cfu .غم$^{-1}$تربة جافة لكل من العزلات المأخوذة من محافظتي بغداد وديالى ، على التوالي. تعد بكتريا الازوتوباكتر من الاحياء المجهرية واسعة الانتشار في التربة عموما "ويقل انتشارها في التربة ذات الـ PH الاقل من (6) (Jensen,1965). واشار محمود واخرون (1997) الى ان الترب المتعادلة او التي تميل الى القاعدية تنتشر فيها الازوتوباكتر على نطاق واسع .

ان اختلاف قيم اعداد البكتريا للعزلات ضمن المناطق المختلفة قد يعزى الى اختلاف الظروف البيئية والمناخية(Dobereiner et al., 1976) واختلاف نوع التربة (Charyula and Rao, 1980) ونوع الغطاء النباتي السائد Rovira ,1965)) وطبيعة الكتلة الحيوية السائدة في المنطقة (Dobereiner,1974).

كما تظهر نتائج الجدول تفوق اعداد البكتريا في نماذج التربة المأخوذة من الحقول المزروعة بالجت والطماطة والذرة البيضاء على بقية النماذج ، اذ وجد Yousef et al (1976) ان بكتريا الازوتوباكتر موجودة في نماذج ترب مختلفة من العراق وان الاراضي المزروعة بالبرسيم والجت احتوت على أعلى الاعداد من الازوتوباكتر في حين تفاوتت اعدادها في الاراضي المزروعة بالبقوليات والحبوب والمحاصيل الحقلية الاخرى .

جدول (11)يبين ارقام عزلات بكتريا الازوتوباكتر ومناطق جمعها ومصدر العزل واعداد خلاياها

الرقم	منطقة الجمع	رقم العزلة	مصدر الجمع	اعداد الخلايا(غم .تربة جافة)
1	راشدية -حقل جت	A1	تربة الرايزوسفير	$8.12*10^5$
2	مقدادية -حقل طماطة	A2	تربة الرايزوسفير	$6.3*10^5$
3	هبهب -حقل جت	A3	تربة الرايزوسفير	$8.22*10^4$
4	مقدادية -حقل ذرة بيضاء	A4	تربة الرايزوسفير	$4.2*10^4$
5	راشدية -حقل ذرة بيضاء	A5	تربة الرايزوسفير	$7.77*10^3$
6	راشدية -حقل دخن	A6	تربة الرايزوسفير	$7.5*10^3$
7	بعقوبة -حقل زهرة الشمس	A7	تربة الرايزوسفير	$3.8*10^3$
8	مقدادية -حقل جت	A8	تربة الرايزوسفير	$9.1*10^2$
9	بلدروز -حقل جت	A9	تربة الرايزوسفير	$8.06*10^2$
10	هبهب -حقل ماش	A10	تربة الرايزوسفير	$8.0*10^2$
11	بلدروز -حقل ذرة بيضاء	A11	تربة الرايزوسفير	$7.7*10^2$
12	هبهب -حقل زهرة الشمس	A12	تربة الرايزوسفير	$7.6*10^2$
13	مقدادية -حقل قطن	A13	تربة الرايزوسفير	$7.5*10^2$
14	مقدادية -حقل زهرة الشمس	A14	تربة الرايزوسفير	$5.5*10^2$
15	راشدية -حقل طماطة	A15	تربة الرايزوسفير	$5.43*10^2$
16	راشدية -حقل زهرة الشمس	A16	تربة الرايزوسفير	$4.34*10^2$
17	بعقوبة -حقل طماطة	A17	تربة الرايزوسفير	$3.22*10^2$

2-1-4.تشخيص عزلات الازوتوباكتر (A.chroococcum) واختيار العزلة الكفوءة لتثبيت النتروجين

لقد لوحظ من خلال دراسة الصفات المزرعية والمجهرية والكيموحيوية ان خلايا هذا الجنس تميزت بكونها متعددة الاشكال بين عصوية على شكل عصيات سميكة الى بيضوية الشكل، كبيرة الحجم، غالبا ما تكون بشكل ازواج وعند دخول الخلايا في طور الثبات (stationary phase تبدأ الاكياس (cysts) الوحيدة الخلية بالتكون متخذة شكلا "كرويا "غير منتظم الى مستدير، متحركة وسالبة لصبغة كرام وغير مكونة للسبورات(Fang et al.,1987 ; Tchan and Peter,1984) جميعها هوائية ولكنها تنمو تحت ظروف نقص الاوكسجين .

عند تنمية البكتريا على الوسط الصلب(sucrose mineral salts agar) كانت المستعمرات لزجة، معتمة، مرتفعة، محدبة، لماعة، ناعمة ومتوسطة الحجم الى كبيرة، انتجت اغلب العزلات مادة كثيفة غطت سطح الطبق، ومن خلال دراسة الصفات المزرعية والمجهرية لهذه العزلات فان هذه الصفات تتطابق مع الصفات المزرعية والمجهرية للجنس الازوتوباكتر (Beacking,1992 ; Holt et al.,1994) .

يبين الجدول (12)بعض الصفات الكيموحيوية التي اجريت للعزلات ذات الصفات المظهرية المطابقة لصفات بكتريا ***(A.chroococcum)*** اعتمادا "على ما جاء في Holt et al.,1994 ; Shankara ppa and Madhav Rao,1998)) لتأكيد الجنس وتحديد النوع ومن هذه الصفات قابليتها على استغلال مختلف مصادر الكاربون ، اذ يلاحظ من الجدول ان العزلات قد استعملت كل من المانتول والسكروز والنشأ ولم تستعمل سكر الرامنوز مصدرا "للكاربون والطاقة ، كما انها لم تنمو في وسط بيرك الحاوي على 1%بنزوات الصوديوم، ونمت في كلوريد الصوديوم بتركيز 1%ونمت ايضا "بدرجة 37م^{0}وعند مقارنة هذه الصفات مع صفات الانواع التابعة لجنس الاوزتوباكتر يمكن عد هذه العزلات تابعة للنوع ***(A.chroococcum)*** ، اذ بين Ishac and Yousef (1972) ان النوع(*A.chroococcum*) هو اكثر شيوعا "في الترب العراقية .

كما بين الجدول (12)قيم تثبيت النتروجين للعزلات، اذ تميزت بقابليتها على تثبيت النتروجين الجوي في وسط المانتول السائل الخال من النتروجين مكونة نموا"بشكل غشاءرقيق ابيض اللون على سطح الوسط الزرعي السائل فأعطت العزلة رقم A17 اعلى قيمة لتثبيت النتروجين وعلى هذا الاساس تم اختيارها كعزلة محلية استعملت كسماد حيوي في التجارب الحقلية .

جدول :(12)بعض الصفات الكيموحيوية لتشخيص عزلات الجنس *Azotobacter spp*مرتبة حسب كمية النتروجين المثبته.

رقم العزلة	الصفات الكيموحيوية للعزلات						وسط بيرك	كمية N_2 المثبته N %	نوع العزلة
	1% NaCl	37 م^0	مانيتول	سكروز	نشأ	رامينوز			
A17	+++	++	+++	+++	++	–	–	0.09	*A.chroococcum*
A3	+++	++	+++	+++	++	–	–	0.08	*A.chroococcum*
A15	++	++	+++	+++	++	–	–	0.08	*A.chroococcum*
A14	++	++	+++	+++	+	–	–	0.07	*A.chroococcum*
A7	++	++	+++	+++	++	–	–	0.07	*A.chroococcum*
A2	++	++	+++	+++	++	–	–	0.07	*A.chroococcum*
A1	++	++	+++	+++	++	–	–	0.06	*A.chroococcum*
A4	++	++	++	++	++	–	–	0.06	*A.chroococcum*
A6	++	++	+++	+++	++	–	–	0.06	*A.chroococcum*
A8	++	++	+++	+++	++	–	–	0.06	*A.chroococcum*

A.chroococcum	0.06	–	–	++	+++	+++	++	++	A9
A.chroococcum	0.06	–	–	++	+++	+++	++	+	A10
A.chroococcum	0.06	–	–	++	+++	+++	++	++	A11
A.chroococcum	0.06	–	–	++	+++	+++	+	++	A12
A.chroococcum	0.06	–	–	+	++	++	++	++	A13
A.chroococcum	0.06	–	–	++	+++	+++	+	++	A16
A.chroococcum	0.06	–	–	++	+++	+++	++	++	A5

-لايوجد نمو + نمو ضعيف ++نمو متوسط +++نمو كثيف

4-2.التجارب الحقلية

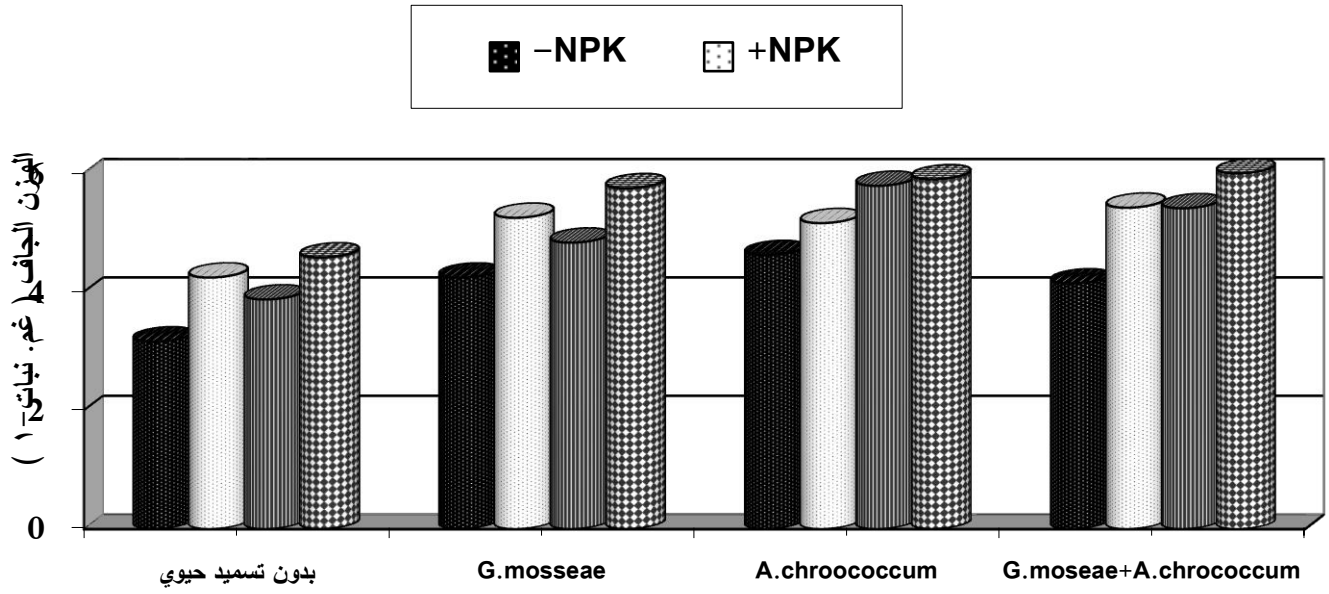
4-2-1.التجربة الحقلية الاولى

4-2-1-4. تاثير اضافة الاسمدة الحيوية والكيميائية في اطوال النباتات والوزن الجاف للمجموع الخضري في حالة اضافة وعدم اضافة المبيد الحيوي(*T.harzianum*)

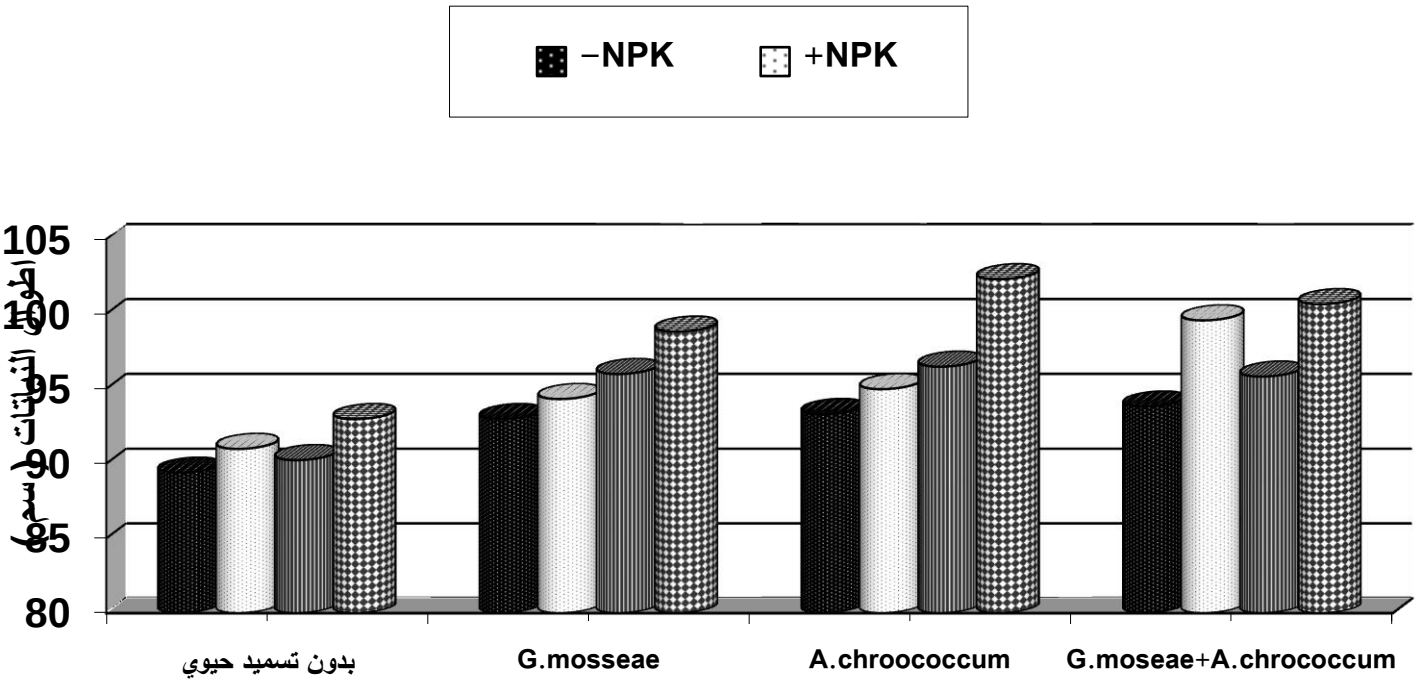
يبين الشكلان (3و4) ان اطوال النباتات والوزن الجاف للمجموع الخضري ازدادت معنويا عند رفع نسبة التسميد الكيميائي من 50%الى 100%بغض النظر عن اضافة المبيد الحيوي والسماد الحيوي الفطري والبكتيري،وكانت هذه الزيادة نتيجة لاستجابة النباتات للمغذيات الكبرى(NPK) اذ ان عنصر النتروجين يؤدي الى تحسين نمو النبات وزيادة نمو المجموع الخضري كما ان عنصر الفسفور يسهم في نمو جميع اجزاء النبات وزيادة وزنه كنتيجة لتشجيع الفسفور لتكوين مجموع جذري كثيف وعميق يساعد على امتصاص الماء والعناصر الغذائية ثم ان البوتاسيوم يعمل على تحسين نمو النبات وتاثيره من حيث زيادة او تشجيع امتصاص النتروجين من قبل النبات(Tisdale et al.,1986) .

اضافة المبيد الحيوي من فطر *T.harzianu*m تسببت في احداث زيادة معنوية قدرها 3.44%و 16.11%لكل من اطوال النباتات والوزن الجاف للمجموع الخضري، على التوالي وبغض النظر عن اضافة السماد الحيوي والكيميائي .اذ اشار Altomare et al. (1999) الى ان الاحياء المجهرية في التربة ومنها فطر *T.harzianum* تؤدي دورا "بارزا "في دورات العناصر ومنها N,P,S كما ان الفطر *T.harzianum* له القابلية على تعزيز تجهيز وامتصاص النتروجين من قبل النبات كما يؤدي دورا "مهما"في ذوبان العناصر النادرة(Zn,Mn,Fe,Cu) في الترب القاعدية وان العناصر التي تختزل الحديد والمنغنيز هي مواد احيائية يفرزها الفطر *T.harzianum* مما يدل على ان هذا الفطر يسهم في ذوبان وجاهزية المغذيات الصغرى للنبات . هذه النتائج كانت متطابقة مع Lorito et al. (1993) و (2000) Harman والحديثي (2002)اذ ان الفطر *T.harzianum* يرفع نسبة البراعم الثمرية ، كما انه يحفز نمو الجذور والنمو الخضري، واشار

Margeret et al.(1994) انه عند استعمال مستوى اضافة (0.75 و 1%) من فطر *Tricoderma spp* فان ثلاث سلالات اعطت اعلى تحفيز للنظام الجذري والقمي مع ثباتية طول مدة النمو لنبات الخس .



شكل (3): تاثير اضافة الاسمدة الحيوية والكيميائية في اطوال نباتات القمح في حالة اضافة وعدم اضافة المبيد الحيوي من فطر *T.harzianum* .



شكل (4): تاثير اضافة الاسمدة الحيوية والكيميائية في الوزن الجاف للمجموع الخضري لنباتات القمح في حالة اضافة وعدم اضافة المبيد الحيوي من فطر *T.harzianum* .

ان الزيادة في بعض معايير نمو النباتات عند اضافة فطريات الترايكوديرما قد يرجع الى ممقدرة بعض عزلات *Tricoderma spp* على انتاج الاثيلين مما انعكس على زيادة فعالية انزيم البيروكسديز (حميد،2002) وذلك لممقدرة الاثيلين على زيادة معايير نمو النباتات المعاملة به (Lazanyi and Cabulea, 1957; Ketring and Morgan,1970)كما اعتقد Windham et al. (1986) وجود مادة ما منظمة للنمو تنتج من قبل الفطر *Tricoderma spp* في منطقة مهد البذور لتؤثر ايجابيا في انبات البذور ونمو جذور النباتات مما يؤدي الى زيادة نمو تلك النباتات .

ان اضافة السماد الحيوي الفطري(*G.mosseae*) والبكتيري (*A.chroococcum*) بصورة منفردة او مزدوجة حقق زيادة معنوية في اطوال النباتات والوزن الجاف للمجموع الخضري ولكلا المستويين من السماد الكيميائي وعند اضافة وعدم اضافة المبيد الحيوي من فطر(*T.harzianum*)) مقارنة بمعاملة عدم اضافة سماد حيوي. وان اعلى القيم سجلت عند اضافة السماد الحيوي الفطري والبكتيري معا(*G.mosseae* + *A.chroococcum*) وباضافة 100%من السماد الكيميائي وفي حالة اضافة وعدم اضافة المبيد الحيوي. على الرغم من انه لاتوجد فروق معنوية بين معاملات التسميد الحيوي، الا ان نسبة الزيادة بلغت (9.42%

و 28%)و (10.61%و 41.51%) لكل من اطوال النباتات والوزن الجاف للمجموع الخضري وفي حالة عدم اضافة واضافة المبيد الحيوي، على التوالي مقارنة بمعاملة عدم اضافة سماد حيوي وباضافة السماد الكيميائي (100%) وعند عدم اضافة المبيد الحيوي. وقد يعزى السبب في ذلك الى اهمية عنصر الفسفور الذي يسهم في تحسين نمو النبات وادائه الوظيفي عند استعمال المايكورايزا كمخصب حيوي، فضلا على التاثير الايجابي للفطر في النبات من حيث تحسين امتصاص العناصر الغذائية والماء (Safir et al. 1972) . لقد اشارت العديد من الدراسات الى ان وجود المايكورايزا في بيئة الجذور قد تسهم في زيادة ممقدرة النبات في استخلاص عنصر الفسفور في حالة عدم توفره بجاهزية مرتفعة او كافية (Jensen and Jakobsen , 1980) وذكر (Haymann 1982) الى ان نباتات القمح ذات نظام جذري ناعم تكون اكثر استجابة للتلقيح بفطريات المايكورايزا تحت المستويات المنخفضة من الفسفور.

ان استجابة مكونات النمو في نباتات القمح (اطوال النبات ، الاوزان الجافة) للتسميد الحيوي بفطر المايكورايزا وبالتداخل مع التسميد الفوسفاتي ذكرت من قبل العاني (1993)والسامرائي واخرين (1994) والتميمي(2000) (Al.Karaki and Dlark (1998. فضلا على ذلك فان بكتريا الازوتوباكتر تسهم بشكل متواضع في رفع جاهزية النتروجين في وسط النمو عن طريق التثبيت الحيوي (محمود واخرون، 1997)فضلا"على دورها المهم من خلال افرازها للمواد المنظمة للنمو واهمها الاوكسين(IAA) والجبريلينات والسايتوكينات(Brown and Walker,1970 ; Barea and Brown,1974) ثم افرازها لبعض المواد المنشطة والمحفزة لامتصاص العناصر الصغرى مثل الحديد (Page and Dale,1986 والسامرائي، 2002).

اشار العديد من الباحثين الى وجود استجابة معنوية في مكونات نمو حاصل الحنطة نتيجة التسميد الحيوي ببكتريا الازوتوباكتر(Abdel-Jawad,1998; Gill et al.,1993 ; Jagnov,1987). والتاثير الايجابي للتسميد الحيوي الفطري والبكتيري المزدوج ذكر من قبل Mostafa (1990) و Manske et al. (2000) وبشير (2003)وهذا قد يعزى الى :

1. لفطريات المايكورايزا تاثير ايجابي في عملية التثبيت الجوي للنتروجين للازوتوباكتر من خلال تجهيزها بمصادر الفسفور الضرورية لسد حاجتها من الطاقة(Ishac,2000).
2. زيادة جاهزية المغذيات وخاصة النتروجين نتيجة التاثير المتداخل للفطريات والبكتريا معا"مما يؤدي الى تحسين نمو النبات(El-Ghandour,1992).
3. مقدرة المايكورايزا على ازالة ايونات الامونيوم من مواقع تثبيت النتروجين مؤدية الى اطالة فعالية انزيم النتروجينز (Mostafa,1990).
4. مقدرة البكتريا المثبتة للنتروجين على افراز منظمات النمو مما يؤدي الى التنشيط المباشر للفعاليات الايضية للمايكورايزا مؤدية الى زيادة مقدرة النبات على امتصاص المغذيات ومنها النتروجين (Pacovsky,1988) وانتقاله وتمثيله عن طريق الهايفا ومن المصادر غير الجاهزة ,.Ames et al 1983).

5. رفع كفاءة الجذور في الاستفادة من العناصر الغذائية الموجودة في منطقة نمــو الجذور (السامرائي، 2003a).
6. التاثيرات المتداخلة بين المايكورايزا والازوتوباكتر من حيث مقدرتها على الحد من الامراض الفطرية(Ishac et al.,1990).

اما التاثير الايجابي للتداخل ما بين المايكورايزا وفطريات الترايكوديرما في نمو النباتات اشار اليه العديد من الباحثين (Sramek et al.(2000) Camprubi et al.(1995 فقد اشار Ghisalberti et al.(1990)الى ان تواجد الترايكوديرما مع المايكورايزا قد يسهم في تحفيز عملية الـ (sporulation) حيث ان هذه الفطريات تمتاز بنشاط انزيمي وافراز بعض المضادات الحيوية مثل (pyronc) وان اضافتها الى وسط النمو تحسن نمو الكثير من المحاصيل الزراعية(السامرائي، 2003b).

ذكر عدد من الباحثين ان التداخل ما بين بكتريا الازوتوباكتر وفطريات الترايكوديرما هو من النوع الموجب(Viesturs et al., 1998 ; Apsite et al.,1996,1997).

2-1-2-4. تأثير اضافة الاسمدة الحيوية والكيميائية في حاصل الحبوب في حالة اضافة وعدم اضافة المبيد الحيوي (*T.harzianum*)

يبين الشكل (5)ان رفع مستوى السماد الكيميائي من (50%الى 100%) من التوصية السمادية سببت زيادة معنوية في حاصل الحبوب بغض النظر عن اضافة الاسمدة الحيوية والمبيد الحيوي من فطر (*T.harzianum*) .

اضافة المبيد الحيوي(*T.harzianum*) وبغض النظر عن اضافة الاسمدة الحيوية والكيميائية حققت زيادة معنوية في حاصل الحبوب مقارنة بعدم اضافة المبيد الحيوي .ان الزيادة المتحققة في الانتاج بعد اضافة المبيد الحيوي *T.harzianum* يمكن ان تعزى الى نشاط الفطر الانزيمي في التربة ، اذ ان معدل نشاط انزيمات الاميليز ، السيليليز والكايتنيز كان عاليا "نتيجة لزيادة الوحدات السكانية للفطر(*T.harzianum*) (الحديثي،2002) . ذكر Howell et al. (2000) ان الانزيمات التي يفرزها الفطر(*T.harzianum*) تزيد من استحثاث المقاومة لدى النبات ضد المسببات المرضية.ان فطر(*T.harzianum*) يعمل على تثبيط انزيمات المسبب المرضي المحللة لجدران خلايا الجذور ويثبط مقدرته على الاصابة مما يعزز الانتاج(Elad et al.,1999)

لقد تأثر حاصل الحبوب في اضافات الاسمدة الحيوية والكيميائية في حالة اضافة وعدم اضافة المبيد الحيوي من فطر (*T.harzianum*) .عند عدم اضافة المبيد الحيوي فان اعلى غلة انتاج من الحبوب كانت عند جميع معاملات التسميد الحيوي من فطر المايكورايزا او الازوتوباكتر والمضافة بصورة منفردة او مزدوجة وعند كلا المستويين من السماد الكيميائي المضاف، اذ بلغت اعلى قيم لها عند اضافة السماد الحيوي الفطري والبكتيري معا" (*A.chroococcum* + *G.mosseae*) مع اضافة 100%من السماد الكيميائي ، اذ بلغت (2914.65)كغم .هكتار$^{-1}$وكانت زيادتها معنوية مقارنة بمعاملة عدم اضافة سماد حيوي وباضافة 100% من

السماد الكيميائي اذ بلغت 2467.83كغم.هكتار$^{-1}$، ان استعمال المبيد الحيوي سجل اعلى غلة انتاج من الحبوب عند كلا المستويين من السماد الكيميائي وتحت جميع معاملات التسميد الحيوي المنفردة او المزدوجة، وبلغت اعلى قيمة لها عند اضافة السماد الحيوي المزدوج مع اضافة 100%من السماد الكيميائي .اذ بلغت 3085.21كغم .هكتار$^{-1}$وبزيادة قدرها 25%مقارنة بمعاملة عدم اضافة سماد حيوي ومبيد حيوي وبوجود 100% من السماد الكيميائي .

ادت اضافة السماد الحيوي المنفرد لفطر المايكورايزا *G.mosseae* الى زيادة معنوية في قيمة حاصل الحبوب ولكلا المستويين من السماد الكيميائي المضاف مقارنة بمعاملة عدم اضافة سماد حيوي وفي حالة عدم اضافة واضافة المبيد الحيوي من فطر(*T.harzianum*) وبلغت نسبة الزيادة (14.42%و 21.01%) مقارنة بمعاملة عدم اضافة سماد حيوي ووباضافة 50% من السماد الكيميائي وعند عدم اضافة المبيد الحيوي وعند اضافته، على التوالي .

ان استجابة حاصل الحنطة للتسميد الحيوي بفطريات المايكورايزا بوجود وغياب التسميد الكيميائي ذكرت من قبل كل من Omar (1998) ; Mohammad et al. (1995) وبشير (2003) وهذا يرجع الى التاثير الايجابي للمايكورايزا على تشجيع معدل امتصاص الفسفور (Abbot and Robson,1977) والعناصر الغذائية الاخرى مثل النتروجين والزنك والحديد (Barea and Gonzalez,1986) . ان حالة التداخل الايجابية بين المايكورايزا وفطريات الترايكوديرما اشار لها كل من Fracchia et al.(1998) ; MCEAlliste et al.(1994) اذ ان حالة التداخل هذه هي من نوع (synergistic) من خلال اختبارات انبات السبورات وكثافة المستعمرات.

كما سجلت اضافة السماد الحيوي المنفرد لبكتريا *A.chroococcum* زيادة معنوية في حاصل الحبوب ولكلاالمستويين من السماد الكيميائي المضاف مقارنة بمعاملة عدم اضافة سماد حيوي وفي حالة عدم اضافة واضافة المبيد الحيوي من فطر *T.harzianum* وبلغت نسبة الزيادة 17.33% و 22.4% مقارنة بمعاملة عدم اضافة سماد حيوي وباضافة 50% من السماد الكيميائي وعند عدم اضافة المبيد الحيوي وعند اضافته، على التوالي. اشار العديد من الباحثين الى استجابة حاصل الحنطة للتسميد الحيوي ببكتريا الازوتوباكتر (Singh et al.,1993 ; Mash hoor et al.,2002) ان هذه الاستجابة ترجع الى الدور المهم الذي تؤديه البكتريا لافرازها المواد المنظمة للنمو والتي تؤثر ايجابيا" في نمو النبات ومعدل امتصاصه للمغذيات مما يؤدي الى زيادة انتاج حاصل الحبوب (Gonzalez-Lopez et al.,1986) فضلا" عن دورها في تثبيت النتروجين الجوي (Both et al.,1981).

بين (Viesturs et al. (1998 ان التداخل بين بكتريا الازوتوباكتر وفطريات الترايكوديرما انعكس ايجابيا" على حاصل بنجر السكر وارتفاع محتوى السكر في البنجر وانخفاض عدد النباتات المصابة.

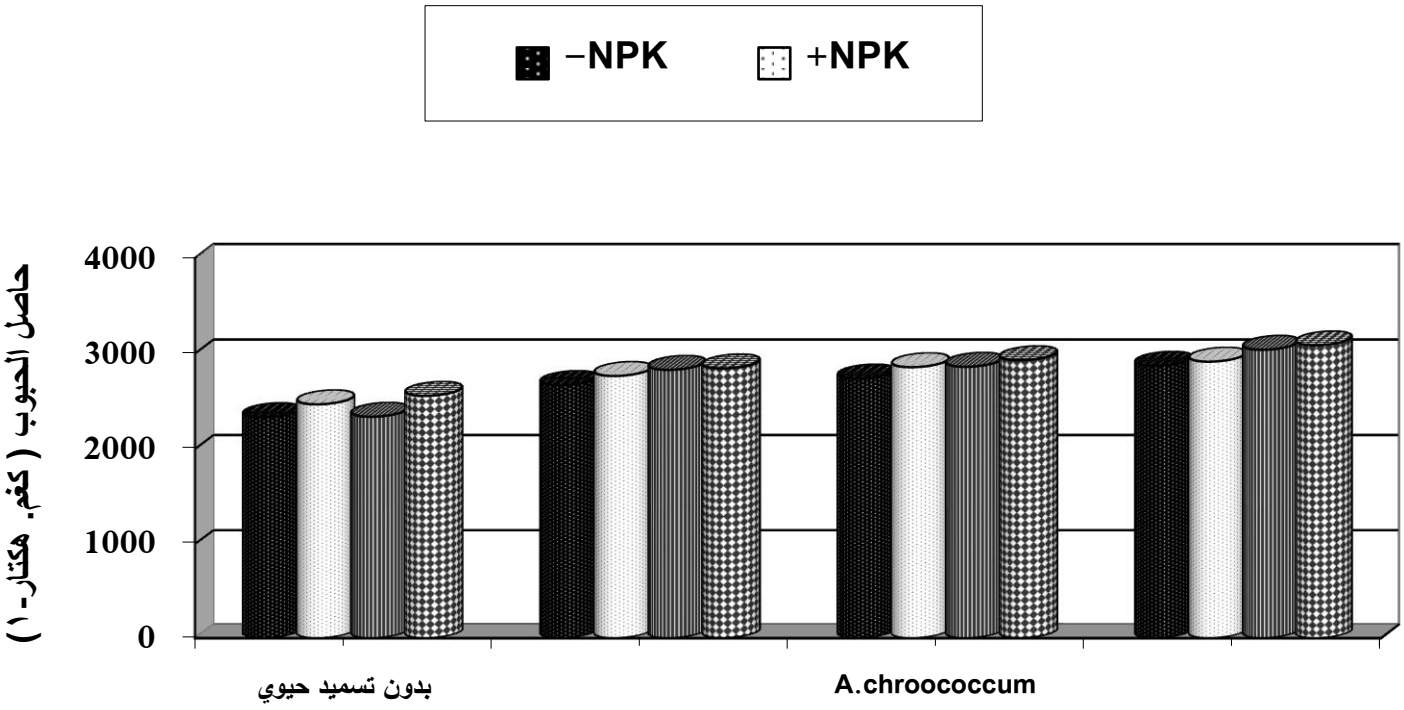
وعند مقارنة قيم الانتاج في حالة اضافة السماد الحيوي الفطري والبكتيري المزدوج *G.mosseae* + *A.chroococcum* مع معاملات التسميد الحيوي الفطري المنفرد *G.mosseae* والبكتيري المنفرد

A.chroococcum والمعاملات التي لم يضاف لها سماد حيوي وباضافة 50% من التسميد الكيميائي، نجد ان معاملة التسميد الحيوي الفطري والبكتيري المزدوج تفوقت بنسبة (23.07% و 7.5% و 4.9%) و (30.01% و 7.43% و 6.22%) مقارنة مع معاملة عدم اضافة سماد حيوي، اضافة سماد حيوي فطري منفرد، سماد حيوي بكتيري منفرد وفي حالة عدم اضافة واضافة المبيد الحيوي ، على التوالي.

من هذه النتائج يتبين ان الاضافات المنفردة والمشتركة للاسمدة الحيوية وباضافة 50% من التسميد الكيميائي وبوجود وعدم وجود المبيد الحيوي من فطر *T.harzianum* حققت انتاج يفوق ما حققته معاملة عدم اضافة سماد حيوي وباضافة 100% من التسميد الكيميائي وعند اضافة وعدم اضافة المبيد الحيوي، اذ بلغ الانتاج (2670.13 و 2738.13 و 2871.9) و (2828.8 و 2861.1 و 3039.03) كغم. هكتار$^{-1}$ لكل من معاملات السماد الحيوي الفطري المنفرد، السمادالحيوي البكتيري المنفرد ومعاملة السماد الحيوي الفطري والبكتيري المزدوج وعند عدم اضافة واضافة المبيد الحيوي، على التوالي. في حين بلغ الانتاج (2467.70 و 2566.23) كغم.هكتار$^{-1}$ لمعاملة عدم اضافة سماد حيوي وباضافة 100% من التسميد الكيميائي وعند عدم اضافة واضافة المبيد الحيوي، على التوالي. بينت النتائج ايضا" ان اضافة السماد الحيوي الفطري والبكتيري معا" وباضافة 50% من السماد الكيميائي وبوجود وعدم وجود المبيد الحيوي اعطت قيم لحاصل الحبوب لا تختلف معنويا" عن قيمها في حالة اضافة (100%) من السماد الكيميائي،اذ بلغ الانتاج (2871.86 و 2914.65) و (3039.03 و 3085.21) كغم. هكتار$^{-1}$ عند اضافة (50% و 100%) من السماد الكيميائي وفي حالة عدم اضافة واضافة المبيد الحيوي، على التوالي. وهذا انعكس ايجابيا" عند حساب الزيادة المتحققة من حاصل الحبوب ، اذ بلغت (18.1% و 20.69%) لمعاملة السماد الحيوي الفطري والبكتيري المزدوج وبوجود 100% من السماد الكيميائي وعند عدم اضافة واضافة المبيد الحيوي، على التوالي. وهذه كانت اقل من (23.08% و 30.03%) التي سجلت في حالة اضافة السماد الحيوي نفسه ولكن باضافة 50% من السماد الكيميائي وعند عدم اضافة واضافة المبيد الحيوي ، على التوالي. ان ذلك مهم في تحقيق مردود اقتصادي من خلال ما توفره الاسمدة الحيوية والمبيدات الحيوية 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. هذه النتائج تعتمد على طبيعة التربة الخاضعة للدراسة ويمكن ان تختلف في تربة اخرى. اذ اشارت بشير (2003) الى ان الاضافة المزدوجة من الاسمدة الفطرية والبكتيرية (*G.mosseae + A.chroococcum*) وتحت 50% من التوصية السمادية من المغذيات (NPK) اعطت قيما" لحاصل الحبوب لا تختلف معنويا" عن قيمتها في حالة اضافة (100%) من التوصية السمادية.

ان التاثير الايجابي ما بين المايكورايزا وبكتريا الازوتوباكتر في انتاجية الحنطة اشار اليه كل من (2000) .Manske et al والسامرائي (2002) والسبب في ذلك يرجع الى التداخل الايجابي بين المايكورايزا والازوتوباكتر من حيث نسبة الاصابة واعداد السبورات والبكتريا مما ينعكس ايجابيا" على عملية التثبيت الجوي للنتروجين من قبل بكتريا الازوتوباكتر وذلك من خلال تجهيزها بالكميات الكافية من الفسفور

اللازم لسد حاجاتها من الطاقة (Ishac,2000) فضلا على ذلك زيادة مقدرة البكتريا على افراز الهرمونات ومنظمات النمو بانواعها المختلفة ومن ثم تشجيع الجذور لامتصاص الماء والمغذيات.



شكل (5): تاثير اضافة الاسمدة الحيوية والكيميائية في حاصل الحبوب (كغم. هكتار$^{-1}$) في حالة اضافة وعدم اضافة المبيد الحيوي من فطر *T.harzianum* .

3-1-2-4. تأثير اضافة الاسمدة الحيوية والكيميائية في مكونات الحاصل لنبات القمح في حالة اضافة وعدم اضافة المبيد الحيوي *T.harzianum*.

يبين الجدول (13) ان قيم مكونات الحاصل بلغت الحد الاعلى لها في حالة اضافة السماد الحيوي الفطري والبكتيري المزدوج من (*G.mosseae* + *A.chroococcum*) وبغض النظر عن السماد الكيميائي المضاف والمبيد الحيوي فيما عدا وزن 1000 حبة سجلت اعلى قيمة لها عند اضافة السماد الحيوي الفطري المنفرد وهذه لاتختلف معنويا" عن معاملة اضافة السماد الحيوي الفطري والبكتيري المزدوج، وكانت قيم جميع مكونات الحاصل مرتفعة معنويا" في حالة اضافة السماد الحيوي الفطري والبكتيري بصورة منفردة او مزدوجة مقارنة مع معاملة عدم اضافة سماد حيوي على الرغم من انه لم تظهر فروق معنوية في قيم مكونات الحاصل بين معاملات التسميد الحيوي الفطري والبكتيري المنفرد او المزدوج فيما عدا عدد الحبوب . سنبلة$^{-1}$ اظهرت فروقا" معنويا" بين معاملات التسميد الحيوي المنفرد او المزدوج.

وبغض النظر عن اضافة الاسمدة الحيوية والكيميائية فان اضافة المبيد الحيوي من فطر *T.harzianum* سجلت زيادة معنوية في مكونات الحاصل اذ بلغت نسبة الزيادة (3.18% و 8.07% و 3.92%) لكل من عدد السنيبلات . سنبلة$^{-1}$، عدد الحبوب . سنبلة$^{-1}$ ووزن 1000 حبة، على التوالي مقارنة بعدم اضافة المبيد الحيوي. اذ ان بعض العزلات من فطريات *Trichoderma* spp لها المقدرة على اختراق الجذور وتشكل تراكيب فطرية في الجذور مشابه لما تحدثه المايكورايزا (Kleifield and Chet,1992) ولهذا اقترح Brundert (1991) الى ان التلقيح بفطريات *Trichoderma* spp يزيد من كفاءة امتصاص العناصر الغذائية بطريقة مشابه نوعا ما لما يحدث عند التلقيح بالمايكورايزا مما ينعكس على نمو النبات ومكونات الحاصل، ان تلقيح نباتات الخس بفطر الترايكوديرما بالسلالة WT انتج نباتات ذات نظام جذري ناعم وكثيف وقد تسبب في زيادة امتصاص الماء والعناصر الغذائية المتاحة ومنها الفسفور (Margeret et al., 1994) .

ان اضافة الاسمدة الحيوية المنفردة او المزدوجة ادت الى زيادة غير معنوية في مكونات الحاصل عند رفع نسبة التسميد الكيميائي الى 100% من التوصية السمادية وعند اضافة وعدم اضافة المبيد الحيوي. فيما عدا عدد الحبوب. سنبلة$^{-1}$ ازدادت معنويا" عند رفع نسبة التسميد .

جدول (13): تأثير اضافة الاسمدة الحيوية والكيميائية في بعض مكونات الحاصل لنبات القمح في حالة اضافة وعدم اضافة المبيد الحيوي من فطر (*T.harzianum*)

اضافات الاسمدة الحيوية	-T.harzinum			+T.harzianum			المعدل
	$-N_1P_1K_1$	$N_2P_2K_2$	المعدل	$-N_1P_1K_1$	$N_2P_2K_2$	المعدل	
معدل عدد السنيبلات.سنبلة$^{-1}$							
من دون تسميد حيوي	20.00f	21.00ef	20.5d	20.83ef	21.66def	21.24cd	20.87b
G.mosseae	22.00cde	23.00bcd	22.5cb	23.33abcd	23.75ab	23.54ab	23.02a
A.chroococcum	22.5bcde	23.00bcd	22.75b	23.00bcd	23.5abc	23.25ab	23.00a
+G.mosseae A.chroococcum	23.00bcd	24.00ab	23.5ab	23.12bcd	25.00a	24.06a	23.78a
المعدل	21.87b	22.75ab		22.57ab	23.47a		
معدل عدد الحبوب. سنبلة$^{-1}$							
من دون تسميد حيوي	67.75i	69.00hi	68.37f	70.41hi	74.49gh	72.45ef	70.41d
G.mosseae	77.24fg	78.00efg	77.62de	82.33def	83.54de	82.93d	80.27c
A.chroococcum	82.0def	85.7d	83.85cd	91.37c	91.87c	91.62b	87.73b
+G.mosseae A.chroococcum	84.16d	97.75b	90.95bc	92.5bc	108.00a	100.25a	95.6a
المعدل	77.78b	82.61ab		84.15ab	89.47a		
معدل وزن 1000 حبة							
من دون تسميد حيوي	45.05e	45.80de	45.42d	47.30dc	47.7bcd	47.5c	46.46b
G.mosseae	48.25bc	49.25abc	48.75bc	49.6ab	50.73a	50.17ab	49.46a
A.chroococcum	47.07bcd	48.35bc	47.71c	49.75ab	51.05a	50.4a	49.21a
+G.mosseae A.chroococcum	47.80bcd	49.40abc	48.60c	49.35abc	51.1a	50.22ab	49.41a
المعدل	47.20c	48.02bc		49.00ab	50.15a		

تقارن قيم كل مجموعة من المتوسطات مع بعضها. القيم في المجموعة الواحدة ذات الحروف المتشابه لاتختلف معنويا" فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود بمستوى احتمال 0.05 .

الكيميائي وعند معاملة اضافة السماد الحيوي المزدوج وفي حالة اضافة وعدم اضافة المبيد الحيوي وكذلك عدد السنيبلات ازدادت معنويا" عند رفع نسبة التسميد الكيميائي لنفس المعاملة وبوجود المبيد الحيوي، وهذه النتيجة يمكن ان تفسر طبقا" لما توصل اليه العديد من الباحثين والذين استعملوا الاسمدة الحيوية بالتداخل مع الاسمدة الكيميائية لغرض زيادة الانتاج اذ ازدادت نسبة الحاصل الى حد معين من التسميد الكيميائي غير ان زيادة الحاصل نتيجة لزيادة مستويات التسميد الكيميائي لم تعط النتيجة الايجابية المطلوبة (Rai and Gaur,1988) . في حين اشارت الباحثة بشير (2003) الى ان وجود حالة تداخل ايجابية بين معاملات التسميد الحيوي بانواعه المنفردة والمزدوجة ومستويات التسميد الكيميائي في مكونات الحاصل.

ان اضافة الاسمدة الحيوية الفطرية والبكتيرية بصورة منفردة او مزدوجة ادت الى ارتفاع قيم كل من عدد السنيبلات . سنبلة$^{-1}$ ، عدد الحبوب. سنبلة$^{-1}$ ووزن 1000 حبة مقارنة بمعاملة عدم اضافة سماد حيوي ولكلا المستويين من التسميد الكيميائي وفي حالة اضافة وعدم اضافة المبيد الحيوي *T.harzianum* ، واعلى قيمة سجلت عند اضافة السماد الحيوي الفطري والبكتيري المزدوج وعند اضافة 100 % من التوصية السمادية ، اذ بلغت نسبة الزيادة (20% و 44.28% و 9.65%) و (25% و 59.40% و 13.42%) لكل من عدد السنيبلات . سنبلة$^{-1}$، عدد الحبوب. سنبلة$^{-1}$ ووزن 1000 حبة وعند عدم اضافة اضافة المبيد الحيوي ، على التوالي مقارنة بمعاملة عدم اضافة سماد حيوي وباضافة 50% من السماد الكيميائي وعند عدم اضافة المبيد الحيوي.

ان استجابة مكونات حاصل الحنطة للتسميد الحيوي بفطريات المايكورايزا ذكرت من قبل كل من العاني (1993) والسامرائي واخرين (1994) وبشير (2003) وذلك من خلال التاثير الايجابي للفسفور المجهز من قبل المايكورايزا من حيث تحسين نمو النبات وزيادة انتاج الحاصل وتكوين البذور وزيادة نسبة الكاربوهيدرات في البذور (Singh et al., 1993) .

ان استجابة مكونات حاصل الحنطة للتسميد الحيوي ببكتريا الازوتوباكتر اشار اليها كل من Bahandari et al.(1989) ; Gill et al.(1993) . ارتفاع قيم مكونات حاصل الحنطة نتيجة للتسميد الحيوي المزدوج بالمايكورايزا وبكتريا الازوتوباكتر سجل من قبل كل من Manske et al.(2000) والسامرائي (2003a) وبشير (2003) . اشار Dix and Webster (1995) الى ان الفطريات الرمية ومنها فطريات *Trichoderma spp* تؤثر في العلاقة التكافلية ما بين المايكورايزا والعائل النباتي.

اظهرت النتائج ان مكونات الحاصل سلكت سلوكا" مشابها" لانتاج الحاصل لحبوب الحنطة ، اذ اعطت معاملات التسميد الحيوي المنفرد والمزدوج وباضافة 50% من التسميد الكيميائي اعلى القيم مقارنة بمعاملة عدم اضافة سماد حيوي وبوجود 100% من السماد الكيميائي وفي حالة اضافة وعدم اضافة المبيد الحيوي. وهذا قد يعزى الى ارتفاع الزيادة (23.08% و 30.03%) المتحققة من حاصل الحبوب لنباتات القمح التي استلمت السماد الحيوي الفطري والبكتيري المزدوج و50% من التسميد الكيميائي وعند عدم اضافة واضافة المبيد الحيوي ، على التوالي مؤدية الى ارتفاع قيم كل من مكونات الحاصل. كما ان استعمال الفطر *Trichoderma* spp يؤدي الى خفض معنوي في نسب المرض التي يحدثها الفطر الممرض Rhizotonia

solani في نباتات القمح مما يعزز النمو وزيادة الانتاج (ديوان وعباس ، 2001) . بين السامرائي (2003b) ان فطر *T.harzianum* عمل على زيادة معامل الاستفادة والكفاءة لعنصر الفسفور وسجلت اعلى القيم في حالة وجود فطر المايكورايزا والترايكوديرما معا" في منطقة جذور نباتات الشعير والحمص وعند اخر مدة زمنية من اخذ العينات وقد تفوق محصول الشعير في اعطاء اعلى قيمة من معدلات الاستفادة والكفاءة لامتصاص الفسفور مقارنة بمعدلات معامل الاستفادة والكفاءة لامتصاص الفسفور في الحمص.

4-1-2-4. تأثير اضافة الاسمدة الحيوية والكيميائية في اعداد خلايا بكتريا الازوتوباكتر والوحدات السكانية لفطر الترايكوديرما في حالة اضافة وعدم اضافة المبيد الحيوي.

يبين الجدول (14) ان اعداد بكتريا الازوتوباكتر في التربة تراوحت ما بين (1.8-7.0)*10^6 cfu . غم$^{-1}$ تربة جافة عند عدم اضافة المبيد الحيوي في حين تراوحت بين (3.33-9.2) *10^6 cfu . غم$^{-1}$ تربة جافة عند اضافة المبيد الحيوي *T.harzianum* ومن هذه القيم نلاحظ ان اضافة المبيد الحيوي *T.harzianum* ادت الى زيادة معنوية في اعداد الازوتوباكتر بغض النظر عن اضافة الاسمدة الحيوية والكيميائية وبلغت نسبة الزيادة (31.3%) مقارنة بعدم اضافة المبيد الحيوي. وهذا يعطي مؤشرا" ايجابيا" على حالة التداخل بين الازوتوباكتر والترايكوديرما، اذ اشار Viestury et al.(1998) الى ان التداخل بين الازوتوباكتر والترايكوديرما ادى الى زيادة اعداد الازوتوباكتر.

ان القيمة الابتدائيةلاعداد البكتريا كانت (1.8*10^6) cfu . غم$^{-1}$ تربة جافة وهذه القيمة تمثل اعداد الازوتوباكتر المتوطنة في التربة، اذ ان بكتريا الازوتوباكتر توجد مترابطة مع جذور العديد من المحاصيل الزراعية والاعشاب والاشجار (Haller and Stople,1985) وما يؤكد النتيجة اعلاه ان الـ pH لتربة الدراسة هو 8.4 وهذا يعني انتشار الازوتوباكتر في الترب القاعدية، اذ اشار محمود واخرون (1997) الى ان انسب pH لنمو الازوتوباكتر يكون (6-8.5) تقريبا" حيث يكون انتشارها على نطاق واسع في الترب المتعادلة او التي تميل الى القاعدية، وضعيفا" او معدوما في الترب الحامضية.

تأثرت اعداد الازوتوباكتر عند رفع نسبة التسميد الكيميائي الى (100%) في حالة اضافة وعدم اضافة المبيد الحيوي وبغض النظر عن اضافة الاسمدة الحيوية، اذ انخفضت اعدادها بشكل غير معنوي ، فقد اشارت العديد من الابحاث الى ان اعداد البكتريا المثبتة للنتروجين ومنها الازوتوباكتر لا تتاثر بالمصادر النتروجينية المضافة كسماد معدني وانما قد تستفاد منها كمصادر للطاقة في نموها وتكاثرها وان هذه الاضافات النتروجينية قد يكون لها تاثير مثبط فقط من حيث كبح فعالية او تصنيع انزيم النتروجينيز (Cejudo et al,1984) ، اذ اشارت بشير (2003) الى ان اعداد الازوتوباكتر ارتفعت اعدادها مع زيادة نسب التسميد الكيميائي ثم انخفضت معنويا" مع ارتفاع نسب التسميد الكيميائي الى (100%) حتى وصلت اعدادها الى قيم اقل من قيمها في حالة عدم اضافة أي سماد كيميائي.

عند معاملة عدم اضافة سماد حيوي وباضافة 50% من التسميد الكيميائي فان اضافة المبيد الحيوي *T.harzianum* ادت الى زيادة معنوية في اعداد الازوتوباكتر المستوطنة في التربة ، اذ بلغت نسبة الزيادة (131.66%) مقارنة بتلك المعاملة وفي حالة عدم اضافة المبيد الحيوي، في حين ادت الى زيادة غير معنوية في اعداد البكتريا عند اضافة 100% من السماد الكيميائي مقارنة بعدم اضافة المبيد الحيوي.

ان اضافة السماد الحيوي الفطري المنفرد *G.mosseae* سببت زيادة معنوية في اعداد الازوتوباكتر المستوطنة في التربة ولكلا المستويين من السماد الكيميائي مقارنة بمعاملة عدم اضافة سماد حيوي وفي حالة اضافة وعدم اضافة المبيد الحيوي. اذ بلغت نسبة الزيادة (174.44% و 94.08%) مقارنة بعدم اضافة سماد حيوي ولكلا المستويين من السماد الكيميائي على التوالي وفي حالة عدم اضافة المبيد الحيوي، اما عند اضافة المبيد الحيوي فبلغت الزيادة (221.66% و 171.42%) مقارنة بعدم اضافة سماد حيوي ومبيد حيوي ولكلا المستويين من السماد الكيميائي على التوالي. اذ اشار كل من Barea et al.(1973) و بشير(2003) الى التاثير الايجابي لاضافة السماد الحيوي بفطريات المايكورايزا في اعداد بكتريا الازوتوباكتر المستوطنة في التربة، وبين (Bagyuraj and Menge (1978 ان اعداد الازوتوباكتر زادت بمستويات عالية وبنسبة (88%) في جذور نباتات الطماطة الملقحة بالمايكورايزا.

اضافة السماد الحيوي البكتيري المنفرد *A.chroococcum* ادت الى زيادة معنوية في اعداد الازوتوباكتر ولكلا المستويين من السماد الكيميائي مقارنة بمعاملة عدم اضافة سماد حيوي وفي حالة اضافة وعدم اضافة المبيد الحيوي. فعند عدم اضافة المبيد الحيوي بلغت نسبة الزيادة (290% و 195.56%) مقارنة بعدم اضافة سماد حيوي ولكلا المستويين من السماد الكيميائي على التوالي ، اما عند اضافة المبيد الحيوي فبلغت الزيادة (385.55%و228.07%) مقارنة بعدم اضافة سماد حيوي ومبيد حيوي ولكلا المستويين من السماد الكيميائي ، على التوالي.هذا يدل على نجاح التسميد الحيوي ببكتريا الازوتوباكتر وعدم وجود حالة تنافس سلبي بين العزلة المحلية البكترية المدخلة كلقاح والمستوطنة في التربة .

جدول (14): تاثير الاسمدة الحيوية والكيميائية في اعداد خلايا بكتريا الازوتوباكتر والوحدات السكانية لفطر الترايكوديرما في حالة اضافة وعدم اضافة المبيد الحيوي من فطر *T.harzianum*

اضافات الاسمدة الحيوية	− *T.harzianum*			+ *T.harzianum*			المعدل
	$N_1P_1K_1$	$N_2P_2K_2$	المعدل	$N_1P_1K_1$	$N_2P_2K_2$	المعدل	
اعداد بكتريا الازوتوباكتر (10^6*cfu)							
من دون تسميد حيوي	1.8J	2.03ij	1.91e	4.17fgh	3.33hi	3.75d	2.83c
G.mosseae	4.94efg	3.94gh	4.44d	5.79cde	5.51def	5.65c	5.04b
A.chroococcu m	7.02bc	6.00cde	6.51c	8.74a	6.66cd	7.7ab	7.10a
+ *G.mosseae A.chroococcum*	6.97bc	6.68cd	6.82bc	9.23a	8.27ab	8.75a	7.78o
المعدل	5.18ab	4.66b		6.98a	5.94ab		
الوحدات السكانية لفطر الترايكوديرما (10^5*cfu)							
من دون تسميد حيوي	2.68k	3.60ijk	3.14e	6.60cde	5.14fgh	5.87bc	4.50c
G.mosseae	4.41ghij	4.05ghijk	4.23de	7.20bcd	6.23def	6.71b	5.47b
A.chroococcum	3.48jk	3.95hijk	3.71e	8.11b	7.82bc	7.96a	5.84b
+ *G.mosseae A.chroococcum*	5.33efg	4.86fghi	5.09cd	9.67a	7.80bc	8.73a	6.91a
المعدل	3.94b	4.11b		7.89a	6.74a		

تقارن قيم كل مجموعة من المتوسطات مع بعضها. القيم في المجموعة الواحدة ذات الحروف المتشابه لاتختلف معنويا" فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود بمستوى احتمال 0.05 .

ان وجود الازوتوباكتر باعداد كبيرة في المناطق المزروعة وحول الجذور ووجودها يتاثر بافرازات الجذور (Haller and Stope,1985) وذكر Eweda and Vlassak (1988) ان الازوتوباكتر المدخلة كسماد حيوي تنمو بشكل جيد في تربة الرايزوسفير سواء أكان التسميد منفردا" ام مشتركا" مع احياء اخرى، الا ان الاضافة المزدوجة متفوقة في كثير من الدراسات (بشير،2003 و السامرائي،2003a).

ادت اضافة السماد الحيوي الفطري والبكتيري بصورة مزدوجة + *G.mosseae A.chroococcum* الى زيادة معنوية في اعداد الازوتوباكتر ولكلا المستويين من السماد الكيميائي مقارنة بمعاملة عدم اضافة سماد حيوي وفي حالة اضافة وعدم اضافة المبيد الحيوي، فعند عدم اضافة المبيد الحيوي بلغت نسبة الزيادة (287.22% و 229.06%) مقارنة بعدم اضافة سماد حيوي ولكلا المستويين من السماد الكيميائي على

التوالي. وعند اضافة المبيد الحيوي كانت الزيادة (412.7% و 307.38%) مقارنة بعدم اضافة سماد حيوي ومبيد حيوي ولكلا المستويين من السماد الكيميائي على التوالي.

ومن هذه النتائج يظهر لنا بان اضافة السماد الحيوي المزدوج اعطت اعلى القيم في اعداد البكتريا مقارنة بمعاملات عدم اضافة سماد حيوي واضافة الاسمدة الحيوية المنفردة وفي حالة اضافة وعدم اضافة المبيد الحيوي وبغض النظر عن اضافة السماد الكيميائي.

ان زيادة اعداد البكتريا نتيجة للتسميد الحيوي الفطري والبكتيري المزدوج اشار اليه كل من Isha et al. (1986a); Mostafa (1990) والسامرائي (2003a) وهذا قد يرجع الى حالة التداخل الايجابي microb-microb أو الى التاثير الايجابي لبعض المواد التي تفرزها الفطريات مثل المواد المنظمة للنمو (Barker and Jagu,2000)، اذ ذكر St John (1996) ان فطريات المايكورايزا تنتج مركبات السايتوكاينينات (cytokinins) اذ توجد بكميات كبيرة في النباتات المايكورايزية.

يبين الجدول (14) ان اعداد الوحدات السكانية لفطر (*T.harzianum*) في التربة تراوحت ما بين (2.68− 5.33) * 10^{-5} cfu . غم$^{-1}$ تربة جافة في حالة عدم اضافة المبيد الحيوي، فقد ذكر Danielson and Davey (1973) ان فطر الترايكوديرما له انتشار واسع في جميع انواع الترب الخفيفة النسجة والثقيلة، اذ ان فطر *T.harzianum* من الفطريات الناقصة التي تستوطن التربة بسرعة فائقة مقارنة بالاحياء الاخرى وتتميز بمتطلباتها الغذائية البسيطة مما يزيد قدرتها التنافسية مع الاحياء (Harman,2000) ، اما عند اضافة المبيد الحيوي *T.harzianum* فان اعداد الوحدات السكانية تراوحت ما بين (5.14−9.67) * 10^{-5} cfu . غم$^{-1}$ تربة جافة . من هذه القيمة يتبين ان اضافة المبيد الحيوي ادت الى زيادة معنوية بنسبة (81.18%) مقارنة بعدم اضافة المبيد الحيوي وبغض النظر عن اضافة الاسمدة الحيوية والكيميائية وهذه النتيجة مشابه لما حصل عليها الحديثي (2002) اذ اشار الى ان لقاح *T.harzianum* ادى الى زيادة قدرها (98%) في اعداد الوحدات السكانية للفطر مقارنة بمعاملة عدم اضافة اللقاح ، حيث ان اضافة اللقاح لها دور في زيادة الكثافة السكانية للفطر والتي تؤدي دورها في النشاط الانزيمي، اذ بين (1985) Papavizas ان جميع عزلات الفطر *T.harzianum* تنتج ثلاثة انواع من الوحدات اللقاحية وهي ; Hyphae ; Conidia Chlamydospores وتوجد جميعها ضمن الكتلة الحية الـ Biomass المستخدمة للسيطرة الحيوية .

بغض النظر عن اضافة الاسمدة الحيوية المنفردة او المزدوجة فان اعداد الوحدات السكانية انخفضت انخفاضا" غير معنوي عند رفع نسبة التسميد الكيميائي الى 100% وفي حالة اضافة وعدم اضافة المبيد الحيوي . حيث ان نمو الترايكوديرما يتوقف على ظروف الرايزوسفير التي تؤثر في نمو الاحياء المجهرية.

ان اضافة السماد الحيوي لفطر المايكورايزا *G.mosseae* حققت زيادة معنوية في اعداد الوحدات السكانية لفطر *T.harzianum* المستوطنة في التربة مقارنة مع اعدادها في حالة عدم اضافة سماد حيوي وباضافة 50% من السماد الكيميائي وبلغت نسبة الزيادة (64.55%) مع كلا المعاملتين ، وعند اضافة المبيد الحيوي *T.harzianum* ارتفعت الزيادة الى (168.6%) مقارنة بمعاملة عدم اضافة سماد حيوي وباضافة 50% من السماد الكيميائي ومن دون اضافة المبيد الحيوي. ان زيادة الوحدات السكانية لفطر *T.harzianum*

بوجود فطريات المايكورايزا حصل عليها ايضا" كل من Rosseau et al.(1996) والسامرائي(2003b) . اذ اشار الى ان اعداد الوحدات السكانية لفطر الترايكوديرما تزداد عند اضافة فطريات المايكورايزا لنباتات الشعير والحمص مقارنة بمعاملة المقارنة، الا ان اضافة (*G.mosseae+ T.harzianum*) معا" زادت من الوحدات السكانية وعند كل مدة زمنية.

اضافة السماد الحيوي البكتيري المنفرد *A.chroococcum* ادت الى زيادة غير معنوية في اعداد الوحدات السكانية لفطر *T.harzianum* المستوطنة مقارنة مع اعدادها في حالة عدم اضافة سماد حيوي ولكلا المستويين من السماد الكيميائي وبلغت نسبة الزيادة (29.85%) وباضافة 50% من السماد الكيميائي ولكلا المعاملتين . وعند اضافة المبيد الحيوي *T.harzianum* بلغت الزيادة (202.61%) مقارنة بمعاملة عدم اضافة سماد حيوي وباضافة 50% من السماد الكيميائي ومن دون اضافة مبيد حيوي وكانت الزيادة معنوية وهذه النتيجة تشير الى وجود حالة تداخل ايجابية نوع (microb-microb) أي ما بين بكتريا الازوتوباكتر وفطريات الترايكوديرما.

ادت اضافة السماد الحيوي الفطري والبكتيري المزدوج *G.mosseae + A.chroococcum* الى زيادة معنوية في اعداد الوحدات السكانية المستوطنة للفطر الترايكوديرما مقارنة مع اعدادها في حالة عدم اضافة سماد حيوي وباضافة 50% من السماد الكيميائي ، وكانت نسبة (98.88%) مع كلا المعاملتين ، وارتفعت الزيادة الى (260.8%) عند اضافة المبيد الحيوي ومقارنة مع معاملة عدم اضافة سماد حيوي وباضافة 50% من السماد الكيميائي ومن دون اضافة مبيد حيوي، ان معاملة اضافة السماد الحيوي الفطري والبكتيري معا" سجلت اعلى قيمة لها في اعداد الوحدات السكانية لفطر *T.harzianum* مقارنة بالمعاملات الآخرى وعند المستوى (50%) من السماد الكيميائي وفي حالة اضافة وعدم اضافة المبيد الحيوي. ان فطريات *Trichoderma* spp تمتلك مقدرة عالية في السيطرة على المسببات المرضية وتحفيز العوائل النباتية او الاحياء الاخرى في تربة الرايزوسفير (Margeret et al.,1994).

5-1-2-4. تأثير اضافة الاسمدة الحيوية والكيميائية في النسبة المئوية للاصابة المايكورايزية واعداد السبورات في حالة اضافة وعدم اضافة المبيد الحيوي

يبين الجدول (15) ان نسبة الاصابة المايكورايزية واعداد السبورات تأثرت تأثيرا" واضحا" عند رفع مستوى التسميد الكيميائي من (50% الى 100%) اذ سجلت نسبة الاصابة المايكورايزية اعلى قيمة لها عند اضافة 50% من السماد الكيميائي ولكافة معاملات التسميد الحيوي المنفرد والمزدوج وفي حالة اضافة وعدم اضافة المبيد الحيوي *T.harzianum* . وتأثرت اعداد السبورات ايضا" بزيادة مستوى التسميد الكيميائي غير انها سجلت اقل قيمة لها عند اضافة 50% من السماد الكيميائي واعلى قيمة لها عند اضافة 100% من السماد الكيميائي بغض النظر عن اضافة السماد الحيوي وفي حالة اضافة المبيد الحيوي وعدم اضافته، فقد ذكرت بشير

جدول (15): تأثير اضافة الاسمدة الحيوية والكيميائية في النسبة المئوية للاصابة المايكورايزية واعداد السبورات في حالة اضافة وعدم اضافة المبيد الحيوي من فطر *T.harzianum*

اضافات الاسمدة الحيوية	- *T.harzianum*			+ *T.harzianum*			المعدل
	$N_1P_1K_1$	$N_2P_2K_2$	المعدل	N_1P_1K	$N_2P_2K_2$	المعدل	
نسبة الاصابة المايكورايزية (%)							
من دون تسميد حيوي	30.00g	21.00h	25.50f	35.00fg	18.00h	26.5f	26.00d
G.mosseae	70.00c	55.75de	62.87cd	82.00b	72.00c	77.00ab	69.93b
A.chroococcum	52.00e	38.00f	45.00e	60.00d	50.00e	55.00de	50.00c
+ G.mosseae A.chroococcum	74.00c	62.00d	68.00bc	93.00a	74.00c	83.50a	75.75a
المعدل	56.50ab	44.19b		67.5a	53.5ab		
اعداد السبورات في (100) غم تربة جافة							
دون تسميد حيوي	55.5k	44.50l	50.00d	69.00j	51.00kl	60.00d	55.00d
G.mosseae	138.00g	192.00d	165.00bc	163.00e	246.00c	204.50b	184.75b
A.chroococcum	78.5j	59.00k	68.25d	93.00h	86.00h	89.50cd	78.87c
+ G.mosseae A.chroococcum	149.00f	308.5b	228.75ab	186.00d	396.00a	291.00a	259.87a
المعدل	105.25a	150.75a		127.75a	194.75a		

تقارن قيم كل مجموعة من المتوسطات مع بعضها. القيم في المجموعة الواحدة ذات الحروف المتشابه لاتختلف معنويا" فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود بمستوى احتمال 0.05 .

(2003) ان اقل قيمة لاعداد السبورات سجلت عند عدم اضافة السماد الكيميائي (NPK) ثم ارتفعت اعدادها تحت مستويات التسميد المتوسطة (25 و 50%) من التوصية السمادية . واشار (Al-Raddad 1994) الى ان اعلى عدد للسبورات قد تحقق في رايزوسفير الشعير وان اعداد السبورات لاتتوافق معنويا" مع نسبة الاصابة، كما ان نوع العائل النباتي له تأثير بالغ الاهمية في اعداد السبورات ، والنتيجة نفسها اكدها السامرائي (2003b) اذ اوضح ان عملية الـ (sporulation) تتاثر بدرجة كبيرة بنوع العائل النباتي وليس بالكثافة اللقاحية المضافة او نسبة الاصابة.

ان انخفاض نسبة الاصابة المايكورايزية مع ارتفاع التسميد الكيميائي قد يرجع الى التاثيرات السلبية للاسمدة النتروجينية والفوسفاتية في نمو المايكورايزا ، فالاسمدة النتروجينية لها تاثيرات سلبية في تكوين المايكورايزا ، فان

اضافة النتروجين (نترات الامونيوم) قلل بوضوح كل من نسبة الاصابة المايكورايزية واعداد السبورات في حقول الحنطة (Haymann,1970) . واظهرت نتائج (Johnson et al. (1984 ان للامونيوم تاثيرا" مثبطا" للاصابة المايكورايزية مقارنة بالنترات ، اذ بين ان النباتات المسمدة بنسب عالية من الامونيوم الى النترات تمتلك محتوى فسفوري في انسجتها اعلى من النباتات المسمدة بنسب منخفضة من الامونيوم الى النترات ، واوضح ان تثبيط الاصابة حصل كنتيجة لهذه التراكيز المرتفعة من الفسفور في انسجة النبات وقد يرجع سبب التاثير المثبط للامونيوم الى انخفاض الـ PH في تربة الرايزوسفير (Chambers et al.,1980)

اما (1971) Bevege فقد اشار الى ان حالة النتروجين يمكن ان تكون اكثر تعقيدا" عندما يؤخذ بالحسبان وجوده مع الفوسفات ، اذ تقل الاصابة المايكورايزية بدرجة اعلى عند وجود نسب مرتفعة من كل من النتروجين والفسفور وهذا ما اكدته الباحثة بشير (2003).

اما الاسمدة الفوسفاتية فقد اشارت العديد من الدراسات الى تاثيراتها السلبية في فطريات المايكورايزا (Raju et al.,1990 والسامرائي واخرون،1993) . الا ان (1975) Haymann اشار الى ان تاثيرها اقل خطورة من تاثير الاسمدة النتروجينية ، اذ حصل على اعلى نسبة اصابة في الحقول التي اعطيت نسبة فسفور اقل وعدد كبير من السبورات في الحقول التي اعطيت كمية معتدلة من الفسفور ، والسبب في ذلك كما بينته (Cooper 1984) هو انه تحت ظروف نقص الفسفور تنخفض كمية الفوسفولبيدات في اغشية الخلايا فيؤدي الى زيادة نفاذية هذه الاغشية مؤديا" الى زيادة افراز الجذر للسكريات المختزلة والاحماض الامينية مما يؤدي الى تكوين فطريات المايكورايزا وبذلك تزداد نسبة الاصابة المايكورايزية، اما تحت ظروف توافر الفسفور تزداد كمية الفوسفولبيدات في الاغشية وبذلك تقل نفاذية هذه الاغشية مما تقل افرازات الجذر مما تؤدي الى انخفاض نسبة الاصابة . اما Menge et al.(1978) فقد بين ان انخفاض نسبة الاصابة يرجع الى زيادة تركيز الفسفور في انسجة النبات العائل، كما ذكر Same et al. (1983) ان مستويات الفسفور العالية قد تقلل من تركيز الكاربوهيدرات في جذور النباتات وبالنتيجة تقل نسبة الاصابة.

عند اضافة المبيد الحيوي *T.harzianum* فان نسبة الاصابة المايكورايزية واعداد السبورات زادت معنويا" بغض النظر عن اضافة الاسمدة الحيوية والكيميائية، اذ بلغت نسبة الزيادة (20.18% و 25.85%) لكل من نسبة الاصابة واعداد السبورات على التوالي. فقد اشار السامرائي (2003b) الى ان عملية sporulation ونسبة الاصابة المايكورايزية بالامكان تحفيزهما عند ادخال فطريات *T.harzianum* في تربة الرايزوسفير لنباتات الشعير والحمص.

عند معاملة عدم اضافة سماد حيوي وباضافة 50% من السماد الكيميائي ومن دون اضافة المبيد الحيوي *T.harzianum* فان نسبة الاصابة المايكورايزية بلغت 30% واعداد السبورات كانت (55.5) سبور. 100غم$^{-1}$ تربة جافة، هذه النتائج تعطي مؤشرا" بان المايكورايزا المستوطنة كانت باعداد وفعالية منخفضة وان تكون السبورات الـ (sporulation) كان قليلا" وهذه النتيجة مطابقة لما حصل عليها السامرائي (2003b).

اما عند اضافة السماد الحيوي الفطري المنفرد *G.mosseae* فان نسبة الاصابة المايكورايزية ارتفعت الى (70% و 82%) واعداد السبورات الى (138 و 163) سبور.100غم$^{-1}$ تربة جافة عند عدم اضافة

واضافة المبيد الحيوي، على التوالي وباضافة 50% من التسميد الكيميائي مما يشير الى نجاح عملية التلقيح بفطريات المايكورايزا وعدم وجود حالة تداخل سلبي مع المايكورايزا المستوطنة ، وهذه تؤكد ما جاء به كل من Azcon – Aguilar et al.(1986) وبشير (2003) . اشار عدد من الباحثين الى ان النباتات النجيلية تتميز بتكوين نظام جذري كبير نتيجة لمعدل نموها السريع مما يسهم في احداث اصابة عالية وتكوين سبورات باعداد مرتفعة (Al-Radda,1994 والسامرائي، 2003b) . ان التاثير الايجابي لفطر *T.harzianum* في نسبة الاصابة المايكورايزية واعداد السبورات ذكر من قبل Fracchia et al. (1998) ; Rosseau et al. (1996) .

اضافة السماد الحيوي البكتيري المنفرد *A.chroococcum* ادى الى رفع نسبة الاصابة المايكورايزية الى (52% و 60%) واعداد السبورات الى (78.5 و 93) سبور. 100 غم $^{-1}$ تربة جافة عند عدم اضافة واضافة المبيد الحيوي، على التوالي وباضافة 50% من التسميد الكيميائي. هذه النتائج تشير الى وجود حالة ايجابية بين التداخل الثنائي ما بين المايكورايزا وبكتريا الازوتوباكتر والتداخل الثلاثي ما بين المايكورايزا والازوتوباكتر والترايكوديرما. ان للتلقيح بالازوتوباكتر تاثيرا" ايجابيا" في نمو المايكورايزا المستوطنة وتشجيع نسبة الاصابة في الجذور وزيادة اعداد السبورات وهذا ما اشار اليه كل من El- ; (Ishac et al. (1986a Demerdash et al. (1992) ويرجع السبب في ذلك الى افراز البكتريا للمواد المنظمة للنمو واهمها الاوكسين (IAA) والذي له دور مهم في السيطرة على تكوين الجذور والجبرلينات والسايتوكنينات التي تزيد من نمو الجذور والاوراق والتي يعتقد بان يكون لجميعها دور مهم في تكوين المايكورايزا وزيادة حساسية النبات للاصابة بها (Azcon et al.,1978).

حققت اضافة السماد الحيوي الفطري والبكتيري المزدوج *G.mosseae + A.chroococcum* اعلى نسبة للاصابة المايكورايزية (74% و 93%) واعداد السبورات (149 و 186) سبور. 100 غم $^{-1}$ تربة جافة في حالة عدم اضافة واضافة المبيد الحيوي على التوالي و50% من التسميد الكيميائي وهذه الزيادة كانت معنوية .

نتائجنا تشير الى انه عند اضافة السماد الحيوي الفطري والبكتيري معا" وبوجود المبيدالحيوي *T.harzianum* حققت اعلى غلة انتاج للحاصل اذ بلغ حاصل الحبوب (3039.03) كغم . هكتار $^{-1}$ وباضافة 50% من التسميد الكيميائي، وهذه لاتختلف معنويا" عن اضافة السماد الحيوي المزدوج وبوجود 100% من السماد الكيميائي والبالغة (3084.8) كغم.هكتار $^{-1}$ فضلا" على الزيادة المتحققة في حاصل الحبوب والبالغة (30.03% و 20.69%) للمعاملتين نفسها على التوالي.

ان حالة التداخل الايجابية بين الاحياء المجهرية الثلاثة (المايكورايزا، الترايكوديرما والازوتوباكتر) وباضافة 50% من التسميد الكيميائي انعكست على نسبة الاصابة اذ بلغت (93%) واعداد بكتريا الازوتوباكتر (9.23 *10^6) cfu .غم$^{-1}$ تربة جافة واعداد الوحدات السكانية لفطر الترايكوديرما والتي بلغت (9.67 * 10^5) cfu .غم$^{-1}$ تربة جافة مما يدل على ان افضل طريقة لاضافة السماد الحيوي هي عند خلط اللقاحات الفطرية والبكتيرية معا" وبوجود المبيد الحيوي*T.harzianum* وعند اضافة 50% من السماد

الكيميائي مما اسهم في تقليل كمية الاسمدة الكيميائية المضافة بنسبة 50%، أذ اشارت الباحثة بشير (2003) الى ان افضل طريقة لاضافة السماد الحيوي الفطري والبكتيري المزدوج *G.mosseae + A.chroococcum* عند اضافة 50% من السماد الكيميائي المضاف (NPK).

2-2-4. التجربة الحقلية الثانية

1-2-2-4. تأثير اضافة الاسمدة الحيوية والكيميائية في اطوال النباتات والوزن الجاف للمجموع الخضري في حالة اضافة وعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية من (التوبك + اللوكران) .

يبين الشكلان (6 و7) ان اطوال النباتات والوزن الجاف للمجموع الخضري لنباتات القمح ازدادت معنويا" عند رفع نسبة السماد الكيميائي من 50% الى 100% من التوصية السمادية وبغض النظر عن اضافة الاسمدة الحيوية وخليط المبيدات الكيميائية .

عند عدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية واضافته فان رفع نسبة السماد الكيميائي ادت الى زيادة غير معنوية في كل من اطوال النباتات والوزن الجاف للمجموع الخضري ، اذ لم يحصل كل من قاسم (1982) والربيعي (1995) وعلي (1986) على تاثير معنوي للسماد الكيميائي في اطوال النباتات والوزن الجاف لنبات القمح.

اضافة خليط المبيدات الكيميائية من (التوبك + اللوكران) وبالتركيز الموصى به لغرض مكافحة الادغال الرفيعة والعريضة ، على التوالي ادت الى زيادة معنوية في كل من اطوال النباتات والوزن الجاف للمجموع الخضري بغض النظر عن اضافة السماد الحيوي الفطري والبكتيري والكيميائي، اذ ان نمو النباتات كان طبيعيا عند اضافة خليط المبيدات الكيميائية ولم تظهر أي علامات سلبية في نمو النبات. اذ بين السلمان (1999) ان اضافة مبيد التوبك وبالتركيز الموصى به ادى الى زيادة معنوية في معدل اطوال نباتات القمح ، بينما اضافة مبيد اللوكران وبالتركيز الموصى به لم يكن له تاثير معنوي في طول النبات، وحصل السلطاني (2000) على زيادة معنوية في اطوال نباتات القمح باستعمال خليط المبيدات الكيميائية من (التوبك + اللوكران) وبمقدار (0.84) لتر مادة فعالة و 1 كغم مادة فعالة .هكتار$^{-1}$، على التوالي.

ان الزيادة في اطوال النباتات والوزن الجاف نتيجة لاضافة خليط المبيدات الكيميائية قد تعود الى ان اضافة المبيدات ادت الى القضاء على الادغال وتقليل التنافس الحاصل بينها وبين نباتات القمح، فقد وجد السلطاني (2000) ان استعمال خليط من (التوبك + اللوكران) ادى الى خفض معنوي في وزن المادة الجافة للادغال الرفيعة والعريضة الاوراق في حقول القمح.

عند اضافة وعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية من (التوبك + اللوكران) فان اطوال النباتات والوزن الجاف للمجموع الخضري ازدادت معنويا" عند اضافة الاسمدة الحيوية الفطرية والبكتيرية المنفردة او المزدوجة

ولكلا المستويين من السماد الكيميائي مقارنة بمعاملة عدم اضافة سماد حيوي، وسجلت اعلى قيمة لاطوال النباتات والوزن الجاف للمجموع الخضري عند اضافة السماد الحيوي الفطري والبكتيري معا" *G.mosseae + A.chroococcum* ولكلا المستويين من السماد الكيميائي وفي حالة اضافة وعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية ، وبلغت نسبة الزيادة (8.22% و 7.83%) و (88.32% و 56.30%) لكل من اطوال النباتات والوزن الجاف وعند المستوى (50% و 100%) من السماد الكيميائي ، على التوالي وفي حالة عدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية ، اما عند اضافة خليط المبيدات فكانت الزيادة (6.62% و 6.83%) و (63.06% و 56.92%) لكل من اطوال النباتات والوزن الجاف ولكلا المستويين من السماد الكيميائي ، على التوالي مقارنة بمعاملة عدم اضافة سماد حيوي وبوجود خليط المبيدات الكيميائية.

ومن هذه النتائج نجد ان الزيادة التي حققتها الاسمدة الحيوية المزدوجة بوجود خليط المبيدات الكيميائية كانت اقل من تلك التي حققتها من دون اضافة خليط المبيدات الكيميائية وان الزيادة التي سجلتها الاسمدة الحيوية عند المستوى (50%) من السماد الكيميائي كانت اعلى من التي سجلتها عند المستوى (100%) من السماد الكيميائي وفي حالة اضافة وعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية . ان التداخل ما بين (microbe-microb – plant) يعطي نتائج ايجابية عندما تكون حالة التداخل ما بين الاحياء من نوع (synergistic) من خلال افرازها لعدد من منظمات النمو (Gonalez-lopez et al.,1991) او الفتامينات او exogenous amino acids والتي تؤثر في الموازنة الهورمونية في النبات وفي اداء وظيفة هذه الهورمونات والتي تحسن من نمو المجموع الجذري ومن ثم تحسن الحالة التغذوية للنبات (Suneia and Lakshminarayana,2000).

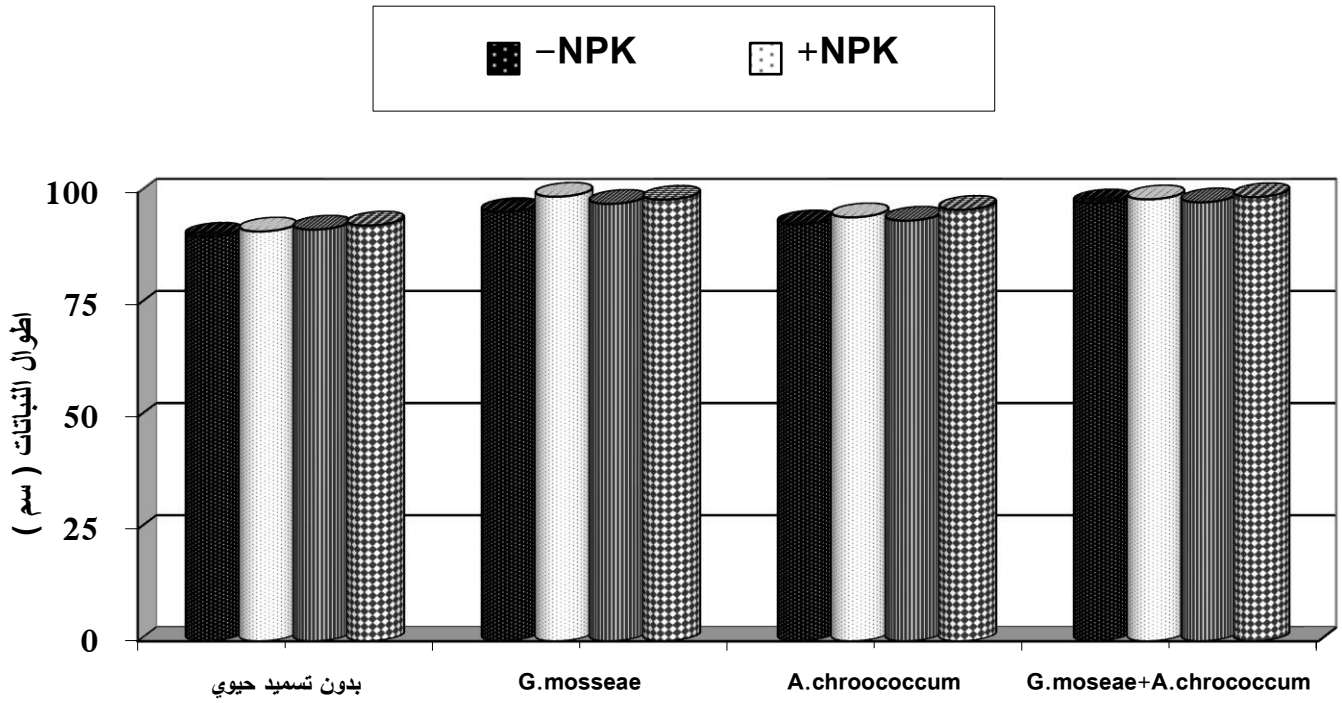
ان زيادة اطوال النباتات والوزن الجاف للمجموع الخضري لنباتات القمح نتيجة للتلقيح ببكتريا الازوتوباكتر *A.chroococcm* وبوجود مبيدات الادغال اشار اليها السلمان (1999) ، اذ ذكر ان التلقيح بالازوتوباكتر ادى الى زيادة معنوية في اطوال النباتات والوزن الجاف للمجموع الخضري والجذري بوجود مبيد الادغال (التوبك) اما بوجود مبيد اللوكران فادى التلقيح الى زيادة معنوية في اطوال النباتات والوزن الجاف للمجموع الجذري وغير معنوي في الوزن الجاف للمجموع الخضري.

ان زيادة الوزن الجاف للمجموع الخضري نتيجة التلقيح بفطريات المايكورايزا بوجود مبيدات الادغال phenmedipham ; cyanazine فقد ذكرت من قبل كل م ; (1985) OCAmpo and Barea . Garcia-Romera et al.(1988)

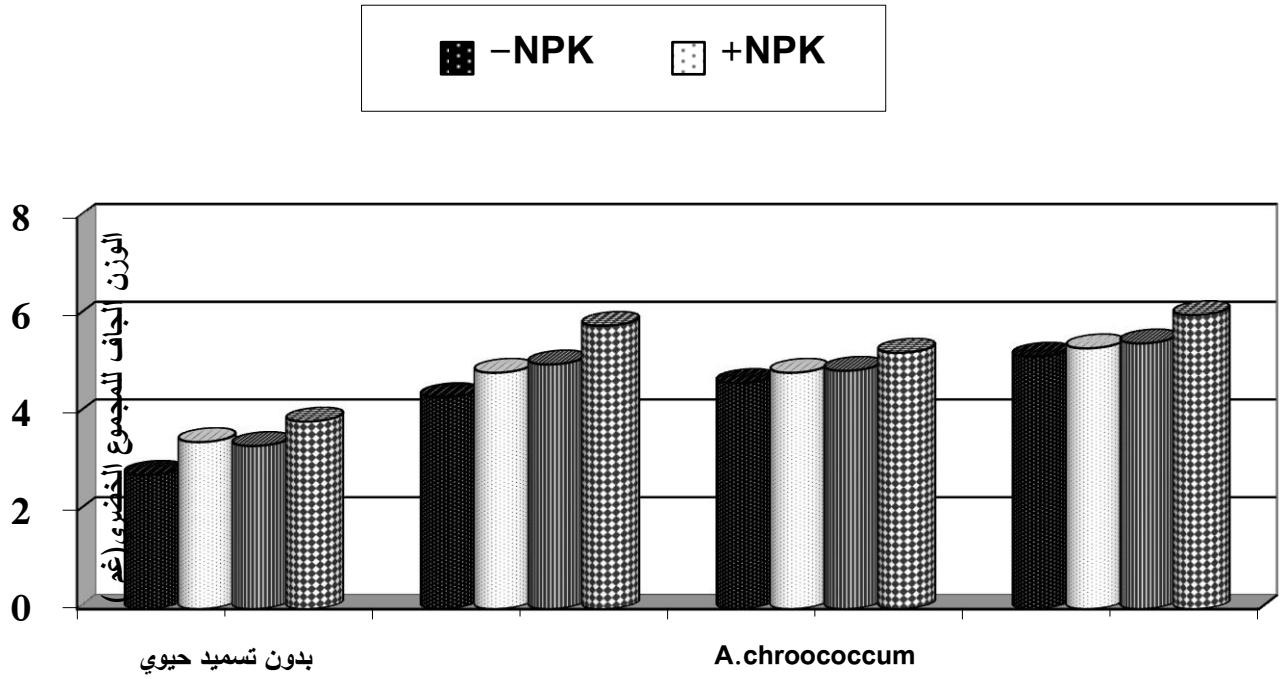
اضافة خليط المبيدات الكيميائية من (التوبك + اللوكران) ادت الى زيادة غير معنوية في اطوال النباتات والوزن الجاف للمجموع الخضري عند معاملات الاسمدة الحيوية الفطرية والبكتيرية المنفردة او المزدوجة وبغض النظر عن اضافة السماد الكيميائي مقارنة بعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية، فيما عدا معاملة السماد الحيوي الفطري المنفرد *G.mosseae* في صفة الوزن الجاف للمجموع الخضري ، اذ ازدادت معنويا" باضافة خليط المبيدات الكيميائية وهذا قد يرتبط بالنسبة المئوية للاصابة المايكورايزية وعدد السبورات فقد انخفضت بشكل غير معنوي عند هذه المعاملة باضافة خليط المبيدات الكيميائية (الجدول 17). ان زيادة مكونات النمو نتيجة للتسميد الحيوي ببكتريا الازوتوباكتر قد يرجع الى مقدرتها على انتاج بعض منظمات النمو

(Brown et al.,1967) اذ ان (IAA) ومواد شبيهه بالجبريلين تم اكتشافها في مزارع بكتريا (*A. chroococcum*). (Brown et al.,1967 ; Vancura and Macura,1960) فاختلاف استجابة الازوتوباكتر للمبيدات قد يؤثر في فعاليتها في انتاج هذه المواد ومن ثم تؤثر في درجات متفاوتة في النمو والانتاج.

ومن سير هذه النتائج نلاحظ ان اضافة الاسمدة الحيوية المنفردة او المزدوجة اعطت قيما" لاطوال النباتات والوزن الجاف وعند عدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية اعلى من قيمها عند معاملة عدم اضافة سماد حيوي وبوجود خليط المبيدات ولكلا المستويين من السماد الكيميائي ثم ان اضافة الاسمدة الحيوية وبانواعها المنفردة والمزدوجة وبوجود خليط المبيدات الكيميائية ادت الى زيادة غير معنوية في مكونات نمو النباتات مقارنة بعدم اضافة خليط المبيدات ، وهذه تشير الى اهمية الاسمدة الحيوية في زيادة نمو النباتات ومن دون استعمال خليط المبيدات الكيميائية.



شكل (6): تأثير اضافة الاسمدة الحيوية والكيميائية في اطوال نباتات القمح (سم) في حالة اضافة وعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية من (التوبك + اللوكران).



شكل (7): تأثير اضافة الاسمدة الحيوية والكيميائية في الوزن الجاف للمجموع الخضري (غم. نبات $^{-1}$) لنباتات القمح في حالة اضافة وعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية من (التوبك + اللوكران).

2-2-2-4. تأثير اضافة الاسمدة الحيوية والكيميائية في حاصل الحبوب في حالة اضافة وعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية من (التوبك + اللوكران)

يبين الشكل (8) ان رفع نسبة السماد الكيميائي من (50% - 100%) من التوصية السمادية ادى الى زيادة معنوية في حاصل الحبوب قدرها (6.78%) بغض النظر عن اضافة الاسمدة الحيوية وخليط المبيدات الكيميائية من (التوبك + اللوكران).

اضافة خليط المبيدات الكيميائية من (التوبك + اللوكران) وبغض النظر عن اضافة الاسمدة الحيوية والكيميائية حققت زيادة معنوية في حاصل الحبوب بلغت (3.4%) مقارنة بعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية. ان زيادة حاصل حبوب الحنطة نتيجة لاضافة خليط المبيدات الكيميائية (التوبك + اللوكران) اشار اليها كل من السلطاني (2000) واسماعيل واخرين (2001) اذ بينوا كفاءة خليط هذه المبيدات في مكافحة الادغال الرفيعة والعريضة الاوراق مما سببت زيادة الحاصل. في حين هناك العديد من الدراسات تشير الى انه ليس لمبيدي اللوكران والتوبك تاثير ايجابي في زيادة الحاصل (Raffel and Nau,1992 ; Hugo-KJ et al.,1993) . بينما ذكر السلمان (1999) في تجربة اصص ان استعمال مبيدات التوبك واللوكران و 2-4-D ادى الى زيادة غير معنوية في حاصل حبوب الحنطة عند التركيز الموصى به وهذه النتيجة لاتتطابق مع نتائج التجربة الحقلية، لان وجود المبيد في الحقل يكون معرض للغسل الى اسفل القطاع بعيدا" عن الجذور بينما يبقى ملازما" للنبات وضمن المنطقة الجذرية في زراعة الاصص ، او يتعرض للامتزاز على الغرويات وما يعزز هذا ان تربة دراستنا هي مزيجة طينية غرينية جدول (4) ، كما ان العمليات الزراعية في الحقل قد تؤثر في كفاءة المبيد في القضاء على الادغال (Raffel and Fluh, 1992) اذ ان لمبيد التوبك تاثيرا" كبيرا" في القضاء على الادغال عندما تكون الارض محروثة مقارنة بغير المحروثة.

عند معاملة عدم اضافة سماد حيوي وخليط المبيدات الكيميائية فان رفع نسبة السماد الكيميائي ادت الى زيادة معنوية في حاصل الحبوب بينما ادت الى زيادة غير معنوية بوجود خليط المبيدات الكيميائية وهذه كانت متطابقة مع ما حصل عليه اسماعيل (2002) . بينما عند معاملات التسميد الحيوي المنفردة او المزدوجة فان رفع نسبة السماد الكيميائي ادت الى زيادة معنوية في حاصل الحبوب وفي حالة اضافة وعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية . ونتيجه مشابه حصل عليها كل من ; Gill et al. (1993) ; Hooda (1993) ; Singh et al. (1993) عند استعمالهم التداخل بين التسميد بـ (NPK) والتلقيح ببكتريا الازوتوباكتر.

عند معاملة عدم اضافة سماد حيوي وعند المستوى (50%) من السماد الكيميائي فان اضافة خليط المبيدات الكيميائية ادت الى زيادة معنوية في حاصل الحبوب مقارنة بالمستوى نفسه وفي حالة عدم اضافة خليط المبيدات ، بينما ادت الى زيادة غير معنوية عند المستوى (100%) من السماد الكيميائي مقارنة بالمستوى نفسه وفي حالة عدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية. اذ اشار اسماعيل (2002) الى ان رفع نسبة

السماد الكيميائي ادت الى زيادة غير معنوية في حاصل حبوب الحنطة عند اضافة خليط من (Illoxan + لوكران) مقارنة بعدم اضافة الخليط.

اما عند معاملات الاسمدة الحيوية المنفردة او المزدوجة وعند المستوى (100%) من السماد الكيميائي فان اضافة خليط المبيدات ادت الى زيادة معنوية في حاصل الحبوب مقارنة بالمستوي نفسه وفي حالة عدم اضافة خليط المبيدات ، في حين كانت الزيادة غير معنوية عند المستوى(50%) من السماد الكيميائي مقارنة بالمستوى نفسه وفي حالة عدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية.

لقد تاثر حاصل الحبوب في اضافات الاسمدة الحيوية والكيميائية وفي حالة اضافة وعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية فان اعلى حاصل للحبوب كان عند جميع معاملات التسميد الحيوي والمضافة منفردا" او مزدوجا" وعند كلا المستويين من السماد الكيميائي المضاف وفي حالة اضافة وعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية اذ بلغت اعلى قيم للحاصل عند اضافة السماد الحيوي الفطري والبكتيري معا" (*A.chroococcum* + *G.mosseae*) مع اضافة (100%) من السماد الكيميائي فبلغ (3443.92 و 3597.20) كغم. هكتار−1 في حالة عدم اضافة واضافة خليط المبيدات الكيميائية ، على التوالي. وكانت زيادتها معنوية مقارنة بمعاملة عدم اضافة سماد حيوي وباضافة 100% من السماد الكيميائي اذ بلغت (2911.53 و 2953.46) كغم. هكتار$^{-1}$ عند عدم اضافة واضافة خليط المبيدات الكيميائية، على التوالي. وبلغت نسبة الزيادة (18.13% و 18.28%) و (14.19% و 21.79%) عند المستوى (50%) و (100%) من السماد الكيميائي وفي حالة عدم اضافة واضافة خليط المبيدات الكيميائية ، على التوالي. مقارنة بمعاملة عدم اضافة سماد حيوي ولكلا المستويين من السماد الكيميائي وفي حالة عدم اضافة واضافة خليط المبيدات الكيميائية.

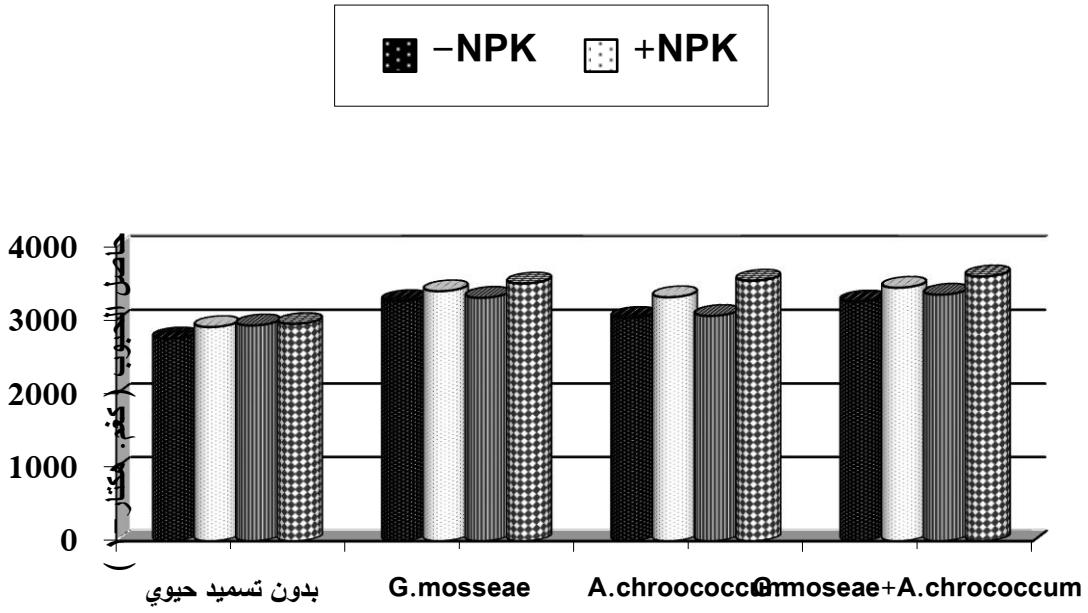
اما اضافة السماد الحيوي الفطري المنفرد (*G.mosseae*) فحققت زيادة معنوية قدرها (18.3% و 16.66%) و (12.75% و 18.53%) عند المستوي (50%) و (100%) من السماد الكيميائي وفي حالة عدم اضافة واضافة خليط المبيدات ، على التوالي مقارنة بمعاملة عدم اضافة سماد حيوي ولكلا المستويين من السماد الكيميائي وفي حالة عدم اضافة واضافة خليط المبيدات .

ادت اضافة السماد الحيوي البكتيري المنفرد (*A.chroococcum*) الى زيادة معنوية في حاصل الحبوب بلغت (10.1% و 13.85%) و (4.4% و 19.8%) عند المستوى (50%) و (100%) من السماد الكيميائي وفي حالة عدم اضافة واضافة خليط المبيدات الكيميائية، على التوالي. اذ حصل Lakshminaryana et al. (1992) على انتاج حنطة بالتلقيح بالازوتوباكتر يوازي الانتاج الذي حصل عليه عند التسميد بـ (120) كغم.هكتار$^{-1}$ نتروجين من دون تلقيح. ان زيادة حاصل حبوب الحنطة عند اضافة لقاح بكتريا (*A.chroococcum*) بوجود مبيدات الادغال اشار اليها السلمان (1999) اذ وجد ان اضافة لقاح الازوتوباكتر اثرت معنويا" في زيادة حاصل حبوب الحنطة بوجود مبيد التوبك و 2-4-D وغير معنويا" بوجود مبيد اللوكران.

ان اضافة فطريات المايكورايزا وبكتريا الازوتوباكتر بصورة مزدوجة الى منطقة الرايزوسفير قد تسهم في تحسين الحالة التغذوية للنباتات ومن ثم زيادة الحاصل، اذ اشار Neilands and Leong(1986)

والسامرائي(2002) الى ان بكتريا الازوتوباكتر والمايكورايزا لهما المقدرة على انتاج المركبات الخالية للحديد (Siderophores) الا ان المركبات التي تنتجها الفطريات تكون (Hydroxamates) والتي تنتجها البكتريا تكون (phenolate-catcholates) (Suneia and Lakshminarayana, 2000).

عند حساب الزيادة المتحققة من حاصل الحبوب نجد ان معاملة اضافة السماد الحيوي المزدوج (*G.mosseae + A.chroococcum*) حققت زيادة قدرها (18.21%) و (18.0%) مقارنة بمعاملة عدم اضافة سماد حيوي وفي حالة عدم اضافة واضافة خليط المبيدات الكيميائية ،على التوالي. وبغض النظر عن اضافة الاسمدة الكيميائية ، فقد بلغ حاصل الحبوب عند اضافة السماد الحيوي المزدوج (3350.7) كغم.هكتار$^{-1}$من دون اضافة خليط المبيدات الكيميائية وهذه لاتختلف معنويا" عند اضافة خليط المبيدات الكيميائية اذ بلغ الحاصل (3473.52) كغم.هكتار$^{-1}$ وبغض النظر عن اضافة الاسمدة الكيميائية وبهذا يمكن الاستغناء عن كمية المبيد المضافة.



شكل (8): تاثير اضافة الاسمدة الحيوية والكيميائية في حاصل الحبوب (كغم. هكتار$^{-1}$) في حالة اضافة وعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية من (التوبك + اللوكران).

3-2-2-4. تأثير اضافة الاسمدة الحيوية والكيميائية في بعض مكونات الحاصل في حالة اضافة وعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية من (التوبك + اللوكران)

يبين الجدول (16) ان قيم مكونات الحاصل ازدادت بشكل غير معنوي عند رفع نسبة التسميد الكيميائي من (50% – 100%) من التوصية الكيميائية وعند جميع المعاملات وفي حالة اضافة وعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية. وبغض النظر عن اضافة الاسمدة الحيوية وخليط المبيدات الكيميائية فان رفع نسبة التسميد الكيميائي ادت الى زيادة معنوية قدرها (4.16% و 3.12%) لكل من عدد السنيبلات . سنبلة$^{-1}$ وعدد الحبوب .سنبلة$^{-1}$، على التوالي. اما وزن 1000 حبة فان رفع نسبة التسميد ادت الى زيادة غير معنوية.

اضافة خليط المبيدات الكيميائية ادت الى زيادة معنوية في عدد السنيبلات.سنبلة-1، عدد الحبوب .سنبلة-1 ووزن 1000حبة بغض النظر عن اضافة الاسمدة الحيوية والكيميائية، اذ بلغت نسبة الزيادة (5.23% و 3.27% و 3.57%) لكل من عدد السنيبلات .سنبلة-1، عدد الحبوب.سنبلة-1 ووزن 1000حبة، على التوالي مقارنة بعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية. ان زيادة بعض مكونات الحاصل نتيجة لاضافة خليط من مبيدات الادغال اشار اليها كل من السلطاني (2000) واسماعيل واخرون (2001).

اضافة الاسمدة الحيوية الفطرية والبكتيرية بصورة منفردة او مزدوجة ادت الى زيادة معنوية ولكلا المستويين من السماد الكيميائي لكل من عدد الحبوب. سنبلة$^{-1}$ ووزن 1000حبة مقارنة بمعاملة عدم اضافة سماد حيوي وفي حالة اضافة وعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية فيما ادت الى زيادة غير معنوية في عدد السنتبلات. سنبلة$^{-1}$ مقارنة بمعاملة عدم اضافة سماد حيوي وفي حالة اضافة وعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية ، في حين لاتوجد فروق معنوية بين معاملات الاسمدة الحيوية في مكونات الحاصل ولكلا المستويين من الاسمدة الكيميائية وفي حالة اضافة وعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية فيما عدا معاملة السماد الحيوي البكتيري المنفرد اظهرت فرقا" معنويا" في عدد الحبوب بالسنبلة$^{-1}$ عن باقي المعاملات.

من هذه النتائج نجد ان معاملة السماد الحيوي الفطري والبكتيري المزدوج اعطت اعلى القيم في جميع مكونات الحاصل عند اضافة خليط المبيدات الكيميائية وبغض النظر عن اضافة الاسمدة الكيميائية وكانت متفوقة معنويا" عن قيمها في حالة عدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية لكل من عدد السنيبلات. سنبلة$^{-1}$ ووزن 1000حبة وغير معنوي في عدد الحبوب.سنبلة$^{-1}$.

جدول (16): تأثير اضافة الاسمدة الحيوية والكيميائية في بعض مكونات الحاصل لنبات القمح في حالة اضافة وعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية من (التوبك+ اللوكران)

اضافات الاسمدة الحيوية	عدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية-			اضافة خليط المبيدات الكيميائية+			المعدل
	$N_1P_1K_1$	$N_2P_2K_2$	المعدل	$N_1P_1K_1$	$N_2P_2K_2$	المعدل	
	معدل عدد السنيبلات.سنبلة$^{-1}$						
من دون تسميد حيوي	22.00d	23.00cd	22.50d	23.00cd	24.00bcd	23.5cd	23.00b
G.mosseae	24.00bcd	24.5bc	24.05bc	25.00abc	26.00ab	25.5ab	24.87a

24.87a	25.25ab	26.00ab	24.5bc	24.5bc	25.00abc	24.00bcd	A.chroococcum
25.25a	26.25a	27.00a	25.5ab	24.25bc	24.5bc	24.00bcd	+G.mosseae A.chroococcum
		25.75a	24.5ab		24.25b	23.5b	المعدل
معدل عدد الحبوب. سنبلة$^{-1}$							
72.77c	74.12c	76.5def	71.75fg	71.41c	73.33efg	69.5g	من دون تسميد حيوي
88.93a	89.5a	90.00a	89.00ab	88.37a	89.00ab	87.75ab	*G.mosseae*
80.40b	81.93b	84.00bc	79.87cd	78.87b	80.5cd	77.25de	A.chroococcum
89.12a	91.00a	91.87a	90.12a	87.25a	87.25ab	87.25ab	+G.mosseae A.chroococcum
		85.59a	82.68a		82.52a	80.43a	المعدل
معدل وزن 1000 حبة							
44.66c	45.00e	45.25f	44.75f	44.32e	44.85f	43.80f	من دون تسميد حيوي
49.23b	50.27bc	51.05abe	49.50cde	48.20d	48.55de	47.85e	*G.mosseae*
50.21ab	50.72b	51.2abe	50.25abcd	49.70bc	49.9bcde	49.5cde	A.chroococcum
50.76a	52.30a	52.4a	52.5ab	49.22cd	49.35cde	49.1cde	+G.mosseae A.chroococcum
		49.97a	49.17a		48.16a	47.56a	المعدل

تقارن قيم كل مجموعة من المتوسطات مع بعضها. القيم في المجموعة الواحدة ذات الحروف المتشابه لاتختلف معنويا" فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود بمستوى احتمال 0.05 .

4-2-2-4.تاثير اضافة الاسمدة الحيوية والكيميائية في التقديرات المايكروبايولوجية في حالة اضافة وعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية من (التوبك + اللوكران)

يبين الجدول (17) ان اعداد بكتريا الازوتوباكتر في التربة تراوحت ما بين (5.0-14.6)* $cfu10^6$. غم$^{-1}$ تربة جافة عند عدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية من (التوبك + اللوكران) ، اما عند اضافة خليط المبيدات الكيميائية فقد تراوحت بين (4.2-13.7)* $cfu10^6$. غم$^{-1}$ تربة جافة . من هذه القيم نجد ان اضافة خليط المبيدات الكيميائية ادت الى خفض اعداد الازوتوباكتر انخفاضا" معنويا" بغض النظر عن اضافة الاسمدة الحيوية والكيميائية وبلغت نسبة الانخفاض (15.12%) مقارنة بعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية ان هذه النتائج تشير الى التاثير السلبي لخليط مبيدات الادغال من التوبك واللوكران وبالمستوى الموصى به في اعداد بكتريا الازوتوباكتر في التربة ، اذ اشار (Vanschreven et al. (1970 الى ان مبيد الادغال Dalapon بمستوى (13-128) كغم.هكتار$^{-1}$ ادى الى تثبيط نمو الازوتوباكتر في التربة. ان

التراكيز العالية لمبيدات الادغال تسبب نقص في اعداد الاحياء المثبتة للنتروجين وتثبيط تخليق ATP (Konstantinovic et al.,1998).

وقد يعزى ذلك الى ان لمبيدات الادغال تاثيرات فسيولوجية في الاحياء المجهرية اذ تعمل على تغيير الية التمثيل الحيوي الآيضي كتغيير مستوى تمثيل البروتين مما ينعكس على نسبة تواجد الانزيمات ذات البناء الداخلي والخارجي، ومن ثم تاثيرها على تمثيل البروتين بزيادة او ايقاف تمثيل انزيمات محددة، فضلا على تاثيرها في الغشاء الخلوي من خلال التغيرات في عمليات النقل والافراز، اضافة على تاثيرها في منظمات نمو النبات كانتقال IAA او تمثيل الجبرلين ومستويات الاثلين، مما تؤدي الى قتل احياء التربة عند اضافتها بكميات عالية (Milosevic and Govedarica,2002).

عند رفع نسبة السماد الكيميائي من (50% – 100%) من التوصية السمادية فان اعداد البكتريا انخفضت انخفاضا" غير معنوي في حالة اضافة وعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية وبغض النظر عن اضافة الاسمدة الحيوية، ان هذه النتيجة كانت متطابقة مع ما حصلنا عليه في التجربة الحقلية الاولى .

جدول (17): تأثير اضافة الاسمدة الحيوية والكيميائية في اعداد بكتريا الازوتوباكتر والنسبة المئوية للاصابة المايكورايزية واعداد السبورات في حالة اضافة وعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية من (التوبك+ اللوكران)

اضافات الاسمدة الحيوية	عدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية–			اضافة خليط المبيدات الكيميائية+			المعدل
	$N_1P_1K_1$	$N_2P_2K_2$	المعدل	$N_1P_1K_1$	$N_2P_2K_2$	المعدل	
اعداد بكتريا الازوتوباكتر ($CFU*10^6$)							
من دون تسميد حيوي	5.47fg	5.10g	5.28ef	4.41g	4.25g	4.33f	4.81d
G.mosseae	8.82de	7.47e	8.14d	7.00ef	5.23fg	6.11e	7.13c
A.chroococcum	13.05ab	13.05ab	13.11ab	12.39b	10.40cd	11.40c	12.25b
+G.mosseae A.chroococcum	14.68a	14.27a	14.47a	13.79ab	12.16bc	12.97b	13.72a
المعدل	10.50a	10.00a		9.39a	8.01a		
نسبة الاصابة المايكورايزية (%)							
من دون تسميد حيوي	36.00gh	28.00hi	32.00de	30.00hi	22.00i	26.00e	29.00d
G.mosseae	73.00b	60.00cd	66.50ab	62.00cd	48.00ef	55.00bc	60.75b
A.chroococcum	62.00cd	45.00fg	53.5bc	56.50de	30.00hi	43.25cd	48.37c
+G.mosseae A.chroococcum	86.00a	68.00bc	77.00a	75.00b	54.00def	64.50ab	70.75a
المعدل	64.25a	50.25ab		55.87ab	38.50b		
اعداد السبورات في 100 غم تربة جافة							
من دون تسميد حيوي	65.5hi	58.00ij	61.75e	60.00hi	40.00k	50.00e	55.87d
G.mosseae	140.50de	181.00c	160.75bc	121.5f	136.00e	128.75cd	144.75b
A.chroococcum	89.00g	68.00h	78.50de	82.00g	51.00j	66.50e	72.50c

229.25a	209.25ab	273.50b	145.00d	249.25a	321.00a	177.50c	*+G.mosseae* A.chroococcum
		125.13a	102.13a		157.00a	118.13a	المعدل

تقارن قيم كل مجموعة من المتوسطات مع بعضها. القيم في المجموعة الواحدة ذات الحروف المتشابه لاتختلف معنويا" فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود بمستوى احتمال 0.05 .

عند معاملة عدم اضافة سماد حيوي فان اضافة خليط المبيدات الكيميائية من (التوبك+ اللوكران) ادت الى خفض اعداد البكتريا المستوطن في التربة انخفاضا" غير معنوي مقارنة بعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية ولكلا المستويين من السماد الكيميائي.

اضافة السماد الحيوي الفطري بصورة منفردة (*G.mosseae*) حققت زيادة معنوية في اعداد الازوتوباكتر المستوطنة في التربة ولكلا المستويين من السماد الكيميائي مقارنة بمعاملة عدم اضافة سماد حيوي وفي حالة اضافة وعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية ، اذ بلغت اعداد البكتريا (8.82 و 7.47 * $cfu10^6$. غم$^{-1}$ تربة جافة) وبزيادة قدرها (61.24%و46.47%) مقارنة بمعاملة عدم اضافة سماد حيوي ولكلا المستويين من السماد الكيميائي، على التوالي وعند عدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية. في حين اعداد البكتريا انخفضت الى (7 و 5.23 * $cfu10^6$. غم$^{-1}$ تربة جافة) عند اضافة خليط المبيدات الكيميائية وبزيادة قدرها (58.73%و23.05) مقارنة بمعاملة عدم اضافة سماد حيوي ولكلا المستويين من السماد الكيميائي، على التوالي وفي حالة اضافة خليط المبيدات الكيميائية وكانت نسبة الانخفاض غير معنوية اذ بلغت (20%) مقارنة بعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية وعند المستوى (50%) من السماد الكيميائي، بينما كانت معنوية وبنسبة (30%) عند المستوى (100%) من السماد الكيميائي.

وهذه تشير الى التاثير السلبي للاسمدة الكيميائية مع خليط المبيدات الكيميائية على اعداد الازوتوباكتر. من هذه النتائج نجد ان فطريات المايكورايزا استطاعت زيادة اعداد بكتريا الازوتوباكتر المستوطنة في التربة وفي حالة عدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية مقارنة باضافتها ولكنها استطاعت زيادة اعداد البكتريا المستوطنة عند اضافة خليط المبيدات الكيميائية مقارنة بمعاملة عدم اضافة سماد حيوي.

عند اضافة السماد الحيوي البكتيري المنفرد (*A.chroococcum*) ازدادت اعداد الخلايا البكتيرية زيادة معنوية ولكلا المستويين من السماد الكيميائي مقارنة بمعاملة عدم اضافة سماد حيوي وفي حالة اضافة وعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية ، اذ بلغت اعداد الازوتوباكتر (13.05و13.05 * $cfu10^6$. غم$^{-1}$ تربة جافة) وبزيادة قدرها (138.57% و 155.88%) مقارنة بمعاملة عدم اضافة سماد حيوي ولكلا المستويين من السماد الكيميائي ، على التوالي وفي حالة عدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية، في حين انخفضت الاعداد الى(12.39 و 10.40 * $cfu10^6$. غم$^{-1}$ تربة جافة) عند اضافة خليط المبيدات الكيميائية وبزيادة قدرها (180.95% و 144.70%) مقارنة بمعاملة عدم اضافة سماد حيوي ولكلا المستويين من السماد الكيميائي ، على التوالي وفي حالة اضافة خليط المبيدات ، وكانت نسبة الانخفاض غير معنوية اذ بلغت (5.05%) مقارنة

بعدم اضافة خليط المبيدات وعند المستوى (50%) من السماد الكيميائي، بينما كانت معنوية وبنسبة (20.30%) عند المستوى (100%) من السماد الكيميائي.

النتائج اعلاه تدل على نجاح عملية التسميد الحيوي ببكتريا الازوتوباكتر وعدم وجود حالة تنافس سلبي مع سلالة البكتريا المدخلة كلقاح والمستوطنة في التربة . ثم ان اضافة خليط المبيدات الكيميائية ومع اضافة 100% من الاسمدة الكيميائية اثرت في اعداد البكتريا سلبيا" ولكن بنسبة اقل من معاملة السماد الحيوي الفطري المنفرد. اذ ذكر Burns (1995) بان اضافة الاسمدة الكيميائية (NPK) ادت الى خفض تحلل مبيدي الادغال MCPA,2,4-D بنسبة (50–30%).

ان تاثير مبيدات الادغال في اعداد بكتريا الازوتوباكتر قد ذكرت من قبل عدد من الباحثين ، اذ اشار Singh et al (1996) الى ان اضافة اربعة اضعاف كمية مبيدات الادغال ادت الى تثبيط خفيف لاعداد بكتريا الازوتوباكتر في نباتات القمح. بينما عند (2–14) اسبوع بعد اضافة مبيدات الادغال حصل انخفاض في اعداد الازوتوباكتر (Piskorz,1998) . حسب Govedarica et al. (2001) بان اعداد الازوتوباكتر لـ (2–3) فصول قلت عند معاملة نباتات فول الصويا حقليا" بمبيدات الادغال metalochlor , dimethenamide مقارنة بمعاملة المقارنة.

سجلت اضافة السماد الحيوي الفطري والبكتيري بصورة مزدوجة (*G.mosseae + A.chroococcum*) اعلى قيم لاعداد الازوتوباكتر مقارنة بمعاملات الاسمدة الحيوية المنفردة ومعاملة عدم اضافة سماد حيوي ولكلا المستويين من التسميد الكيميائي وفي حالة اضافة وعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية، اذ بلغت اعداد البكتريا عند معاملة اضافة السماد الحيوي المزدوج (14.68 و 14.27 * $cfu10^6$. غم$^{-1}$ تربة جافة) وبزيادة قدرها (168.37% و 179.8%) مقارنة بمعاملة عدم اضافة سماد حيوي ولكلا المستويين من السماد الكيميائي ، على التوالي وعند عدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية. في حين انخفضت الاعداد الى (13.79 و 12.16 * $cfu10^6$. غم$^{-1}$ تربة جافة) وبزيادة قدرها (212.69% و 186%) مقارنة بمعاملة عدم اضافة سماد حيوي ولكلا المستويين من التسميد الكيميائي ، على التوالي وفي حالة اضافة خليط المبيدات الكيميائية، وكانت نسبة الانخفاض غير معنوية اذ بلغت (6.06%) مقارنة بعدم اضافة خليط المبيدات وعند المستوى (50%) من السماد الكيميائي في حين كانت معنوية وبنسبة (14.78%) عند المستوى (100%) من السماد الكيميائي.

من هذه النتائج نجد ان التداخل الايجابي بين المايكورايزا والازوتوباكتر كان ناجحا" في زيادة اعداد الازوتوباكتر بوجود خليط المبيدات الكيميائية من (التوبك+اللوكران) مقارنة بمعاملات السماد الحيوي الفطري المضاف بصورة منفردة، السماد الحيوي البكتيري المضاف بصورة منفردة ومعاملة عدم اضافة سماد حيوي ، اذ ان هذه المعاملة حققت اقل نسبة انخفاض (14.78%) في اعداد البكتريا عند اضافة 100% من السماد الكيميائي وفي حالة اضافة خليط المبيدات الكيميائية مقارنة بعدم اضافته.

ان زيادة اعداد الازوتوباكتر نتيجة للتسميد الحيوي بفطريات المايكورايزا قد يرجع الى التاثير الايجابي للمواد المنظمة للنمو التي تفرزها المايكورايزا واهمها الاوكسين (IAA) في نشاط الازوتوباكتر فضلا" على

تاثيرها من حيث توفير الفسفور الذي يعد مصدرا" مهما" للطاقة اللازمة للبكتريا للقيام بعملية تثبيت النتروجين الجوي (Balota et al.,1995).

يبين الجدول (17) ان رفع نسبة التسميد الكيميائي من (50%–100%) من التوصية السمادية كان له تاثير واضح في نسبة الاصابة المايكورايزية واعداد السبورات ، اذ سجلت نسبة الاصابة المايكورايزية اعلى قيمة لها عند اضافة 50% من السماد الكيميائي ولكافة معاملات التسميد الحيوي المنفرد او المزدوج وعند اضافة وعدم اضافة خليط المبيدات من (التوبك+ اللوكران) ، فقد انخفضت نسبة الاصابة المايكورايزية في جميع معاملات الاسمدة الحيوية المنفردة او المزدوجة عند اضافة وعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية عند رفع نسبة السماد الكيميائي وبلغت نسبة الانخفاض (22.22% ، 17.8% ، 27.4% ، 21%) و (26.66% ، 22.5% ، 46.9% ، 28%) لكل من معاملة عدم اضافة سماد حيوي واضافة سماد حيوي فطري منفرد ، واضافة سماد حيوي بكتيري منفرد ومعاملة اضافة السماد الحيوي الفطري والبكتيري المزدوج وفي حالة عدم واضافة خليط المبيدات الكيميائية ، على التوالي. من النتائج اعلاه نلاحظ ان نسبة الانخفاض عند اضافة خليط المبيدات الكيميائية ازدادت مقارنة بعدم الاضافة وهذه تشير الى حالة التاثير السلبي لزيادة السماد الكيميائي واضافة خليط المبيدات الكيميائية في نسبة الاصابة المايكورايزية.

اما اعداد السبورات فقد تاثرت ايضا" بمستوى التسميد الكيميائي ولكن سجلت اقل قيمة لها عند اضافة 50% من السماد الكيميائي واعلى قيمة لها عند اضافة 100% من السماد الكيميائي وبغض النظر عن اضافة السماد الحيوي وفي كلا الحالتين من اضافة وعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية اذ اشار Al-Raddad (1994) والسامرائي (2003b) الى ان اعداد السبورات لاتتاثر بنسبة الاصابة بقدر تاثرها بنوع العائل النباتي ، في حين اشارت الباحثة بشير (2003) الى ان اعداد السبورات سجلت اعلى قيمة لها عند اضافة (50%) من السماد NPK .

ان نتائجنا تتفق مع ما توصل اليه في التجربة الحقلية الاولى ومع ما اشار اليه العديد من الباحثين حول التاثير السلبي للاسمدة النتروجينية والفوسفاتية العالية في نسبة الاصابة المايكورايزية . فقد اشار كل من Kruckelmann (1975) ; Haymann (1970) الى ان التاثيرات السلبية للاسمدة النتروجينية في المايكورايزا قد تكون اكثر خطورة واهمية من الاسمدة الفوسفاتية . اذ ذكر Johnson et al.(1984) ان للامونيوم تاثيرا" سلبيا" في نسبة الاصابة المايكورايزية، كذلك بينت نتائج Bevege (1971) وبشير (2003) التاثير السلبي للنسب المرتفعة للاسمدة الكيميائية والنتروجينية والفوسفاتية المضافة معا".

ذكر عدد من الباحثين ان للاسمدة الفوسفاتية تاثيرا" سلبيا" في نسبة الاصابة المايكورايزية في التربة (Jennifer et al.,1999 والكرطاني،1995 والتميمي، 2000 وسلمان،20003) وعزي السبب في ذلك الى تاثير انخفاض وارتفاع مستويات الفوسفولبيدات في اغشية الخلايا والتي تؤثر بشكل مباشر في نسبة الاصابة (Cooper,1984) بينما عزا Menge et al.(1978) السبب في زيادة تركيز الفسفور في انسجة النبات العائل والتي قد تقلل من تركيز الكاربوهيدرات في جذور النبات ومن ثم تقلل من نسبة الاصابة ، واشار

Haymann(1975) الى ان نسبة الاصابة يمكن ان تثبط بشكل واضح تحت ظروف الترب ذات الخصوبة الجيدة.

اضافة خليط المبيدات الكيميائية من (التوبك+لوكران) ادت الى خفض نسبة الاصابة المايكورايزية واعداد السبورات انخفاضا" معنويا" بغض النظر عن اضافة الاسمدة الحيوية والكيميائية وبلغت نسبة الانخفاض (17.6% و 17.4%) لكل من نسبة الاصابة واعداد السبورات ، على التوالي. ان انخفاض السبورات جاء نتيجة لانخفاض نسبة الاصابة المايكورايزية لتاثرها باضافة خليط المبيدات الكيميائية، اذ ان بعض المبيدات لها تاثيرات سلبية في الفطريات (قاسم وعلي،1989) وان الاجناس المختلفة من الفطريات تختلف حساسيتها للمبيد الواحد (Wilkinson and Lucas,1969) .اشار Abd-Alla et al. (2000) الى ان اضافة المبيدات ادت الى تثبيط معنوي للمستعمرات الجذرية المايكورايزية وعدد السبورات ولكن عملية السبورات تطورت عند اضافة المبيدات بعد (60) يوما" من الانبات.

ادت اضافة خليط المبيدات الكيميائية من (التوبك+لوكران) الى خفض نسبة الاصابة واعداد السبورات انخفاضا" معنويا" ولجميع معاملات التسميد الحيوي المنفرد او المزدوجة ولكلا المستويين من التسميد الكيميائي فيما عدا معاملة السماد الحيوي البكتيري وعند المستوى (50%) من السماد الكيميائي فقد انخفضت نسبة الاصابة واعداد السبورات انخفاضا" غير معنوي.

اما بغض النظر عن اضافة الاسمدة الكيميائية فان اضافة خليط المبيدات الكيميائية ادت الى خفض نسبة الاصابة واعداد السبورات انخفاضا" غير معنوي وعند جميع معاملات التسميد الحيوي المنفرد او المزدوج وهذا يعطي دليلا" واضحا" لتاثير الاسمدة الكيميائية وتداخل المبيدات معها في خفض نسبة الاصابة المايكورايزية واعداد السبورات ، بين Ocampo and Barcea (1985) ان مبيدات الادغال ليس لها تاثير معنوي في الجذور المصابة بالمايكورايزا لنبات القمح ونبات (Alfalfa) ولكافة التراكيز المستخدمة ،اشار GaRcia-Romera et al. (1988) الى ان مبيد الادغال cyanazine لايؤثر معنويا" في الاصابة المايكورايزية الا عند زيادة التركيز المستخدم (0.1) ملغم. مل$^{-1}$.

عند اضافة السماد الحيوي المنفرد من فطر المايكورايزا (*G.mosseae*) فان نسبة الاصابة المايكورايزية ارتفعت الى (66.5% و 55%) واعداد السبورات الى (160.75و 128.75) سبور.100غم$^{-1}$ تربة جافة عند عدم اضافة واضافة خليط المبيدات ، على التوالي وبغض النظر عن اضافة السماد الكيميائي مقارنة بمعاملة عدم اضافة سماد حيوي اذ بلغت نسبة الاصابة (32% ، 26%) واعداد السبورات (61.75 ، 50) سبور.100غم$^{-1}$ تربة جافة عند عدم اضافة واضافة خليط المبيدات الكيميائية ، على التوالي ، هذا يشير الى نجاح عملية التلقيح بفطريات المايكورايزا وعدم وجود حالة تداخل سلبي مع المايكورايزا المستوطنة.

اضافة السماد الحيوي البكتيري المنفرد (*A.chroococcum*) ادت الى رفع نسبة الاصابة المايكورايزية الى (53.5% و 43.25) واعداد السبورات الى (78.5 ، 66.5) سبور.100غم$^{-1}$ تربة جافة عند عدم اضافة واضافة خليط المبيدات ، على التوالي مقارنة بقيمها عند معاملة عدم اضافة السماد الحيوي وبغض النظر عن اضافة السماد الكيميائي وفي حالة عدم اضافة خليط المبيدات واضافته.

هذه القيم توضح حالة التداخل الايجابية بين المايكورايزا المستوطنة وبكتريا الازوتوباكتر في رفع نسبة الاصابة واعداد السبورات وفي حالة اضافة وعدم اضافة خليط المبيدات مقارنة بعدم اضافة السماد الحيوي.

اعطت معاملة اضافة السماد الحيوي الفطري والبكتيري معا"(*G.mosseae + A.chroococcum*) اعلى نسبة للاصابة المايكورايزية اذ كانت (77% ، 64.5%) واعداد السبورات بلغت (249.25 و 209.25) سبور.100غم$^{-1}$ تربة جافة في حالة عدم اضافة واضافة خليط المبيدات الكيميائية ، على التوالي ، وبغض النظر عن اضافة السماد الكيميائي مقارنة بمعاملة عدم اضافة السماد الحيوي ومعاملات السماد الحيوي المنفرد الفطري والبكتيري وفي كلا الحالتين (اضافة وعدم اضافة خليط المبيدات).

ان حالة التداخل الايجابية بين المايكورايزا والازوتوباكتر وتاثيرها في عدد السبورات واعداد البكتريا والنسبة المئوية للاصابة اشار اليها كل من Bagya and Mengel (1978) والسامرائي(2002) اذ ان احياء التربة المجهرية قد تدخل في نوع من تداخلات التنشيط بعضها مع بعض نتيجة افرازات قد تكون محفزة لكل منهما.

فقد عزا Balota et al. (1995) زيادة حساسية النبات للاصابة المايكورايزية وانبات السبورات الى التاثير المنشط للاوكسين (IAA) المفرز من قبل البكتريا الترابطية. وان هناك تاثيرين مهمين لمنظمات النمو المفرزة من قبل البكتريا هما التنشيط المباشر للفعاليات الايضية للمايكورايزا وزيادة حجم الاوراق والتي تشجع من تحسين عملية التركيب الضوئي ومن ثم زيادة تجهيز المغذيات للمايكورايزا الداخلية (Carr, 1981).

من النتائج اعلاه نلاحظ ان اضافة خليط المبيدات الكيميائية (التوبك+اللوكران) بغض النظر عن اضافة الاسمدة الحيوية والكيميائية فقد اثرت معنويا" في خفض نسبة الاصابة واعداد السبورات ، اما عند اضافة الاسمدة الحيوية من فطر المايكورايزا او بكتريا الازوتوباكتر منفردة او مزدوجة فقد ادت الى تقليل تاثير خليط المبيدات الى تاثير غير معنوي وهذا يعطي مؤشرا" على اهمية اضافة الاسمدة الحيوية الفطرية او البكتيرية منفردة او مجتمعة لتحليل خليط المبيدات.ا ان كثير من احياء التربة التي عزلت من التربة اظهرت قابلية كبيرة لتحليل كثير من المبيدات (Bollag and Liu,1990 ; Cain and Head,1991) .

عند مقارنة النتائج اعلاه في حالة اضافة وعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية من(التوبك+اللوكران) وبغض النظر عن اضافة السماد الكيميائي نجد ان في حالة عدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية فان معاملة اضافة السماد الحيوي المزدوج (*G.mosseae + A.chroococcum*) اعطت اعلى حاصل للحبوب اذ بلغ (3350.7) كغم. هكتار$^{-1}$ واعلى قيم لاعداد خلايا الازوتوباكتر (14.27) * cfu10^{6} . غم$^{-1}$ تربة جافة واعلى نسبة للاصابة المايكورايزية (77%) واعلى اعداد للسبورات (249.25) سبور.100غم$^{-1}$ تربة جافة مقارنة بقيمتها في حالة اضافة خليط المبيدات الكيميائية اذ كانت لحاصل الحبوب (3473.52)كغم.هكتار$^{-1}$ وهذه لاتختلف معنويا" عن قيمتها في حالة عدم اضافة الخليط و (12.97) * cfu10^{6} . غم$^{-1}$ تربة جافة و(64.5%) و (209.25) سبور.100 غم تربة جافة لكل من اعداد الازوتوباكتر ونسبة الاصابة المايكورايزية واعداد السبورات ، على التوالي.

من هذه النتائج نجد ان اضافة الاسمدة الحيوية المزدوجة وباضافة 50% من السماد الكيميائي اعطت افضل النتائج مقارنة باضافة خليط المبيدات، وهذه فائدة اقتصادية توفرها الاسمدة الحيوية اذ وفرت 50% من السماد الكيميائي وكمية المبيدات الكيميائية المستعملة فضلا على قلة التلوث البيئي بسبب استعمال الاسمدة والمبيدات الكيميائية.

3-4. التجارب المختبرية

4-3-1. تأثير اضافة تراكيز مختلفة من خليط المبيدات الكيميائية (توبك + لوكران) في نمو واعداد الخلايا البكتيرية لعزلات مختلفة من (A.chroococcum) المعزولة من المعاملات المعاملة بالمستوى 50% من الاسمدة الكيميائية ($N_1P_1K_1$).

يبين الجدولان (18 ، 19) حالة نمو واعداد الخلايا البكتيرية للعزلات(I_1, I_2, I_3) المأخوذة من منطقة رايزوسفير جذور نباتات القمح في تربة معاملة بخليط المبيدات الكيميائية (توبك + لوكران) وللعزلات (I_4, I_5, I_6) الماخوذة من رايزوسفير جذور نباتات القمح في تربة غير معاملة بخليط المبيدات الكيميائية وفي حالة اضافة (50%) من المغذيات الكبرى (NPK). اوضحت النتائج ان متوسط نمو واعداد الخلايا البكتيرية للعزلات (I_1, I_2, I_3) سجل زيادة معنوية مقارنة بمتوسط نمو واعداد الخلايا البكتيرية للعزلات (I_4, I_5, I_6) وبصرف النظر عن تراكيز المبيدات الكيميائية المستعملة ومدد الحضن.

بصرف النظر عن اضافة تراكيز خليط المبيدات الكيميائية فان مدة الحضن من (3-10) ايام ادت الى زيادة معنوية في متوسطات نمو واعداد الخلايا البكتيرية للعزلات (I_1, I_2, I_3) ثم انخفضت اعدادها معنويا" عند مدة الحضن (14 و 21) يوما" في حين ادت الى زيادة غير معنوية في معدل نمو واعداد الخلايا للعزلات(I_4, I_5, I_6) وانخفضت الاعد انخفاضا" غير معنويا" عند مدة الحضن (14 و 21) يوما". ان متوسط اعداد الخلايا البكتيرية للعزلات (I_1, I_2, I_3) تفوق على متوسط اعداد الخلايا البكتيرية للعزلات(I_4, I_5, I_6) وهذا يعني ان العزلات الثلاثة الاولى اظهرت تحمل لاضافة المبيدات الكيميائية وان فعاليتها ونشاطها اكبر من العزلات (I_4, I_5, I_6) .

ادى التركيز الثاني (C_1) الى خفض معنوي في متوسطات نمو واعداد الخلايا البكتيرية للعزلات (I_1, I_2, I_3) والعزلات (I_4, I_5, I_6) بغض النظر عن مدد الحضن . ان زيادة المستوى عن هذا الحد لم يحدث انخفاضا" معنويا" في متوسطات اعداد الخلايا البكتيرية لهذه العزلات. هذه النتيجة مشابه لما حصل عليها السلمان (1999) عند اختبار تاثير تراكيز مختلفة من مبيد التوبك في اعداد الخلايا (A.chroococcum) ولكن عند استعمال المستوى نفسه في اعلاه من مبيد اللوكران لم يظهر انخفاضا" معنويا" في اداد خلايا الازوتوباكتر بينما ادى المستوى الموصى به الى خفض معنوي في اعداد الخلايا.

بينت النتائج ان العزلة (I_3) كانت متفوقة معنويا" في نموها واعدادها عن نمو واعداد العزلتين (I_2, I_1) ولجميع التراكيز المستعملة بينما لاتوجد فروق معنوية بين متوسط نمو واعداد الخلايا البكتيرية للعزلات ($I_6,$ I_5, I_4) . اذ اشار السلمان (1999) الى ان اضافة مبيدات التوبك واللوكران و 2-4-D وبتراكيز مختلفة الى البيئات الصناعية الصلبة لاربع عزلات بكتيرية من (A.chroococcum) اظهرت العزلات اختلافا" معنويا" في اسجابتها للمبيدات وتفوقت العزلات (A1 , A2 , A3) في درجة مقاومتها للمبيدات المدروسة بالنسبة للعزلة (A4) التي ثبط نموها عند المستويات العالية من المبيدات .

ان حالة النمو واعداد الخلايا البكتيرية للعزلات (I_3, I_2, I_1) و (I_6, I_5, I_4) وعند المعاملة التي لم تستلم المبيدات الكيميائية (التركيز صفر) سجلت اعلى نموا" واعدادا" عند مدة الحضن (10) ايام وان هناك زيادة معنوية في الاعداد من اليوم (3–10) ايام ثم انخفضت الاعداد البكتيرية انخفاضا" معنويا" عند مدة الحضن (14و21) يوما" وسجلت اقل قيمة لها عند مدة الحضن (21) يوما" ولكن متوسط نمو واعداد الخلايا البكتيرية للعزلات (I_3, I_2, I_1) كان متفوقا" معنويا" على متوسط نمو واعداد الخلايا البكتيرية للعزلات ($I_6,$ I_5, I_4) عند مدة الحضن (7و10) ايام. ان ازدياد النمو واعداد الخلايا البكتيرية من اليوم (3–10) ايام عند التركيز (صفر) وانخفاضها بعد تلك المدة قد يعزى الى ان بكتريا الازوتوباكتر سريعة النمو وذلك لتوفر العناصر الغذائية اللازمة لنمو البكتريا في الوسط الغذائي خلال مدد الحضن الثلاثة الاولى ثم تقل الاعداد نتيجة تراكم النواتج السمية او عندما تتناقص المادة المغذية وان الاوكسجين من اكثر المواد المستنفذة شيوعا" (الرجب والقزاز، 1986) .

ان زيادة تركيز المبيدات الكيميائية من (صفر) الى التركيز الثاني والثالث (C_1 , C_2) وعند مدة الحضن (3) ايام تسببت في خفض معنوي لنمو واعداد الخلايا البكتيرية للعزلات ($I_3,$ $I_2,$ I_1)، اذ إن (MIC) لهذه العزلات هو التركيز الرابع (C3) اذ سجلت العزلة (I_3) نموا" ضعيفا" عند التركيز الثاني والثالث فبلغت اعدادها (2.5) *10^4 cfu .مل$^{-1}$ لكل من التركيزين السابقين، في حين نجد ان الخلايا البكتيرية قد انعدمت تماما" في التركيز الرابع. اما العزلات ($I_6,$ $I_5,$ I_4) فقد فشلت في اعطاء أي نمو في التركيز الثاني والثالث والرابع (C1, C2 , C3) وعند مدة الحضن نفسها أي إن الـ MIC هو التركيز الثاني (C1). لقد اشارت الدراسات التي نفذها (Molosevic and Govedarica 2002) الى ان بكتريا الازوتوباكتر اكثر حساسية لمبيدات الادغال المضافة واضافتها بكميات عالية تؤدي الى قتل احياء التربة.

عند ايام الحضن (7 ، 10 ، 14 ، 21) يوما" وعند التركيز الثاني والثالث والرابع فان العزلات ($I_3, I_2,$ I_1) ازداد متوسط نموها واعدادها زيادة غير معنوية مع زيادة مدة الحضن وسجلت اعلى قيمة لها عند مدة الحضن (14) يوما" وانخفضت الاعداد معنويا" عند مدة الحضن (21) اذ بلغ متوسط الاعداد (7.83 ، 4.83 ، 0.66) ، (12 ، 9.66 ، 4.66) ، (13.37 ، 12.16 ، 6.0) ، (7.83 ، 6.16 ، 1.0) *10^4 cfu .مل$^{-1}$ وللتركيز الثاني والثالث والرابع ولكل مدة من مدد الحضن اعلاه ، على التوالي. وان العزلة (I_3) كانت متفوقة في نموها واعداد الخلايا البكتيرية في جميع التراكيز وعند جميع مدد الحضن اعلاه عن نمو

واعداد العزلتين (I_2, I_1) اللتين توقف نموها عند التركيز الرابع عند مدة الحضن (7 ، 12) يوما" وفي سياق هذه النتائج فا النتائج تقترح ان العزلة (I_3) يمكن اعتبارها عزلة محلية اكثر تحملا" من بين العزلات الثلاثة.

ان نمو العزلات (I_3, I_2, I_1) في جميع التراكيز وعند مدد الحضن اعلاه يعطي مؤشرا" واضحا" بان هذه العزلات والمأخوذة من منطقة رايزوسفير نباتات القمح المعاملة بخليط المبيدات الكيميائية اكثر تحملا" لخليط المبيدات الكيميائية الذي قد اسهم في اكساب هذه العزلات مقاومة للمبيدات وبذلك يمكن اعتبارها عزلات محلية للازوتوباكتر تحملا" لخليط (التوبك+اللوكران) عند زيادة التركيز من (C_3-C_0) . ان دراسة (Nastasija et al. (2002 اظهرت ان عزلات مختلفة من بكتريا الازوتوباكتر لها المقدرة في النمو عند جميع التراكيز المضافة من مبيدي الادغال (Pytamin ; RO-Neet) وهذا ما يدعم استنتاجنا بان العزلات (I_3, I_2, I_1) هي عزلات مقاومة لخليط المبيدات.

اما العزلات (I_6, I_5, I_4) فان متوسط نموها واعدادها ازداد زيادة غير معنوية عند التركيز الثاني والثالث وسجلت اعلى قيمة لها عند مدة الحضن (14) يوما" وانخفضت اعدادها بشكل غير معنوي عند المدة (21) يوما" ولم تسجل أي نمو عند التركيز الرابع ولجميع مدد الحضن اعلاه اذ بلغ متوسط اعدادها (3.5 ، 0.5) و (7.5 ، 1.83) و (8.66 ، 3.33) و (6.16 ، 2.16) *10^4 cfu .مل$^{-1}$ للتركيز الثاني والثالث ولمدد الحضن (7 ، 10 ، 14 ، 21) يوما" ، على التوالي إن الـ (MIC) لهذه العزلات هو التركيز الرابع (C_3). ومن بين العزلات (I_6, I_5, I_4) نجد ان العزلة (I_4) سجلت نموا" واعداد ا" عند التركيز الثالث اذ بلغت اعدادها (1.5 ، 5.5 ، 10 ، 6.5) *10^4 cfu .مل$^{-1}$ للمدد (7 ، 10 ، 14 ، 21) يوما" ، على التوالي مما يشير الى ان هذه العزلة اكثر مقاومة من بين العزلات الثلاثة وان اقل تركيز مثبط لها (MIC) التركيز الرابع (C_3) . في حين ان العزلتين ($I_6, I_5,$) اعطت نموا" واعدادا" عند التركيز الثاني فقط ولمدد الحضن نفسها اعلاه. هذا يعني ان الـ (MIC) لهذه العزلات هو التركيز الثالث (C_2).

ان تحلل مبيدات الادغال في التربة يعتمد على عدة عوامل منها نوع المبيد المضاف (Barriuso and Houot, 1996 و بشير، 1996) وكميته (Schuster and Schroder , 1990 ; Milosevic et al.,2001). لقد اشارت الدراسات الى ان تحلل المبيدات في التربة يختلف باختلاف اجناس البكتريا وكذلك باختلاف النوع من الجنس الواحد. اذ نجد في الدراسة تباينا" واضحا" بين العزلات في مقدرتها على تحمل التراكيز العالية من المبيدات. اذ افاد Burns (1995) بان معدل تحلل مبيدات الادغال يعتمد على عزلات البكتريا المستعملة بالتلقيح.

اوضحت الباحثة بشير (1996) بان هناك اختلافا" واضحا" في نمو ست عزلات من الرايزوبيا عند تنميتها في بيئات تحتوي على مستويات مختلفة من مبيدي الادغال (Treflan ; Eptan) اذ يختلف المستوى الذي يثبط به باختلاف سلالة بكتريا الرايزوبيا ، فوجدت ان العزلة RI-5 ; RI-4 ; RI-1 لم تسجل نموا" عند التركيز الثاني والثالث (0.004 و 0.008) سم^3.لتر$^{-1}$ لمبيد الادغال Treflan بينما العزلات RI-1 ; RI3 ; RI-6 RI-4 لم تعطي نموا" عند التركيز الثالث (0.012) سم^3.لتر$^{-1}$ لمبيد الادغال Eptam في حين العزلات RI-2 و RI-5 نمت في جميع تراكيز المبيد.

ان تاثير زيادة تراكيز مبيدات الادغال في نمو واعداد بكتريا الازوتوباكتر قد ذكر من قبل عدد من الباحثين ، اذ اشار كل من Milosevic et al. (2000) و Govedarica et al. (2001) الى ان اضافة خليط مبيدات الادغال (Trifuralin + Flumetsulam) بكمية (2) لتر.هكتار$^{-1}$ سببت انخفاضا" في اعداد الازوتوباكتر بنسبة (2%) مقارنة بكمية (1.7) لتر.هكتار$^{-1}$ لمدة (30) يوما". ان زيادة كمية مبيد الادغال dimethenamid الى (1.6) لتر.هكتار$^{-1}$ ومبيد الـ metolachlor الى (1.7) لتر. هكتار$^{-1}$ سببت انخفاضا" كبيرا" في اعداد الازوتوباكتر مقارنة بالكميات الاقل منها (Goredarica et al.,2001).

ان انخفاض نمو واعداد خلايا الازوتوباكتر في البيئات الصناعية الصلبة بزيادة مستويات المبيدات ايضا" ذكرها Debnath et al. (1986) إذ إن نمو البكتريا في بيئة ذات محتوى عال من المبيد قد يؤدي الى زيادة في امتصاص المبيد من قبل البكتريا او ربطه على المواقع الفعالة على سطح الخلية بحيث يؤدي الى ايقاف عمل الانزيمات الامر الذي يؤدي الى ايقاف النمو والعمليات الايضية (Anderson,1983).

إن حصول انعدام النمو لجميع العزلات عند اضافة تراكيز المبيدات الكيميائية عند مدة الحضن (3) ايام وزيادته بزيادة مدد الحضن الى (14) يوما" وانخفاض الاعداد عند (21) يوما" يمكن إن يعزى 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 اذ إن البكتريا بدأت بتحطيم خليط المبيدات وتقليل درجة سميتها واستعمالها مصدرا" للغذاء والطاقة مما يفسر زيادة النمو والاعداد الى (14) يوما" مقارنة بالتركيز (صفر) اذ اعطى اعلى قيمة عند (10) ايام. لقد اشار Audus (1970) الى إن بكتريا الازوتوباكتر تنشط باستعمال مبيدات الادغال ACPA ; Atrazine ; Prometryn واشار Kole et al. (1994) الى إن بكتريا (*A.chroococcum*) استطاعت تحليل مبيد الادغال pendimethalin بنسبة 45% بعد (10) ايام و 55% بعد (20) يوما". فقد وجد Balajee and Mahadevan (1990) بان بكتريا (A.chroococcum) استطاعت تحليل مبيد الادغال 2,4-D ونتج من عملية التحلل المركبات P.chlotophenol و P.chlorophenoxy acitic acid اذ استعملت البكتريا هذه المركبات كمصدر للكاربون.

اما انخفاض اعداد البكتريا بل انعدامها لبعض العزلات عند مدة الحضن (21) يوما" قد يفسر الى نفاد المبيدات ومن ثم نفاد العناصر الغذائية الناتجة من تحلل المبيدات وتراكم الفضلات مما يؤدي الى قلة الاعداد او يعتقد بان البكتريا استطاعت تحويل المبيدات الى نواتج سامة للنوع نفسه من الاحياء التي تؤثر في المركب الاصلي (الكسندر،1982) او قد يكون المركب الاصلي للمبيد غير سام ولكن تحول الى مركب سام عند تاثير النشاط البكتيري بعملية التنشيط (Gutenmann et al.,1964 و Getzin and Shanks,1970).

ان مقاومة البكتريا لمضاد معين قد يفسر الى تغير في تسلسل القواعد النتروجينية للحامض النووي (DNA) للخلايا البكتيرية الذي قد يؤثر في المسار الايضي لها والذي يؤدي الى زيادة او نقصان في نمو البكتريا ومن ثم في كفاءة تثبيت النتروجين الجوي (El-Zawahry,1976). كما بين Atlas (1995) با بعض الانواع من البكتريا تمتاز بامتلاكها صفة المقاومة الذاتية وهي التي توقف فعل المضاد او المقاومة المكتسبة والتي تؤدي الى ظهور سلالات مقاومة كانت اصلا" حساسة لفعل مضاد معين.

عند مقارنة نتائج الظروف المختبرية مع نتائج التجربة الحقلية الثانية نجد إن في البيئات الصناعية الصلبة حصل تثبيط للاعداد عند التركيز الثاني (C_1) بينما في الحقل لاحظنا حصول انخفاض غير معنوي لاعداد الازوتوباكتر عند التركيز الثالث (C_2) عند اضافة السماد البكتيري. ويمكن إن يعزى السبب في ذلك الى وجود تداخل عوامل عديدة في الحقل تؤدي الى تقليل التركيز الفعال للمبيد ومنها وجود المزرعة الخليطة من احياء التربة والتي يقوم قسم منها بمهاجمة المبيدات للحصول على مصدر الكاربون والطاقة وابطال سميتها (Cook and Hutter,1981) واشارت العديد من الدراسات الى إن احياء التربة ربما تستعمل مبيدات الادغال ومنها (atrazine) كمصدر للكاربون (Radosevich et al.,1995) والنتروجين (Cook and Hutter,1981) فضلا" على وجود عوامل اخرى منها الطين والمادة العضوية التي تعمل على مسك المبيد على سطوحها وخصوصا" إن تربة الدراسة مزيجة طينية غرينية وهذا يؤكد ما اشار اليه Fisher and Hayes (1981) عند مقارنته لنمو الرايزوبيا مختبريا" وحقليا" بوجود المبيدات . وذكر عدد من الباحثين بان تحلل مبيدات الادغال في التربة يعتمد على الخواص الفيزيائية والكيميائية للتربة (Milicic,1987 ; Willems et al.,1996).

جدول (18): تاثير اضافة اربع تراكيز من خليط المبيدات الكيميائية (توبك+لوكران) في نمو الخلايا البكتيرية من Azotobacter في حالة اضافة 50% من الـ (NPK)

رقم العزلة	3ايام				7ايام				10 ايام				14يوم				21يوم			
	C_0	C_1	C_2	C_3	C_0	C_1	C_2	C_3	C_0	C_1	C_2	C_3	C_0	C_1	C_2	C_3	C_0	C_1	C_2	C_3
I_1	++	-	-	-	+++	+	+	-	+++	+	+	+	++	+	+	+	+	+	+	-
I_2	++	-	-	-	+++	+	+	-	+++	+	+	+	++	+	+	+	+	++	+	-
I_3	++	+	-	-	+++	++	+	-	+++	++	++	+	+++	++	++	+	++	++	++	-
I_4	++	-	-	-	+++	+	-	-	+++	++	+	-	++	++	+	-	+	+	+	-
I_5	++	-	-	-	+++	+	-	-	+++	+	-	-	++	++	-	-	+	++	+	-
I_6	+	-	-	-	+++	+	-	-	+++	+	-	-	++	+	-	-	++	+	-	-

C_0 = صفر C_1 = 75سم3+25 ppm C_2 = 150سم3+50 ppm C_3 = 300سم3+100ppm

- عدم وجود نمو + نمو ضعيف ++ نمو متوسط +++ نمو جيد

جدول(19): تاثير اضافة اربع تراكيز من خليط المبيدات الكيميائية (توبك+لوكران) في اعداد الخلايا البكتيرية من Azotobacter ($CFU*10^4$) في حالة اضافة 50% من الاسمدة الكيميائية (NPK)

رقم العزلة	3ايام				7ايام				10 ايام				14يوم				21ي	
	C_0	C_1	C_2	C_3	C_0	C_1	C_2	C_3	C_0	C_1	C_2	C_3	C_0	C_1	C_2	C_3	C_0	C_1
I_1	12.5	0	0	0	27.5	6.5	2.5	0	50	7.5	6.5	1.5	13.5	9	10	3.5	4.5	7
I_2	10.5	0	0	0	27.5	3.5	3.5	0	37.5	6	6	2.5	13.5	7.5	8	4.5	4	5.5
I_3	13.5	2.5	2.5	0	32.5	13.5	8.5	2.0	52.5	22.5	16.5	10.0	10.5	23.5	18.5	10	9	11
المعدل	12.16	0.83	0.83	0	29.16	7.83	4.83	0.66	46.66	12	9.66	4.66	12.5	13.33	12.16	6	5.83	7.83
I_4	12.5	0	0	0	18.5	5.0	1.5	0	32.5	7.0	5.5	0	11.5	8.5	10	0	10.5	6
I_5	13.5	0	0	0	19	3.0	0	0	24.5	4.5	0	0	12.5	7	0	0	10	5
I_6	10.5	0	0	0	19	2.5	0	0	25.5	9.5	0	0	16	10.5	0	0	11.5	7.5
المعدل	12.16	0	0	0	18.83	3.5	0.5	0	27.5	7	1.83	0	13.33	8.66	3.33	0	10.66	6.16

L.S.D (0.05)

I (العزلة) = 2.166 **العزلة *التركيز = 6.831** **الايام*التركيز = 5.416** **العزلة * الايام = 10.159**

D (الايام)=1.978

C (التركيز) = 1.769

2-3-4. تأثير اضافة تراكيز مختلفة من خليط المبيدات الكيميائية (توبك + لوكران) في نمو واعداد الخلايا البكتيرية لعزلات مختلفة من *A.chroococcum)*) المعزولة من المعاملات المعاملة بالمستوى 100% من الاسمدة الكيميائية ($N_2P_2K_2$)

يبين الجدولان (20 و 21) حالة نمو واعداد الخلايا البكتيرية للعزلات (I_9, I_8, I_7) الماخوذة من منطقة رايزوسفير جذور نباتات القمح في تربة معاملة بخليط المبيدات الكيميائية (توبك + لوكران) والعزلات (I_{12}, I_{11}, I_{10}) الماخوذة من رايزوسفير جذور نباتات القمح في تربة غير معاملة بخليط المبيدات وفي حالة اضافة (100%) من الـNPK .

بينت النتائج إن متوسط نمو واعداد الخلايا البكتيرية للعزلات (I_9, I_8, I_7) سجلت زيادة معنوية مقارنة بمتوسط نمو واعداد الخلايا البكتيرية للعزلات (I_{12}, I_{11}, I_{10}) بغض النظر عن التراكيز المستعملة ومدد الحضن

بغض النظر عن اضافة تراكيز خليط المبيدات فان مدة الحضن (3-10) ايام ادت الى زيادة معنوية في متوسطات نمو واعداد الخلايا البكتيرية للعزلات (I_9, I_8, I_7) والعزلات (I_{12}, I_{11}, I_{10}) وانخفضت اعدادها انخفاضا" غير معنويا" عند مدة الحضن (14و21) يوما".

إن متوسط اعداد الخلايا البكتيرية للعزلات (I_9, I_8, I_7) تفوق معنويا" على متوسط اعداد الخلايا البكتيرية للعزلات (I_{12}, I_{11}, I_{10}) ولمدد الحضن (7 و10 و14) يوما"، وغير معنوي عند مدة الحضن (3 و21) يوما"، وهذا يشير الى إن خليط المبيدات قد اكسب العزلات (I_9, I_8, I_7) نشاطا" وفعالية اعلى من العزلات (I_{12}, I_{11}, I_{10}) .

زيادة تركيز خليط المبيدات من (صفر) الى التركيز الثاني (C1) ادت الى خفض معنوي في متوسطات نمو واعداد الخلايا البكتيرية للعزلات (I_9, I_8, I_7) والعزلات (I_{12}, I_{11}, I_{10}) بغض النظر عن مدد الحضن، وزيادة المستوى الى التركيز الثالث لم يحدث انخفاضا" معنويا" ، بينما انخفضت الاعداد معنويا" عند التركيز الرابع. لقد اشار Milosevic et al. (2001a) إن اضافة مبيد الادغال (dimethenamide) بكمية (1.6) لتر. هكتار$^{-1}$ سببت انخفاضا" كبيرا" في العدد الكلي للاحياء المجهرية واعداد بكتريا الازوتوباكتر بنسبة (5-7%) و (2-18%) مقارنة عند اضافة (1.4) لتر.هكتار$^{-1}$. وبينت النتائج إن العزلات (I_9, I_8, I_7) نمت في جميع التراكيز المستعملة بينما العزلات (I_{12}, I_{11}, I_{10}) لم تسجل أي نمو واعداد عند التركيز الرابع.

إن العزلات (I_9, I_8, I_7) والعزلات (I_{12}, I_{11}, I_{10}) وعند التركيز (صفر) اعطت زيادة معنوية في نموها واعدادها عند مدة الحضن (3-10) وبلغ اعلى نمو واعداد الخلايا عند (10) ايام ثم انخفضت الاعداد معنويا" عند (14و21) يوما"، اذ كانت اقل قيمة لها عند (21) يوما" وكان متوسط نمواعداد الخلايا البكتيرية للعزلات (I_9, I_8, I_7) متفوقا" معنويا" على متوسط اعداد الخلايا البكتيرية للعزلات (I_{12}, I_{11}, I_{10}) عند مدة الحضن (7و10)ايام.

إن زيادة نمو واعداد الخلايا البكتيرية من اليوم (3–10) ايام عند التركيز (صفر) وانخفاضها بعد تلك المدة قد تعزى الى إن حالة النمو والاعداد اتجهت طبقا" لمنحنى نمو البكتريا.اذ مرت بطور التطبع والتكيف lag phase الذي تكون سرعة النمو فيه صفرا" ومن ثم طور النمو اللوغارتمي والذي تكون سرعة النمو باقصاه وطور الثبات الافقي ثم طور الموت والهبوط الذي تكون فيه سرعة النمو ذات قيمة سالبة.

إن زيادة تركيز خليط المبيدات من (صفر) الى التركيز الرابع (C3) وعند المدة (3) ايام سببت توقف النمو للعزلات (I_9, I_8, I_7) فيما عدا العزلة (I_9) اظهرت نموا" ضعيفا" عند التركيز الثاني اذ انخفضت اعدادها مقارنة بالتركيز (صفر)، فبلغت اعدادها (1.5) *10^4 cfu .مل$^{-1}$اي إن الـ (MIC) لهذه العزلات هو C2 اذ انها لم تسجل أي نمو عند هذا التركيز وهذا يعطي مؤشرا" الى إن العزلات الثلاثة اعلاه (I_9, I_8, I_7) والمعزولة من المعاملات التي اضيف لها خليط المبيدات الكيميائية قد انخفضت مقاومتها للمبيدات بسبب اضافة 100% من السماد الكيميائي في التربة. اذ إن للاسمدة النتروجينية وخاصة اليوريا والامونيا تأثيرا" مثبطا" ليس لانزيم النتروجينيز فقط بل لانظمة انزيمية اخرى قد تكون مسؤولة عن النمو (Drozd et al.,1972) اما العزلات (I_{12}, I_{11}, I_{10}) فقد فشلت في اعطاء أي نمو في جميع التراكيز (C_1, C_2 , C_3) . اذ إن بكتريا الازوتوباكتر تكون حساسة بشكل كبير لاضافة مبيدات الادغال (Milosevic and Govedarico,2000 ; Milosevic et al.,1995,2000).

عند مدد الحضن (7و10و14و21) يوما" وعند التركيز الثاني (C1) والثلث (C2) فان العزلات (I_9, I_8, I_7) زاد متوسط نموها واعدادها بزيادة مدد الحضن وسجلت اعلى قيمة لها عند (14) يوما" اذ كانت الزيادة معنوية. بينما سجلت نموا" واعدادا" عند التركيز الرابع وعند (10و14) يوما" فقط وانخفضت الاعداد معنويا" عند (21) يوما" ولجميع التراكيز. وهذا يعني إن العزلات (I_9, I_8, I_7) قد دخلت في طور السكون عند التركيز الرابع وللمدة من (3–7) ايام وبعد تلك المدة حصل تأقلم فبدأت بالنمو وبلغت اعدادها (2.33 و 6.83) *10^4 cfu .مل$^{-1}$ عند المدة (10 و 14) يوما" على التوالي، مما يشير الى إن البكتريا بدأت بتحطيم وتحليل خليط المبيدات عند تلك المدة. لقد ذكر Kole et al. (1994) بأن مبيد الادغال pendimethalin قد تحلل بفعالية من قبل بكتريا الازوتوباكتر بنسبة (45%) بعد (10) ايام و(55%) بعد (20) يوما". إن نمو هذه العزلات في جميع التراكيز عند مدد الحضن (10و 14) يوما" يعطي مؤشرا" واضحا" بانها اكثر تحملا" لخليط المبيدات الكيميائية وان الـ MIC لها هو (C2) عند مدة الحضن (7) ايام و(C3) عند مدة الحضن (21) يوما". إن نتائجنا لم تعطي تفسيرا" واضحا" عن دور البكتريا في تحلل خليط المبيدات الكيميائية .

اما العزلات (I_{12}, I_{11}, I_{10}) فقد سجلت نموا" واعدادا" تراوحت بين (3.5–4.5) *10^4 cfu .مل$^{-1}$ عند التركيز الثاني فقط ولمدة الحضن (7) ايام أي إن الـ (MIC) لها هو التركيز الثالث (C2) فيما عدا العزلة (12) لم تسجل نموا" واعدادا" عند التركيز الثاني وعند مدة الحضن (10) ايام ازداد النمو والاعداد زيادة معنوية عند التركيز الثاني وغير معنوية عند التركيز الثالث اذ تراوحت الاعداد بين (3.0–8.5) *10^4 cfu .مل$^{-1}$ ، وعند مدة الحضن (14) يوما" سجلت اعلى نموا" واعدادا" اذ تراوحت اعدادها بين (8.5–13) *10^4

cfu .مل$^{-1}$ عند التركيز الثاني والثالث وانخفضت الاعداد عند المدة (21) يوما" اذ تراوحت اعدادها (4.5-11.5) *10^4 cfu .مل$^{-1}$ عند التركيز الثاني والثالث وهذا يعني إن الـ (MIC) لهذه العزلات هو التركيز الرابع (C3) عند مدة الحضن (10 ، 14 ، 21) يوما" اذ انها لم تسجل نمو واعداد عند هذا التركيز ولقد لاحظنا إن العزلة (10) هي فقط سجلت نموا" واعدادا" عند التركيز الثالث ولمدد الحضن (10 ، 14 ، 21) يوما" اذ بلغت اعدادها (4 ، 8.5 ، 4.5) *10^4 cfu .مل$^{-1}$ لكل مدة من المدد اعلاه، على التوالي. مما يشير الى إن هذه العزلة هي اكثر تحملا" من بين العزلات الثلاثة وان اقل تركيز مثبط لها (MIC) هو (C_3) بينما نجد العزلتين (I_{12}, I_{11}) اعطت نموا" واعدادا" عند التركيز الثاني فقط وهذا يعني إن الـ (MIC) لهذه العزلات هو التركيز الثالث (C_2) . إن معدل تحلل مبيدات الادغال يعتمد على العزلات البكتيرية المستعملة (Burns,1995). واشار Makawi and Abd-el-Gaffer (1970) الى إن المستوى الذي يثبط به النمو يختلف باختلاف سلالة بكتريا الرايزوبيا.

إن انخفاض نمو واعداد الخلايا البكتيرية مع زيادة تركيز المبيدات ضمن كل مدة من مدد الحضن كانت متطابقة مع كل من Debnath et al. (1986) والسلمان (1999). اذ ذكر Fournier et al. (1981) إن احياء التربة تتكيف للاضافات المعتدلة من المبيدات وبذلك يتم تحللها وازالة اثرها السام اما تراكيزها المرتفعة فلها تأثير مثبط في عملية التحلل، بين Santo and Flores (1995) إن بعض مبيدات الادغال استعمالها في الزراعة قد يكون مضرا" ببكتريا ***(A.chroococcum)*** اذ لوحظ إن مبيد الادغال Glyphosate ليس له تأثير مثبط في عمليات تثبيت النتروجين بوساطة ***(A.chroococcum)*** ولكنه خفض معدل تنفس البكتريا بنسبة 60% ولهذا منع تأثيرها الايجابي. ذكر Cervelli et al. (1978) بان مبيدات الادغال تؤثر في احياء التربة مسببه تغيرات فسيولوجية تؤدي الى زيادة في انتاج الانزيمات وعندما تضاف بكميات كبيرة قد تؤدي الى تأثير قاتل للاحياء.

من الجداول (20 ، 21) يتبين بان العزلات (I_3, I_2, I_1) اعطت نموا" واعدادا" اعلى من العزلات (I_9, I_8, I_7) اذ إن الـ (MIC) للعزلات (I_3, I_2, I_1) هو التركيز الرابع (C_3) عند مدة الحضن (3) ايام و واظهرت تحملا" عند جميع التراكيز عند مدة الحضن (7 ، 10 ، 14 ، 21) يوما" اما العزلات (I_9, I_8, I_7) فكان الـ (MIC) لها هو التركيز الثالث (C_2) عند مدة الحضن (3و 7) ايام و الـ (MIC) كان التركيز الرابع (C3) عند مدة الحضن (21) يوما" و واظهرت تحملا" عند جميع التراكيزعند مدة الحضن (10، 14) يوما" وهذا يعني بان العزلات الثلاثة الاولى اكثر مقاومة من العزلات الثلاثة الاخرى على الرغم من إن العزلات الستة اعلاه عزلت من التربة المعاملة بخليط المبيدات الكيميائية وقد يعزى السبب في ذلك الى إن العزلات (I_9, I_8, I_7) عزلت من المعاملات التي اضيف لها السماد الكيميائي (NPK) بنسبة (100%) من التوصية السمادية وهذا قد اثر في نموها واعدادها عندما اضيفت لها تراكيز خليط المبيدات في البيئات الصناعية الصلبة اذ إن اعداد الازوتوباكتر انخفضت معنويا" باضافة 100% من السماد الكيميائي مقارنة باضافته بنسبة 50% وبوجود خليط المبيدات الكيميائية عند معاملة السماد الحيوي البكتيري المنفرد في التجربة الحقلية الثانية. اذ اشار (Gordon et al. 1981) الى إن استعمال تراكيز عالية من اليوريا والامونيا كان

اكثر من حاجة البكتريا واستغلالها مما ادى الى تراكمها ومن ثم تثبيط الانظمة الانزيمية المختلفة للخلايا البكتيرية ومنها انظمة النمو.

هناك تأثير تثبيطي للاسمدة الكيميائية المعدنية النتروجينية والفوسفاتية عالية التركيز في نشاط واعداد البكتريا (Rai and Gaur,1988) . ووجد Bruns (1995) بان اضافة سماد (NPK) خفض من تحلل مبيدات الادغال 2,4-D و MCPA بنسبة 30 و 50% وعند (14) يوما" لم يحدث تحلل لهذه المبيدات وبعد (28) يوما" تحللت بنسبة (29%) و (45%) . اشارت الكبيسي (1989) الى إن كل من النترات والامونيا واليوريا يمكن إن تكون لها تاثير منشط في اعداد (A.chroococcum) فيما لو اضيفت بتراكيز معتدلة غير إن ارتفاع تراكيزها يمكن إن يسبب انخفاضا" واضحا" في اعدادها.

جدول (20): تاثير اضافة اربع تراكيز من خليط المبيدات الكيميائية (توبك+لوكران) في نمو الخلايا البكتيرية من Azotobacter في حالة اضافة 100% من الـ (NPK)

رقم العزلة	3ايام				7ايام				10 ايام				14يوم				21يوم			
	C_0	C_1	C_2	C_3	C_0	C_1	C_2	C_3	C_0	C_1	C_2	C_3	C_0	C_1	C_2	C_3	C_0	C_1	C_2	C_3
I_7	++	-	-	-	+++	+	-	-	+++	+	+	-	++	++	+	+	+	+	+	-
I_8	++	-	-	-	+++	+	-	-	+++	+	+	-	++	++	+	+	+	++	+	-
I_9	++	-	-	-	+++	+	-	-	+++	++	+	+	++	++	+	+	+	+	-	-
I_{10}	++	-	-	-	+++	+	-	-	+++	+	+	-	++	+	+	-	+	+	+	-
I_{11}	++	-	-	-	+++	+	-	-	+++	+	-	-	++	+	-	-	+	+	-	-
I_{12}	+	-	-	-	++	-	-	-	++	+	-	-	++	+	-	-	+	-	-	-

C = صفر C_1 = 75سم3+25 ppm C_2 = 150سم3+50 ppm C_3 = 300سم3+100ppm

- عدم وجود نمو + نمو ضعيف ++ نمو متوسط +++ نمو جيد

جدول (21): تاثير اضافة اربع تراكيز من خليط المبيدات الكيميائية (توبك+لوكران) في اعداد الخلايا البكتيرية من Azotobacter في حالة اضافة 100% من الـ (NPK)

رقم العزلة	3ايام				7ايام				10 ايام				14يوم				1	
	C_0	C_1	C_2	C_3	C_0	C_1	C_2	C_3	C_0	C_1	C_2	C_3	C_0	C_1	C_2	C_3	C_0	C_1
I_7	12.5	0	0	0	19	2.5	0	0	32.5	5	4.5	0	17	15.5	9.5	2.5	14	7
I_8	16	0	0	0	25	2	0	0	37.5	5	9.5	1.5	14	13	10.5	10.5	11.5	9.5
I_9	18.5	1.5	0	0	27.5	4	2	0	41.5	15.5	7	5.5	14.5	16.5	10.5	7.5	13	7.5
المعدل	15.66	0.5	0	0	23.83	2.83	0.66	0	37.16	8.5	7	2.33	15.16	15	10.16	6.83	12.83	8
I_{10}	16.5	0	0	0	20	3.5	0	0	30	8.5	4	0	15	13	8.5	0	11	1.5
I_{11}	15	0	0	0	19.5	4.5	0	0	22.5	5.5	0	0	14.5	9	0	0	12	8
I_{12}	9	0	0	0	13.5	0	0	0	28.5	3	0	0	12	9	0	0	10	0
المعدل	13.5	0	0	0	17.66	2.66	0	0	27	5.66	1.33	0	13.83	10.33	2.83	0	6.5	.5

L.S.D (0.05)

I (العزلة) = 0.355 العزلة *التركيز = 4.5979 الايام*التركيز = 2.536 العزلة * الايام =8.495

D (الايام)=0.324

C (التركيز) = 0.29

5- الاستنتاجات والتوصيات

5-1.الاستنتاجات

1. اضافة الاسمدة الحيوية الفطرية والبكتيرية المزدوجة مع اضافة المبيد الحيوي من فطر *T.harzianum* هي من النوع المفيد ولها تاثير ايجابي في النمو النبات وحاصل الحبوب معنويا" وبذلك خفضت 50% من اضافة الاسمدة الكيميائية مما يختزل من التكاليف ويقلل من تلوث البيئة.
2. عند اضافة 50% من السماد الكيميائي فان اضافة السماد الحيوي المزدوج (الفطري+البكتيري) وعند اضافة وعدم اضافة المبيد الحيوي ادت الى زيادة اعداد البكتريا والوحدات السكانية لفطر الترايكوديرما والسبورات ونسبة الاصابة المايكورايزية مقارنة بالاضافات المنفردة.
3. في حالة اضافة 50% من السماد الكيميائي فان اضافة الاسمدة الحيوية الفطرية والبكتيرية المزدوجة اعطت قيما" للحاصل اعلى معنويا" من معاملة من دون اضافة سماد حيوي وباضافة 100% من السماد الكيميائي وخليط المبيدات الكيميائية، وبذلك فقد وفرت 50% من نسبة السماد الكيميائي وكمية المبيدات المستخدمة فضلا على تقليل نسبة التلوث البيئي.
4. عند اضافة وعدم اضافة خليط المبيدات الكيميائية (توبك+لوكران) وباضافة 50% من التسميد الكيميائي فان اضافة الاسمدة الحيوية الفطرية والبكتيرية المزدوجة ادت الى زيادة اعداد البكتريا والسبورات ونسبة الاصابة المايكورايزية مقارنة بالاضافات المنفردة.
5. العزلات التي اخذت من المعاملات التي عوملت بخليط المبيدات الكيميائية وباضافة (50%) من السماد الكيميائي اظهرت تحملا" لجميع التراكيز المستعملة لخليط المبيدات الكيميائية في البيئات الصناعية الصلبة ، بينما العزلات التي اخذت من المعاملات غير المعاملة بخليط المبيدات وباضافة (50%) من السماد الكيميائي ثبط نموها واعدادها في التراكيز العالية لخليط المبيدات الكيميائية اذ ان الـ (MIC) هو التركيز الرابع (C_3).
6. العزلات التي اخذت من المعاملات التي اضيف لها 50% من السماد الكيميائي اظهرت تفوقا" في نموها واعدادها مقارنة بالعزلات التي اخذت من المعاملات التي اضيف لها 100% من السماد الكيميائي.
7. استعمال المبيد الحيوي ادى الى زيادة قيم خلايا الازوتةباكتر والمستعمرات المايكورايزية واعداد السبورات بينما ادت اضافة خليط المبيدات الكيميائية الى خفض قيمها مقارنة بعدم الاضافة.

5-2.التوصيات

1. نوصي باضافة الاسمدة الحيوية الفطرية والبكتيرية بصورة مجتمعة مع اضافة المبيد الحيوي (*T.harzianum*) والتي تسهم في زيادة المقدرة الانتاجية لنباتات القمح وكذلك تحسين الصفات المايكروبايولوجية.
2. توصي الدراسة بالاستعمال المرشد من الاسمدة والمبيدات الكيميائية والتوسع في استعمال الاسمدة والمبيدات الحيوية لماله اثر في تقليل التلوث البيئي وخاصة على الكتلة الحيوية في الاراضي الزراعية.
3. ان الدراسة توصي باجراء المزيد من الدراسات حول تتبع تحلل المبيدات الكيميائية في التربة عند استعمال الاسمدة الحيوية حيث ان دراستنا لم تتمكن من تنفيذ هذه التحليلات وذلك لاسباب فنية تتعلق بالاجهزة الخاصة بذلك.

Abstract

Four experiments were carried out as well as isolation, classification purification of (*A.chroococcum*) bacteria . The first and second experiment were field experiment to study the effect of bio and chemical pesticides on biofertilization f wheat plants (*Ttriticum estevium* L.) Tkai (1) as well as its effect on the microbiological properties in soil .

The third and fourth experiment were carried out at laboratory. Soil sample were taken from a wheat rhizospher which treated and untreated with a mixed chemical pesticides in the second experiments for measuring minimum inhibitory concentration (MIC) by adding for level of mixed herbicide (Tobic + Logran) , twelve bacterial isolation . Growth and number of bacteria cells were calculated to get resistant local isolation for adding mixed herbicides.

1. Isolation and classification of Azotobacter :-

Seventeen Azotobacter isolate were taken from soil rhizospher of different crops on Baghdad and Dyiala governance .

The results of classification showed that all the (17) isolate belong to (*A.chroococcum*) species . The isolate (A17) was selected as local isolate and used as a biofertilizer in field experiments on the basis of its high activity and efficiency n nitrogen fixation by measuring fixed nitrogen concentrations .

2. Field experiments :-

Two field experiment were conducted on Muqdadyia , Dyiala governance by using (RCBD)design in winter season (2002-2003) and each experiment was included (48) experimental units produced of (4)fertilizers treatment , (2) levels of chemical fertilizer NPK (50% and 100%) 2 levels of (bioagent and mixed of herbicide and (3) replication .

The results o current experiment revealed that application of fungal and bacterial biofertilizers in the form of single or adual application were significantly increased the dry weight and grain field in the presena and absent of *T-harzianum* with mixture of chemical pesticide i.e. (Tobic + Logran) compared without addition of biofertilizers .

A significant increase in grain yield with adding adual biofertilizers as compared with the treatments of a single biofertilizers .

The highest grain yield was recorded by using bioagent (*T-harzianum*) with both level of chemical fertilizer and overall single and adual biofertilizers .

The highest grain yield value (3085.21) $kg.ha^{-1}$ was happened with the addition of duplicate biofertilization under (100%) of chemical fertilizer and this value snot significant as compared with (50%) chemical fertilizer which is (3039) $kg.ha^{-1}$. The duplicate addition inhance the grain yield by (30% and 20.69%) and (23.07% and 18.1%) under the two level (50% and 100%) of chemical fertilizer with the addition and no addition of agent, respectively.Those on the interaction among *A.chroococcum , G-mosseae* and *T-harzianum* are positive .

Addition of chemical pesticide mixture a lose with respect to biofertilzation caused non significant increase in grain yield for both levels of chemical fertilizer compared with no addition . Thus the duplicate addition of biofertilization caused increase (18% and 18.21%) with addition and non addition of chemical pesticide mixture respectively.

Th biological groups were effected by addition of bio and chemical pesticide for all treatments and under the two level of chemical fertilizer . Addition of (*T-harzianum*) increased number of bacteria cells , fungal units of Trichoderma , spores and percentage of mycorrihza infection compared with non addition for all treatment.

The highest number happened with the addition of duplicate biofertilizer compared with the single bifertilization . The duplicate addition caused increase (32.42% and 23.8%) , (81.42% and 60.5%), (25.67% and 19.35%) and (24.83% and 28.57%) for in Azotobacter cell number fungal units of Trichoderma , percentage of infection and spores number with the addition of (50% and 100%) of the chemical fertilizer respectively compared with no addition .

Addition of chemical pesticide mixture caused reduction bacterial cells number , mycohrizal infection percentage , and spores number compared with no addition for the treatment and both level of chemical fertilizer .

As increasing the level of chemical fertilizer for (50% to 100%) of the fertilizer recommendation caused reduction of bacteria cells number and mycohrizal infection percentage significantly for both experiments .

3.Laboratory experiments :-

two laboratory experiments were carried out with (RCBD) design . Each experiments were included (144) experimental units for each incubation period and comes of (12) bacterial isolation , (4) level of herbicide mixture and (3) replication five period of incubation (3,7,10,14,21) day were used for measuring (MIC) of growth and bacterial cells number .

The results showed that the isolation (I_1 , I_2 and I_3) which were taken from treatments of mixed pesticide considered as resistant local isolations to mixed pesticide compared with the isolations (I_4 , I_5 and I_6) which were taken from untreated treatment with mixed pesticide .

So the (MIC) of (I_1 , I_2 and I_3) isolation is (C3) for (3) days incubation and growth in all concentration for the period of incubation (7,10,14 and 21) days , while the isolation (I_4 , I_5 and I_6) was not recorded growth and numbers with (3)days incubation the (MIC) in (C3) for the incubation period (7,10,14 and 21) days .

The results also showed that the isolation (I_7 , I_8 and I_9) which were taken from treatments of pesticide mixture addition as considered resistant local isolation for mixture of pesticide compared with isolation (I_{10} , I_{11} and I_{12}) .