تأثير تلقيح التربة وحبوب الذرة الصفراء السكرية بنوعي البكتريا *Pseudomonas fluorescens* و *Azospirillum lipoferum* على إذابة بعض أشكال الفوسفور المثبت في التربة

د. عيسى كبيبو*

د. أمجد بدران**

مها حليبيه***

(تاريخ الإيداع 14 / 12 / 2020. قبل للنشر في 1 / 7 / 2021)

□ ملخّص □

أجري البحث في محطة بحوث صنوبر جبلة في اللاذقية في حزيران عام 2019، حيث تم قبل الزراعة تلقيح التربة وحبوب الذرة الصفراء السكرية صنف فيحاء ببكتريا *Pseudomonas fluorescens* المذيبة للفوسفات وبكتريا *Azospirillum lipoferum* المثبتة للآزوت الجوي، وتم التلقيح المزدوج بكلا النوعين أيضاً مع إضافة مستويات متزايدة من السماد المعدني الآزوتي والفوسفوري .

درس تأثير التلقيح البكتيري مع المستويات المختلفة من التسميد المعدني على كمية الفوسفور المترسبة في التربة على شكل فوسفات كالسيوم وعلى كمية الفوسفور المترسبة على السطوح الخارجية لمركبات الحديد والألمنيوم، حيث كانت مستويات التسميد المعدني الآزوتي والفوسفوري (1-2-3-4-5). وعادلت هذه المستويات الكميات التالية من N:P2O5 وعلى التتالي (0:0، 137:107، 183:143، 227:177، 273:213)كغ/هكتار.

أشارت نتائج البحث إلى انخفاض كمية الفوسفور المترسبة على سطوح مركبات الحديد والألمنيوم قد انخفضت عند التلقيح ببكتريا *Pseudomonas fluorescens* و *Azospirillum lipoferum* كلا على حدا مقارنة مع معاملات الشاهد غير الملقحة وتراوحت نسبة الانخفاض بين (10.7و 76.7) % و (12.2و 86.4)% على التتالي عند مستويات التسميد المعدني المختلفة.

في حين لم يكن للتلقيح البكتيري تأثير معنوي على كمية الفوسفور المرتبطة مع الكالسيوم.

الكلمات المفتاحية: الذرة الصفراء السكرية، صنف فيحاء، *Pseudomonas fluorescens*، *Azospirillum lipoferum*، الفوسفور المرتبط مع الكالسيوم، الفوسفور المترسب على مركبات الحديد والألمنيوم.

* أستاذ ، قسم علوم التربة والمياه ، كلية الزراعة ، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية. kbibou.issa@gmail.com

** دكتور، اختصاص علوم تربة ومياه ، كلية الهندسة الزراعية ، مديرية الزراعة، اللاذقية، سورية. dramjadbadran@gmail.com

*** طالبة دكتوراه ، قسم علوم التربة والمياه، كلية الزراعة ، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية. .maha11hleibieh@gmail.com

Effect inoculation soil and sweet corn seeds with *Pseudomonas fluorescens* and *Azospirillum lipoferum* on solubilizing some forms of fixed phosphorus in soil

Dr. Issa kbibo[*]
Dr. Amjad badran[**]
Maha hleibieh[***]

(Received 14 / 12 / 2020. Accepted 1 / 7 /2021)

□ ABSTRACT □

The research was carried out at Alsnobar research station in Lattakia in June in 2019.
Inoculation soil and seeds of sweet maize (Fyhaa) was conducted with *Pseudomonas fluorescens* (bacteria solubilizing phosphate) and *Azospirillum lipoferum* (bacteria fixing nitrogen) individually and together.
The inoculation was at increasing levels of nitrogen and phosphorus fertilizer needs.
The levels of nitrogen and phosphorus fertilizers was (1, 2, 3, 4, 5) which equal (0:0, 137:107, 183:143, 227:177, 273: 213) kg N:P2O5/hectare.
The results indicated that the amount of phosphorus fixed on Al and Fe components was decreased by inoculation by *Pseudomonas fluorescens* and *Azospirillum lipoferum* individually by percent of (10.7 to 76.7)% and (12.2 to 86.4)% according to control treatments at different fertilizer levels.
The inoculation with two bacterial species (*Pseudomonas fluorescens* and *Azospirillum lipoferum*) do not cause any significant difference in Ca-P.

Key words: sweet maize, Fyhaa, *Pseudomonas fluorescens* and *Azospirillum lipoferum* , Ca-P, Al-P, Fe-P.

[*]**Professor in agriculture college, / Department of water and soil sciences. Tishreen University, Lattakia, Syria. E-mail: kbibou.issa@gmail.com.**
[**]**Doctor of agriculture, Department of water and soil sciences of Tishreen University. Department of Agriculture, Lattakia, Syria. E-mail: dramjadbadran@gmail.com.**
[***]**PhD student in agriculture college , Department of water and soil sciences. Tishreen University.Lattakia, Syria. E-mail: maha11hleibieh@gmail.com.**

مقدمة

تعتبر الذرة الصفراء أحد أهم المحاصيل النجيلية الحبية بعد القمح والأرز، ولحبوبها ومشتقاتها أهمية غذائية وعلفية وصناعية وطبية (Roqaya *et al*., 2005)، ويعد تحت النوع saccharata *Zea mays*(الذرة السكرية) محصولاً متعدد الاستخدامات؛ فهو يستخدم للاستهلاك البشري وكعلف للحيوانات وكمادة أولية في الصناعة من أجل التزويد بالوقود(Muhamed *et al*., 2014).

وطالما كان الحصول على أعلى إنتاجية ممكنة من المحاصيل الزراعية مع أقل قدر من التكاليف هدفاً لجميع العاملين في القطاع الزراعي على مستوى العالم، فقد لجأت حديثاً معظم دول العالم المتقدم إلى الاعتماد على الأسمدة الحيوية (Ramirez and Mellado, 2005) لتكون بديلاً آمناً عن جزء من الأسمدة المعدنية المرتفعة الثمن بحيث لا يتأثر الإنتاج سلباً بل ويحسنه في بعض الأحيان و لأنها تلعب دوراً كبيراً في التنمية المستدامة للبيئة وبنفس الوقت تعتبر صديقة للبيئة (Mohammadi and Sohrabi, 2012).

بينت العديد من الدراسات أهمية التلقيح البكتيري للذرة الصفراء في زيادة كفاءة استخدام السماد المعدني (Pereira *et al*., 2020) ، فهناك العديد من الأحياء الدقيقة المشجعة للنمو النباتي والتي تتواجد طبيعياً في بعض الترب وتستخدم بعد مكاثرتها كمخصبات حيوية، وتقوم هذه الأحياء بدورها في تشجيع النمو النباتي إما من خلال إفراز فيتامينات أو أحماض عضوية، أو منشطات نمو كالأوكسينات وحمض الأبسيسيك وحمض الجبريليك والسيتوكينينات؛ أو تثبيت الآزوت الجوي أو إذابة العناصر من مركباتها غير المتاحة مثل الفوسفور والبوتاسيوم (Awasthi *et al*., 2011) (Mohammadi and Sohrabi, 2012).

يكون الفوسفور عادة غير متاح في معظم الترب لأنه يثبت كفوسفات ألمنيوم وحديد في الترب الحامضية أو كفوسفات كالسيوم في الترب القلوية (El-Komy,2005)، وتتميز معظم ترب الساحل السوري بكونها قاعدية ومائلة للقلوية وبالتالي يوجد انخفاض في فعالية الفوسفور حتى لو تمت إضافته بشكل سماد؛ وبالمقابل هناك أنواع كثيرة من البكتريا والفطريات التي تستطيع إذابة الفوسفات ثلاثي الكالسيوم أو غيرها من الفوسفات ضعيفة أو عديمة الذوبان وبالتالي إنتاج كميات كبيرة من الفوسفور الذائب (Zhang *et al*.,2007)، ويتم ذلك من خلال الإنتاج الحيوي للأحماض العضوية أو معدنة الفوسفور العضوي بواسطة الفوسفاتيز (Khan *et al*., 2009) (Bargaz *et al*., 2018)، وتعد بكتريا *Pseudomonas fluorescens* من الأنواع البكتيرية المذيبة للفوسفات في التربة(Widawati, 2011) (Rodriguez and Fraga, 1999) وأظهرت الدراسات دورها في إذابة فوسفات ثلاثية الكالسيوم وفوسفات الحديد والألمنيوم في الترب الحامضية (Henri *et al*., 2008)، وقد استخدم التلقيح بالميكروبات المذيبة للفوسفات على نبات الذرة الصفراء(Yosefi *et al*., 2011) (Viruel *et al*., 2014)، ويتم العمل في هذه الدراسة من أجل معرفة مدى الاستفادة من بكتريا *Pseudomonas fluorescens* القادرة على إذابة الفوسفور المثبت و دراسة تأثير التلقيح بها على تخفيض تثبيته في تربة كلسية مزروعة بالذرة الصفراء.

كما أن للأحياء الدقيقة المثبتة للآزوت الجوي القدرة على تثبيت ما يتراوح بين (10^9-10^8) طن آزوت/سنة من الهواء الجوي (Hardly and Silver, 1977) (Miyamoto *et al*., 2008) ، وهي تقوم بإفراز جزء من الآزوت المثبت خارج خلاياها و تختلف كميته حسب نوع الكائن الحي الدقيق وحسب الظروف المحيطة بعملية التثبيت (Al Madani, 2009).

ومن الأحياء الدقيقة المثبتة للآزوت الجوي البكتريا التابعة لجنس *Azospirillum* والتي لها تأثيرات إيجابية تتعدى تثبيت الآزوت الجوي إلى تشكيل وإنتاج الهرمونات النباتية واختزال النترات وتعزيز امتصاص العناصر الغذائية، وهناك العديد من الدراسات التي أشارت إلى دور أنواع مختلفة منها في إذابة الفوسفور المثبت(El-Komy, 2005)، وقد بين (Rodriguez *et al.*,2004) أن لبكتريا *Azospirillum lipoferum* خاصية إذابة فوسفات ثلاثية الكالسيوم (غير الذوابة)، و سيتم في هذا البحث دراسة تأثير التلقيح ببكتريا *Azospirillum lipoferum* بشكل مفرد وبشكل مزدوج مع البكتريا كالسيوم و فوسفات حديد و ألمنيوم.

أهمية البحث وأهدافه

أهمية البحث: تكمن أهمية هذه الدراسة في تقييم إضافة اللقاحات الحيوية في تقليل الكمية المترسبة من الفوسفور في التربة.

أهداف البحث: هدف البحث إلى دراسة تأثير إضافة البكتريا المذيبة للفوسفات *Pseudomonas fluorescens* والبكتريا المثبتة للآزوت الجوي *Azospirillum lipoferum* *على* بعض أشكال الفوسفور المترسبة و المستخلصة بالتجزئة في تربة رملية طينية لومية مزروعة بالذرة الصفراء السكرية ، بوجود مستويات متعددة من التسميد المعدني الآزوتي و الفوسفوري (0:0، 137:107، 183:143، 227:177، 273:213)كغ N:P2O5/هكتار.

طرائق البحث ومواده

1-المادة النباتية: الذرة الصفراء السكرية saccharata *Zea mays* صنف فيحاء، مصدرها إدارة بحوث المحاصيل الزراعية في البحوث العلمية الزراعية.

2-طريقة الزراعة: تمت الزراعة في حفر على خطوط المسافة بينها 70سم، والبعد بين الحفر 25سم، بمعدل حبتين في كل حفرة فردت فيما بعد، مع العلم أن مساحة القطعة التجريبية الواحدة بلغت 10.5 $م^2$.

3-العزلتين البكتيريتين المستخدمتين:

عزلة بكتيرية لبكتريا مذيبة للفوسفات *Pseudomonas fluorescens* و عزلة أخرى لبكتريا مثبتة للآزوت الجوي *Azospirillum lipoferum*، وقد تم الحصول عليهما وعزلهما وتوصيفهما بيوكيميائياً في بحث الماجستير(Hleibieh, 2016) و ثم حفظهما في هيئة الطاقة الذرية وتوصيفهما جزيئياً فيما بعد لتأكيد النوع.

4-البيئات الغذائية المستخدمة في إكثار اللقاح:

استخدمت بيئة pikovskaya السائلة (Mahmood, 1988) (HIMEDIA[1], 2011) لتنمية و إكثار البكتريا المذيبة للفوسفات *Pseudomonas fluorescens* حتى الوصول لكثافة 9.6×10^9 خلية بكتيرية/ مل.

تم استخدام بيئة حمض الماليك السائلة (Dobereiner's malic acid) مع NH4Cl بمعدل 1غ/ ل (Mishra and Dadhich, 2010) لمدة عدة أيام حتى الوصول إلى كثافة 10^9 × 2.6 خلية بكتيرية/ مل بالنسبة للبكتريا المثبتة للآزوت الجوي *Azospirillum lipoferum*.

[1] **اسم شركة مصنعة للبيئة المتخصصة بالبكتريا المذيبة للفوسفات وقد تم استخدامها لمكاثرة هذه البكتريا.**

5-اختبار نمو العزلة البكتيرية المثبتة للآزوت الجوي على بيئة آجار Pikovskaya:

تمت زراعة العزلة البكتيرية لبكتريا *Azospirillum lipoferum* على بيئة آجار Pikovskaya فتبين قدرتها على النمو في هذه البيئة هذا يعني أن لهذه البكتريا أيضاً القدرة على إذابة الفوسفات، لأن بيئة Pikovskaya تحوي على فوسفات ثلاثية الكالسيوم غير الذوابة .

6-طريقة إضافة اللقاح:

أضيف اللقاح الحيوي إلى التربة قبل الزراعة ب 6 أيام بمعدل 31.5 مل لكل قطعة تجريبية بعد أن مزجت مع الماء، أما في المعاملات ذات التلقيح المزدوج فقد أضيف إليها 31.5 مل من كل لقاح.

وكذلك نقعت حبوب الذرة الصفراء المعقمة في اللقاح البكتيري بعد وضعها في وعاء زجاجي يحوي محلول مائي سكري بتركيز 14 % - مغلي ومبرد- لمدة نص ساعة.

7-التحاليل التي تم إجراؤها على التربة:

يبين الجدول (1) التحاليل التي تم إجراؤها على التربة مع الطرائق والأجهزة المستخدمة .

الجدول رقم(1):التحاليل التي تم إجراؤها على التربة

اسم التحليل	الطريقة	الجهاز المستخدم	المرجع
تجزئة الفوسفور للحصول على الأشكال المعدنية المترسبة المختلفة	الموليبدات و حمض الأسكوربيك	السبيكتروفوتومتر	Hedley *et al.*,1982
الفوسفور المتاح(P)	طريقة مورفي(الاستخلاص ببيكربونات الصوديوم)	السبيكتروفوتومتر	Al-Zoobi *et al.*, 2013
الآزوت المعدني(N)	الاستخلاص بكلوريد البوتاسيوم و إضافة خلطة ديفاردا	جهاز التحليل الآلي- سكالار	
البوتاسيوم المتاح(K)		جهاز اللهب	
المادة العضوية(OM)	المعايرة وفق طريقة وولكي و بلاك		
الناقلية الكهربائية EC	مستخلص 5:1	جهاز ال EC	
درجة الحموضة pH	مستخلص 5:1	جهاز ال pH	
الكثافة الظاهرية	طريقة الاسطوانة		
السعة التبادلية الكاتيونية CEC	طريقة أسيتات الأمونيوم	جهاز اللهب (flame photometer)	
كربونات الكالسيوم الكلية	المعايرة		
التحليل الميكانيكي	طريقة الهيدرومتر		

أما تجزئة الفوسفور للحصول على أشكال الفوسفور المعدني المرتبطة مع مركبات الحديد والألمنيوم ومع الكالسيوم فقد كانت وفق Hedley *et al.*,1982 (Catiboni., 2012) وتم اتباعها للحصول على الأشكال المعدنية المختلفة من الفوسفور وهي:

1. **الفوسفور المعدني المترسب على مركبات الحديد والألمنيوم(Al–P و Fe–P):** وهو يشمل الفوسفور الموجود على شكل فوسفات حديد وألمنيوم والفوسفور المعدني المرتبط أو المدمص كيميائياً على السطوح الخارجية لأكاسيد وكربونات الحديد والألمنيوم (Cross and Schlesinger, 1995) ويستخلص من خلال وزن0.5 غ تربة في عبوات تضاف لها 30 مل ماء مقطر مع أكياس ريزين موجبة الشحنة ومشبعة بالبيكربونات ثم تخض لمدة 16 ساعة ثم تزال أكياس الريزين ويجرى طرد مركزي للتخلص من الماء، ثم يضاف إلى التربة 30مل بيكربونات الصوديوم (0.5 M) ثم خض لمدة 16ساعة ثم طرد مركزي وبعده يرشح بورق Whatman 42، فالرشاحة تحتوي على الفوسفور المعدني المتبادل أما التربة الموجودة في العبوات بعد العمليات السابقة يضاف لها 30 مل هيدروكسيد الصوديوم (0.5 M) ثم تخض لمدة 16 ساعة، ثم تعرض لطرد مركزي وترشيح ثم يقدر الفوسفور الموجود في الرشاحة بطريقة المولبيدات ليعبر عن الفوسفور المعدني المترسب حديثاً على أكاسيد الحديد والألمنيوم.
2. **الفوسفور المعدني المرتبط مع الكالسيوم(Ca–P):** يضاف إلى التربة المتبقية في العبوات بعد المرحلة السابقة 30 مل من حمض كلور الماء (1 M) وتخض العبوات لمدة 16 ساعة ثم تعرض لطرد مركزي ثم ترشح بورق Whatman 42، ويقدر الفوسفور المعدني المرتبط مع الكالسيوم في الرشاحة بواسطة طريقة المولبيدات.

8-إضافة الأسمدة المعدنية:

أضيف الآزوت على شكل يوريا 46% والفوسفور على شكل سوبر فوسفات 46% بمستويات متزايدة من N:P2O5 وهي: (0:0، 137:107، 183:143، 227:177، 273:213) كغ N:P2O5/هكتار المرمزة ب(NP1، NP2، NP3، NP4، NP5) على التتالي.

وقد أضيف السماد البوتاسي اعتماداً على تحليل التربة والسعة التبادلية الكاتيونية (Warncke and Dahl, 2003)، و أضيف كامل الاحتياج من البوتاسيوم إلى جميع المعاملات. وقد أضيف على شكل سلفات بوتاسيوم 50%.

9-مواعيد إضافة السماد المعدني:

تمت إضافة السماد المعدني الفوسفوري والبوتاسي قبل الزراعة، أما السماد المعدني الآزوتي فقد أضيف على ثلاث دفعات (5/1 الكمية عند الزراعة ،5/2 في مرحلة 4-6 أوراق، 5/2 في مرحلة 10-12 ورقة (Nathan and Stecker, 1999).

10-تصميم التجربة:

استخدم تصميم القطع المنشقة في قطاعات عشوائية كاملة، العامل الرئيسي هو مستويات التسميد المعدني الخمسة، أما العامل الثانوي (القطع المنشقة) فهو التسميد الحيوي ببكتريا *Azospirillum lipoferum*(AZ) أو *Pseudomonas fluorescens*(PS) أو كليهما (AZ–PS).

11-التحليل الإحصائي: تم استخدام برنامج CoStat، واستخدم اختبار Duncan وفق مستوى معنوية 5% لدراسة الفروق المعنوية بين المعاملات(تأثير التفاعل بين العاملين الحيوي والمعدني)، واختبار LSD وفق مستوى معنوية 5% للمقارنة بين مستويات التلقيح الحيوي والتسميد المعدني كلا على حدا.

النتائج والمناقشة:

يبين الجدول (2) الخصائص الفيزيائية والكيميائية للتربة المزروعة.

وتشير نتائج تحليل التربة إلى أن التربة ذات قوام رملي طيني لومي ذات pH معتدل مائل إلى القلوية، فقيرة بالمادة العضوية.

الجدول رقم (2): الخصائص الفيزيائية والكيميائية للتربة المزروعة

P ppm	الفوسفور المعدني المترسب على مركبات الحديد والألمنيوم (ppm)	الفوسفور المعدني المرتبط مع الكالسيوم (ppm)	الآزوت المتاح (ppm)	البوتاسيوم المتاح (ppm)			OM %	pH	EC ديسي سيمنوس /م	CaCO3 %
14	23.9	441.7	12.5	قطاع 1	قطاع2	قطاع3	0.6	7.9	0.67	29
				159	275	107				
التحليل الميكانيكي للتربة				الكثافة الظاهرية			CEC			
رمل%	سلت	طين%	غ/سم^3				ميلي مكافئ /100غ تربة جافة تماما			
59	13	28	1.16				35			
التربة رملية طينية لومية										

1-الفوسفور المعدني المترسب على سطوح مركبات الحديد والألمنيوم:

1-1-تأثير مستويات التسميد المعدني على الفوسفور المعدني المترسب على سطوح مركبات الحديد والألمنيوم:

لم تظهر فروق معنوية في كمية الفوسفور المترسب حديثاً على سطوح مركبات الحديد والألمنيوم بين مستويات التسميد المعدني المختلفة وبين الشاهد (جدول 3) وهذا قد يعني أن هذه الكمية مترسبة أصلاً حتى قبل الإضافات السمادية ويظهر ذلك من مقارنة القيم مع الكمية المترسبة في تربة الشاهد قبل البدء بالتجربة والتي كانت (23.9 ppm).

الجدول رقم (3): متوسط كمية الفوسفور المترسبة على مركبات الحديد والألمنيوم للمعاملات وفقاً لمستويات التسميد المعدني

المعاملة	متوسط الفوسفور المترسب على سطوح مركبات الحديد و الألمنيوم (ppm)	المعاملات التي تحمل أحرف مشتركة لا توجد بينها فروق معنوية
NP4	27.59	a
NP2	23.74	a
NP1	22.08	a
NP3	21.76	a
NP5	19.61	a
LSD0.05= 9.84		

1-2-تأثير مستويات التلقيح الحيوي على الفوسفور المعدني المترسب على سطوح مركبات الحديد والألمنيوم:

يبين الجدول (4) وجود فروق معنوية في الكمية المترسبة من الفوسفور على مركبات الحديد والألمنيوم للمعاملات الملقحة ببكتريا *Pseudomonas fluorescens* أو *Azospirillum lipoferum* حيث بلغت الكمية فيهما 15.905 ppm و 14.773 ppm على التتالي؛ مقارنة مع المعاملات غير الملقحة(M0) و مع المعاملات الملقحة بالنوعين البكتيريين معاً(AZ-PS) والتي بلغت فيهما كمية الفوسفور المترسب 30.906 ppm و 30.237 ppm على التتالي، أي أدى التلقيح ببكتريا *Pseudomonas fluorescens* وبكتريا *Azospirillum lipoferum* إلى انخفاض في كمية الفوسفور المترسبة على مركبات الحديد والألمنيوم مقارنة مع الشاهد(المعاملات غير الملقحة) ، إذ بلغت نسبة الانخفاض 48.5 % و 52.2% على التتالي، وهذا يتوافق مع ما توصل إليه (Henri *et al.*, 2008) عن دور بكتريا *Pseudomonas fluorescens* في إذابة الفوسفات من فوسفات الحديد والألمنيوم، وكذلك مع دراسات (Sahu *et al.*,2017) الذي أوضح أن قسماً من بكتريا *Azospirillum* تقوم بإذابة الفوسفور، وكذلك مع (Ikhajiagbe *et al.*,2020) الذي بين أن إحدى آليات البكتريا المشجعة للنمو النباتي (PGPB) في تحرير الفوسفات إلى التربة يكون في سحب الحديد من مركبات الفوسفور المرتبطة مع الحديد (Fe-P).

في حين لم يكن هناك فروقاً معنوية في كمية الفوسفور المترسبة على مركبات الحديد والألمنيوم في معاملات التلقيح بنوعي البكتريا (AZ+PS) ومعاملة الشاهد؛ أي لم يكن هناك فعالية للبكتريا المضافة عند التلقيح المزدوج، وقد يفسر ذلك بأن قيام أحد النوعين البكتيريين بإذابة الفوسفور المترسب على مركبات الحديد والألمنيوم قد أمن الفوسفور اللازم لنمو النوع البكتيري الآخر بدون الحاجة إلى القيام بدوره في الإذابة أيضاً.

الجدول رقم(4): متوسط كمية الفوسفور المترسبة على مركبات الحديد والألمنيوم للمعاملات وفقاً لمستويات التلقيح الحيوي

المعاملة	متوسط الفوسفور المترسب على سطوح مركبات الحديد والألمنيوم (ppm)	المعاملات التي تحمل أحرف مشتركة لا توجد بينها فروق معنوية
M0	30.906	a
AZ–PS	30.237	a
PS	15.905	b
AZ	14.773	b
LSD0.05= 6.084		

3-1-تأثير التفاعل بين مستويات التسميد المعدني ومستويات التلقيح الحيوي على الفوسفور المعدني المترسب على سطوح مركبات الحديد والألمنيوم:

أدت إضافة البكتريا المذيبة للفوسفات *Pseudomonas fluorescens* في جميع المعاملات التي أضيف لها كميات متدرجة من السماد الآزوتي والفوسفوري إلى تخفيض الكمية المترسبة من الفوسفور على مركبات الحديد والألمنيوم مقارنة مع المعاملات التي أضيف لها نفس كمية السماد المعدني بدون إضافة أي لقاح بكتيري، إذ بلغت نسبة الانخفاض عند التلقيح ببكتريا *Pseudomonas fluorescens* بمقدار(10.7، 76.7، 58.7، 25، 65.9) % مقارنة مع المعاملات الشاهد من كل مستوى من التسميد المعدني والتي لم يضف إليها لقاح أي مقارنة مع المعاملات (NP1–M0، NP2–M0، NP3–M0، NP4–M0، NP5–M0) على التتالي(جدول 5).

أما من حيث الفروق المعنوية فهي لم تظهر مقارنة مع المعاملات الغير ملقحة إلا عند إضافة (137:107) كغ N:P2O5/هكتار من السماد أي ظهرت للمعاملة(NP2–PS) مقارنة مع المعاملة(NP2–M0).

الجدول رقم(5): متوسطات كمية الفوسفور المعدني المترسب على سطوح مركبات الحديد والألمنيوم

المعاملة	متوسط الفوسفور المعدني المترسب حديثاً على سطوح مركبات الحديد والألمنيوم(ppm)	المعاملات التي تحمل أحرف مشتركة لا توجد بينها فروق معنوية
NP1–M0	22.37	abcd
NP1–AZ	19.65	abcd
NP1–PS	19.98	abcd
NP1–AZ–PS	26.3	abcd
NP2–M0	37.73	ab
NP2–AZ	5.12	d
NP2–PS	8.78	cd
NP2–AZ–PS	43.3	a
NP3–M0	33.5	abc

abcd	15.83	NP3-AZ
bcd	13.83	NP3-PS
abcd	23.87	NP3-AZ-PS
ab	39.6	NP4-M0
abcd	21.84	NP4-AZ
abcd	29.7	NP4-PS
abcd	19.27	NP4-AZ-PS
abcd	21.33	NP5-M0
bcd	11.42	NP5-AZ
cd	7.27	NP5-PS
ab	38.4	NP5-AZ-PS

وأدت إضافة البكتريا المثبتة للآزوت الجوي (*Azospirillum lipoferum*) في جميع المعاملات التي أضيف لها كميات متدرجة من السماد الآزوتي والفوسفوري ؛ إلى تخفيض الكمية المترسبة من الفوسفور على مركبات الحديد والألمنيوم أي انخفضت هذه الكمية عند التلقيح ببكتريا *Azospirillum lipoferum* بمقدار (12.2، 86.4، 52.7، 44.8، 46.6) % مقارنة مع المعاملات الشاهد من كل مستوى من التسميد المعدني والتي لم يضف إليها لقاح أي مقارنة مع المعاملات (NP1-M0، NP2-M0 ، NP3-M0، NP4-M0، NP5-M0) على التتالي(جدول5)، وهذا يعود إلى قدرة هذه العزلة البكتيرية على إذابة الفوسفات حيث تبين أن لهذه العزلة القدرة على النمو على بيئة آجار Pikovskaya وهذا يتوافق مع ما توصل إليه (Ortega *et al.*, 2013) من أن هناك العديد من الأنواع البكتيرية التابعة لجنس *Azospirillum* تستطيع إذابة الفوسفات؛ ومع (Rodriguez *et al.*, 2004) الذي بين قدرة *Azospirillum lipoferum* على إذابة فوسفات ثلاثية الكالسيوم. وهذا قد يعود لقدرة البكتريا المذيبة على إنتاج مواد مخلبية ترتبط مع العناصر المعدنية (Awasthi *et al.*, 2011).

ولم تظهر الفروق المعنوية بين المعاملات الملقحة ببكتريا *Azospirillum lipoferum* والغير ملقحة إلا عند المستوى الثاني من التسميد المعدني أي في المعاملة (NP2-AZ) مقارنة مع المعاملة (NP2-M0).

وإن التلقيح بالنوعين البكتيرين عند إضافة المستويين الثالث والرابع من السماد المعدني الآزوتي والفوسفوري أدى إلى انخفاض كمية الفوسفور المترسبة على مركبات الحديد والألمنيوم مقارنةً مع المعاملات التي لم يضف لها أي لقاح بكتيري (NP3-M0 و NP4-M0) حيث بلغ في المعاملات الملقحة(23.87 و19.27) ppm على التتالي مقارنة مع(33.5 و 39.6) ppm للمعاملات غير الملقحة على التتالي.

وقد يعود ارتفاع الفوسفور المثبت على سطوح هذه المركبات للمعاملات الملقحة باللقاحين البكتيريين و التي لم يضف لها أي سماد معدني (المستوى الأول) أو أضيف لها المستوى الثاني أي (137:107) كغ N:P2O5/هكتار مقارنة مع المعاملات التي لم يضف إليها أي لقاح بكتيري(NP1-M0 و NP2-M0) إلى التنافس الحاصل بين العزلتين المضافتين في ظل عدم الكفاية من الآزوت والفوسفور في هاتين المعاملتين.

2-الفوسفور المرتبط مع الكالسيوم:

2-1-تأثير مستويات التسميد المعدني على الفوسفور المرتبط مع الكالسيوم:

لم تظهر الفروق المعنوية بين جميع مستويات التسميد المعدني -باستثناء المستوى الرابع - في كمية الفوسفور المرتبطة مع الكالسيوم ، ولكن يلاحظ زيادة هذه الكمية في المستويات الأربعة (NP4-NP2-NP3-NP5) بمقدار (155.9، 63.19، 143.9، 41.77) ppmعلى التتالي مقارنة مع القيمة الأولية قبل الزراعة والتي بلغت 441.7 ppm . أي أن الفوسفور ترسب على هيئة فوسفات كالسيوم وهذا يتفق مع (Penn and Camberato, 2019) الذي بين أن تراكيز الفوسفور المرتفعة في محلول التربة والناتجة عن إضافة السماد المعدني ستؤدي إلى ترسيب الفوسفور على شكل فوسفات كالسيوم وحديد وألمنيوم. ولكن ربما هذا لا يعود بشكل أساسي إلى التسميد المعدني؛ إنما إلى تراكيز الفوسفور الموجود أصلاً في التربة والمتحررة أثناء موسم النمو نتيجة الرشاحات الجذرية لنبات الذرة الصفراء، وهذا يظهر من ارتفاع الكمية المترسبة على سطوح مركبات الحديد والألمنيوم في المعاملة الشاهد(NP1) التي لم يضف إليها أي سماد فوسفوري.

الجدول رقم(6): متوسط كمية الفوسفور المرتبطة مع الكالسيوم للمعاملات وفقاً لمستويات التسميد المعدني

المعاملة	متوسط الفوسفور المرتبط مع الكالسيوم(ppm)	المعاملات التي تحمل أحرف مشتركة لا توجد بينها فروق معنوية
NP5	597.57	a
NP1	595.35	a
NP2	585.63	a
NP3	504.89	ab
NP4	483.47	b
LSD0.05= 88.6		

2-2-تأثير مستويات التلقيح الحيوي على الفوسفور المرتبط مع الكالسيوم:

يبين الجدول (7) عدم وجود تأثير معنوي لمستويات التسميد الحيوي على كمية الفوسفور المرتبطة مع الكالسيوم وقد يعود ذلك إلى اتجاه البكتريا بداية إلى إذابة الفوسفور المرتبط مع مركبات الحديد والألمنيوم.

وقد بلغت أعلى قيمة للفوسفور المرتبط مع الكالسيوم عند التلقيح بالنوعين البكتيريين(583.36 ppm).

الجدول رقم(7): متوسط كمية الفوسفور المرتبطة مع الكالسيوم للمعاملات وفقاً لمستويات التلقيح الحيوي

المعاملة	متوسط الفوسفور المرتبط مع الكالسيوم(ppm)	المعاملات التي تحمل أحرف مشتركة لا توجد بينها فروق معنوية
AZ-PS	583.36	a
PS	554.53	a
AZ	539.7	a

a	535.9	M0
LSD0.05= 119.17		

2-3-تأثير التفاعل بين مستويات التسميد المعدني ومستويات التلقيح الحيوي على الفوسفور المرتبط مع الكالسيوم:

يبين الجدول(8) عدم وجود فروق معنوية في كمية الفوسفور المرتبطة مع الكالسيوم بين المعاملات المختلفة، لكن انخفضت هذه الكمية عند إضافة بكتريا *Pseudomonas fluorescens* مع مستويات التسميد المعدني الأول والثالث والرابع بمعدل 1.6 % و 4.11% و 11.7% مقارنة مع المعاملات الشاهد (NP1-M0 و NP3-M0 و NP4-M0) على التتالي. لكن هذه الكميات قد زادت مقارنة مع المعاملات الشاهد عند مستويات التسميد المعدني الثاني والخامس بمقدار 13.9% و 18.2% على التتالي.

لم يكن هناك فروقاً معنوية في كمية الفوسفور المترسبة على كربونات الكالسيوم بين المعاملات المختلفة، ولكن يظهر انخفاض هذه الكمية عند التلقيح ببكتريا *Azospirillum lipoferum* مقارنة مع الشاهد غير الملقح في مستويات التسميد الأول والثاني والثالث، فقد انخفضت كمية Ca-P في المعاملات NP1-AZ و NP2-AZ و NP3-AZ بمقدار (4.1 و 18.5 و 12)% على التتالي مقارنة مع المعاملات NP1-M0 و NP2-M0 و NP3-M0 على التتالي وهذا يؤيد ما توصل إليه (Ortega *et al.*, 2013) من وجود سلالات من جنس *Azospirillum* التي تملك القدرة على إذابة الفوسفور من فوسفات الكالسيوم $Ca_3(PO4)_2$ (جدول8).

لكن بالمقابل يظهر من الجدول(8) ارتفاع كمية الفوسفور المرتبطة مع الكالسيوم عند التلقيح ببكتريا *Azospirillum lipoferum* عند مستويات التسميد المعدني المرتفعة (المستويين الرابع والخامس) حيث زادت بمقدار 44.1 و 7 % للمعاملات (NP4-PS و NP5-PS) على التتالي مقارنة مع المعاملات الشاهد (NP4-M0 و NP5-M0)على التتالي على الرغم من عدم وجود فروق معنوية. هذا يعني عدم فعالية هذه البكتريا عند مستويات التسميد المعدني المرتفعة أي عند(227:177 و 273:213) كغ N:P2O5/هكتار.

وإن عدم فعالية بكتريا *Pseudomonas fluorescens* و *Azospirillum lipoferum* في إذابة الفوسفات المرتبطة مع الكالسيوم عند التراكيز المرتفعة من الفوسفور المضاف مشابه لما توصل إليه (Zeng *et al.*, 2016) من أن نشاط إذابة الفوسفات تناقص مع زيادة تراكيز الفوسفات الذوابة في الوسط، كما أن إذابة الفوسفات لم تسجل تحت التراكيز المرتفعة من الفوسفات الذوابة ولم يشاهد أي منطقة إذابة (clear zone) عند تركيز فوسفات ذوابة (20 ميلي مول/ليتر) بالنسبة لبكتريا *Pseudomonas frederiksbergensis* المذيبة للفوسفات.

الجدول رقم(8): متوسط كمية الفوسفور المرتبطة مع الكالسيوم للمعاملات

المعاملة	متوسط الفوسفور المرتبط مع الكالسيوم(ppm)	المعاملات التي تحمل أحرف مشتركة لا توجد بينها فروق معنوية
NP1-M0	609.9	a
NP1-AZ	585.1	a

NP1-PS	600	a
NP1-AZ-PS	586.4	a
NP2-M0	591.4	a
NP2-AZ	481.7	a
NP2-PS	673.5	a
NP2-AZ-PS	596	a
NP3-M0	552.2	a
NP3-AZ	485.9	a
NP3-PS	529.5	a
NP3-AZ-PS	452	a
NP4-M0	417.2	a
NP4-AZ	601.1	a
NP4-PS	368.2	a
NP4-AZ-PS	547.5	a
NP5-M0	509	a
NP5-AZ	544.8	a
NP5-PS	601.5	a
NP5-AZ-PS	735	a

الاستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات

1- تعمل بكتريا *Pseudomonas flourescens* على تخفيض كمية الفوسفور غير المتاحة بتخفيض كمية الفوسفور المعدني المثبت على مركبات الحديد و الألمنيوم ، وتراوحت نسبة الانخفاض بين(10.7و 76.7) % عند مستويات التسميد المعدني المختلفة مقارنة مع المعاملات الشاهد.

2- أدت إضافة البكتريا المثبتة للآزوت الجوي إلى تخفيض كمية الفوسفور المترسبة على مركبات الحديد والألمنيوم مقارنة مع المعاملات التي أضيف لها نفس الكمية السمادية مع عدم إضافة أي لقاح بكتيري ، وتراوحت نسبة الانخفاض بين(12.2و 86.4) % عند مستويات التسميد المعدني المختلفة مقارنة مع المعاملات الشاهد.

3- أدى التلقيح ببكتريا *Azospirillum lipoferum* إلى تخفيض كمية الفوسفور المرتبطة مع الكالسيوم وبشكل غير معنوي عند مستويات التسميد المعدني المنخفضة.

4- اختلف تأثير كل من بكتريا *Pseudomonas fluorescens* وبكتريا *Azospirillum lipoferum* على كمية الفوسفور المرتبط مع الكالسيوم حسب مستوى التسميد المعدني، على الرغم من أن هذا التأثير لم يكن معنوياً.

5- أدى التلقيح بالنوعين البكتيريين كلا على حدا ومع بعضهما البعض مع المستوى الأعلى من التسميد المعدني (273:213 كغ N:P2O5/هكتار) إلى زيادة كمية الفوسفور المرتبطة مع الكالسيوم مع عدم وجود فروق معنوية مع الشاهد.

التوصيات

1- تلقيح حبوب الذرة الصفراء و التربة ببكتريا *Pseudomonas fluorescens* أو *Azospirillum lipoferum* نظراً لدورها في تخفيض الكمية المترسبة من الفوسفور على أكاسيد الحديد و الألمنيوم مع وجود فروق معنوية واضحة مقارنة مع عدم الإضافة.

2- دراسة التأثير طويل الأمد للتلقيح بهذه البكتريا على الفوسفور المرتبط مع مركبات الحديد والألمنيوم ومع الكالسيوم.

3- البحث عن أنواع بكتيرية أخرى أكثر كفاءة في إذابة الفوسفور المرتبط بالكالسيوم خصوصاً في ترب المنطقة الساحلية كونها ترب كلسية.

Reference

1- Al Madani, M. *Guide to converting agricultural land into organic farms for small farmers.* North South Consultants Exchange in Sustainable Development, COSPE (Cooperazione per to Sviluppo del Paesi Emergenti), 2009, 38 pages.

2- Al Zoobi, M; Al Hussni, A, Dergam, H. *Methods of analyzing soil, plant, water and fertilizer*. Ministry of Agriculture and Agrarian Reform- General Commission for Scientific Agricultural Research, Syria, 2013, 223 pages.

3- Awasthi, R; Tewan, R; Nayyar, H. *Synergy between Plants and P-Solubilizing Microbes in Soils: Effects on Growth and Physiology of Crops*. International Research Journal of Microbiology. 2(12), 2011, 484-504.

4- Bargaz, A; Lyamlouli, K; Chtouki, M ; Zeroual, Y; Dhiba, D. *Soil Microbial Resources for Improving Fertilizers Efficiency in an Integrated Plant Nutrient Management System*. Frontiers in Microbiology. 7(1606), 2018, 1-25.

5- Catiboni, L. C. *Presentation: Fractionation of Soil Phosphorus by Hedley's Procedure: Uses and Limitations*. Santa Catarina State University. 2012, 52 sheets.

6- Cross, A. F; Schlesinger, W. H. *A literature review and evaluation of the Hedley fractionation: Applications to the biogeochemical cycle of soil phosphorus in natural ecosystems*. Geoderma, 64, 1995, 197-214.

7- El-Komy, H, M. *Co immobilization of Azospirillum lipoferum and Bacillus migaterium for Successful Phosphorus and Nitrogen Nutrition of Weat Plants*. Food Technol. Biotechnol, 43(1), 2005, 19-27.

8- Hardly, R. W; Silver, W. S. *A treatise on nitrogen fixation*- section 3. John Wiely and Sons Inc., New York.1977.

9- Hedley, M.J; Stewart, J.W.B. and Chauhan, B.S. *Changes in inorganic and organic soil phosphorus fractions induced by cultivation practices and by laboratory incubations.* Soil Sci. Soc. Am. J, 46, 1982, 970–976.

10- Henri, F; Laurette, N. N; Annette, D; John, Q; Wolfgang, M; Etoa, F. X; Dieudonne, N. *Solubilization of inorganic phosphates and plant growth promotion by strains of Pseudomonas fluorescens isolated from acidic soils of Cameroon*. African Journal of Microbiology Research. Vol.(2). 2008, 171-178.

11- Hleibieh, M. Isolation Some of Phosphate Solubilizing and Free-Living Nitrogen Fixing Microorganisms and Study Their Effect on Growth of Maize (*Zea mays*). Master in Tishreen University, Agriculture College, Lattakia, Syria, 2016, 74 pages.
12- Ikhajiagbe, B; Anoliefo, G. O; Olise, O. F; Rackelmann, F; Sommer, M; Adekunle, I. *Major phosphorus in soils is unavailable, yet critical for plant development.* Notulae Scientia Biologicae. 12(3), 2020, 500-535.
13- Khan, A; Jilani, G; Akhtar, M; Naqvi, S. M. S; Rasheed, M. *Phosphorus Solubilizing Bacteria: Occurrence, Mechanisms and their Role in Crop Production.* J. AGRIC. BIOL. SCI. 1(1), 2009, 48-58.
14- Miyamoto, CH; Ketterings, Q; Cherney, J; Kilcer, T. *Nitrogen Fixation. Cornell University. Cooperative Extension.* Agronomy Fact Sheet Series. Fact Sheet 39.
15- Mishra, B. K; Dadhich, S. K. *Methodology of Nitrogen Biofertilizer Production*. J. Adv. Dev. Res., 1(1), 2010, 3-10
16- Mohammadi, K; Sohrabi, Y. *Bacterial biofertilizers for sustainable crop production. A review*. ARPN Journal of Agricultural and Biological Science, 7(5), 2012, 307-316.
17- Muhumed, M, A; Jusop, Sh; Sung, Ch, T, B; Wahab; P, E, M; Panhwar, Q, A. *Influence of NPK fertilizer rates and irrigation frequencies on the biomass and yield components of sweet corn (Zea mays L.).* Journal of Food, Agriculture & Environment, 12(2), 2014, 1308-1313.
18- Nathan, M; Stecker, J. *Soil Test Interpretations and Recommendation Guide Commercial Fruits, Vegetables and Turf* . College of Agriculture, Food and Natural Resources. University of Missouri Extension, USA, 1999, 1-27.
19- Ortega, M. P. L; Campos, P. J. C; Vargas, R. M. G; Rusinque, M. C; Bonilla, G. E; Rubiano, M. F. G; Buitrago, R. B. *Characterization of diazotrophic phosphate solubilizing bacteria as growth promoters of maize plants*. Rev. Colomb. Biotecnol. XV(2), 2013, 115-123.
20- Pereira, N. C. M; Calindo, F, Sh; Gazola, R. P. D; Dupas, E; Rosa, P. A. L; Mortinho, E. S; Filho, C. M. T. 2020, *Corn Yield and Phosphorus Use Efficiency Response to Phosphorus Rates Associated With Plant Growth Promoting Bacteria.* Frontiers in Environmental Science, 8(40), 2020, 1-12.
21- Penn, Ch. J; Camberato, J. J. *Review: A Critical Review on Soil Chemical Processes that Control How Soil pH Affects Phosphorus Availability to Plants.* Agricalture. 9(120), 2019, 1-18.
22- Ramirez, L,E,F; Mellado, J, C. *Bacterial biofertilizer*. Springer, Netherland, 2005, 143-172.
23- Rodriguez, H; Gonzalez, T; Goire, I. *Gluconic acid production and phosphate solubilization by the plant growth-promoting bacterium Azospirillum spp.* Springer, No.91, 2004, 552-555.
24- RODRIGUEZ, H; FRAGA, R. *Phosphate Solubilizing Bacteria and their Role in Plant Growth Promotion*. Biotechnology Advances, No.17, 1999, 319-339.
25- Roqaya, N; Abd Alhameed, I; Abd Alaziz, M. Field Crops Production. Field Crops Department, Agriculture College, Tishreen University. 2005, 413 pages.
26- Sahu, P. K; Gupta, A; Sharma, L; Bakade, R. *Mechanisms of Azospirillum in Plant Growth Promotion*. Scholars Journal of Agriculture and Veterinary Sciences. 4(9), 2017, 338-343.

27- Viruel, L; Erazzu, L; Calsina, L; Ferrero, M; Lucca, M; Sineriz, F. *Inoculation of maize with phosphate solubilizing bacteria: effect on plant growth and yield*. Journal of Soil Science and Plant Nutrition. 14(4), 2014, 819-831.
28- Warncke, D; Dahl, J. *Nutrient Recommendations for Vegetable Crops Grown in Michigan.* NUTRIENT MANAGEMENT INFORMATION SHEET. MICHIGAN STATE UNIVERSITY, USA, 3(1), 2003, 1-15.
29- WIDAWATI, S. *Diversity and Phosphate Solubilization by Bacteria Isolated from Laki Isolated Coastal Ecosystem.* Biodiversitas,12(1), 2011, 17-21.
30- Yosefi, KH; Galavi, M; Ramrodi, M; Mousavi, S, R. Effect of bio-phosphate and chemical phosphorus fertilizer accompanied with micronutrient
foliar application on growth, yield and yield components of maize (Single Cross 704). Australian Journal of Crop Science. 5(2), 2011, 175-180.
31- ZHANG, F; ZHU, G; LIU, L; CHEN Z. *Kinetic Properties of Dissolving Phosphorus by the Phosphobacteria 9320-SD*. Electronic Journal of Biology, 3(4),2007, 69-73.
Mahmood, S. A. Z. Practical Applied Microbiology. Egypt, 1988, 918 pages.
32- Zeng, Q; Wu, X; Wen, X. *Effects of Soluble Phosphate on Phosphate-Solubilizing Characteristics and Expression of gcd Gene in Pseudomonas frederiksbergensis JW-SD2*. Curr Microbiol. 72, 2016, 198-206.