

تأثير التداخل بين التلقيح بعزلات محلية من الازوتوباكتر و اضافة مبيد الرونستار
في أعداد البكتيريا في التربة ونمو نبات الشعير
محمد سعيد حران
علي سالم حسين
المعهد التقني/الشطرة – الجامعة التقنية الجنوبية
haran_mohammed@yahoo.com

المستخلص

تضمنت هذه الدراسة عزل وتشخيص بكتريا الـ *Azotobacter chroococcum* من (10) عينات من تربة الرايزوسفير لمحاصيل زراعية مختلفة ومن مناطق جغرافية مختلفة من محافظتي ذي قار وواسط ، وقد روعي ان تكون (5) من هذه العينات من الاماكن التي عوملت سابقا بالمبيدات الكيميائية المختلفة و(5) عينات اخرى من أماكن لم تعامل سابقا بالمبيدات الكيميائية. كما تضمنت الدراسة تقييم اضافة لقاحات من هذه العزلات البكتيرية كسماد حيوي في نمو الشعير.

أظهرت نتائج العزل والتشخيص الحصول على عشر عزلات بكتيرية تحمل صفات *A. chroococcum* وقد تم اختيار عزلتين تحملان الرمزتين المحليين (B4,B3) من تربة معاملة بالمبيدات الكيميائية وعزلتين تحملان الرمزتين المحليين (B10,B9) الماخوذة من تربة غير معاملة بالمبيدات الكيميائية كعزلات محلية لاستعمالها كسماد حيوي لاحقا في التجربة البايولوجية على أساس نشاطها وكفاءتها العالية في تثبيت النتروجين الجوي.

أظهرت النتائج ان ارتفاع النبات والوزن الجاف للمجموع الخضري والجذري لنباتات الشعير قد سجل اعلى قيم له عند التلقيح بالعزلات (B4,B3) مقارنة بالعزلات (B10,B9) التي اعطت اقل قيم للصفات المدروسة، أن زيادة تركيز المبيد من معاملة المقارنة (C0) الى التراكيز (1500, 3000, 6000) سم³. ه⁻¹ سبب انخفاضاً معنوياً في قيم الاوزان الجافة للمجموع الخضري حيث بلغت (36.84, 54.88, 61.65) % على التتابع ، اما الوزن الجاف للمجموع الجذري فقد بلغت نسبة الانخفاض (26.66, 41.33, 52.00) % لكل تركيز على التتابع . ان تأثير مبيد الرونستار في قيم اعداد الخلايا البكتيرية للازوتوباكتر كان معنوياً, كما أظهرت النتائج ان اعلى قيم للاعداد سجلتها العزلات (B4,B3) مقارنة بالعزلات (B10,B9) التي سجلت اقل قيم للاعداد.

المقدمة

أن رفع القدرة الانتاجية للحاصلات الزراعية كان ولايزال الهدف الاول للزراعة الحديثة في العالم لذا عرج مربوا النبات والبيئيون ومختصو التقنية الحياتية الى تكريس مشاريع بحوثهم لرفع

القدرة الانتاجية للمزروعات من خلال تقانات الازوتوباكتر في الزراعة التي تعتمد على اضافة لقاحات الى وسط نمو النبات تسهم في استدامة زراعة المحاصيل المختلفة من خلال المحافظة على التجمعات الاحيائية ، وان تطور استخدام المبيدات الكيميائية بشكل غير رشيد لمكافحة الادغال المختلفة ومنها في حقول الشعير اثر في التجمعات الاحيائية في مزارع الشعير(السامرائي, 2003 a, وفرج, 2012 و Milosevic and Govedarica, 2000).

ان الزيادة في استعمال المبيدات الكيميائية وبشكل غير مدروس ادى الى ظهور مشكلة التلوث البيئي (Michaelidon, et al, 2000) فضلا عما يرافقها من تاثيرات سلبية في تدهور الكتلة الاحيائية للتربة من خلال التأثير السام لها على تلك الاحياء المجهرية لذا فان استخدام المبيدات في التربة قد يؤثر سلبا في نشاط هذه الاحياء، وبالتالي من الضروري معرفة الاستخدام الامثل من هذه المركبات سواء من ناحية تراكيزها المؤثرة او طريقة ووقت اضافتها وهذا يمكن تحقيقه من خلال دراسة مدى حساسية الاحياء للمبيدات ودرجة تعرضها لها ودرجة نشاطها الحيوي (Milosevic and Govedarica, 2001).

ان الدراسات التي اجريت منذ زمن ليس بالقريب على بكتريا الازوتوباكتر اثبتت ان هذه البكتريا تزيد من نمو المحاصيل وانتاجيتها نتيجة تشجيعها لامتصاص العناصر المغذية من الترب وهي من المخصبات الحيوية واسعة الانتشار في مجال التسميد الحيوي وان نجاحها تحده عوامل مختلفة منها المبيدات المضافة ونوعها وتراكيزها ووقت وطريقة اضافتها، كما أنها حساسة بشكل كبير لاضافة مبيدات الادغال (Milosevic and Govedarica, 2000).

وبما أن مبيد الازوتوباكتر هو من مبيدات الادغال المستخدمة في حقول الشعير استخداما واسعا لمكافحة الادغال وان هذا الاستخدام قد يؤثر بشكل سلبي في عدد من الاحياء المجهرية ومنها بكتريا الازوتوباكتر لذا فان هذه الدراسة استهدفت معرفة تاثير التداخل بين اللقاح البكتيري لازوتوباكتر المعزولة محليا ومبيد الازوتوباكتر في أعداد خلايا هذه البكتريا والمجموع الخضري والجذري لنبات الشعير.

المواد وطرائق العمل

1- جمع عينات التربة :

اختيرت عينات الدراسة ضمن المواقع الجغرافية لمحافظة ذي قار وواسط إذ تم لهذا الغرض جمع (10) عينات من تربة الرايزوسفير من حقول مزرعة بمحاصيل مختلفة (الشعير والحنطة والرز والدخن). وقد روعي ان تكون (5) عينات تربة من هذه الاماكن سبق لها وان عوملت بالمبيدات الكيميائية ولعدة سنوات ، جمعت العينات من العمق (0 – 30) سم وتم

خلطها مع بعضها لتكوين عينة مركبة ووضعت بعد ذلك هذه النماذج في اكياس بلاستيكية نظيفة ومعقمة وحفظت في الثلاجة لحين استعمالها.

2- عزل وتنقية بكتريا *Azotobacter spp.* :

أخذ 1 مل من تخافيف التربة (10^{-1} الى 10^{-7}) المحضرة لتلقيح الوسط الغذائي السائل (sucrose mineral salts) في أنابيب الاختبار التي حضرت وعقمت مسبقا بالمؤصدة لمدة 20 دقيقة على درجة حرارة 121 م⁰ وضغط 15 باوند . أنج² , حضنت الانابيب على درجة حرارة 28 م⁰ ولمدة اسبوع لحين تكوين الغشاء الهلامي الرمادي اللون على سطح الوسط الغذائي داخل الانبوبة مع تغير في لون الوسط الغذائي السائل (sucrose mineral salts) او عكارتة والذي يعد مؤشرا اوليا لنمو بكتريا الازوتوباكتريا . اخذ 0.1 مل من النمو داخل الوسط الزراعي للانابيب التي اعطت مؤشرا موجبا للنمو ونشرت على سطح وسط زرع مصبوب في طبق بتري يحتوي الوسط الصلب (sucrose mineral salts) وحضنت الاطباق بصورة مقلوبة على درجة حرارة 28 م⁰ ولمدة (2-3) يوم . اختير عدد من المستعمرات المنفردة التي اعطت صفات زرعية مشابه لبكتريا *Azotobacter spp.* وتم اعادة زراعتها لفرض تنقيتها على نفس الوسط الزراعي كما روعي تنشيط العزلات باستعمال وسط الحفظ والادامة (Bashier ,2003) Slant.

3- تشخيص بكتريا *Azotobacter spp.* :

درست الصفات المجهرية والزرعية والكيموحيوية ومنها (النمو في 1% كلوريد الصوديوم (NaCl) والنمو في درجة حرارة 37 م⁰ والنمو في (0.1 %) فينول و النمو في وسط بيرك (Burks media) والنمو في الكليسيرول كمصدر وحيد للكربون واختبار استهلاك المصادر الكربونية المختلفة واختبار مقدرة العزلات على تثبيت النتروجين الجوي ووسط اختبار حركة البكتريا ووسط اختبار اختزال النترات) للعزلات بعد تصبيغها بملون كرام وذلك لدراسة شكلها وحجمها وطريقة تجمعها وتكوينها للغلاف (Microcyst) وقابليتها على الاصطباغ حسب ما جاء به (Black , 1965a) .

4- تحضير اللقاح البكتيري :

استعملت في تجربة الاصح أربعة عزلات لبكتريا الازوتوباكتريا تحمل الارقام والرموز المحلية (B10,B9,B4,B3) والمشخصة على انها *A.chroococcum* وذلك لكفاءتها العالية في تثبيت النتروجين الجوي، أذ نمت هذه العزلات البكتيرية في الوسط الزراعي السائل

(sucrose mineral salts) وذلك بوضع 100 مل من هذا الوسط في ورق مخروطي سعة 250 مل ولقح من مزرعة عمرها يوم واحد لهذه العزلات البكتيرية باستعمال الناقل المعقم وحضنت في الحاضنة الهزازة على درجة حرارة 28 م⁰ ولمدة (2-3) ايام. قدرت اعداد البكتريا لكل عزلة على حده بأستعمال طريقة التخافيف والعد بالاطباق حسب ما ذكره Black(1965a) وعدت هذه اللقاحات لعزلات الازوتوباكتر الاربعة تلك اسمدة حيوية لغرض استعمالها لاحقا في تجربة الزراعة بالاصص.

جدول (1) بعض الصفات الكيميائية والفيزيائية والحيوية للتربة المدرسة

القيمة	وحدة القياس	الصفة المقاسة
3.6	ديسيسيمنز . م ⁻¹	التوصيل الكهربائي
7.1		الاس الهيدروجين
19	سنتي مول . كغم ⁻¹	السعة التبادلية الكاتيونية
9.22	غم . كغم ⁻¹	المادة العضوية
38.4	ملغم . كغم ⁻¹	النتروجين الجاهز
6.44		الفسفور الجاهز
29.56	سنتي مول . كغم ⁻¹	البوتاسيوم الذائب
مفصولات التربة		
190	غم . كغم ⁻¹	الرمل
518		الغرين
292		الطين
مزيجة		النسجة
الأعداد الكلية للاحياء التربة CFU غم . تربة ⁻¹ جافة		
		البكتريا الكلية
		الفطريات الكلية
		بكتريا الازوتوباكتر

5- تجربة الأصص:

بههدف التحري عن تأثير التداخل بين التلقيح البكتيري لبكتريا الازوتوباكتر ومبيد الرونستار في اعداد بكتريا الازوتوباكتر وأرتفاع النبات والاوزان الجافة للمجموع الخضري والجذري لنباتات الشعير. نفذت تجربة الاصص العاملة في الظلة الخشبية وبأستخدام التصميم تام التعشية (CRD), نفذت التجربة باستخدام اربعة تراكيز من مبيد الرونستار هي (صفر) المقارنة (6000, 3000, 1500) سم³ ه⁻¹ والتلقيح بأربع عزلات من بكتريا الازوتوباكتر (B10,B9,B4,B3) بثلاث مكررات, أخذت تربة من مدينة الشطرة والمبينة صفاتها الكيميائية

والفيزيائية والحيوية في الجدول (1) وجففت هوائياً وطحنت ونخلت بمنخل قطر فتحاته 4 ملم ثم وضعت في الاصص بكمية 5 كغم. أصيص¹ على أساس الوزن الجاف. ثم خلطت الطبقة السطحية من التربة مع الاسمدة الكيميائية بالكمية الموصى بها محسوبة على أساس وزن الاصيص من سماد اليوريا 320 كغم. هـ¹ و 100 كغم. هـ¹ وسماد سوبر فوسفات الثلاثي وسماد كبريتات البوتاسيوم 120 كغم. هـ¹. عقت بذور الشعير الصنف المحلي باستعمال 2% كلوريد الزئبق (HgCl₂) والكحول الايثيلي بتركيز (95%) ولقحت البذور المعقمة باللقاحات البكتيرية للازوتوباكتر بشكل منفرد لكل عزلة وذلك بتحضير 100 مل من المزرعة السائلة لكل عزلة من بكتريا *A. chroococcum* وتحت ظروف التعقيم اذ نقعت البذور في اللقاح لمدة نصف ساعة مع اضافة الصمغ العربي بنسبة 10% لضمان التصاق اللقاح بالبذور وحسب (حسين, 2013 و المنصور, 2009).

تم الحفاظ على رطوبة التربة في الاصص الى حدود 2/3 من السعة الحقلية و عوض الفقد في الرطوبة على اساس الوزن ، وخفت النباتات بعد أسبوع من موعد الانبات الى (4) بادرات. أصيص¹. قطعت النباتات من سطح التربة لكل اصيص بعد مرور (60) يوماً من الزراعة وجفف المجموع الخضري في فرن كهربائي على درجة حرارة (65) م⁰ لمدة (48) ساعة وحتى ثبوت الوزن . ثم حفظت الجذور مع التربة الملاصقة لغرض إجراء التقديرات المايكروبيولوجية ، كما تم أستحصال المجموع الجذري وغسله وتجفيفه للحصول على الوزن الجاف له.

6- القياسات المدروسة :

- 1- ارتفاع النبات
- 2- الوزن الجاف للمجموع الخضري .
- 3- الوزن الجاف للمجموع الجذري .
- 4- تقدير أعداد بكتيريا الازوتوباكتر في التربة بطريقة التخفيف وحسب (Black , 1965a).

النتائج والمناقشة

1- عزل وتشخيص بكتريا *Azotobacter spp*

تظهر نتائج الجدول (2) بعض الصفات الزرعية والمجهرية للمستعمرات النامية على الوسط الصلب (sucrose mineral salts) أذ تميزت بكونها غير شفافة ولزجة ولماعة وناعمة ومحدبة ومرتفعة ومتوسطة الى كبيرة الحجم ، كما تميزت خلايا هذا الجنس بكونها متعدد الاشكال بين عصوية الى بيضوية الشكل، متحركة وسالبة لملون كرام وغير مكون للسبورات (فرج, 2012 و Bashier, 2003) ومن خلال دراسة الصفات الزرعية

والمجهرية لهذه العزلات وأعتقادا على المراجع العلمية فقد وجد ان عشرة عزلات تحمل الصفات الزرعية والمجهرية لجنس الازوتوباكتر(السالم,2003 و Bashier ,2003, والسامرائي,2002).

جدول (2) الصفات الزرعية والمجهرية لعزلات بكتريا *Azotobacter spp.*

الصفات المورفولوجية							رقم العزلات
انتاج الصبغات	كثافة النمو البكتيري	قوام المستعمرة	الشفافية	حجم المستعمرة	شكل سطح المستعمرة	ارتفاع المستعمرة	
بنية غامقة	++	لزجة	معتمة	متوسطة	ناعم	قبية	B1
بنية فاتحة	+	لزجة	لماعة	متوسطة	=	قبية	B2
بني فاتحة	+++	لزجة	معتمة	كبيرة	=	محدبة	B3
بنية غامقة	+++	لزجة	معتمة	كبيرة	=	محدبة	B4
ضبابية	++	هشة	شفافة	متوسطة	=	محدبة	B5
بنية غامقة	+	لزجة	معتمة	كبيرة	=	محدبة	B6
بنية غامقة	+	لزجة	معتمة	كبيرة	=	قبية	B7
بنية غامقة	++	لزجة	معتمة	كبيرة	=	محدبة	B8
بنية غامقة	+++	لزجة	معتمة	كبيرة	=	محدبة	B9
بنية غامقة	+++	لزجة	معتمة	متوسطة	=	قبية	B10

جدول(3)الصفات الكيموحيوية لعزلات بكتريا *Azotobacter spp.*

الصفات الكيمائية الحياتية للعزلات						وسط بيرك	كمية N2 المثبتة %N	رقم العزلة
37 م ⁰	NaCl %1	تحلل النشا	رامينوز	سكروز	مانيتول			
++	++	+	-	+++	+++	-	0.05	B1
+	+	+	-	+++	++	-	0.05	B2
++	+++	++	-	++	+++	-	0.08	B3
+++	+++	++	-	++	+++	-	0.09	B4
+	+	-	+	+	+	+++	0.06	B5
++	++	++	-	++	++	-	0.06	B6
+	+	++	-	++	+++	-	0.06	B7
+	+	+	-	+++	++	-	0.07	B8
++	+++	++	-	+++	+++	-	0.09	B9
++	++	++	-	+++	++	-	0.08	B10

- لا يوجد نمو + نمو ضعيف ++ نمو متوسط +++ نمو جيد

2-تشخيص الانواع التابعة لجنس *Azotobacter spp* واختيار العزلات الكفوءة لتثبيت النتروجين .

يوضح الجدول (3) بعض الصفات الكيموحيوية المستعملة لتفريق بين الانواع التابعة لجنس الازوتوباكتر والواردة في(Holt et al ,1994 و Zaid ,et al,2007) ومن خلال

دراسة بعض الصفات الكيموحيوية ظهر انها قادرة على تحليل النشأ واستهلاك سكري السكروز والمالتوز في حين لم تستطع تأييض سكر الرامينوز بأستثناء عزلة واحدة, كما انها استطاعت النمو في محلول كلوريد الصوديوم 1% والنمو في درجة حرارة 37 درجة مئوية وبناءا على مجمل الصفات الكيموحيوية فقد ظهر ان هذه العزلات تحمل صفات بكتريا *A.chroococcum*. وان هذه النتائج تتفق مع ما ذكره (Bashier, 2003) من ان *A.chroococcum* هو اكثر الانواع شيوعا في الترب العراقية. كما بين الجدول (3) قيم تثبيت النتروجين للعزلات في وسط المانتول الخال من النتروجين حيث اعطت العزلات (B10,B9,B4,B3) اعلى قيمة لتثبيت النتروجين وعلى هذا الاساس تم انتخابها كمخصبات حيوية في التجربة.

جدول (4) يبين ارقام ورموز عزلات بكتريا *Azotobacter spp.* ومناطق جمعها واعداد خلاياها

رقم العزلة	رمز العزلة	منطقة الجمع	اعداد الخلايا CFU غم تربة ¹ جافة
1	B1	الغموكة - ذرة صفراء	$4.9 * 10^6$
2	B2	البدعة - خيار	$3.6 * 10^6$
3	B3	البدعة- رز	$5.9 * 10^6$
4	B4	بني زيد - ذرة صفراء	$6.3 * 10^6$
5	B5	الحي - ذرة صفراء	$5.5 * 10^5$
6	B6	الحي - حنطة	$4.3 * 10^7$
7	B7	الكوت - زهرة الشمس	$1.9 * 10^7$
8	B8	الكوت - شعير	$2.8 * 10^7$
9	B9	الغموكة - رز	$8.5 * 10^7$
10	B10	الكوت - حنطة	$8.3 * 10^7$

3- تقدير اعداد الخلايا البكتيرية لعزلات *Azotobacter spp*

يوضح الجدول (4) ارقام عزلات بكتريا الازوتوباكتر ومناطق جمعها واعداد خلاياها . كما يتضح من الجدول وجود بكتريا *Azotobacter spp.* في جميع نماذج التربة وبكثافات نمو مختلفة وتباينت قيم اعداد خلايا البكتريا باختلاف المناطق الجغرافية, كما نلاحظ أن اعلى قيم لاعداد الخلايا البكتيرية سجلت للعزلات (B10,B9) الماخوذة من منطقة الرايزوسفير لمنطقتي الغموكة- رز والكوت- حنطة على التتابع والتي كانت غير معاملة بالمبيدات اذ بلغت قيم اعدادها ($8.5 * 10^7$) و ($8.3 * 10^7$) لكل عزلة على التتابع في حين

انخفضت اعداد العزلات المأخوذة من منطقة الرايزوسفير المعاملة بالمبيدات الكيميائية وسجلت اقل القيم. وقد يعزى السبب في ذلك الى اختلاف الظروف البيئية والمناخية ونوع التربة ونوع الغطاء النباتي السائد وطبيعة الكتلة الحيوية السائدة في المنطقة (Salih,2013 وThaher,2014 وZaied ,et al,2007).

4- ارتفاع النباتات :

يوضح الجدول (5) تأثير التداخل بين مبيد الرونستار والتلقيح البكتيري في ارتفاع نبات الشعير إذ وجد أن عدم اضافة مبيد الرونستار (معاملة المقارنة) أدى الى ارتفاع النباتات حيث سجل اعلى قيمة له عند التلقيح بالعزلات (B4, B3) اذ بلغت القيم (51.46, 50.66) سم. نبات¹⁻ على التتابع، وان اقل قيم لارتفاع النباتات سجل عند التلقيح بالعزلات (B10, B9) اذ بلغت القيم (47.99, 47.45) سم. نبات¹⁻ على التتابع في التربة الخالية من اضافة مبيد الرونستار.

جدول (5) تأثير التداخل بين التلقيح البكتيري وأضافة مبيد الرونستار في ارتفاع نبات الشعير(سم)

المعدل	التركيز(مل . هـ ¹⁻)				رقم العزله
	6000	3000	1500	0	
	C3	C2	C1	C0	
48.82	47.32	48.00	49.30	50.66	B3
48.69	47.06	47.46	48.79	51.46	B4
37.15	27.46	31.99	41.73	47.45	B9
36.96	26.66	31.06	42.13	47.99	B10
	37.12	39.62	45.48	49.39	المعدل
	1.89			B	LSD (0.05)
	1.23			C	
	3.81			A X C	

كما ان زيادة تركيز المبيد أثر معنويا في قيم ارتفاع النباتات وقد تباينت قيم ارتفاع النباتات مع اختلاف العزلات المستخدمة في التلقيح حيث سجلت اعلى قيم لها عند التلقيح بالعزلات (B4, B3) اذ بلغت قيم ارتفاع النباتات عند التركيز (6000, 3000, 1500) سم³. هـ¹⁻ للعزلات أعلاه الى (49.30, 48.00, 47.32)(48.79, 47.46, 47.06) سم.

نبات¹ للتركيز الثلاثة على التتابع. في حين نجد ان التلقيح بالعزلات (B10, B9) سجلت اقل قيم لارتفاع النباتات عند نفس التركيز للمبيد اذ بلغت القيم (27.46, 31.99, 41.73) و (26.66, 31.06, 42.13) سم. نبات¹ للتركيز على التتابع .

يتضح من خلال هذه النتائج أن زيادة تركيز المبيد من معاملة المقارنة (C0) الى التركيز (6000, 3000, 1500) سم³. هـ¹ سبب انخفاضاً معنوياً في قيم ارتفاع النبات وقد بلغت نسبة الانخفاض عند التركيز (1500) سم³. هـ¹ الى (7.91 %) كما بلغت نسبة الانخفاض عند التركيز (3000) سم³. هـ¹ الى (19.78 %) اما نسبة الانخفاض للتركيز (6000) سم³. هـ¹ فقد بلغت (24.84 %) مقارنة بمعاملة عدم اضافة المبيد, وقد يعزى هذا الانخفاض الى الاثر السام الذي سببه المبيد مما ادى الى احتراق وضعف نمو النبات (Dalla Santa, et., al, 2008 و Aziz, 2011 و عمران, 2006).

5- الوزن الجاف للمجموع الخضري :

يوضح الجدول (6) تاثير التداخل بين التلقيح البكتيري ومبيد الرونستار بعزلات محلية مختلفة من بكتريا *chroococcum* A. (B10, B9, B4, B3) في معدل الوزن الجاف لمجموع الخضري لنبات الشعير, حيث سجل الوزن الجاف للمجموع الخضري اعلى قيمة له عند التلقيح بالعزلة B3 اذ بلغت القيمة (1.60) غم. نبات¹ وان اقل قيمة للوزن الجاف كان عند استخدام العزلة B10 اذ بلغت (1.20) غم. نبات¹.

كما ان زيادة تركيز المبيد من (C0) الى التركيز (6000, 3000, 1500) سم³. هـ¹ أثر معنوياً في قيم الاوزان الجافة للمجموع الخضري حيث سجلت اعلى قيم لها عند التلقيح بالعزلات (B4, B3) اذ بلغت (1.06, 0.97, 0.93) و (0.97, 0.93, 0.84) غم. نبات¹ للتركيز الثلاثة وللعزلات أعلاه على التتابع. في حين سجلت العزلات (B10, B9) اقل قيم للاوزان الجافة عند نفس التركيز.

أدت زيادة تركيز المبيد من (C0) الى التركيز (6000, 3000, 1500) سم³. هـ¹ انخفاضاً معنوياً في قيم الاوزان الجافة بالرغم من وجود التلقيح البكتيري وقد بلغت نسبة الانخفاض عند التركيز (1500) سم³. هـ¹ الى (36.84 %) اما نسبة الانخفاض للتركيز (3000) سم³. هـ¹ بلغ (54.88 %) في حين بلغت الانخفاض للتركيز (6000) سم³. هـ¹ بحدود (61.65 %) مقارنة بمعاملة عدم اضافة المبيد .

وقد يعود سبب هذا الانخفاض الى ان معظم مبيدات الادغال تقوم باختزال كميات كبيرة من مركب (ATP) مؤدياً الى خفض كمية الطاقة في النبات فضلاً عن ذلك فان بعض

المبيدات تلعب دورا مهما في التأثير على العديد من الانزيمات في الخلية النباتية (Milosevic and Govedarico, 2000 و Imran, 2013 و Haran, 2012) كما ان بكتريا الازوتوباكتر اكثر حساسية لمبيدات الادغال المضافة واصافتها بكميات عالية تؤدي الى قتل احياء التربة.

من خلال هذه النتائج نلاحظ ان اضافة الاسمدة الحيوية البكتيرية لـ *A.chroococcum* قد أعطت قيما للوزن الجاف لمجموع الخضري عند عدم اضافة المبيد الكيماوي اعلى من قيمها عند المعاملة مع المبيد، وهذا يشير الى اهمية المخصبات الحيوية البكتيرية لـ *A.chroococcum* في زيادة نمو النبات ومن دون استعمال المبيدات الكيماوية .

جدول (6) تاثير التداخل بين عزلات الازوتوباكتر ومبيد الرونستار في الوزن الجاف لمجموع الخضري لنبات الشعير (غم. نبات⁻¹)

المعدل	التركيز (مل . هـ ⁻¹)				رقم العزله
	6000	3000	1500	0	
	C3	C2	C1	C0	
1.14	0.93	0.97	1.06	1.60	B3
1.02	0.84	0.93	0.97	1.33	B4
0.62	0.14	0.30	0.84	1.21	B9
0.51	0.13	0.20	0.50	1.20	B10
	0.51	0.60	0.84	1.33	المعدل
	0.28		B		LSD (0.05)
	0.20		C		
	0.46		A X C		

6- الوزن الجاف للمجموع الجذري :

يوضح الجدول (7) تاثير التداخل بين التلقيح البكتيري ومبيد الرونستار في معدل الوزن الجاف للمجموع الجذري لنبات الشعير. حيث أن الوزن الجاف للمجموع الجذري عند عدم اضافة المبيد سجل اعلى قيمة له عند التلقيح بالعزلات (B4, B3) اذ بلغت القيم (0.84, 0.80) غم . نبات⁻¹ على التتابع مقارنة بالعزلات (B10, B9) التي بلغت (0.66, 0.70) غم. نبات⁻¹ على التتابع. كما أن رفع تركيز المبيد من المعاملة من اضافة المبيد (C0) الى التراكيز (1500, 3000, 6000) سم³ . هـ⁻¹ اثر معنويا في قيم الاوزان الجافة للمجموع

الجزري بأختلاف العزلات أذ سجلت اعلى قيمة لها عند التلقيح بالعزلات (B4, B3) مع التراكيز (6000, 3000, 1500) سم³ هـ⁻¹ أذ بلغت (0.61, 0.70, 0.66) (0.61, 0.74), 0.57) غم . نبات¹ للعزلات الثلاث على التتابع. اما العزلات (B10, B9) فقد سجلت اقل قيما للاوزان الجافة حيث بلغت القيم (0.17, 0.30, 0.51) (0.11, 0.14, 0.30) غم . نبات¹ للعزلات أعلاه على التتابع .

أن زيادة تركيز المبيد من معاملة المقارنة الى التراكيز (6000, 3000, 1500) سم³ هـ⁻¹ أدى الى انخفاض معنوي في قيم الاوزان الجافة للمجموع الجزري أذ بلغت نسبة الانخفاض للتركيز (1500) سم³ هـ⁻¹ بحدود (26.66%) اما نسبة الانخفاض عند التركيز (3000) سم³ هـ⁻¹ بلغت (41.33%) في حين كانت نسبة الانخفاض للتركيز (6000) سم³ هـ⁻¹ بلغت بحدود (52.00%) مقارنة بمعاملة المقارنة .

جدول (7) تأثير التداخل مابين بكتريا الازوتوباكتر ومبيد الرونستار في الوزن الجاف للمجموع الجزري لنبات الشعير (غم.نبات¹)

المعدل	التركيز (مل . هـ ⁻¹)				رقم العزله
	6000	3000	1500	0	
	C3	C2	C1	C0	
0.70	0.61	0.70	0.66	0.84	B3
0.68	0.57	0.61	0.74	0.80	B4
0.41	0.17	0.30	0.51	0.66	B9
0.31	0.11	0.14	0.30	0.70	B10
	0.36	0.44	0.55	0.75	المعدل
	0.08		B		LSD (0.05)
	0.07		C		
	0.16		A X C		

ومن هذه النتائج نستنتج ان التلقيح بالاسمدة الحيوية البكتيرية لـ *A.chroococcum* اعطت قيما للوزن الجاف اعلى من قيمها عند المعاملة مع المبيد . كذلك نلاحظ بان اضافة المخصبات الحيوية لعزلات الازوتوباكتر (B4, B3) مع معاملتها بالمبيد أعطت انخفاضا غير معنويا في معدل الاوزان الجافة للمجموع الجزري لنباتات الشعير مقارنة مع معاملة عدم اضافة المبيد ، في حين ابدت المخصبات الحيوية لعزلات الازوتوباكتر (B10, B9)

انخفاضاً معنوياً في معدل الأوزان الجافة للمجموع الجذري عند معاملتها بالمبيد مقارنة مع معاملة عدم إضافة المبيد . وهذا يتفق مع ما أشار إليه (Suneia & Lakshminarayana, 2000, و Zaid, et al, 2007) إلى أن التداخل ما بين النباتات والاحياء المجهرية يعطي نتائج ايجابية من خلال افرازها لعدد من منظمات النمو او الفيتامينات او الاحماض الامينية والتي تؤثر في الموازنة الهرمونية في النبات وفي اداء وظيفة هذه الهرمونات والتي تحسن من نمو المجموع الجذري ومن ثم تحسن الحالة التغذوية للنبات.

7- تأثير التداخل ما بين بكتريا *A.chroococcum* ومبيد الرونستار في اعداد خلايا الازوتوباكتر بالتربة (وحدة تكوين مستعمرة.غم⁻¹) :

يوضح الجدول (8) ان زيادة تركيز المبيد من (C0) الى (6000, 3000, 1500)سم³.هـ⁻¹ أثر معنوياً في اعداد الخلايا البكتيرية وقد تبينت قيم الاعداد مع اختلاف العزلات حيث سجلت اعلى قيمة لها عند استخدام العزلات (B4, B3) اذ سجلت الاعداد عند التراكيز (6000, 3000, 1500) سم³.هـ⁻¹ الى (9.7, 8.5, 7.1) و (9.6, 7.9, 6.7) * 10² CFU للعزلات أعلاه على التتابع ، اما استخدام العزلات (B10, B9) فقد سجلت اقل قيمة" للاعداد عند التراكيز (6000, 3000, 1500) سم³.هـ⁻¹ اذ بلغت (9.2, 4.9, 3.2) * 10² CFU على التتابع.

جدول (8) تأثير مبيد الرونستار في اعداد بكتريا الازوتوباكتر CFU.g Soil⁻¹

المعدل	التركيز(مل . هـ ⁻¹)				رقم العزله
	6000	3000	1500	0	
	C3	C2	C1	C0	
9.5	7.1	8.5	9.7	12.5	B3
8.9	6.7	7.9	9.6	11.2	B4
6.9	3.2	4.9	9.2	10.4	B9
5.1	0	2.1	9.1	9.2	B10
	4.3	5.8	9.4	10.8	المعدل
	2.37			B	LSD (0.05)
	2.09			C	
	3.82			A X C	

كما أن زيادة تراكيز المبيد وبغض النظر عن نوع العزلة سبب انخفاضاً "معنوياً" في قيم الأعداد للخلايا البكتيرية وقد بلغت نسبة الانخفاض عند التراكيز (1500, 3000, 6000) سم³ هـ⁻¹ بحدود (12.96-46.29-60.18) % للتراكيز اعلاه على التتابع. أذ اشار (Milosevic and Govedarico, 2001 و Haran, 2012) الى ان بكتريا الازوتوباكتر ليس لها وجود في جنور فول الصويا بعد (28) يوماً من اضافة مبيد الادغال (prometryne) للتربة. ومن النتائج اعلاه نلاحظ تباين العزلات البكتيرية في مقاومتها واستجابتها لمبيد الازوتوباكتر اذ ابدت العزلات (B4, B3) انخفاض غير معنوي في اعداد الخلايا في حين ابدت العزلات (B10, B9) انخفاض معنوي في اعداد الخلايا. وهذا يعني ان معدل تحلل مبيد الازوتوباكتر اعتمد على العزلات المستعملة في التلقيح وهذا ما أكدته (Michaelidon, et al, 2000) بأن معدل تحلل مبيدات الازغال يعتمد على عزلات المستخدمة بالتلقيح وهذا يعطي مؤشراً على اهمية اضافة المخصبات الحيوية البكتيرية لتحليل المبيدات.

المصادر

المنصور, كاظمية جواد عبدالله (2009) تأثير التلقيح بعزلات محلية من بكتريا الازوسبيرلم في نمو وإنتاج الشعير في محافظة البصرة, رسالة ماجستير, كلية الزراعة, جامعة البصرة.
حسين, أسماء سليم (2013). تأثير التسميد الحيوي (الازوتوباكتر) والعضوي والمعدني في نمو وحاصل حنطة الخبز ومحتواها من المغذيات, أطروحة دكتوراه, كلية الزراعة, جامعة بغداد.
السالم, هتاف عبد الملك احمد (2003). تلقيح نبات الشعير ببكتريا الازوسبيرلم واستجابتها لإضافة الحديد والمولبيدوم. أطروحة دكتوراه, كلية الزراعة. جامعة بغداد
السامرائي, اسماعيل خليل (2003a). التأثير المتداخل لفطر المايكورايزا وبكتريا الازوتوباكتر في زيادة حاصل الحنطة. مجلة العلوم الزراعية. مجلد (34). عدد (4). 2003.
السامرائي, اسماعيل خليل (2002). دور الاسمدة الحيوية في معالجة نقص الحديد في نبات الحنطة. مجلة الزراعة العراقية. مجلد (8). عدد (2). 2002.
عمران, رشاد عادل (2006) تأثير رطوبة التربة و مستوى وطريقة إضافة الفسفور في بعض خصائص التربة ونمو وإنتاجية الشعير, رسالة ماجستير, كلية الزراعة, جامعة البصرة.
فرج, حسين عرنوص (2012). التأثير المتداخل بين عزلات محلية من بكتريا *Azotobacter chroococcum* والفطر *Trichoderma* في تثبيت النتروجين وجاهزية بعض المغذيات لنبات الشعير, أطروحة دكتوراه, كلية الزراعة, جامعة بغداد.

- Aziz, N.Y.(2011) Effect of some environmental factors on survival and growth of local cyanobacterial isolates and its usability to inoculate (*Hordeum vulgar L.*). Thesis Dr,the College of Agriculture ,University of Basra.
- Bashier , Afraa Younis (2003)Interaction Between *Mycorrhiza* and *Azotobacter* , *Azospirillum* Bacteria and its Effect on Growth and Yield of Wheat, Thesis Dr,the College of Agriculture ,University of Baghdad.
- Black,C.A.(1965a). Methods of soil analysis. Part2. chemical and microbiological properties. Am. Soc. Agron , Inc. Madison , Wisconsin , USA.
- Dalla Santa , O.R., Hernandez, R.F. , Michelena Alvarez, G.L., Junior, P.R. and Soccol, C.R. (2008). *Azospirillum SP.* Inoculation in wheat , barley and Oats Seeds green house experiments . J. Praz . Arch. Biol . Technol. Vol.47 No.6: 15
- Haran,M.S.(2012)Response of plant *Zea mays L.* To Interaction Between *Mycorrhiza* and *Azospirillum* and its Effect on Growth and produced the plant from (NPK). J. of Agri .Tha Qar, 2(4):110-125.
- Holt , J. ; Krieg , N.R. sneath , P.K.A. ; staley , J.T. and Williams , S.T. (1994). Bergey's manual determinative bacteriology. 9th Ed. Williams and Wilkins , U.S.A.
- Imran.R.A.(2013) Effect of Soil Moisture and depth on some soil physical properties and Growth and yield of Barley (*Hordeum vulgar L.*), J. of Agri . Basra, 2(1):124-138.
- Michaelidon , st. c; Piera , P. and Nicolaou ,s.A. (2000) . Evalution of combination toxic effects and genotoxicity of pesticides for environmental protect and sustaiabitiy , proceeding of the stEuropean conherence on pesticides and related organic micropollutants in the environment (T.Albanis ed) Ioannina , Greece , 49 – 52.
- Milosevic , N. and Govedarica , M. (2000) : Effect of some herbicides on microbial properties of soil. Proceedings of the 1st European conferences

on pesticides and related organic micropollutants in the environment (T. Albanis ed.) , ioannina , Greece , 61-62.

Milosevic , N. and Govedarica , M. (2001) : Uticaj prometrina na mikrobioloska svojstva zemljista pad sojom isuncokretom. Vjugoslovensko savetoranje ozastiti bilja. 3-7.12.2001 , Zlatibar.

Salih,M.S.(2013). Screening for barley Varieties and its efficiency some Micrinutrients and its Adaptation nder Alcareous soil coditions. Thesis Dr,the College of Agriculture ,University of Mosul.

Suneia , S. and Lakshminarayana , K (2000). Siderophore production by *Azotobacter* "Azotobacter in sustainable agriculture" ed. By Neeru. C.B.C. New delhi , India.

Thaher, A.T. (2014) Use of Azospirillum irakense as bio fertilizer for sorghum (*Hordeum vulgar L.*). J. of Agri . Basra, 2(1):139-148.

Zaied , K.A., Abd El. Hady , A.H., Sharif , A.E., Ashour, E.H. and Nassef M.A, (2007) . Effect of Horizontal DNA Transfer in *Azospirillum* and *Azotobacter* strains on Biological and Biochemical Traits of Non – Legume Plants .J. Applied sciences Research , 3(1): 73 – 86.

The Interaction Effect between Inoculation with local Azotobacter Isolates and Ristrat application on the Numbers of bacteria in soil and growth of Barley

Mohammed Saeed Haran Ali Salem Hussein

AL–Shatrah Technical Institute — South Technical University

Abstract

The study was conducted to isolate *Azotobacter chroococcum* from ten rhizospher soil from different crops from Dhi Qar and was it province, five samples were collected from soil which were treated previously with pesticides and other five samples were collected from soil not treated with pesticides in order to use these Azotobacter isolates as biofertilizer and study it is effect on the growth of barley.

The results showed that the plant height and shoot & Root dry weight were increased due to inoculation with Azotobacter and the highest value were recorded with isolates B3 and B4 in compare with B9 and B10 isolates which gave the lowest value.

The increase of Ristart concentration from zero to 1500,3000 and 6000 $\text{cm}^3.\text{ha}^{-1}$ were caused significantly decreasing in shoot dry weight to (61.65,54.88 and 36.84)% respectively while the root dry weight were decreased to (52.00,41.33 and 26.66)% for three above concentrations.

The Ristart pesticide caused significantly decrease the Azotobacter numbers after 60 days of planting and the height density were recorded with the isolates B3 and B4 isolates compare with B19 & B10 isolates which gave the lowest numbers.