تأثير التداخل بين بكتريا *Azotobacter chroococcum* والفطر *Trichoderma harzianum* في النمو السكاني والتعايش الحيوي لهما بزراعة نبات الشعير

حسين عرنوص فرج
كلية الزراعة/جامعة بغداد

الخلاصة :

نفذت تجربة أصص في الظلة الخشبية التابعة إلى قسم علوم التربة والموارد المائية في كلية الزراعة جامعة بغداد في تربة مزيجية طينية غرينية معقمة ،باعتماد تصميم القطاعات تامة التعشية RCBD .

اشتملت التجربة على 81 وحدة تجريبية ناتجة من تداخل سماد حيوي بكتيري ***Azotobacter chroococcum*** بثلاث معاملات A0 بدون تسميد و A1 عزلة أولى و A2 عزلة ثانية، وسماد حيوي فطري مكون من لقاح الفطر ***Trichoderma harzianum*** وبثلاثة مستويات تضمنت (T0= بدون تسميد و T1= 2غم لقاح فطري.كغم تربة$^{-1}$ و T2 = 4غم لقاح فطري.كغم تربة$^{-1}$) وسماد كيميائي NPK (يوريا،سوبر فوسفات ثلاثي،كبريتات البوتاسيوم) بثلاثة مستويات F0 بدون تسميد و F1 نصف التوصية السمادية و F2 توصية سمادية كاملة، بثلاثة مكررات.

بينت الدراسة إن إضافة اللقاح الفطري ***Trichoderma harzianum*** أدى إلى زيادة في أعداد بكتريا الـ ***Azotobacter chroococcum*** إذ سجلت أعلى قيم لها في الشهر الثالث لموسم نمو نبات الشعير إذ بلغ الـ CFU للبكتريا $12.39*10^6$ و $11.62*10^6$ عند المعاملتين F1T1A2 و F1T1A1 على التوالي، قياسا إلى معاملات عدم إضافة الفطر ***Trichoderma harzianum*** إذ بلغت القيم $8.66*10^6$ و $8.73*10^6$ للمعاملات F1T0A2 و F1T0A1 خلال الشهر الثالث أيضا.

وأظهرت النتائج إن إضافة اللقاح البكتيري ***Azotobacter chroococcum*** أدى إلى زيادة في أعداد الفطر ***Trichoderma harzianum*** إذ سجلت أعلى قيم له في الشهر الثالث لموسم النمو إذ بلغت الـ CFU للفطر $10.99*10^5$ و $10.63*10^5$ عند المعاملتين F2T2A2 و F2T2A1 على التوالي، قياسا إلى معاملة عدم إضافة بكتريا الـ ***Azotobacter chroococcum*** حيث بلغت الـ CFU للفطر $9.79*10^5$ للمعاملة F2T2A0 لنفس المدة أيضا .عند رفع نسبة السماد الكيميائي من 50% إلى 100% من التوصية أدت إلى خفض معنوي لأعداد بكتريا الـ ***Azotobacter chroococcum*** ، مع زيادة معنوية في أعداد الفطر ***Trichoderma harzianum*.**

INTERACTION EFFECT BETWEEN AZOTOBACTER CHROOCOCCUM BACTERIA AND TRICHODERMA HARZIANUM FUNGI ON THE BIOSOMBIOSIS-POPULATION WITH BARLEY PLANTING

Hussein Arnoos Faraj

Abstract:

Pots experiment was conducted to study the interaction effects of isolated *Azotobacter chroococcum* and *Trichoderma harzianum* to sterilized soil. Randomized Completely Block Design (RCBD) was used. The experimental units were included

ISSN 2072-3875

addition of Two *Azotobacter chroococcum* isolates ,Two levels of *Trichoderma harzianum* spores mass, and two levels of (N,P,K) in addition to the control treatment replicated three time.

The study showed that at all treatments with both levels of chemical fertilizer , that the addition of *T.harzianum* inoculum led to increase the number of *A. chroococcum*, registering the highest values in the third month of the growth season of barley ,where the cfu of bacteria were $12.39*10^6$ and $11.62*10^6$ at the two treatments F1T1A2 and F1T1A1 respectively, compared to the treatments without addition of fungi *T.harzianum*, and reaching to $8.66*10^6$ and $8.73*10^6$ at the two treatments F2T0A2 and F2T0A1 in the third month as well.

The study showed also that the addition of bacterial inoculum *A.chroococcum* led to increase the numbers of *T.harzianum* which gave the highest values in the third month of the growth season of barley, where the cfu of fungi $10.99*10^5$ and $10.63*10^5$ at the two treatments F2T2A2 and F2T2A1 respectively, as compared with the treatments without addition of bacteria *A.chroococcum* and the cfu of fungi reaching to $9.79*10^5$ in the treatment F2T2A0 during the same month. When increasing chemical fertilizer from 50% to 100% of the fertilizer recommendation led to a significant reduction of the number of bacteria *A.chroococcum* observed. When Also, increasing the proportion of chemical fertilizer from 50% to 100% of the fertilizer recommendation led to a significant increase in the number of fungi *T.harzianum*.

المقدمة :

يعد جنس *Azotobacter* احد أجناس البكتريا حرة المعيشة وذات مقدرة عالية في تثبيت النتروجين الجوي ،الذي انتشر استعماله كسماد حيوي مع النباتات البقولية وغير البقولية ، فضلا عن دور بكتيريا *Azotobacter* في إفراز بعض الهورمونات والإنزيمات والفيتامينات ومنظمات النمو مما يحسن من نمو النباتات المعاملة بها (السامرائي و راهي ،2006 وAbd-El-Gawadوآخرون،2009) .

يعد فطر *Trichoderma* من الفطريات الناقصة(رمية المعيشة) والتي تستخدم كسماد و مبيد حيوي من خلال بعض الإفرازات الايضية لهذه الفطريات مما يعزز نمو النبات من خلال دورها في دورات العناصر ومنها النتروجين والفسفور والبوتاسيوم والحديد والكبريت ،كما تكسب العائل النباتي المقاومة لبعض المسببات المرضية في التربة(Altomareوآخرون،1999 وHarman ،2000).

تشترك هذه الأحياء في أنواع من التداخلات الايجابية في منطقة الرايزوسفير سواء كانت بين بكتريا الازوتوبكتر والنبات او الترايكوديرما والنبات او الازوتوبكتر الترايكوديرما والنبات ذات التأثيرات الايجابية في نمو النبات . لذلك استهدفت هذه الدراسة الاتي:

1- عزل و توصيف بكتريا ال *Azotobacter chroococcum*والفطر *Trichoderma harzianum*.
2- اختبار اثر التداخل بين بكترياالـAzotobacter chroococcumوالفطرTrichoderma harzianum في الكثافة السكانية لكل منهما.

ISSN 2072-3875

المواد و طرائق العمل

عزل بكتريا الازوتوبكتر *Azotobacter spp.*

استعمل في البحث عزلات محلية لبكتريا *Azotobacter* تم الحصول عليها من خلال تحضير تخافيف لعينات التربة بإضافة10 غم من عينات التربة المختارة الى 90 cm^3 من الماء المقطر و المعقم في دوارق سعة 250 cm^3 ومزجت جيدا و أجريت تخافيف متسلسلة والى حد 10^{-6} وذلك بنقل 1 cm^3 من عالق التربة الى أنابيب اختبار تحتوي 9 cm^3 من المحلول الملحي المعقم ولكل عينة من عينات التربة

لقح الوسط السائل(Sucrose Mineral Salts) و الموصوف من قبل Becking ،1981 اذ اخذ 1 cm^3من تخافيف التربة المحضرة أعلاه لتلقيح أنابيب اختبار تحتوي على9 cm^3 من الوسط التخصصي أعلاه والذي حضر وعقم بجهاز بالمؤصدة لمدة20دقيقة وعلى درجة حرارة121 م ° وضغط 1.5 كغم.سم$^{-2}$ بواقع ثلاثة مكررات لكل تخفيف. حضنت الأنابيب على درجة حرارة 28 م ولمدة 5 الى7 يوم وفحصت الأنابيب بملاحظة الغشاء البني المتكون على السطح والذي يعد مؤشرا ايجابيا ً لنمو بكتريا الازوتوبكتر.

تنقية بكتريا الازوتوبكتر

تم اخذ 0.1 cm^3 من الأنابيب التي اعطت مؤشرا للنمو ونشرت على سطح طبق بتري يحتوي على الوسط الصلب(Sucrose Mineral Salts Agar) ، وحضنت الأطباق على درجة حرارة 28 ْم ولمدة 2الى3 يوم، ثم أعيد التخطيط أربع مرات متتالية وذلك لغرض الحصول على مستعمرات نقية من البكتريا، باستعمال هذه الطريقة تم الحصول على 20 عزلة نقية من بكتريا *Azotobacter.spp*.

حفظ عزلات الازوتوبكتر

تم تحضير انابيب الاكار المائل slant من الوسط التخصصي لغرض حفظ العزلات في الثلاجة الى حين موعد الزراعة و ذلك بأخذ جزء من نمو المزرعة النقية بواسطة الناقل (loop) وتلقيح انابيب الاكار المائل و وضعها في الحاضنة على درجة حرارة 28 م ° لمدة يوم واحد ثم نقلت الى الثلاجة .

تشخيص بكتريا الـ *Azotobacter*

سجلت بعض الصفات المظهرية للمستعمرات النامية على الوسط التخصصي مثل لونها شكلها كذلك تم فحصها تحت المجهر الضوئي بعد تصبيغها بصبغة گرام وتم ملاحظة شكلها و حجمها و طريقة تجمعها واجريت بعض الاختبارات الكيموحيوية لها حسب (Bergey`s Manual ،2004) كذلك اجري اختبار الحركة (Motility test)بعد تنميتها على وسط مغذي Nutrient Broth باستعمال طريقة (Hanging Drop) وحسب الحديثي (1983).

تحضير لقاح بكتريا *A .chroococcum*

اختيرت العزلتان A1 و A2 و المشخصة من نوع *A .chroococcum* لاستعمالهما في تجربة الأصص ،اذ نميت هاتان العزلتان على الوسط ألزرعي المنشط السائل وذلك بوضع 50 cm^3 من هذا الوسط في دورق مخروطي سعة 250 cm^3 و لقح من مزرعة عمرها يوم واحد لهذه البكتريا باستعمال الناقل(loop) ثم وضعت في الحاضنة على درجة حرارة 28° م مع الرج اليومي و لمدة ثلاثة أيام بعد ذلك قدرت كثافة اللقاح البكتيري فكانت 0.72*10^7 .cm^{-3} لكلا العزلتين و ذلك بطريقة الاحتمال الأعظم (M P N) . حسب (Page ،1982).

عزل الفطر *Trichoderma harzianum*

تم عزل الفطر *Trichoderma harzianum* من التربة بعمل سلسلة تخافيف تراوحت بين10^{-1}- 10^{-6} باخذ 10 غرام تربة و اضافتها الى90 cm^3 ماء مقطر معقم ثم اخذ 1 cm^3 منه الى انبوبة اختبار تحتوي 9 cm^3 ماء مقطر

ISSN 2072-3875

معقم و هكذا وصولاً الى التخفيف 10^{-6}. اخذ 0.1 cm^3 من التخافيف 10^{-3} - 10^{-4} ونشرت على سطح طبق بتري يحتوي وسط تنمية الفطريات (PDA) بثلاثة مكررات ثم وضعت الاطباق في الحاضنة لمدة 5-7 يوم و تم عمل تنقية للمزرعة الفطرية و ذلك باخذ جزء من النمو الفطري الواضح بواسطة الناقل الى طبق بتري يحتوي على وسط (PDA) و كررت العملية ثلاثة مرات للحصول على مزرعة نقية من الفطر *Trichoderma harzianum* و تم تشخيص الفطر من قبل د .بهاء الحديثي .

تحضيراللقاح الفطري

لغرض تحضير اللقاح الفطري تم اعداد دوارق سعة 1 لتر تحتوي على 35 غرام نخالة كوالح الذرة الصفراء و 15 غرام نخالة طحين الحنطة و اضيف اليها 35 cm^3 ماء مقطر مع اضافة 0.5غرام كلوكوز وعقمت بالمؤصدة على درجة حرارة(121 ° م) و ضغط 1.5 كغم.سم$^{-2}$ لمدة (20) دقيقة ثم بردت و وضعت في الحاضنة لمدة يومين على درجة حرارة(28 ° م) و كررت هذه العملية ثلاثة مرات ،ثم اضيف الى الدوارق جزء من المزرعة الفطرية (4 قرص بواسطة الثاقب الفليني) و وضعت الدوارق في الحاضنة لمدة (8) يوم مع مراعات التقليب اليومي لمكونات الدوارق لغرض تنشيط الفطر ،قدرت الكثافة اللقاحية للفطر قبل اضافته الى التربة بطريقة التخفيف و العد بالاطباق و حسب ما ذكره Black،1965 فكانت كثافة اللقاح (10^6*4.1)cfu للغرام الواحد من اللقاح الفطري .
اضيف اللقاح الفطري قبل الزراعة باسبوع لغرض اتاحة الفرصة للفطر للنمو و تكوين الهايفات .

المعاملات

كانت معاملات البكتريا *Azotobacter chroococcum* كالآتي A1 رمز للعزلة الأولى و A2 رمز للعزلة الثانية و A0 رمز لعدم التلقيح البكتيري، أما معاملات الفطر *Trichoderma harzianum* فكانت T1 ويمثل 2غم لقاح فطري.كغم$^{-1}$ تربة و T2 ويمثل 4غم لقاح فطري.كغم$^{-1}$ تربة و T0 رمز لعدم التلقيح الفطري ، أما معاملات السماد الكيميائي فكانت F1 وهو استعمال نصف التوصية السمادية و F2 وهو استعمال توصية سمادية كاملة و F0 رمز لعدم التسميد الكيميائي و جدول 5 يوضح هذه المعاملات وتداخلاتها.

مراحل تنفيذ التجربة

أ- وزن 5 كغم من التربة المطحونة و المنخولة بمنخل 4 ملم و المعقمة بغاز بروميد المثيل وتم التاكد من نجاح عملية التعقيم عن طريق اجراء اختبار لعينة التربة بالتلقيح في وسط (Nutrient Broth) والتحضين على درجة حرارة 28° م. ثم وضعت في اصص بلاستيكية ذات قطر 22 سم و عمق 23 سم معقمة بالكحول و مثقبة من الاسفل و تم وضع ورق ترشيح معقم في اسفل الاصص.

جدول 1 معاملات التجربة وتداخلاتها.

السماد الكيميائي F	الفطر *T.harzianum* T	البكتريا *A.chroococcum* A		
		A0	A1	A2
F0	T0	F0T0A0	F0T0A1	F0T0A2
	T1	F0T1A0	F0T1A1	F0T1A2
	T2	F0T2A0	F0T2A1	F0T2A2
F1	T0	F1T0A0	F1T0A1	F1T0A2
	T1	F1T1A0	F1T1A1	F1T1A2
	T2	F1T2A0	F1T2A1	F1T2A2
F2	T0	F2T0A0	F2T0A1	F2T0A2
	T1	F2T1A0	F2T1A1	F2T1A2
	T2	F2T2A0	F2T2A1	F2T2A2

ISSN 2072-3875

ب- اضافة اللقاح الفطري اذ ازيلت الطبقة السطحية من تربة الاصص و لعمق 5 سم ونثر اللقاح الفطري و رش بعض الماء عليه ثم ارجعت التربة المزالة الى مكانها وغطيت الاصص باكياس من البلاستك لغرض التقليل من التلوث الى حين موعد الزراعة .

ج- خلطت الطبقة السطحية من التربة مع الاسمدة الكيميائية (N P K) وذلك حسب الكمية الموصى بها لنبات الشعير محسوبة على اساس وزن الاصيص و كما هو مبين في جدول 2

جدول 2 نوع و كمية السماد الكيميائي الموصى بها على اساس وزن الاصيص.

نوع السماد الكيميائي	الكمية الموصى بها (كغم.هكتار$^{-1}$)	الكمية المضافة لكل اصيص(غم.اصيص$^{-1}$)
سماد اليوريا	**(N) 150**	**0.41 (ثلاث دفعات)**
سوبر فوسفات ثلاثي	**(P) 60**	**0.37 (دفعة واحدة)**
كبريتات البوتاسيوم	**(K) 100**	**0.25 (دفعتين)**

د – زرعت بذور نبات الشعير(صنف اباء99) ذو ستة صفوف يوم 2009/11/7 بواقع 10 بذرور.اصيص$^{-1}$ وذلك بعد تعقيمها سطحيا ً بمادة هايبوكلورايت الصوديوم(القاصر) بتركيز(1 %) و الكحول الاثيلي(95 %) وحسب ما ذكره حافظ(2001) وثم غسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات متتالية وذلك لإزالة أي اثر للمادة المعقمة و بعد ذلك عوملت باللقاح البكتيري المحضر بخلط 50 cm^3 من المزرعة السائلة من ا لبكتيريا كل عزلة على حده وتحت ظروف التعقيم ، اذ غمرت البذور في المزرعة السائلة لمدة نصف ساعة مع اضافة القليل من مادة الدبس بنسبة (1-9) دبس – ماء حسب حافظ،2001 وذلك لضمان التصاق البكتريا بالبذور و كقاعدة غذائية للبكتريا ،مع مراعاة زراعة البذور في المعاملات غير الملقحة بالبكتريا اولا ً لتجنب التلوث .

هـ - حفظت رطوبة التربة في الاصص بحدود 50 % من الماء الجاهز وعوض الفقد في الرطوبة باضافة الماء على اساس الوزن المفقود من الاصص وكان السقي بماء الاسالة خفت البادرات بعد اسبوع من موعد الانبات الى 5 بادرات.اصيص$^{-1}$.

و- التقديرات المايكروبايلوجية

حساب النمو السكاني للبكتريا و الفطر بطريقة التخفيف و العد بالاطباق خلال مدة البحث و بأربع مراحل (0 و30 و60 و90 يوم).

التحليلات الفيزيائية والكيميائية لمادة تربة الاصص

اجريت التحليلات الكيميائية الاتيه حسب بشور والصايغ،2007 ،جدول3

1- قدرت درجة تفاعل التربة (pH) في مستخلص تربة:ماء (1:1) وباستعمال جهاز pH meter -

2- قدرت درجة التوصيل الكهربائي (EC) في مستخلص تربة:ماء (1:1) بجهاز Conductivity Bridge.

3- المادة العضوية قدرت بطريقة الهظم الرطب (Wet digestion) وفقاً لطريقة Walkly و Black (Pageواخرون،1982).

4- تم تقدير النتروجين الجاهز بجهاز كلدال (microkjeldahl) وحسب الطريقة المتبعة من قبل Bremner (Pageواخرون،1982).

ISSN 2072-3875

جدول3 بعض الصفات الكيميائية والفيزيائية لتربة الدراسة قبل الزراعة.

الصفة		القيمة	الوحدة
تفاعل التربة pH		7.50	
التوصيل الكهربائي EC		4.54	ديسيسيمنز.م$^{-1}$
المادة العضوية		6.14	غم.كغم$^{-1}$تربة
العناصر الجاهزة	النتروجينN	47.6	ملغم.كغم$^{-1}$تربة
	الفسفورP	23.8	
	البوتاسيومK	215	
تحليل حجوم الدقائق	الرمل	150	غم.كغم$^{-1}$
	الغرين	560	
	الطين	290	
النسجة		مزيجة طينية غرينية	

5- الفسفور الجاهز قدر حسب طريقة (Olsen) ،(Pageواخرون،1982).

6 – استخلص البوتاسيوم الجاهز بوساطة خلات الامونيوم ($1N\ NH_4OAC$) pH 7 ثم قدر باستعمال جهاز اللهب الضوئي Flame photometer (Black،1965).

7-قدر التوزيع الحجمي لدقائق التربة بطريقة الماصة حسب page (1982).

التحليل الإحصائي

نفذت تجربة عاملية (ثلاثة عوامل) بإتباع توزيع RCBD (القطاعات كاملة التعشية) و استعمل برنامج تحليل التباين Genstat discovery edition 3 لاجراء التحليل الاحصائي و اعتمد اقل فرق معنوي (LSD) للمقارنة بين متوسطات المعاملات المختلفة.

النتائج والمناقشة:

تأثير إضافة الأسمدة الحيوية والكيميائية في أعداد خلايا بكتريا ألـ*Azotobacter chroococcum*

أوضحت النتائج في الأشكال1 و2 تأثير التسميد الحيوي الفطري و الكيميائي في أعداد بكتريا الازوتوبكتر وكذلك تأثير السماد الحيوي البكتيري في زيادة أعداد البكتيريا اذ بينت النتائج إن المعاملات التي لم يُضَف إليها اللقاح البكتيري لم يسجل لها أي أعداد للأحياء.وهذا يدل على نجاح عملية تعقيم التربة والقضاء على جميع الأحياء الدقيقة فيها . أما المعاملات التي أضيف إليها اللقاح البكتيري فقد ازدادت فيها أعداد البكتيريا Azotobacter واستمرت الزيادة في أعدادها إلى نهاية الشهر الثالث من موسم نمو نبات الشعير. وفي نهاية الشهر الرابع سجلت أعدادها انخفاضا معنويا .وهذا يدل على حيوية ونشاط اللقاح البكتيري خلال مدة التجربة وانخفاض أعداده في نهاية التجربة.

هذا وقد كان معدل أعداد بكتيريا الازوتوبكتر ألcfuعند استعمال السماد الحيوي البكتيري بصورة منفردة $5.44*10^6$ و $5.53*10^6$cfu .غم$^{-1}$ تربة جافة وللعزلتين A1و A2 على التوالي و بدون فرق معنوي بين العزلتين هذا في الشهر الأول من موسم نمو النبات .و $7.50*10^6$ و $7.72*10^6$و $8.94*10^6$ و $9.37*10^6$cfu .غم$^{-1}$ تربة جافة وللعزلتين A1و A2 على التوالي خلال الشهر الثاني و الثالث بالتتابع ،مع تفوق معنوي للعزلة A2. إن النتائج أعلاه تظهر ارتفاع أعداد البكتيريا مع تقدم عمر النبات وخلال مراحل نموه وهذا يدل على نجاح عملية التلقيح وكذلك على الفعالية العالية لبكتيريا الازوتوبكتر في تفاعلها حيوياً مع نمو وفعالية نبات الشعير في

ISSN 2072-3875

منطقة الرايزوسفير والتي تكون غنية بالمواد الغذائية و الأحماض العضوية كما أشار الكسندر،1981ودراسات لاحقة منها Mrkovacki وMilic،(2001).

فضلاً عن قدرة هذه البكتيريا في تثبيت النتروجين الجوي كما بين Chandrasekarوآخرون،(2005) وAbd El-Gawadو El-Sayed ،(2006) الأمر الذي ساعد في زيادة قيم ألcfu للبكتيريا . أما في الشهر الرابع فقد سجلت أعداد البكتيريا انخفاضا إذ بلغت ألcfu $5.28*10^6$ و $5.23*10^6$cfu .غم$^{-1}$ تربة جافة وللعزلتين A1 و A2 على التوالي .ولعل السبب في ذلك يعود إلى قلة الانسلاخات الجذرية وإفرازات الجذور وبالتالي قلة المواد الغذائية المتاحة للاحياء المجهرية (Mrkovacki وMilic،2001).

بينت النتائج في الشكلين 1 و2 إن للفطر *Trichoderma harzianum*تأثيرا كبيراً في زيادة أعداد بكتريا الازوتوبكتر ففي خلال الشهر الأول بلغت نسبة الزيادة 38.46% و 41.81% ولمستويي الفطر T1و T2 على التوالي . و 27.52% و 33.69% و 24.03% و 29.50% خلال الشهرين الثاني والثالث على التوالي ،بينما وصلت نسبة الزيادة إلى 16.67% و 26.27% خلال الشهر الرابع ولنفس مستويات الفطر على التوالي. مع تفوق معنوي للمستوى T2 على المستوى T1من اللقاح الفطري.وهذا يوضح تأثير التداخل الايجابي بين الفطر *Trichoderma harzianum*و البكتيريا Azotobacter في زيادة أعداد البكتيريا مقارنة مع معاملات البكتيريا لوحدها وهذا يؤكد على التعاون الذي يحصل بين الأحياء المجهرية في البيئات الدقيقة microhabitat والذي يسهم في زيادة الكثافة السكانية للبكتيريا في التربة .وحصل كل من Zirana وآخرون ،(1998) وEspiritu وآخرون (1992) على نتائج مقاربة .

أوضحت النتائج في الشكلين 1 و2 إن أعداد بكتيريا الازوتوبكتر ازدادت معنوياً عند إضافة 50% من التوصية السمادية .ثم انخفضت مع ارتفاع نسبة التسميد الكيميائي إلى 100% وكان الانخفاض معنوياً عند مستوى 5% وهذا بدون إضافة الفطر *Trichoderma harzianum* . ففي الشهر الأول بلغت نسبة الزيادة 48.33% و 34.15% ولمستويي السماد F1 و F2 على التوالي .و 37.49% و 23.73% و 34.78% و 38.43% للشهرين الثاني والثالث على التوالي ،و في الشهر الرابع42.07% و 28.37% ولمستويي السماد F1وF2 على التوالي. مع تفوق معنوي للمستوى F1 على المستوى F2 عند مستوى 5%.وأكد البشير،2003 على هذه العلاقة بين التسميد الكيميائي و أعداد بكتيريا الازوتوبكتر .

أشارت العديد من الدراسات إن أعداد بكتريا الازوتوبكتر لا تتأثر ايجابياً بالمصادر النتروجينية المعدنية بل على العكس فاحيإناً يحصل تثبيط لإنزيم النايتروجينيز و لكن وجود كميات قليلة من هذه الأسمدة قد تستفيد منها بكتيريا الازوتوبكتر كمصدر طاقة في نموها وتكاثرها مثلما أشار الكسندر،(1981)والشيباني(،2005). لم تتفق هذه النتيجة مع Anjumوآخرون(،2007) الذي وجد زيادة في أعداد بكتيريا الازوتوبكتر مع زيادة كمية الأسمدة الكيميائية مع نبات القطن.

أكدت النتائج في الشكلين 1 و2 إن التداخلات الثنائية بين الأسمدة الحيوية البكتيرية و الفطرية أثرت في النمو السكاني لبكتيريا الازوتوبكتر اذ بلغت أقصى زيادة عددية لها خلال الشهر الثالث لموسم نمو نبات الشعير $10.14*10^6$ و $9.98*10^6$cfu .غم$^{-1}$ تربة جافة للمعاملتين T2A2 و T2A1 على التوالي ومن دون فرق معنوي بين المعاملتين على مستوى 5% . و أدنى ارتفاع لها في الشهر الأول مع المعاملتين T0A1 و T0A2 اذ بلغت $4.25*10^6$ و $4.40*10^6$cfu.غم$^{-1}$ تربة جافة على التوالي ومن دون فرق معنوي بين المعاملتين على مستوى 5% .وهذا يتفق مع التميمي (2005)وEspiritu وآخرون (1992) و Espirituوآخرون (2008) الذين أشاروا إلى إن التداخل بين بكتيريا ألAzotobacter و الفطر Trichodermaأدى إلى زيادة أعداد البكتيريا . كما أكدZiranaوآخرون(1998) على إن الزيادة المعنوية في أعداد خلايا بكتيريا تؤكد علاقة التعايش الايجابية بين فطر ألTrichodermaو بكتيريا ألAzotobacter مما تنعكس ايجابياً على خصوبة التربة ونمو النبات من خلال الإفرازات التي تفرزها هذه الأحياء المجهرية .

أظهرت النتائج في الشكلين 1 و2 إن التداخلات الثنائية بين الأسمدة الحيوية الفطرية و الكيميائية أثرت في النمو السكاني لبكتيريا الازوتوبكتر اذ بلغت أقصى زيادة سكانية لها خلال الشهر الثالث لموسم النمو مع المعاملة

ISSN 2072-3875

F1T2 اذ بلغت $cfu10^6*8.00$.غم$^{-1}$ تربة جافة . وأدناها خلال الشهر الأول لموسم النمو مع المعاملة F0T0 اذ بلغت $cfu10^6*2.36$.غم$^{-1}$ تربة جافة وحصل التميمي،2005 والشيباني،2005 على نتائج مقاربة. ولعل السبب في ذلك هو توافر العناصر الغذائية المهمة لنمو الأحياء المجهرية التي يوفرها السماد الكيميائي مثل الفسفور الذي يدخل في تركيب أهم الجزيئات الحيوية ATP و DNA و RNA .هذا فضلاًعن النشاط الإنزيمي للفطر *Trichoderma* في تحليل المادة العضوية مما يوفر قاعدة غذائية لبكتيريا الازوتوبكتر .

بينت النتائج في الشكلين 1 و2 إن التداخلات الثنائية بين الأسمدة الحيوية البكتيرية و الكيميائية أثرت في ألcfu لبكتيريا الازوتوبكتر اذ بلغت أقصى زيادة لها في الشهر الثالث لموسم نمو الشعير اذ بلغت $10^6*10.14$ و $10^6*10.51$مع المعاملات F1A1 و F1A2 على التوالي مع تفوق معنوي للمعاملة F1A2 على المعاملة F1A1 على المستوى 5%. واقل زيادة عددية لها خلال الشهر الأول لموسم النمو مع المعاملة F0A1 اذ بلغ ألcfu لها $cfu10^6*4.22$.غم$^{-1}$ تربة جافة .

أظهرت النتائج في الشكلين 1 و2 إن التداخلات الثلاثية بين الأسمدة الحيوية البكتيرية والفطرية و الكيميائية كانت الأكثر تأثيرا في زيادة ألcfu اذ بلغت أعلى مستوى لها خلال الشهر الثالث من موسم نمو النبات اذ بلغت $cfu10^6*12.39$.غم$^{-1}$ تربة جافة مع المعاملة F1T2A2.واقل عدداً لها في الشهر الأول مع معاملة المقارنة F0T0A0 إذ كانت صفراً. ومن الجدير بالذكر إن أعداد البكتيريا ازدادت مع تقدم النبات بالنمو وقد بلغت ذروتها عند الشهر الثالث اذ إن النبات في هذه المرحلة هو في قمة النمو الخضري اذ إن مدة النمو الخضري للشعير تمتد من 60 إلى 100 يوم حسب صنف النبات ،احمد،1993 وخلال مدة النمو الخضري تكون العمليات الفسلجية على أشدها وتكثر إنسلاخات الجذور و إفرازاتها التي تستفيد منها أحياء التربة المجهرية(Mrkovacki و Milic ،2001) مثل بكتيريا الازوتوبكتر مثلما أشارإلى ذلك Abd El-Gawad وآخرون،2009 اذ وجد إن مرحلة النمو الخضري لنبات الكانولا كان فيها اعلى عدد لبكتيريا الازوتوبكتر في تربة الرايزوسفير .

تأثير إضافة الأسمدة الحيوية والكيميائية في أعداد خلايا الفطر *Trichoderma harzianum*

أظهرت النتائج في الشكلين 3 و4 تأثير التسميد الحيوي في أعداد الفطر ***Trichoderma harzianum*** خلال مدة نمو نبات الشعير وكذلك تأثير السماد الحيوي الفطري في زيادة أعداد الفطر اذ بينت النتائج إن المعاملات التي لم يُضَف إليها اللقاح الفطري لم يسجل لها أي قيمة أي كانت صفراً .وهذا يدل على نجاح عملية تعقيم التربة والقضاء على جميع الأحياء الدقيقة فيها . أما المعاملات التي أضيف إليها اللقاح الفطري فقد ازدادت فيها أعداد الفطر ***Trichoderma harzianum*** واستمرت الزيادة في اعدادها إلى نهاية الشهر الثالث من موسم النمو لنبات الشعير. وفي نهاية الشهر الرابع سجلت اعدادها إنخفاضاً معنويا .وهذا يدل على حيوية ونشاط اللقاح الفطري خلال مدة التجربة.هذا وقد كان اعلى معدل لإعداد الفطر عند استعمال السماد الحيوي الفطري بصورة منفردة هو خلال الشهر الثالث من موسم نمو النبات اذ بلغ $9.42*10^5$و$8.96*10^5$وحدة تكو ينمستعمرة. غم$^{-1}$ تربة جافة للمستوى T2 و T1 على التوالي مع تفوق معنوي للمستوى T2 ، على T1.و $5.94*10^5$ و $5.36*10^5$ و $8.50*10^5$ و $7.77*10^5$ وحدة تكو ين مستعمرة. غم$^{-1}$ تربة جافة للشهر الأول والثاني على التوالي لنفس المستويين مع تفوق معنوي للمستوى T2 على T1 أما في الشهر الرابع فقد حصل انخفاض في أعداد الفطر اذ بلغت قيمة ألcfu $5.34*10^5$و $4.88*10^5$ وللمستويين T2 و T1 على التوالي . مما ذكر أعلاه نلاحظ قدرة الفطر *Trichoderma* على النمو و التكاثر في التربة المعقمة ولعل السبب في ذلك يعود إلى إن المادة الحاملة للفطر قد وفرت قاعدة غذائية أساسية لنمو الفطر و بالتالي استيطانه في التربة والمنطقة الجذرية وأكد هذا السامرائي(،2002) عند معاملته شتلات النارنج بالفطر *Trichoderma* . و Mohammadi وآخرون (،2009) عندما عامل نبات الحمص بالفطر *Trichoderma harzianum* .

كذلك تتفق مع ألحديثي (،2002)والتميمي(،2005) الذين أكدوا على إن إضافة اللقاح الفطري *Trichoderma harzianum* أدى إلى زيادة معنوية في أعداد ألcfu للفطر مقارنة بمعاملة عدم إضافة اللقاح .أما سبب الانخفاض في أعداد الفطر خلال الشهر الرابع ربما يكون بسبب قلة العناصر المغذية في التربة نتيجة استنزافها من قبل النبات

ISSN 2072-3875

.فضلاً عن قلة إفرازات الجذور وإنسلاخاتها في نهاية مدة النمو الخضري للنبات لأن النبات يتجه نحو تجميع المادة الجافة في البذور فتنخفض الفعالية النباتية في منطقة الجذور او ربما بسبب ظاهرة التثبيط الذاتي Self inhibition التي أشارإليهاDavet (،1979) .

بينت النتائج في الشكلين 3و4 تأثيرإضافة اللقاح البكتيري *Azotobacter* في أعداد الفطر *Trichoderma harzianum* اذ بلغ معدل قيم ألcfu للفطر في الشهر الأول لموسم نمو نبات الشعير $3.81*10^5$ و $3.86*10^5$ وللعزلتين A1و A2 على التوالي فيما بلغت قيم ألcfu $5.55*10^5$ و $5.48*10^5$ و $6.25*10^5$ و $6.28*10^5$في الشهر الثاني والثالث لنفس العزلتين وعلى التوالي و $3.36*10^5$ و $3.54*10^5$cfu .غم$^{-1}$ تربة جافة وللعزلتين A1 و A2 على التوالي. وقد تعود هذه الزيادة إلى العلاقة الايجابية بين الفطر *Trichoderma harzianum*وبكتيريا أل*Azotobacter* (Espiritu وآخرون،1992وZirana وآخرون،1998).

أظهرت النتائج في الشكلين 3و4 إن للسماد الكيميائي تأثير معنوي في زيادة معدل أعداد الفطر *Trichoderma harzianum*بنسب زيادة بلغت 16.07% و 24.99% و 18.82% و 25.70% لمستوى السماد F1وللأشهرالأربعة على التوالي. و 15.36% و 21.70% و 16.95% و 25.51% للمستوى F2وللأشهرالأربعة على التوالي .مع تفوق معنوي للمستوى ألسمادي2F(100%)توصية سمادية على المستوى F1(50%) توصية سمادية . هذه النتائج متفقة مع Arpana و Bagyaraj (2007) اذ حصل على cfu مقداره $1.1*10^5$عند استعمال 100 % توصية سمادية والفطر *Trichoderma harzianum* و$1.00*10^5$ عند استعمال 75% توصية سمادية مع الفطر نفسه. و ولعل السبب هو ما أشار أليه قاسم وعلي (،1989) إلى إن إضافة أملاح الامونيوم يزيد من أعداد فطريات التربة لسببين أولهما إن النتروجين عنصر ضروري لبناء الخلية .وثانيهما هو إن أكسدة الامونيوم تزيد من حموضة التربة وبالتالي توفر ظروف ملائمة لنمو الفطريات .إضافة إلى إن الفطريات تحتاج إلى جميع العناصر الغذائية الأخرى اللازمة لنمو أي كائن حي.

أكدت النتائج في الشكلين 3و4 على إن الإضافة المشتركة للأسمدة الحيوية الفطرية و البكتيرية أثرت معنوياً في زيادة معدل أعداد ألcfuللفطر*Trichoderma harzianum* اذ بلغت أقصى زيادة لأعداد الفطر كانت في الشهر الثالث اذ بلغت ألcfu $9.53*10^5$ و $9.34*10^5$ وللمعاملتين T2A2 و T2A1 على التوالي ومن دون فرق معنوي بين المعاملتين.وأدناها خلال الشهر الرابع اذ بلغت ألcfu $4.85*10^5$ و $5.05*10^5$ وللمعاملتين T1A1 و T1A2على التوالي .وأكد كل من Zirana وآخرون،1998و Haggag و Saber (،2000) والتميمي،(2005) والشيباني،(2005) على هذه العلاقة بين الفطر *Trichoderma harzianum*وبكتيريا أل *Azotobacter chroococcum* في زيادة قيم ألcfuوكثافة أعداده السكانية .

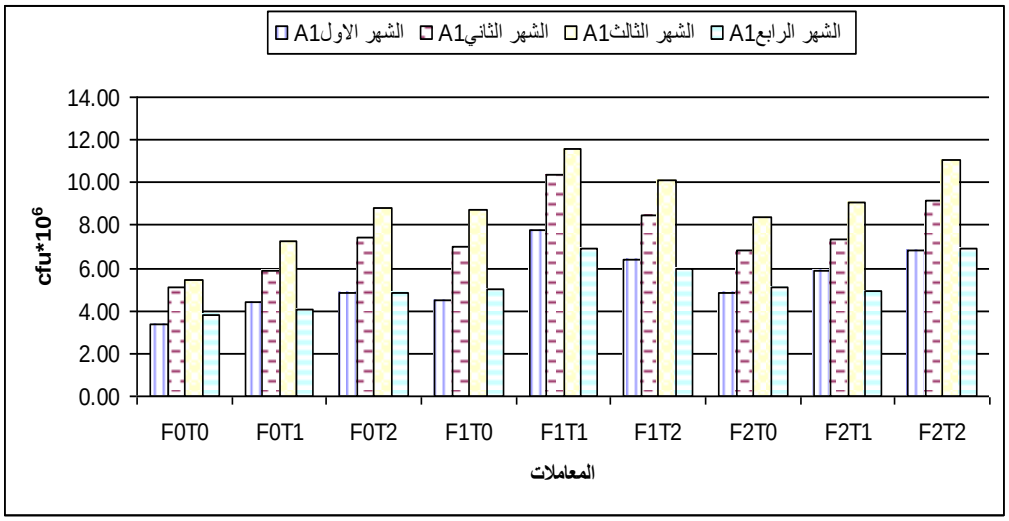
بينت النتائج في الشكلين 3و4إن الإضافة المشتركة للأسمدة الفطرية و الكيميائية سببت زيادة معنوية في معدل أعداد الفطر اذ بلغت ألcfu للفطر$10.47*10^5$ للمعاملة F2T2 مع تفوق معنوي لها على المعاملة F2T1 على مستوى 5% وقد بلغت ألcfuلها $9.44*10^5$ وذلك عند الشهر الثالث لموسم نمو النبات .وفي نفس الشهر بلغت ألcfu $9.44*10^5$ و $9.44*10^5$ للمعاملتين F1T1 و F1T2 على التوالي ومن دون فرق معنوي بين المعاملتين . حصل Mohammadiوآخرون ،(2009) على نتائج مقاربة .

أوضحت النتائج في الشكلين 3و4تأثير التسميد الحيوي البكتيري و الكيميائي في زيادة أعداد الفطر *Trichoderma harzianum*وكانت اعلى زيادة في الشهر الثالث مع المعاملة F2A2 اذ بلغت قيمة ألcfu $6.76*10^5$ والتي لم تفرق معنوياً عن المعاملات F2A1 و F2A0 و F1A2 لنفس الشهر .و اقل عدد بلغ $2.83*10^5$ مع المعاملة F0A0 خلال الشهر الرابع لموسم نمو النبات اذ بلغت ألcfu $2.83*10^5$وحدة تكو ين مستعمرة. غم$^{-1}$ تربة جافة . وقد حصل الشيباني،2005 والتميمي،2005 على نتائج مقاربة .

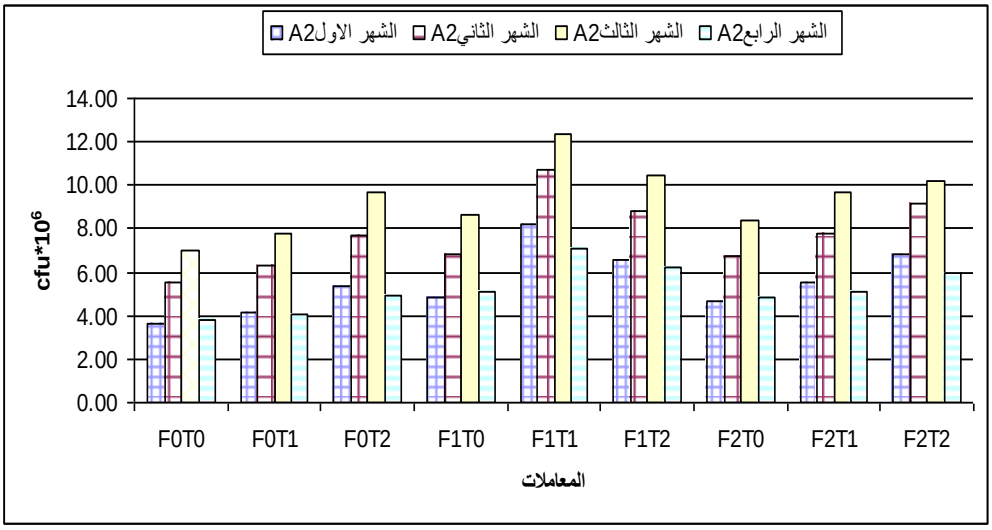
أظهرت النتائج في الشكلين 3و4 تأثير التداخل بين الأسمدة الحيوية البكتيرية و الفطرية و الكيميائية اذ وصلت أعداد الفطر إلى ذروتها عند المعاملة F2T2A2 خلال الشهر الثالث اذ بلغت ألcfu$10.99*10^5$ومن دون فرق معنوي مع المعاملة F2T2A1 التي بلغت $10.63*10^5$.وخلال الشهر الثاني كانت ألcfu $10.00*10^5$ و

ISSN 2072-3875

10^5*9.43 للمعاملتين F2T2A2 و F2T2A1 على التوالي ومن دون فرق معنوي بينهما. بينما لم تسجل معاملة المقارنة F0T0A0أية قيمة تذكر .



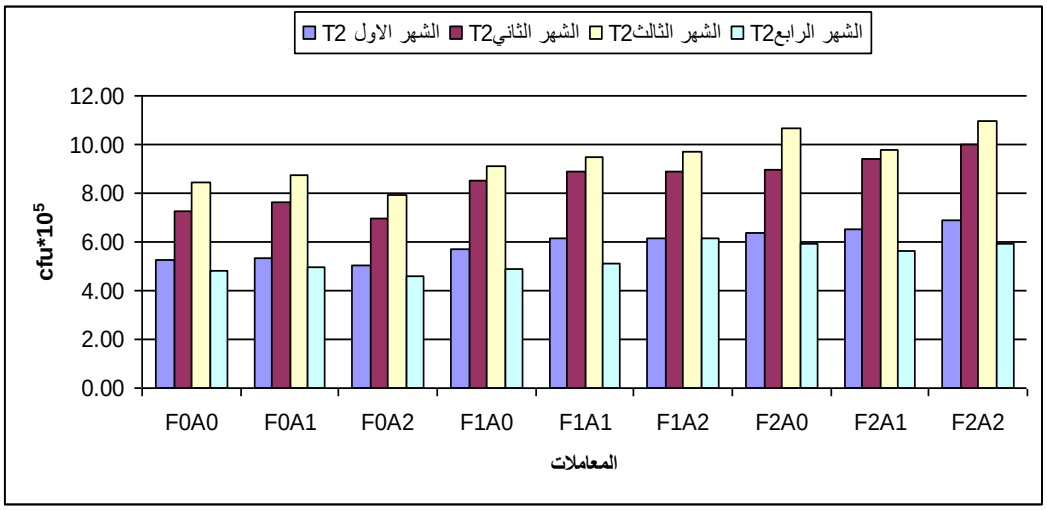
شكل (1) تأثير الأسمدة الحيوية والكيميائية في اعداد بكتريا الـ *A.chroococcum*



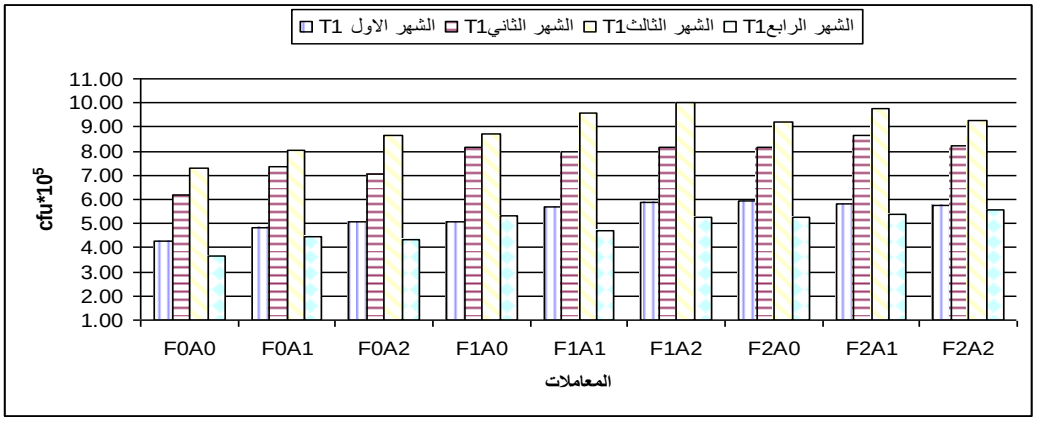
شكل (2) تأثير الأسمدة الحيوية والكيميائية في اعداد بكتريا الـ *A.chroococcum*

LSD 0.05							
ATF	**TF**	**AF**	**AT**	**F**	**T**	**A**	
0.4725	**0.2728**	**0.2728**	**0.2728**	**0.1575**	**0.1575**	**0.1575**	**شهر1**
0.5972	**0.3448**	**0.3448**	**0.3448**	**0.1991**	**0.1991**	**0.1991**	**شهر2**
0.6084	**0.3513**	**0.3513**	**0.3513**	**0.2028**	**0.2028**	**0.2028**	**شهر3**
0.5644	**0.3258**	**0.3258**	**0.3258**	**0.1881**	**0.1881**	**0.1881**	**شهر4**

ISSN 2072-3875



شكل (4) تأثير الأسمدة الحيوية والكيميائية في اعداد الفطر *T.harzianum*



شكل (3) تأثير الاسمدة الحيوية والكيميائية في اعداد الفطر *T.harzianum*

LSD 0.05							
ATF	**TF**	**AF**	**AT**	**F**	**T**	**A**	
0.4725	**0.2728**	**0.2728**	**0.2728**	**0.1575**	**0.1575**	**0.1575**	**شهر1**
0.5972	**0.3448**	**0.3448**	**0.3448**	**0.1991**	**0.1991**	**0.1991**	**شهر2**
0.6084	**0.3513**	**0.3513**	**0.3513**	**0.2028**	**0.2028**	**0.2028**	**شهر3**
0.5644	**0.3258**	**0.3258**	**0.3258**	**0.1881**	**0.1881**	**0.1881**	**شهر4**

المصادر :

احمد ،عبد الحميد.(1993).انتاج وتحسين المحاصيل الحقلية ج1 .دار الكتب للطباعة والنشر- جامعة بغداد.

التميمي ،فارس محمد سهيل.(2005).تاثير التداخلات بين المبيدات الحيوية والكيميائية والتسميد الحيوي على نباتات الحنطة (*Triticum aestevium*).اطروحة دكتوراه.كلية الزراعة .جامعة بغداد.

الحديثي، بهاء عبد الجبار (2002). النشاط الانزيمي للفطر *Trichoderma harzianum* في التربة ونمو حاصل نبات الطماطة. اطروحة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة بغداد

ISSN 2072-3875

الحديثي ، هديل توفيق . (1983). الكتاب العملي في اساسيات علم البكتريا . مطبعة جامعة البصرة.

السامرائي، فالح حسن سعيد. (2002). تأثير عزلات الفطر *Trichoderma spp* في إنبات بذور ونمو شتلات النارنج. رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة بغداد.

السامرائي ،اسماعيل خليل و حمدالله سليمان راهي . (2006).تاثير التلقيح ببكتيريا الازوتوبكتر و الازوسبيرلم في امتصاص بعض العناصر الغذائية وتركيز الهورمونات النباتية ونمو بادرات الطماطة .مجلة العلوم الزراعية العراقية .مجلد(37) العدد(3)

الشيباني ،جواد عبد الكاظم كمال.(2005) .تاثير التسميد الكيميائي والعضوي الاحيائي (الفطري و البكتيري)في نمو و حاصل نبات الطماطة .اطروحة دكتوراه.كلية الزراعة.جامعة بغداد

الكسندر،مارتن.(1981).مقدمة لمكروبيولوجيا التربة.مترجم.الطبعة الاولى .دار جون وايلي واولادة.نيويورك.

البشير،عفراء يونس.(2003).التداخل بين المايكورايزا والازوتوبكتر والازوسبيرلم وتاثيره في نمو وحاصل الحنطة.اطروحة دكتوراه . كلية الزراعة .جامعة بغداد.

حافظ ، حمدية زاير علي .(2001) .التكامل في مكافحة مرض التعفن الفحمي على السمسم المتسبب عن الفطر *Macrophomina phaseolina* .رسالة ماجستير .كلية الزراعة .جامعة بغداد.

قاسم، عباس محمد ومضر عبد الستار علي (1989). علم احياء التربة المجهرية، مطبعة التعليم العالي في الموصل، جامعة الموصل.

Abd El-Gawad,A.M.and Zeinab,Tawfik, El-Sayed.(2006).Evaluation the response of Wheat to bio-Organic agriculture under Siwa Oasis conditions.Desert Research Center,El-Mataria,Cairo,Egypt.

Abd El-Gawad,A.M.;M.H.Hendawey and H.I.A. Farag.(2009).Interaction between biofertilization and canola genotypes in relation to some biochemical constituent under Siwa Oasis conditions.Research Journal of Agriculture and Biological Sciences,5(1):82:96.

Altomare, C.;W.A. Norvell.;T. Bjorjman. And G.E. Harman. (1999). Solubilization of phosphate and micronutrients by the plant growth promoting and biocontrol fungus Trichoderma harzianum. Rifai 1295-22. Appl. Eniveron. Microbiol 65: 2926-2933.

Anjum,Muhammad.Ashfaq.,Sajjad,Muhammad.Rafique.,Akhtar,Naseem.,Qureshi,Muhammad.Amjad.,Iqbal,Arshad.,Jami,Abdul Rehman.and Ul-Hasan,Mahmud.(2007).Response of cotton to plant growth promoting Rhizobacteria (PGPR) inoculation under different levels of nitrogen.J.Agric.Res.,45(2).

Arpana,J.and D.J. Bagyaraj.(2007).Response of Kalmegh to an Arbucular mycorrhizal fungus and plant growth promoting Rhizomicroorganism at two levels of phosphorus fertilizer.American-Eurasian J.Agric.and Environ.sci.,2(1):33-38.

Becking,J.H. (1981). The family Azotobacteraceae . In: Starr, M.P. (Ed): "The prokaryotes" Vol 1 . Springer-Verlag. Berlin. Heidelberg. New York. P. 795-817.

Bergey"S Manual,(2004). Systematic Bacteriology. Williams and Wilking.Baltimore. London .

Black, C. A. 1965. Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbilogical properties. Amer. Soc. Agron. Inc. Bublisher Madison, Wisconsin , U.S.A.

ISSN 2072-3875

Chandrasekar,B.R.;G.Ambrose.and N.Jayabalan.(2005).Influence of biofertilizers and nitrogen source level on the growth and yield of Echinochloa frumentacea(Roxb.)Link.Journal of Agricultural Technology,1(2):223-234.

Davet, p. (1979). Trichoderma. Population and Galiocladium virens colonization. Annphytopathol. 11: 529-533.

Espiritu, B.M.; Abaoag, A.O.; Biagtan, N.R.; Palacpac, N.Q. (1992). Microbial conversion of farm wastes into fertilizers. Philippines Univ., Los Banos, College, Laguna. National Innst. Of Biotechnology and Applied microbiology, P. 174.

Espiritu,Bayani.M.;B.Willacuer,Lovely. Ands. Pedro,Mannix.(2008). Utilization of dairy cattle manure – Rice hull compost using microbial inoculation.J.ISSAAS.,14(1):80-91.

Haggag,Wafaa.M.and Saber,M.S.M.(2000).Evaluation of three composts as multi-strain carriers for biofertilizer and biocontrol agents against Fusarium wilt disease of some legume plants.Arab J. biotech,3(2):133-144.

Harman, G.E. (2000). Myths and dogmas of biocontrol-plant Disease 84 (4): 377-393.

Jarak,Mirjana.;Rade,Protic.;Jankovic,Snezana.and,Colo,Jovan.(2006). Response of Wheat to Azotobacter- Actinomycetes inoculation and Nitrogen fertilizers. Romanian Agricultural Research,Number23.

Mohammadi,K.;A.Ghalavand.;M.Aghaalikhani.and M.Eskandari.(2009). Increasing Chickpea quality and agroecosystm sustainability using organic and natural resources.World Academy of Science Engineering and Technology.,57:572-579.

Mrkovacki,N.and V.Milic.(2001).Use of Azotobacter chroococcum as potentially useful in agricultural application.Annals of Microbiology,51:145-158.

Page, A.L.; R.H. Miller and D.R. Keeny. 1982. Methods of Soil analysis part (2) 2nd(ed). Agronomy 9 .Amer. Soc. Agron. Madison Wisconsin

Zirana, D.Z.;A. Apsite.; U.Viesturs.;A. Berzins.;,S.trikauska.;V. Steinberga.; G.Berzina.;A. Lisovska.and A.Tula. (1998). The use of microbiological preparations Trichodermin and Azotobacterin for the improvement of soil fertility as well as for the control of plant disease. Microbiology and Biotechnology (Latvia), 88: 8-25.

ISSN 2072-3875