بسم الله الرحمن الرحيم

وَيَسْأَلُونَكَ عَنِ الرُّوحِ ۖ قُلِ الرُّوحُ مِنْ أَمْرِ رَبِّي وَمَا أُوتِيتُم مِّنَ الْعِلْمِ إِلَّا قَلِيلًا

الآية (٨٥)

صدق الله العلي العظيم

المقدمة

الخيار ***cucumis Sativus Cucumber (l.s)***

رغم قيمته الغذائية الواطئة فان الاقبال علية شديد من قبل المستهلكين للاستخدامات المتعددة في الغذاء كعمل السلطات والمخللات وبعض الاطعمة المميزة للمستهلك العراقي (فاضل المحمدي 1991).

يلعب الزنك دورا مهما في انتاج وتكوين حبوب اللقاح وكذلك يلعب دور في فعالية الانزيمات وله اثر في اغلب صفات النمو المدروسة (طول النبات وطول الورقة ووزن الثمرة والحاصل الكلي)

لاحظ AL-Rubye و Abd Atia (1999) في دراسة حول تأثير التغذية الورقية بالزنك وبأربعة مستويات 0,25,50,75 مل على نبات قرع الكوسا الى ان التركيز 25 مل اثر معنوي في حاصل النبات الواحد والحاصل الكلي وبمتوسط بلغ مقداره 1.21 كغم نبات $^{-1}$ و23.07 طن متري هذا على التوالي .

يعد النتروجين من اهم العناصر الغذائية المحددة لإنتاج المحاصيل الزراعية اذ يدخل في تركيب الحوامض النووية مثل DNA وRNA ومختلف الانزيمات ومرافقاتها والمادة الخضراء وسايتو كرومات التنفس ويشترك في جميع التفاعلات المرتبطة بالبروتوبلازم والتفاعلات الانزيمية والتركيب الضوئي (حسن وأضروه 1990) وعلى الرغم من تواجده بنسبة تصل الى 78% من غازات الغلاف الجوي الا ان النباتات الراقية لا تستفيد منة الابعد تثبيته بواسطة الاحياء المجهرية بدائية النواة l (*Procaryotes*) (Tisadal واخرون 1993)

التي تمتلك انزيم النتروجين الذي يعمل على اختزال النتروجين الجوي وتحويلة الى امونيا وهو ما يطلق علية بالتسميد الحيوي .

ان التسميد الحيوي يعبر عن كل المصادر العضوية والتي تحلل من قبل احياء التربة المجهرية بحيث يستطيع النبات امتصاصها والاستفادة منها (sulim pour واخرون 2010) .

وكما بين (NIIR,2007) ان الاسمدة الحيوية ةي اسمدة طبيعية تشتمل على لقاحات ميكروبية *Microbialinoculants* للبكتريا والطحالب والفطريات منفردة او مجتمعة تعمل على زيادة جاةزية المغذيات في النبات ومنها النتروجين وبمالة من اةمية لذلك اخذ الاهتمام بتزايد للاستفادة من قدرة بعض الاحياء المجةرية لتثبيت النتروجين الجوي لتجهيز جزء من المتطلبات السمادية اذا اشار العديد من الباحثين ان استعمال البكتريا Azospirillum الجوي

اللاتعايشية يقلل من كمية الاسمدة النيتروجينية الكيميائية المضافة بمعدل 50% قياسا بعدم استخدام تلك اللقاحات (Galal واخرون 2001) .

يعد فطر الترايكوديرما *Trichoderma* من الفطريات الرمية التي تستخدم كمبيد حيوي وذلك من خلال بعض الانزيمات الايضية والتي تكسب العائل النباتي المقاومة لبعض المسببات المرضية في التربة كما من مكونات الرايزوسفير الذي يتكاثر قفية مما يعزز نمو النبات من خلال دورها في دورات العناصر ومنها النتروجين الفسفور الكبريت .

وجد (Altomare واخرون 1997) ان فطر *Trichoderma* لها القابلية على تحسين كفاءة امتصاص النتروجين من قبل بعض النباتات وتؤدي دور مهم في ذوبان العناصر الصغرى مثل الحديد و المنغنيز و الزنك والنحاس في الظروف غير الحامضية .

تهدف الدراسة الى :

1. عزل وتشخيص الانواع التابعة لبكتريا الاوزوسبيرليم وقياس مقدرة العزلات لتثبيت النتروجين الجوي مقاسا بجهاز micro Gld hal

2. دراسة تاثير تداخل الثلاثي (الازوسبيرليم ,ترايكوديرما, رش ورقي) والثنائي والمفرد على نمو وحاصل الخيار .

3. دراسة تأثير مستويات مختلفة من الزنك على نمو وحاصل الخيار.

مراجعة المصادر

الاسمدة الحيوية وبكتريا *Azospirillum.ssp* ذكر (siripin 2000) ان الاسمدة الحيوية هي عبارة عن استخدام البكتريا الحية كسماد وتضاف بشكل لقاح الى وسط نمو النبات وتزيد من جاةزية العناصر الغذائية فضلا عن دورها في افراز بعض الانزيمات ومنظمات النمو الهرمونات النباتية وأهميتها في النبات الى جانب أهميتها في تحليل المخلفات العضوية وان التلقيح الحيوي يعطي حماية للنباتات من تأثير قيم Sodium Adscription Ratio (SAR) العالية ويزيد مقاومتها وقد ايد ذلك (Solano واخرون 2008) كما اثبت (Yadav 2011 واخرون) ان استخدام التلقيح بالبكتريا الجوي *Azospirillum.ssp* له دور في خفض معدل التسميد النتروجيني في النباتات الى 50% قياسا بعدم التلقيح تحت الظروف الحقلية

لاحظ (Tran 2001 واخرون) ان استخدام السماد الحيوي قد ادى الى خفض التوصية السمادية من 100 كغم من N هكتار$^{-1}$ الى 60 كغم N ةكتار$^{-1}$ واضاف انه لابد من اضافة تكميلية لعملية التسميد الكيميائي لان الجرعة الاولى من الاسمدة الكيمياوية قد يكون لها الدور الفعال في المراحل الاولى من نمو النبات وتحفيزه ثم يأتي دور اللقاحات الميكروبية في امداد النبات بالعنصر الغذائي المطلوب أي ان اللقاحات الميكروبية لها دور تكميلي لإضافة الاسمدة الكيميائية من اجل زيادة الانتاج الزراعي من خلال الفعاليات التالية :

1. انتاج بعض الايضيات (*Metabolites*) من هذه الكائنات الحية الدقيقة والتي تكون مصدرا لعناصر معدنية الازمة لنمو النبات

2. تعمل ةذة الكائنات على زيادة جاهزية العناصر الغذائية الموجودة في التربة

3. انتاج هرمونات النمو النباتية

4. انتاج الانزيمات

5. زيادة قدرة النبات على امتصاص الماء والعناصر المغذية

6. ايقاف نمو بعض المسببات المرضية

7. تنشيط نمو بعض الكائنات الحية الدقيقة المفيدة الموجودة بالقرب من الجذور (subba-Rao ,Rao ,1993/prasaad and (Mohammad,1986

ذكر (sirpin 2000) ان عملية التثبيت الحيوي للنتروجين تقوم بها احياء مجهرية غير مكتملة النواة (procaryotic) والتي تنتج معقد انزيم النتروجينز الذي يختزل النتروجين الجوي ويحوله الى امونيا .

بين (NIIR 2007) ان *Azospirillum.ssp* تنمو اما بالقرب او على او داخل المجموعة الجذرية مما يرفع من قدرتها على المنافسة واخذ مساحة كبيرة من الجذور تحت الضروف الحقلية ومع وجود اعداد كبيرة من الاحياء المجهرية الاخرى .

تمتز بكتريا *Azospirillum.ssp* سطح الجذر بخطوتين :

A الخطوة الاولى وفيها ترتبط بكتريا الاوزوسبيرليم سريعة الحركة بواسطة سوط قطبي بسطح الجذر الا ان ارتباطها يكون ضعيف وتحدث خلال 2 ساعة من اضافة اللقاح

B الخطوة الثانية وتحدث هذه فقط في الوسط الغني بالكاربون والنتروجين وهذا يعتمد على افرازات الجذور من السكريات والاحماض الامينية الذي يدعم بقاء البكتريا ويزيد انجذابها (Alexander 2000 واخرون) وتبدأ هذه الخطوة بعد 8 ساعات من اضافة اللقاح ويصل اقصى تثبيت بعد 16ساعة عندها يمتاز الارتباط بقوته ويدوم طويلا .

وجد (katupitiya,1994 واخرون) تتكاثر البكتريا نتيجة ملائمة الظروف أي ان الارتباط الناجح بسطح جذر النبات

يعتمد على سرعة حركة البكتريا والانجذاب الكيميائي باتجاه افرازات الجذور (Hauwaerts,2002 واخرون) .

ميكانيكية تثبيت النتروجين بواسطة بكتريا الازوسبيرلم : Nitrogen fixing mechanism

ذكر (1990 السعد) النتروجين يثبت حيويا بواسطة احياء مجهرية بدائية النواة بمساعدة معقد انزيم النتروجينز وتكون فعالية هذا الانزيم متشابهة في جميع الاحياء المجهرية المثبتة للنتروجين

يتكون انزيم النتروجينز من جزيئتي بروتين :

الاول يدخل في تركيبة الحديد والمولبيدنم (Fe-Moprotein) ويسمى *Dinitrogenase* وهو قليل الحساسية للأوكسجين وغير حساس للبرودة (محمود واخرون 1997) وزنة الجزيئي 250 كيلو دالتون يحتوي على زوجين من المراكز المعدنية تدعى حزم (fe-s8) و(Fe Mo Co (1992,Kim & Rees .

اما البروتين الثاني فيدخل في تركيبة الحديد (Fe-protein) ويسمى reductase *Dinitro genase* (Burgess,1984) وهو حساس جدا للاوكسجين اذ يفقد 70% من نشاطة بتعرضه للهواء لفترة دقيقة واحدة وحساس للبرودة (محمود واخرون 1997) وزنة الجزيئي حوالي 64 كيلو دالتون

ويحتوي على موقعين للارتباط مع Mg-ATPz وحزمة مفردة من (Fe-4s4) تربط بين اللوحتين (Georgiadis 1992 واخرون) .

اشار (Burris 1988) ان ميكانيكية اختزال النتروجين الى امونيا بواسطة انزيم النتروجينز تتم بقيام جزيء البروتين Fe-Mo-protein من الانزيم بالارتباط مع النتروجين واختزالة بينما يتحد جزيء البروتين Fe-protein من الانزيم بال Mg-ATPz لتوليد الطاقة الازمة لعملية اختزال النتروجين في الجزيء البروتيني Fe-Mo-protein اي ان بروتين الحديد يهب الكرونا واحدا الى بروتين الحديد والمولبيدنم وان تحلل Mg-ATP الى Mg-ADp يصاحبه نقل الالكترونات بين بروتين Fe وبروتين Fe-MO اي انه يستلزم ثماني الكترونات لهذا التفاعل الانزيمي كما في المعادلة التالية :

. $N_2+8H+16ATp ____ 2NH_3 + H_2+ 16ADP+ 16pi$

ان زيادة فعالية انزيم النتروجينز تعني زيادة تثبيت النتروجين وامكانية استفادة النبات منة

ذكر (Dashti 2007 واخرون) تنتج سلالات بكتريا الاوزسبيرلم العديد من الهرمونات النباتية وان الهرمون الرئيسي الناتج هو (IAA) .

الرش الورقي والزنك

يعتبر الرش الورقي هو افضل واسرع طريقة المعالجة نقص المغذيات الصغرى لان نقص المغذيات الصغرى يساهم بانخفاض الحاصل بشكل كبير فمثلا يلعب ال znدورا هاما في تكوين منظمات النمو وتشجيع Fe في تمثيل الكلوروفيل وتفاعلات الاكسدة والاختزال MN الحيوي وغيرها (2006gregoery) لم يقتصر تطبيق الرش الورقي على معالجة نقص العناصر الضرورية للنبات وخاصة الصغرى منها ولكن العديد من الابحاث أتيت الى امكانية الرش الورقي بمواد مقللة لتنح مثل مادة dytoron من شانه ان يساهم في زيادة صفات النبات مثل طول النبات وعدد الأوراق وعدد الافرع الوزن الطري والجاف للنبات مقارنة مع المعاملات الاخرى لأنه هذه المواد شكلت طبقع لحماية النبات من الظروف الناتجة من تذبذب الحرارة اضافة الى تحسين نمو المجموع الخضري بما ينعكس ايجابيا على حاصل النبات (EI- abal Aaletl 2008) او زيادة مقاومة نبات اللوبيا . vigna sinensis للإجهاد الملحي من خلال

الرش الورقي (hussein etal 2008) وعلى نبات الديمية Salvia of fieinalis من خلال الرش بـ zn ساهم في مقاومة النبات للإجهاد الملحي ايضا (khalid and hendawy 2005) الرش بلعناصر الغذائية الصغرى الثلاث بشكل مفرد متداخل قد ادى الى استجابات مختلفة باختلاف معاملات الرش والتي تحتوي على العنصر او اكثر من العناصر الغذائية النباتية الثلاث في كلا الموسمين تأثير الناتج الى ان الاستجابة اخذت نفس الاتجاه للموسمين اذا ازداد وزن الف حبة معنويا عند الرش بالزنك +الحديد +النحاس والزنك +النحاس(العكيلي و جواد كاظم1993) .

المستويات الحرجة للزنك في النبات تختلف حدود النقص والكفاية ايضا صدود سمية للزنك من نبات لاخر وفي كثير من المحاصيل اذا انخفض التركيز الى 20 جزءا في المليون فب المادة الجافة يكون ةناك احتمال نقص الحب في هذا العنصر عنةFAO سنة 1983 .

يدخل الزنك في كثير من العمليات الحيوية داخل النبات ومنها :

يشابه مع المنغنيز والمغنسيوم في المقدرة على بناء روابط بين الانزيم والمادة المتفاعلة معه .

له علاقة بتكوين الكلوروفيل يقون بتنشيط الانزيمات المتواجدة في الكلور دبلا ست .

ضروري لتكوين الحامض النووي RNA والرايبوزدمان في الخلية اللازمة لتكوين البروتين.

يلعب دورا هاما في نمو حبوب اللقاح على مياسم الأزهار بالمشاركة مع عنصر البرون .

يعمل على تفادي المجموع الخضري لقاصرة الجفاف الافرع من القمة الى القاعدة .

يعمل على الوقاية من ظهور النحل المدبب للأوراق وعدم انتظام الشكل العام له عن FAO سنة 1983 .

وجد (khanواخرون 2004) في دراسة التمديد النتروجين والزنك (اضافة ارضية) بمستويات 5-10 على بناء الخيار عند مستوى المدروسة طول الثبات وطول الورقة الحاصل الكلي ان رش الزنك وبمستوى 5-10 حقق زيادة معنوية في كمية الزنك الجاهز في التربة بعد الحصاد (2005AllowaY) .

الخيار *cucumis Sativus cucumber (l.S)*

يعود الخيار الى العائلة القرعية (*cucurbitceae*) حيث يعتبر من محاصيل الخضر الصيفية المهمة في العراق والهند وافريقيا الموطن الاصلي للخيار حيث كان يزرع في هذه المناطق من آلاف السنين .

يزرع في العراق في الحقول المكشوفة كمحصول ربيعي للإنتاج في الفترة من نيسان الى حزيران كما يزرع كمحصول خريفي للإنتاج في شهري تشرين الاول وتشرين الثاني .

وبعد انتشار البيوت البلاستيكية انتشرت زراعته فيها من اجل توفير ثمار الخيار خلال الشتاء وهي الأشهر التي لا يمكن بها الانتاج المحصول من الحقول المكشوفة [وقد طورت للإنتاج بشكل اوسع تحت الانفاق البلاستيكة] (فاضل المحمدي 1997) .

الازهار والتلقيح : **Flowers and pollinatio**

يوحد ثلاثة مجاميع من الخيار العديم البذور الذي يزرع في البيوت البلاستيكية .

لقد قسمت المجاميع الثلاثة هذه حسب طبيعة التزهير وهي :

1. اصناف انثوية بالكامل *All famale* والتي تنتج فقط أزهار انثوية *famale flowers*

2. اصناف انثوية (*Gynoecious*) والتي تكون فيها الأزهار الانثوية هي السائدة مع ضهور بعض الأزهار المذكرة (*Male Flowers*)

3. اصناف احادية الجنس (*Monoecious*) وفيها يحتوي النبات على كل من الأزهار الانثوية والأزهار الذكرية بصورة منفردة (فاضل المحمدي 1976) .

العناصر الغذائية للخيار :

دلت بعض الدراسات على ان انسب النسب التي تضاف بها الاسمدة الرئيسية هي :

النتروجين الى البوتاسيوم 1:2

النتروجين الى الفسفور 2: 0.5

البوتاسيوم الى المغنيسيوم 1:2.5

الكبريتات الى الكلور 1:10

تعتبر ثمار الخيار ذات قيمة غذائية واطئة

حيث تحتوي كل (100غم) من الثمار الطازجة على :

العنصر الغذائي	الكمية
ماء	96 كغم
سعرة حرارية	12 كغم
فيتامين B2,B1	0.3 – 0.4
فيتامين C	8 ملغم
فسفور	21 ملغم
كالسيوم	10 ملغم
حديد	0.3 ملغم
بروتين	0.7 ملغم

التوصية السمادية كغم ة- 1-

حضر بيوت محمية بشكل كامل

N=250 - 600

P2O5=150-400

K2O = 150-300

تضاف على دفعات تصل الى 6 دفعات لاسيما عند الري بالتنقيط (نور الدين شوقي 2012)

عملية الري : Irrigation process

يعتبر الخيار من النباتات المحبة للماء ويتسبب نقص الماء في عدم انتظام شكل وحجم الثمار وتتم عملية الري بالتنقيط التي توفر كميات المياه اللازمة لكل نبات في المواعد المناسبة مما يؤدي الى ترشيد استهلاك المياه على ان يتم اختيار قطارات ذات تصريف منتظم بواقع 4 لتر في الساعة ولذلك يجب عند تركيب شبكة الري التأكد من تساوي ضغط الماء على طول الخط وقد تبين من بعض الدراسات والبحوث المنشورة في هذا المجال ان زراعة الخيار في البيوت المحمية تحتاج لمياه ري لا تزيد ملوحتها عن 1500 جزء بالمليون ppm

وتؤدي زيادة تركيز الملوحة الى انخفاض نسبة انبات بذور الخيار وتؤدي زيادة تركيز الملوحة الى انخفاض نسبة انبات بذور الخيار ، وضعف النمو الخضري وقلة الأزهار والعقد وانخفاض معنوي في المحصول الكلي . ويحتاج نبات الخيار الى كميات قليلة من الماء منذ زراعته وحتى عمر 15 ايام بعد الانبات وتتوقف كميات الماء التي تعطى خلال هذه الفترة على درجات الحرارة ورطوبة التربة وتزداد مدة الري تدريجيا بعد اليوم العاشر من الانبات ويصل احتياج النبات من الماء عند اكتمال نموه الى حوالي (2-3) لتر يوميا (دليل الممارسة رقم (8) لسنة 2011 نشأت زراعة الخيار في البيوت المحمية)

فطر *Trichoderma ssp*

ينتمي فطر *Trichoderma ssp* الى صنف *Hyphomycetes* وهو من الفطريات الناقصة وله حوامل كونيدية متعددة الافرع والحامل الكونيدي ربما ينتهي بزائدة عميقة Sterileappendogep والخلايا المولدة للأنواع قاروريه الشكل Philalides تحمل فقط على الافرع الجانبية لبعض الانواع .

ان فطر *Trichoderma* له المقدرة على تكوين الكلاميدوسبور فى كلا الوسطين الغذائيين السائل والصلب وفي الترب المعقمة ومستخلصات التربة ومخلفات الطبيعة يستوطن الفطر الترب بهيئة غزل فطري او ابواغ كونيدية او كلاميدية سواء كانت ترب طينية او رملية ام ترب حقول او غابات .

اكدت الدراسات الحديثة دور فطر الترايكوديرما في جاهزية العناصر الغذائية وبالتالي زيادة الانتاج (Altomare واخرون 1999) (التميمي 2005)

وقد قسم هذا الجنس الى خمسة مجموعات وبالتالي فأن مفهوم الانواع ضمن هذا الجنس واسع جدا

وهذا ادى الى تقسيم الانواع (1996 sup specific) هذا ما ذكرة samuels ومن اكثر الانواع شيوعا :

Trichoderma harianum

Trichoderma viride

Trichoderma hamatum

Trichoderma polysporum

Trichoderma pseudoRonibgil

Trichoderma koningii

النوع الثالث والخامس تلائمها التربة عالية الرطوبة في حيث ان النوع الثاني والرابع تلائمها التربة ذات الحرارة المنخفضة اما النوع الاول يتواجد في المناطق الدافئة اما النوع الثالث والسادس فأنهما يتواجدان في ظروف المناخ المتقلب .

استخدامات الترايكوديرما :

1. مجال الاغذية والنسيج
2. المكافحة الحيوية
3. محفز لنمو النبات
4. مصدر لنقل الحبيبات

المواد وطرائق العمل

استحصال مناطق الرايزو سفير

استحصال تربة الرايزوسفير (Soil Rhizosphere) :

تم تحريك المجموعة الجذرية لنباتات الذرة الصفراء بلطف للتخلص من التربة غير المتاخمة للجذور والابقاء فقط على التربة الملتصقة تماما بالجذور (تربة الرايزوسفير) .

حركت الجذور والتربة الملتصقة بها بشدة في 255 مل من الماء المقطر المعقم حتى يصبح مجموع التربة 25غم وبذلك نحصل على التخفيف 10^{-1} ومنه عملت التخافيف لغاية 10^{-8} بحسب طريقة (Baldanisnd Dobereiner 1980 (Baldahietal

استحصال المنطقة الجذرية الكلية :

استخدمت جذور نفس النباتات أعلاه بعد ازالة تربة الرايزوسفير منها اذ غسلت جيدا بماء الحنفية ثم بالماء المعقم للتخلص من كل التربة العالقة بالجذور واخذ منها 10غم وتم طحنها جيدا واضيف اليها 90مل من الماء المقطر المعقم للحصول على التخفيف 10 ومنة عملت التخافيف لغاية 10 .كذلك تم تقطيع بعض الجذور غير المعقمة الى قطع صغيرة بطول 5-8 ملم ونقلت بواسطة ملقط معقم الى انابيب اختبار حاوية على وسط NFB المعقم للحصول على عزلات لبكتريا الازوسبيرلم حسب (Baldani and Dobereiner 1980) .

استحصال منطقة سطح الجذر (Rhizoplane)

اخذ 10 غم من الجذور المغسولة جيدا وغير المعقمة واضيف اليها 90مل من الماء المقطر المعقم وحركت بشدة لمدة 1ساعة باستخدام خلاط مغناطيسي وذلك لنقل البكتريا الموجودة على سطوح الجذور الى داخل الماء المقطر وبذلك على التخفيف 10 ومنة تعمل التخافيف لغاية 10 (Baldani 1980 واخرون)

استحصال منطقة انسجة الجذور الداخلية (Endorhizophere)

استخدمت نفس الجذور في الفقرة 3-2-3 (10غم من الجذور) حيث عقمت سطحيا بوضعها في محلول Chloramine.T 1% ولمدة 1 ساعة ثم غسلت الجذور خمس مرات بالماء المقطر وتركت فيه لمدة 30 دقيقة مع التحريك المستمر لإزالة كل ما علق بها من المحلول المعقم بعدةا سحنت الجذور جيدا باستخدام هاون خزفي معقم بالكحول مع قليل من الماء المقطر المعقم ثم اكملت كمية الماء تدريجيا الى 90 مل للحصول على التخفيف 10 سالب واحد ومنة عملت التخافيف لغاية 10 حسب طريقة (Baldani and Dobereiner) .

طريقة تقدير الترايكوديرما :

حساب اعداد مستعمرات الفطر *T.horizianum* في التربة بطريقة التخافيف والعد بالأطباق وبحسب ما جاء في (1965Black)

لقاح الفطر *T.horizanum*:

تم الحصول على فطر المقاومة الاحيائية *T.horzianum* المحمل على مواد عضوية بشكل لقاح من وزارة العلوم والتكنولوجيا دائرة البحوث /الزعفرانية واستعمل 1غم متر مربع وحسب التعليمات المثبتة على العبوة من اللقاح .

اضيف اللقاح خلطا مع الطبقة السطحية للتربة وحسب التعليمات المثبتة على العبوة بواقع 1غم متر مربع .

المستخلص :

نفذت تجربة حقلية في احصى بحجم 20كغم في احد البيوت البلاستيكية الناتجة الى كلية الزراعة جامعة القادسية من اجل دراسة تأثير التسميد الحيوي ببكتريا *Azospirillnm* بالتلقيح وعدم التلقيح والتسميد الحيوي الفطري ب*Trichoderma* بمستويين بالتلقيح وعدم التلقيح والتداخل مع الرش الورقي للزنك بثلاث مستويات واستخدم (0-5-10) وكان عدد الوحدات التجريبية 36سندانه وباستخدام CRD وقورنت متوسطات المعاملات باستخدام اقل فرق معنوي LSD على مستوى احتمال 5% وقد بينت النتائج ان مستوى الزنك 5 ادى الى زيادة في (طول النبات / المساحة الورقية /الوزن الجاف للمجموع الخضري) .

Abstroet

The stady Apot stady was condueted in the green houses of the Agreed college Alqadissya university . aims to deter main the eifect of blo. ferrillzer at Azospirillum. with the inacou Lation an with out using couple -5-0Leveis with intvaetion and the blo. fertilzer at the fangi at trichoderma for follar Treatments by the zinc (signrficon Lcvel Resutt Slows that Zinc %5Treatments were used aecording to the design of CRD with 36).10 Lead to inerease plant wegth and plant biomass%5Lend of

الصفات النباتية المدروسة :

1. طول النبات: قيس باستخدام شريط القياس للنبات الواحد (سم. نبات)

2. المساحة الورقية : باستخدام طريقة النسبة بعد تجفيف الاوراق تحت درجة حرارة 65 لمدة 24 ساعة في الفرن

3. الوزن الجاف للمجموع الخضري : قطع المجموع الخضري من منطقة اتصاله بالتربة وتجفف في القرن على درجة حرارة 65م لمدة 24ساعة

طرائق العد والعزل البكتيري :

طريقة العد بالأطباق (plate Count) :

استخدمت لتقدير العدد الكلي للبكتريا الحية في الترب ،ومناطق الرايزوسفير لنباتات الذرة الصفراء المأخوذة من ابو غريب والكوت ، حيث زرعت التخافيف 10-10 على وسط الاكار المغذي وحضنت في 30م° لمدة 73ساعة حسب طريقة (Black a 1965).

طريقة العد الاكثر احتمالا Most probable Number (MPN) :

استخدمة لعد وعزل بكتريا الازوسبرليم والبكتريا المثبتة للنتروجين في مناطق الرايزوسفير وجذور نباتات الذرة الصفراء ، اذا علمت التخافيف كما مبين سابقا وينقل ١مل من التخافيف المطلوبة الى انابيب اختبار حاوية على 9مل من الوسط الزراعي شبة الصلب الخالي من النايتروجين (Nfp) ملحق1وبثلاث مكررات لكل التخافيف وتحضن الانابيب في 30م° لمدة 48 ساعة بحسب طريقة (krueg and Dobereiner 1984).

ان ظهور النمو الحلقي (*pellicle*) الابيض اللون على بعد 4-1ملم اسفل السطح بعد 24 ساعة يؤخذ عصوية سريعة الحركة اما بالنسبة للبكتريا المثبتة للنتروجين الكلية فتظهر عدة اشكال للنمو في وسط Nfb تعطي مؤشر لوجودها حيث يظهر النمو على امتداد الوسط الزراعي متمركزا في بعض الاحيان على السطح واحيانا ممتد من الاسفل الى الاعلى مظهرا عكوره لجميع اجواء الوسط الزراعي .

واعتمد جدول (Cochran,1950) الوارد في(Black a 1965) في حساب العدد الاكثر احتمالا(MPN) .

طريقة تقنية بكتريا الازوسبرليم :

بعد ظهور النمو الحلقي في وسط Nfp اجريت ثلاث نقلات متتالية على نفس الوسط وحضنت في 30مْ لمدة 48ساعة ثم نقيت بنقل النمو الظاهر في وسط Nfp باستخدام الناقل (loop) على الاطباق الحاوية على الوسط Rc المضاف له الصيغة الكونغو الحمراء وزرع بطريقة التخطيط وحضنت الاطباق في 37م° مدة 73 ساعة بحسب طريقة Rodriguez .

وبعد ظهور المستعمرات الصغيرة القرمزية اللون علو الوسط نقيت كل مستعمرة اخرى باعادة تخطيطها على نفس الوسط للتأكد من نقاوتها وملاحظة اشكال المستعمرات التابعة للعزلة وفحصت اشكال خلاياها مجهريا تم حفظ العزلات على وسط الاكار المغذي المائل (Slant) لغرض اجراء الفحوصات الشخصية عليها .

طرائق التشخيص البكتيري:

شمل التشخيص دراسة الصفات الكيموحيوية (Biochemical) فضلا عن الصفات المظهرية والمجهرية لعزلات بكتريا الاوسبيرلم المثبتة للنتروجين اخذين بنظر الاعتبار دراسة الصفات التي تقود الى تشخيص جنس *Azodpirillum* والانواع التابعة له .

الصفات المجهرية :

تم تحضير اغشية (Smears) من العزلات المختلفة على شرائح زجاجية نظيفة صبغت بصبغة كرام ثم فحصت تحت المجهر الضوئي باستخدام العدسة الزيتية (x1000) وسجل تفاعل الخلايا مع الصبغة وشكل الخلايا وتجمعها بحسب (الحديثي 1983) .

الحركة (Motility) نميت عزلات بكتريا الازوسبيرلم في الوسط المغذي السائل N. لمدة 24ساعة في 30م اتبعت طريقة القطرة المعلقة (Hanging) لهذا الاختبار حيث وضعت قطرة من المزرعة البكترية بوساطة الناقل على غطاء شريحة زجاجية ووضع الغطاء بشكل مقلوب على شريحة مقعرة وفحصت بالمجهر الاعتيادي تحت القوة الكبرى (الحديثي 1938) .

الصفات المظهرية :

حضرت الاوساط الزرعية الاتية الاكار المغذي وRc المضاف له صبغة الكونغو الحمراء وRc الذي تستبدل فيه صبغة الكونغو الحمراء بصبغة المثيل الحمراء وذلك لدراسة الصفات المظهرية للعزلات البكتيرية قيد الدراسة ، لحقت الاوساط الزراعية بالعزلات البكتيرية بطريقة التخطيط وحضنت بدرجة 35م لمدة 96 ساعة عدا النمو على وسط الاكار .

فحص انزيم الكاتليز Catalase enzyme

نقل نمو البكتيري بعمر 24 ساعة من وسط الاكار المائل على شريحة زجاجية ثم يضاف له قطرة من محلول 3% بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) . ان التحرر الفوري لفقاعات الاوكسجين تؤخذ كنتيجة موجبة بحسب طريقة (1990) Baron and finegold .

فحص انزيم الاوكسديز OXidase enzyme

خطط المزروع البكتيري على سطح الاكار المغذي وحضنت الاطباق في 30م لمدة 24 ساعة ثم اضيفت الى المستعمرات النامية محلول Cytochrome . ان التلوث المستعمرات بلون بنفسجي يؤخذ كنتيجة موجبة بحسب (Smibert and krieg 1981)

اختبار اختزال النترات والقيام بعملية عكس النترجة

وزع وسط اختزال النترات بكمية 5 مل في انابيب اختبار حاوية على انابيب درهم لقح الوسط بالعزلات المختلفة وحضنت الانابيب في 35م لمدة 48 ساعة ثم اضيفت الى كل انبوبة 0.2 مل من كاشف النترات (A) و 0.2 مل من كاشف النترات (B)

ان ظهور اللون الاحمر خلال 30 ثانية وعدم ظهور عكس النترجة فتحضن الانابيب لمدة 5 ايام وان ظهور فقاعات غازية داخل انابيب يدل على اختزال النترات الى نتريت ومن ثم الى غاز النتروجين او غاز النتروز N_2O . عملية عكس النترجة بحسب طريقة (Smibert and krieg 1981 Harrigan et al 1966)

اختبار المصادر الكربونية :

استخدم وسط NFB شبة الصلب الحاوي على 1غم لتر من كبريتات الامونيوم والخالي من صبغة البروموثايمول الزرقاء وحامض الماليك والذي عوض عنة بمصدر كاربوني معين بكمية 5 غم لتر لكل من **المصادر الكربونية التالية : Fructose**

galactose,lactate,Succinate,d-trehalose,ribse,pyruvate,malate,D-glugose,Sucrose,maltose,lactose,D-mannitol,D-Sorbitol

تذاب السكريات (5غم في 100مل من الماء المقطر المعقم) ثم تعقم بالترشيح ويضاف 1مل من الوسط الزرعي ثم يلقح الوسط الزرعي بناقل واحد من العزلات المختلفة وتحضن في 30م لمدة 73 ساعة ان ظهور النمو البكتيري يؤخذ كنتيجة موجبة بحسب طريقة (krieg and Dobereiner 1978)

اختبار ظاهرة تعدد الاشكال polymorphic

استخدم وسط Nfb الحاوي على 0.05غم لتر من مستخلص الخميرة الذي وزع بكمية 5مل /انبوبة اختبار ولقح الوسط المعقم بناقل واحد من العزلات المدروسة وحضنت الانابيب في 30م لمدة 48 ساعة بعدها يفحص النمو بوساطة المجهر لملاحظة ظاهرة تعدد الاشكال التي يحدثها النوع *A.lipiferum* حيث تصبح الخلايا عريضة وطويلة ذات شكل حلزوني او شكل S وغير متحركة بحسب طريقة (Terrand et al 1978)

اختبار الحاجة للبيوتين

استخدم هذا الاختبار للتفريق بين الانواع التابعة لبكتريا الازوسبيرلم من خلال ملاحظة حاجتها او عدم حاجتها للبيوتين حيث اخذت انابيب اختبار ذات غطاء مسنن معقمة بالحرارة الجافة للتخلص من اي اثر لوجود البايوتين يوزع فيها وسط الحاجة للبيوتين بكمية 5مل لأنبوبة ،قسمت الانابيب الى مجموعتين احدهما تحتوي على البيوتين

والاخرى خالية منه لتلقيح الاوساط الحاوية على البيوتين والخالية من 1.0 مل من لقاح العزلات المختلفة وحضنت في 35م لمدة48 ساعة ان عدم ظهور العكرة الواضحة بغياب البيوتين فيدل على عد الحاجة للبايوتين وذلك بحسب طريقة Terrand et al(1978) .

النمو بوجود 3% كلوريد الصوديوم

لقح وسطNfb شبة الصل الخالي من النيتروجين والحاوي على 3% من كلوريد الصوديوم بناقل واحد من العزلات المختلفة وحضنت الانابيب في 30 لمدة اربعة ايام

ان ظهور النمو البكتيري يؤخذ كنتيجة موجبة بحسب طريقة Krieg and Dobereiner (1984):

النمو في PH 6.0 و 7.5 :

حضر وسط nfb سبة الصلب الخالي من النتروجين ثم عدل PH7.5-6 باستخدام 1 عياري من هدروكسيد الصوديوم وزع الوسط في انابيب اختبار (10مل / انبوبة) ثم لقحت الانابيب بناقل واحد من العزلات المختلفة حضنت الانابيب في 30 لمدة 48 ساعة

ان ظهور النمو البكتيري يؤخذ كنتيجة موجبة بحسب طريقة (Holt et al 1984)

اختبار مقاومة عزلات بكتريا الازوسبيرلم للمضاد الحيوي الستربتومايسين : *Streptomycin*

حضر محلول الستريت ومائسين :

بإذابة 20ملغم منة في100 مل من الماء المقطر المعقم للحصول على محلول تركزه 200 ميكروغرام /مل

عقم هذا المحلول بالترشيح وللحصول على التركيز المطلوب من المضاد الحيوي .

وهي (20-15-10-5)ميكروغرام / مل من الوسط اخذت الحجوم (25.5.1.0.75.5.7) من وسط NFB السائل المعقم على التراكيز المختلفة من الستريت ومائسين ب(1مل) من اللقاحات التي كثافته الضوئية 0.85 وحضنت في 35 م لمدة 48 ساعة تم تسجيل التراكيز التي حصل فيها النمو وتلك التي لم يحصل فيها .ثم لقح وسط NFB الصلب ب1مل من اقل تركيز من الستريت ومائسين في الوسط الذي لم يظهر فيه النمو والذي اعتبر التركيز المثبط الادنى للنمو وبعد نشر المزروع البكتيري على الوسط حضنت الاطباق في 35 م لمدة 72 ساعة .

ان عدم ظهور النمو لمستعمرات العزلة دل ذلك على ان التركيز المثبط الادنى هو نفسة التركيز القاتل الادنى للمضاد اما عند ظهور النمو لمستعمرات العزلة دل ذلك على ان التركيز الاعلى منه يعد التركيز القاتل الادنى للمضاد الحيوي وذلك بحسب طريقة Baron and finegold (1990) .

التجربة الحقلية Field experience

بهدف دراسة تأثير التداخل لعزلات الاوزسبيرلوم ومستويات الزنك الثلاثة (0-5-10) في نبات الخيار صنف Save صممت تجربة حقلية عامليه بثلاث عوامل وباستخدام تصميم CRD بثلاث مكررات تضمنت معاملتين لبكتريا الاوزوسبيرلوم A0عدم تلقيح A1تلقيح ومعاملتين ترايكوديرما T0عدم تلقيح T1 تلقيح وثلاث مستويات من عنصر الزنك (0-5-10) (Zn1- Zn3-Zn3) ملغم لتر في اصص بلاستيكية سعة الاصيص الواحد 20 كغم تمت تهيئة الاصيص بتربة (sandy clay) بعد طحنها ونخلها بمنخل 2ملم وملئ الاصيص بالتربة كما تم خلط التوصية السمادية المعتمدة من قبل وزارة الزراعة (225-225-400 كغم/هكتار) وأضافتها الى التربة ثم زراعة البذور الملقحة باستخدام الصمغ العربي 6% بواقع بذرتين في الأصيص الواحد وتم اضافة لقاح الترايكوديرما والمستحصل علية من مختبر الدراسات العليا في كليتنا بواقع 50غم للأصيص ثم خفت البادرات بعد اسبوع من الانبات الى نبات واحد اصيص بعد فترة

زمنية من نمو النبات لارتفاع مناسب تم تعليق النباتات على حامل الشتول بربطها بخيوط الخيار كذلك تم رش سماد الزنك وبثلاث مستويات في فترة التزهير .

اجريت التجربة في البيوت البلاستيكية في كلية الزراعة جامعة القادسية بتاريخ 13-12-2017

و لفترة 5-3-2018 أي 95 يوم .

الاهداء

الى من ضحوا بأنفسهم من اجلنا . . . الشهداء رحمهم الله

الى من زرعا فأينع زرعهما . . . ابي وامي رعاهم الله

الى من علمني حرفا . . . اساتذتنا الكرام

الى من ساعدني في اتمام بحثي . . . طلبة الماجستير

الى من اشد بهم عضدي . . . اخوتي الاعزاء

الى من عشت معهم اجمل اللحظات . . . زملائي وزميلاتي

النتائج والمناقشة

جدول 3 تأثير التداخل الحيوي والرش بمستويات الزنك على الوزن الجاف للمجموع الخضري (غم .نبات $^{-1}$)

السماد الحيوي	مستويات الزنك كغم . لتر $^{-1}$			المعدل
	0	5	10	
00	78.9	81.4	81.3	80.5
Azospirillum	81.7	81.8	83.3	82.4
Tricodirma	84.3	84.2	85.2	84.5
AZO+TRI	87.8	89.7	92.06	89.8
المعدل	83.17	84.27	85.45	0.37

يبين الجدول رقم 3 ان الرش الورقي للزنك اعطى فروق معنوية للمعاملة 81.3 مع معاملة السيطرة 78.9 غم .نبات$^{-1}$ السبب يعود الى انه الزنك يزيد من سرعة النتروجين في العمليات الايضية داخل النبات (Amuyoyegbe 2007) وهنا يتفق الراوي خلف الله 200 كذلك يلاحظ ان التداخل الثنائي Znic + Azospirillum اعطى فروق معنوية في المعاملة 83.3 عندالمستوى 10 للزنك عند مقارنتها مع معاملة السيطرة 81.7 عندالمستوى 0 للزنك وهذا يعزى الى بكتريا الاوزوسبيرليم والزنك

قد قام بتكوين جزيئات الكلوروفيل وتنشيط عدد من الانزيمات قد تساهم في زيادة الكتلة الحيوية وكذلك تثبيت النتروجين الحيوي (Ahonare 1993) وهذا يتفق مع(ALTamimi 2005)

كمايلاحظ ان التداخل الثنائي Znic+Tricodirma اعطى فروق معنوية في المعاملة 85.2 غم نبات $^{-1}$ عندالمستوى 10 للزنك عند مقارنتها مع معاملة السيطرة 84.3 عند المستوى 0 للزنك وهنا يعزى الى الزيادة في الوزن الجاف من المجموع الخضري بسبب زيادة جاهزية العناصر الغذاية التي تتميز بقابليتها على انتاج مواد الشبيهة بالاوكسينات والجبرلينات والسايتوكاتينات (2013 علاوي) وهذا اتفق مع نتائج(2010 rouphaelواخرون) .

جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية – كلية الزراعة

قسم التربة والموارد المائية

تأثير التلقيح ببكتيريا *Azospirillum.ssp* وفطر المقاومة الاحيائية *Trichoderma*مع مستويات مختلفة من الرش الورقي لعنصر الزنك على نمو وحاصل الخيار L.S

اعداد الطلبة :

حسين طالب حسين — حيدر علي كاظم

هدى راسم جواد — علياء حسين جاسم

فاطمة مرتضى حمادي — دعاء عليوي كاظم

رهام عدنان اسود — سعد عبادي سعدون

علي عبدالرحيم عبهول

اشراف ا. د جواد عبد الكاظم كمال

2017-2018

شكر وتقدير

الحمد لله الذي شملني بالرعاية وامدني بالعون لإنجاز هذا العمل المتواضع والصلاة والسلام على رسول الله المصطفى محمد واله وصحبة المنتجبين .

وشكري وتقديري الى استاذي الفاضل ا.د جواد عبد الكاظم كمال الشيباني لتكرمة بالأشراف على هذا البحث المتواضع وتوجيهاته المستمرة طيلة فترة العمل والدراسة .

شكري وتقديري للدكتور حسين محمد الى ترجمته الى الملخص

شكري وتقديري الى الاستاذ محمد محمود عبد الله لتسهيل العمل في داخل المختبر .

شكري وتقديري الى جميع استاذتي في قسم علوم التربة والموارد المائية .

شكري وتقديري الى طلبة الدراسات العليا حاتم ناهي وعلي محسن ومنتظر محمد لمدهم يد العون لي والمساعدة في انجاز هذا البحث .

والله ولي التوفيق