جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة المثنى / كلية الزراعة

قسم علوم التربة والموارد المائية

تأثير بكتيريا *pseudomonas aeruginosa* و *Bacillus subtilis* في المعالجة الحيوية للترب الملوثة بالرصاص والكادميوم والمزروعة بنبات زهرة الشمس *Helianthus annuus* L.

رسالة تقدم بها

محمد عبود عايش الطائي

الى مجلس كلية الزراعة في جامعة المثنى وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في العلوم الزراعية / علوم التربة والموارد المائية

بأشراف

ا.م.د عبدالله كريم جبار الجبوري

1445هـ **2023 مـ**

بسم الله الرحمن الرحيم

لَا تُفْسِدُوا فِي الْارْضِ بَعْدَ اصْلَاحِهَا
ذَلِكُمْ خَيْرٌ لَكُمْ انْ كُنْتُمْ مُؤْمِنِينَ{85}

صدق الله العلي العظيم

سورة الاعراف الاية
85}

بسم الله الرحمن الرحيم

اقرار المشرف

أشهد أن إعداد هذه الرسالة جرى بإشرافي في كلية الزراعة / جامعة المثنى، وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في العلوم الزراعة علوم التربة والموارد المائية.

المشرف

أ.م. د عبدالله كريم جبار

كلية الزراعة – جامعة المثنى

توصية السيد رئيس لجنة الدراسات العليا

بناءً على الشروط والتوصيات المتوافرة أرشح هذه الرسالة للمناقشة.

الاستاذ الدكتور

رحيم علوان هلول

رئيس لجنة الدراسات العليا

رئيس قسم علوم التربة والموارد المائية

كلية الزراعة – جامعة المثنى

الإهداء

بدات باكتر من قلب واكثر من يد رفعت للدعاء وقاســـيت من الهموم اصـــعبها وعانيت من الصعوبات اقساها وها انا ولله الحمد اطوي تعب الأيام وسهر الليالي وخلاصة المشوار في هذا العمل المتواضع .

الى منارة العلم وســيد الخلق اجمعين الى من علم المتعلمين رســولنا الكريم الصـادق الأمين محمد صلى الله علية واله الطاهرين وصحبه المنتجبين .

الى الامـــام الذي بشر به الرسول الاكرم خاتم الأنبياء الأعظم الى سيدي و مولاي أبي القاسم الحجة بن الحسن امام العصر و حجة الدهر القائم بالأمر و منقذ البشر المهدي المنتظر عجل الله فرجه الشريف.

إلى من أفتقد وجوده في كل لحظة الى من ســعى وشــقى لانعم بالراحة الى من كلله الله بالهيبة والوقار الى العطاء بلا مقابل والحنان بلا حدود والنصيحة بلا استشارة والاجابة بلا سؤال الى من كان اسمة فخرا وذكرة عزا وكنت اتمنى أن يشاركني فرحتي والدي العزيز (رحمة الله)

الى الينبوع الـذي رواني حنـان واغرقني عطفـا ووفقني دعـاء الى من عجز قلبهـا وعجزت كلاتها لكن لسـانها لم يعجز من الدعاء الى صـريعة المرض وجليسـة الفراش الى التي اتعبتها ردهات الانعاش والدتي الحنونة(شافاها الله)

إلى ســندي ومســندي وقوتي وملاذي بعد الله إلى من بهم اشــد ازري من صــعوبات الحياة "إخوتي"

الى التي شاطرتني حياتها وبذلت لي وقتها وصبرت معي في السراء والضراء "زوجتي"

الى زهور الياسمين قرر العين وشغاف القلب الى فلذات الكبد وثمرات الفؤاد "اطفالي"

الى الأطواد العلمية صــناع المســتقبل و مربي الأجيال لمن يُحتذى بهم ويُســار على خطاهم ويُقتدى بمنهجهم العلمي الرصين لمن أخلصوا في العطاء فأخلصنا لأنفسنا أولاً ولعطائهم ثانياً في البذل والجد والإجتهاد فربحنا بهم وربحوا بنا فخورين ونحن بهم أشــدُّ فخراً "أســاتذتي العظام"

إلى الذين قاسموني الدراسـة هناءَها وشـقاءَها ومدوا لي يدَ العون فشـددتُ بهم أزري وآتّكأتُ على وجودهم عند الشدائد اخوتي في الاقسام العلمية والداخلية

أهدي لكم ثمرة جهدي المتواضع حباً وإخلاصاً

محمد

بِسْمِ ٱللَّهِ ٱلرَّحْمَٰنِ ٱلرَّحِيمِ

شكر وتقدير

بسم الله العليم العلام عالم الاسرار في الضياء والظلام . فمن تمسك بة فلا يظلم ولايضام . والصلاة والسلام على سيدنا محمد خير الانام وعلى الة وصحبة الميامين الكرام . الحمد الله الذي قدر وأعان ، الذي أحاطني برعايتة ووفقني لإنجاز هذا الجهد العلمي المتواضع داعياً المولى أن يكون علماً نافعاً خالصاً لوجهة الكريم بعد حمد الله والثناء الجميل الذي يليق بذاته المقدسة , يطيب لي بعد الانتهاء من كتابة الرسالة أن اتقدم بخالص الشكر والتقدير الى الاستاذ المساعد الدكتور عبدالله كريم جبار الذي أسهم بعلمه الوافر ووقته الثمين وعونه الصادق في مساعدتي حتى تمكنت بعون الله من إخراج البحث على هذه الصورة.

كما اتوجه بخالص الشكر والتقدير الى السادة أعضاء لجنة المناقشة والحكم على البحث لما قدموه من توجيه وإرشاد داعياً الله عز وجل أن يطيل في أعمارهم ويوسع في علمهم ويجزيهم عن عني خير الجزاء .

ما كانت كلمات الشكر التي أسطرها لتعطي كل ذي حق حقه ولا تفي لصاحب الفضل بفضله إنما هي غيض من فيض وقليل من كثير فلا يسعني في هذا المقام إلا أن يتقدم بخالص الشكر والعرفان الى عمادة كلية الزراعة والمعاون العلمي د.حنون البركات والى ورئاسة واساتذة قسم علوم التربة والموارد المائية والى د.هادي البركات رئيس قسم الإنتاج الحيواني, والى زملائي طلبة الدراسات العليا لما قدموه من مد يد العون خلال فترة الدراسة.

اقدم شكري وتقديري الى العاملين في مختبر التحاليل الكيميائية التابع لقسم علوم التربة والموارد المائية واخص بالذكر الأستاذ انمار حمودي ود.علا سعد والست نور داخل والست سلمى لما أبدوه من مساعدة في اجراء التحاليل المختبرية.

شكري واعتزازي وتقديري وامتناني الى الذي كل من لم يبخل علي بكلمة فجزى الله الجميع خير الجزاء وأدعو الله تبارك وتعالى أن ينال هذا البحث الرضا ، وأن يحوز القبول ، ومعذرة إن كنت قد قصرت أو أخطأت ، فإنني لا أدعي أنني قد بلغت بهذا البحث حد الكمال ، فإن الكمال لله وحده القائل :﴿ وما أوتيتم من العلم إلا قليلاً ﴾ "صدق الله العلي العظيم". وأخيرا فأنني أشكر كل من مد يد العون وساهم ولو بكلمة طيبة في تسهيل إنجاز هذه الدراسة من قريب أو من بعيد وكل من يريد أن يراني بأحسن حال وكل من لم يأت ذكره ولكنة موجود في القلب شكري لهم جميعاً . وأعتذر لمن غفلت عن ذكره.

والله ولي التوفيق.

محمد الطائي

2023

الخلاصة

اجريت تجربة حقلية خلال الموسم الربيعي للعام 2023 بهدف دراسة تاثير بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* و *Bacillus subtilis* في ازالة عنصري (الكادميوم والرصاص) من التربة باستعمال تقنية المعالجة النباتية (Phytoremediation) باستعمال نبات زهرة الشمس وكذلك دراسة دور الاحياء المجهرية بتقنية المعالجة الحيوية ((Bioremediation) والاستفادة منها في التنقية البيئية للترب الملوثة. اذ اجريت الدراسة في محطة الابحاث الزراعية- كلية الزراعة – جامعة المثنى والتي تبعد 2 كم جنوب مدينة السماوة ذات خطوط العرض والطول (45.303088 , 31.320693) و شملت الدراسة عزل كل من بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* و *Bacillus subtilis* اذ جمعت 10 عينات من تربة ورايزوسفير محاصيل مختلفة مثل (الجت ، الشعير، الفجل، البرسيم ,الذرة الصفراء) لمواقع مختلفة من محافظة ذي قار و المثنى والقادسية والنجف وتشخيصهما من خلال دراسة الصفات الزرعية والمجهرية والاختبارات الكيموحيوية للعزلات كما شملت ايضا اختبار كفاءة هذه العزلات في اذابة الفوسفات في الوسط الزرعي الصلب ومعرفة دليل الاذابة لها.

نفذت التجربة الحقلية باستعمال تصميم القطاعات العشوائية الكاملة وذلك باستعمال عاملين للتجربة بثلاثة مكررات تضمن العامل الاول اللقاحات البكتيرية وبأربعة مستويات المستوى الأول بدون اضافة اللقاح البكتيري B0 والثاني اضافة بكتريا *pseudomonas aeruginosa* B1 والثالث اضافة بكتريا *Bacillus subtilis* B2 والرابع اضافة التداخل من البكتريا *pseudomonas aeruginosa* + *Bacillus subtilis* B3

اما العامل الثاني فشمل العناصر الثقيلة (الكادميوم والرصاص) وبتراكيز مختلفة اخذت الرموز الاتية:-

C0 = تركيز 5 PPM كادميوم + 100 PPM رصاص وC1 = تركيز 10 PPM كادميوم + 150 PPM رصاص و C2 =تركيز 15 PPM كادميوم +

PPM 200 رصاص و C3 = تركيز20 PPM كادميوم + PPM 250 رصاص

اظهرت نتائج العزل والتشخيص عزل اثنتا عشرة عزلة بكتيرية ستة منها تحمل صفات بكتريا *P. aeruginosa* وستة عزلات اخرى تحمل صفات بكتريا *B. subtilis* وقد تم انتخاب عزلتيين بكتيريتين احدهما تعود لبكتريا *P. aeruginosa* وتحمل الرقم المحلي P2 والاخرى *B. subtilis* وتحمل الرقم المحلي B4على انهما الاكفا في اذابة الفوسفات في الوسط الزرعي الصلب Pikovskay لتقدير معامل الاذابة اذ سجلتا قيما قدرها 2.46 , 3.50 لكلا العزلتين على التتابع.

بينت نتائج التجربة الحقلية تفوق معاملات اللقاح البكتيري *P. aeruginosa* و *B.Subtilis* وفي جميع معايير نمو نبات زهرة الشمس وازالة الملوثات من التربة اذا تفوقت معاملة اللقاح البكتيري لبكتريا *B.Subtilis* في المساحة الورقية و قطر القرص ونسبة البوتاسيوم في المجموع الخضري وتركيز البوتاسيوم الجاهز في التربة والوزن الجاف ووزن 500 بذرة والتركيز الكلي للكادميوم في النبات اذ سجلت 18.4(سم^2), 261.6 (سم), 1.65 (%) , 34 (ملغم K كغم$^{-1}$ تربة), 214.56 (غم . نبات$^{-1}$), 275.8 (غم . نبات$^{-1}$), 3.05,كما تفوق تداخل بكتريا *P. B.Subtilis + aeruginosa* معا في تركيزالنتروجين الجاهز في التربة وتركيز الفسفور الجاهز في التربة ونسبة الفسفور في المجموع الخضري والتركيز الكلي للرصاص في النبات اذ سجلت 51.24 (ملغم N كغم$^{-1}$ تربة), 19.85 (ملغم P كغم$^{-1}$ تربة), 0.91 (%), 6.46 بالتتابع ، كما بينت النتائج تفوق معاملة اللقاح لبكتريا *P. aeruginosa* في ارتفاع النبات ونسبة النتروجين في المجموع الخضري اذ سجلت 240.1 سم, 1.243 (%) بالتتابع

قائمة المحتويات

التسلسل	الموضـــــــــــوع	الصفحة
أ	الخلاصة	أ-ت
1	المقدمة (Introduction)	1
2	مراجعة المصادر(Review of literature)	3
1.2	المعالجة الحيوية بالنبات (المعالجة النباتية Phytoremedation)	3
1.1.2	استعمال النباتات في تنقية البيئة من الملوثات	4
2.1.2	الية المعالجة النباتية في ازالة العناصر الثقيلة	6
3.1.2	اهم الطرق المستعملة في المعالجة النباتية	7
4.1.2	ازالة الملوثات باستعمال زهرة الشمس	9
2.2	المعالجة الحيوية Bioremediation	10
1.2.2	استعمال الاحياء المجهرية في تنقية البيئة من الملوثات	10
3.2	بكتيريا الزوائف *Pseudomonas*	13
1.3.2	الخصائص العامة لبكتيريا *Pseudomonas*	13
4.2	بكتريا *Pseudomonas aeruginosa*	51
1.4.2	الخصائص العامة	51
5.3	بكتريا *Bacillus*	81
1.5.2	الخصائص العامة	81
6.2	Bacillus Subtilis	20
1.6.2	الخصائص العامة	20
7.2	التلوث بالعناصر الثقيلة	21

1.7.2	عنصر الكادميوم (Cd)	23
2.7.2	عنصر الرصاص (Pb)	62
8.2	علاقة التسميد الحيوي ببكتيريا *Pseudomonas* بالتلوث بالعناصر الثقيلة)	82
9.2	علاقة التسميد الحيوي ببكتيريا *Bacillus* بالعناصر الثقيلة	30
10.2	الاسمدة الحيويــة البكتيريــة	32
11.2	نبذة تاريخية عن زهرة الشمس	43
3	المواد وطرائق العمل (Materials and methods)	63
1.3	جمع عينات التربة	63
2.3	الاوساط الزرعية والكواشف المستخدمة في عزل وتشخيص البكتريا	73
1.2.3	تحضير الأوساط الزرعية	73
1.1.2.3	وسط آكار الماكونكي (MacConky Agar Medium)	73
2.1.2.3	وسط بيكوفسكي Pikovskaya medium لعزل البكتريا المذيبة للفوسفات	73
3.1.2.3	وسط King's Broth	73
4.1.2.3	وسط أختبار الحركة Motility test medium	73
5.1.2.3	وسط مرق أحمر المثيل –فوكس بروسكاور (Methyl red-Voges proskauer broth medium)	38
6.1.2.3	وسط أكار النشأ Starch agar medium	38
7.1.2.3	وسط اختزال النترات السائل Nitrate reduction broth	38
8.1.2.3	وسط تربتوفان السائل TryptoPhan broth medium	38
9.1.2.3	وسط سترات سايمون Simmon citrate medium	39
10.1.2.3	وسط اكار ثلاثي السكريات الحديد Triple sugar iron agar medium	39
11.1.2.3	وسط الجيلاتين Gelatin liquid faction medium	39

39	Urea agar أكار اليوريا	12.1.2.3
39	CHROMagar Pseudomonas	13.1.2.3
40	Maintenance medium وسط الحفظ	14.1.2.3
40	تحضير الكواشف	2.2.3
40	Catalase reagent كاشف الكاتليز	1.2.2.3
40	voges –proskuer reagent كاشف فوكس بروسكاور	2.2.2.3
04	Methyl Red (MR) كاشف المثيل الأحمر	3.2.2.3
04	Lugol s reagent كاشف لوكال	4.2.2.3
14	Nitrate reduction كاشف أختزال النترات	5.2.2.3
14	كاشف الفنيل الأحمر	6.2.2.3
14	Gram stain ملون كرام	7.2.2.3
14	CHROMagar Pseudomonas	8.2.2.3
14	Macconkey agar وسط أكار الماكونكي	9.2.2.3
24	(T.S.I.agar test) Triple sugar iron agar test تخمر السكريات الثلاثية	10.2.2.3
24	عزل البكتريا	3.3
24	*Pseudomonas* العزل الاولي لبكتريا	1.3.3
34	Bacillus العزل الاولي لبكتريا	2.3.3
34	تنقية العزلات البكتيرية	3.3.3
44	Identification of bacteria تشخيص البكتريا	4.3
44	Cultural tests الفحوصات الزرعية	1.4.3
44	Microscopical tests الفحوصات المجهرية	2.4.3

3.4.3	الفحوصات الكيموحيوية Biochemical tests	44
6.3	التجارب المختبرية	47
1.6.3	تجربة تقدير معامل الاذابة Determination of solubilization index (SI)	47
7.3	تحاليل التربة	48
1.7.3	الصفات الكيميائية	48
2.7.3	الصفات الفيزيائية	49
3.7.3	التحليلات البيولوجية	05
10.3	القياسات النباتية	05
8.3	التجربة الحقلية	25
1.8.3	موقع تنفيذ التجربة	25
2.8.3	عوامل التجربة الحقلية	25
9.3	تحضير التربة والزراعة	45
1.9.3	العمليات الزراعية	45
2.9.3	التسميد	45
3.9.9	تلقيح البذور	55
10.3	الصفات المدروسة	55
11.3	تحليل الأجزاء النباتية (مجموع خضري)	55
4.12.3	تحليل التربة بعد الحصاد	56
13.3	التحليل الإحصائي	56
4	النتائج والمناقشة (Results and discussion)	57

1.4	نتائج تشخيص عزلات بكتريا *Pseudomonas aeruginosa*	57
1.1.4	الصفات المزرعية والمجهرية	57
2.1.4	نتائج الاختبارات الكيميوحيوية	57
2.4	نتائج تشخيص عزلات بكتريا *Bacillus subtilis*	16
1.2.4	الصفات المزرعية والمجهرية	16
2.2.4	نتائج الاختبارات الكيموحيوية	16
3.4	تقدير معامل الإذابة solubilization index (SI)	56
4.4.	تحاليل النبات	67
1.4.4	صفات النمو	67
1.1.4.4	ارتفاع النبات (سم)	67
2.1.4.4	المساحة الورقية (سم^2)	69
3.1.4.4	قطر القرص (سم)	07
4.1.4.4	نسبة النتروجين في المجموع الخضري (%)	27
5.1.4.4	نسبة الفسفور في المجموع الخضري (%)	37
6.1.4.4	نسبة البوتاسيوم في المجموع الخضري (%)	47
5.4	التركيز الكلي للعناصر الثقيلة	57
1.5.4	تركيزالكاديوم	57
2.5.4	تركيزالرصاص	77
3.5.4	تركيز الكاديوم في التربة بعد الحصاد (ملغم Cd كغم تربة$^{-1}$)	78
4.5.4	تركيز الرصاص في التربة بعد الحصاد (ملغم Pbكغم تربة$^{-1}$)	79

6.4	صفات الحاصل	08
1.6.4	وزن 500 بذرة (غم .نبات$^{-1}$)	18
2.6.4	الوزن الجاف(غم .نبات$^{-1}$)	18
7.4	تحاليل التربة بعد الزراعة	38
1.7.4	كمية النتروجين الجاهز في التربة بعد الحصاد (ملغم N كغم تربة$^{-1}$)	38
2.7.4	كمية الفسفور الجاهز في التربة بعد الحصاد (ملغم P كغم تربة$^{-1}$)	48
3.7.4	كمية البوتاسيوم الجاهز في التربة بعد الحصاد (ملغم K كغم تربة$^{-1}$)	86
5	الاستنتاجات والتوصيات	87
1.5	الاستنتاجات	87
2.5	التوصيات	87
6	المصادر	88
	المصادر العربية	88
	المصادر الأنكليزية	94
	Summary	A

فهرست الجداول

رقم الجدول	الصفحة	العنوان
1	20	الحدود المسموح بها للكادميوم الكلي في التربة والماء والنبات
2	22	الحدود المسموح بها للرصاص الكلي في التربة والماء والنبات
3	41	ارقام عينات الترب واسماء المناطق والحقول التي جمعت منها
4	58	بعض الصفات الفيزيائية والكيميائية والحيوية لتربة الحقل قبل الزراعة
5	68	الشكل المورفولوجي للعزلات البكتيرية لبكتريا pseudomonas aeruginosa
6	69	الاختبارات الكيميوحيوية لبكتريا *pseudomonas*
7	70	العزلات البكتيرية المشخصة كبكتريا *Pseudomonas aeruginosa*
8	72	الشكل المورفولوجي للعزلات البكتيرية لبكتريا *Bacillus subtilis*
9	73	الاختبارات الكيميوحيوية لبكتريا *Bacillus*
10	75	العزلات البكتيرية المشخصة كبكتريا *Bacillus subtilis*
11	77	قيم معامل الإذابة لعزلات بكتريا *P. aeruginosa* و *B. subtilis*
12	79	تاثيرلقاح بكتيريا *P. aeruginosa* وبكتيريا *B. subtilis* في قطر القرص لنبات زهرة الشمس
13	81	تاثير بكتيريا *P. aeruginosa* وبكتيريا *B. subtilis* في ارتفاع نبات زهرة الشمس
14	82	تاثير بكتيريا *P. aeruginosa* وبكتيريا *B. subtilis* في مساحة ورقة العلم لنبات زهرة الشمس
15	84	تاثير بكتيريا *P. aeruginosa* وبكتيريا *B. subtilis* على نتروجين نبات زهرة الشمس
16	85	تاثير بكتيريا *P. aeruginosa* وبكتيريا *B. subtilis* على فسفور نبات زهرة الشمس
17	86	تاثير بكتيريا *P. aeruginosa* وبكتيريا *B. subtilis* على بوتاسيوم نبات زهرة الشمس
18	87	تاثير بكتيريا *P. aeruginosa* وبكتيريا *B. subtilis* في الكادميوم نبات زهرة الشمس
19	88	تاثير بكتيريا *P. aeruginosa* وبكتيريا *B. subtilis* في الرصاص نبات زهرة الشمس

20	89	تاثير بكتيريا *P. aeruginosa* وبكتيريا *B. subtilis* على الكادميوم في التربة
21	90	تاثير بكتيريا *P. aeruginosa* وبكتيريا *B. subtilis* على الرصاص في التربة
22	92	تاثير بكتيريا *P. aeruginosa* وبكتيريا *B. subtilis* على وزن 500 حبة لنبات زهرة الشمس
23	94	تاثير بكتيريا *P. aeruginosa* وبكتيريا *B. subtilis* على الوزن الجاف لنبات زهرة الشمس
24	95	تاثير بكتيريا *P. aeruginosa* وبكتيريا *B. subtilis* في نتروجين التربة(ملغم N كغم تربة-1)
25	96	تاثير بكتيريا *P. aeruginosa* وبكتيريا *B. subtilis* على فسفور التربة
26	97	تاثير بكتيريا *P. aeruginosa* وبكتيريا *B. subtilis* على بوتاسيوم التربة

فهرست الملاحق

رقم الملحق	الصفحة	العنوان
1	114	تحضير بعض الأوساط
2	114	نمو البكتريا على وسط المكونكي
3	114	نمو البكتريا على وسط كروم اكار
4	115	تنمية البكتيريا على الاوساط الزراعية
5	115	كاشف الكاتليز
6	116	بعض الاختبارات
7	117	عمليات ادارة التربة
8	117	رية المعايرة
9	118	الرية الأولى
10	118	بعد مرور 10 أيام
11	119	بعد مرور شهر
12	119	بعد مرور 40 يوم
13	120	بعد مرور 60 يوم
	120	بعد مرور 90 يوم

1- المقدمة Introduction

من ابرز مشاكل البيئة واصعبها حلا واكثرها تعقيدا مشكلة تلوث التربة والمياة ، وينتج هذا التلوث من نفايات ومخلفات المصانع، واستعمال المواد الكيميائية، مثل الاسمدة الزراعية و مبيدات الافات ، كما ينتج عن نفايات مخلفات المباني و المنازل والمنشات الاخرى ويؤدي تلوث التربة الى انخفاض انتاجية المحاصيل الزراعية نتيجة لرداءة نوعية التربة الملوثة (الدايني ,2019).

ان عنصري الكادميوم والرصاص هما من أكثر العناصر الملوثة الموجودة في الطبيعة التي لها تاثيرات ضارة على صحة الانسان والحيوان ومن مصادرها في الطبيعة هي مخلفات مجاري المدن والمصانع هناك اختلاف في سلوكية العناصر عند دخولها الى النسيج النباتي داخل الانسجة النباتية صالح (2012).وبذلك اشارت دراسات حديثة الى ان من الضروري التخلص من هذه العناصر الثقيلة وابتكار طرق معالجة مختلفة لغرض التخلص منها بسبب قدرة هذه العناصر على الدخول في السلسلة الغذائية (Abdullahi واخرون ،2021).

اهتم الباحثون بايجاد الوسائل الكفيلة بتجنب الاضرار التي تحدثها الملوثات الكيميائية وخاصة العناصر الثقيلة منها، ومن بين هذه الوسائل ما ظهر مؤخرا من اسلوب المعالجة الحيوية Bioremediation الذي ينص على توظيف بعض الاحياء المجهرية في التخلص من الملوثات الكيميائية والمبيدات. ان نجاح اللقاح الحيوي المضاف الى وسط نمو النبات يعتمد على كفاءة الكائن الحي المستعمل، مدى توافق الكائن الحي المجهري مع العائل النباتي وقدرة الكائن الحي المجهري على التنافس مع الكائنات المجهرية الحية الموجودة في التربة (الجبوري ,2016).

تعد بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* احد الانواع البكتيرية المتوافرة في جميع مجالات النظام البيئي ولا سيما بيئة التربة،ان هذه البكتريا واسعة الانتشار وتستطيع العيش في ظروف بيئية متنوعة، و تتميز بتعدد نشاطها ومرونتها العالية في التغذية وتحلل المركبات الهيدروكاربونية والملوثات الكيميائية المتنوعة (Batrich واخرون ,2019). حيث ان جميع اجناس *Pseudomonas* اظهرت قابلية عالية على

امتصـاص العناصـر الثقيلـة مـن التربـة باسـتعمال نباتـات لهـا القابليـة علـى امتصـاص العناصـر الثقيلـة عنـد معاملتـه بالاحيـاء المجهريـة (Turan واخـرون,2014).كمـا ان بكتريـا *Bacillus subtilis* هـي أحـدى أهـم أنـواع بكتريـا الرايزوسـفير التـي تمتلـك ميكانيكيـات متطـورة لتحفيـز نمـو النبـات وزيـادة قدرتـة علـى المعالجـة النباتيـة للعناصـر الثقيلـة (Oteino واخـرون 2015) وبينـت الكثيـر مـن الدراسـات قابليـة الازالـة الحيويـة للعناصـر الثقيلـة فـي التربـة باسـتعمال عـزلات محليـة مـن بكتريـا *Bacillius subtilis* فـي تربـة ملوثـة حيـث اظهـرت النتـائج ان العـزلات اثبتـت مقـدرتهما علـى ازالـة العناصـر الثقيلة من التربة (الهام واخرون,2017).

وقـد اشـار الكثيـر مـن البـاحثين الـى ان هنـاك انـواع مختلفـة مـن النباتـات التـي لهـا القـدرة علـى امتصـاص العناصـر الملوثـة مـن التربـة وتسـتعمل غالبـا كمؤشـرات حيويـة فـي مراقبـة التلـوث بالعناصـر الثقيلـة ومـن هـذه النباتـات نبـات زهـرة الشـمس الـذي لـه القـدرة علـى تجميـع الرصـاص والكـادميوم فـي الاجـزاء الخضـرية اذ يعـد مـن النباتـات المسـتعملة فـي تقنيـة المعالجـة الحيويـة النباتيـة لازالـة الملوثـات مـن التربـة (Bhat واخـرون ،2022) يعـد محصـول زهـرة الشـمس مـن المحاصـيل الرئيسـة المهمـة فـي العـراق ، اذ ان لـه اسـتعمالات متنوعـة منهـا اسـتخراج الزيـت بالنسـبة للاصـناف الزيتيـة فضـلا عـن استعماله علفا(المغير, 2019) ،

ونظرا لاهمية هذا الموضوع فقد جاءت هذه الدراسة لتوضيح : -

1. دور بكتيريـا *pseudomonas aeruginosa* و *Bacillus subtilis* فـي المعالجة الحيوية للترب الملوثه بالرصاص والكادميوم .
2. المعالجـة النباتيـة للكـادميوم والرصـاص باسـتعمال نبـات زهـرة الشـمس *Helianthus annuus L*
3. دراسـة تـأثير التـداخل بـين بكتيريـا *pseudomonas aeruginosa* و *Bacillus subtilis* ونبات زهرة الشمس في معالجة الترب الملوثة .

2- مراجعة المصادر literature of Review

2-1-المعالجة الحيوية Bioremediation

2-1-2-استعمال الاحياء المجهرية في تنقية البيئة من الملوثات

Bioremediation ويقصد بها المعالجة البايلوجية التي تعتمد على النبات والبكتيريا الجذرية المرتبطة بها واحدة من اهم الاستراتيجيات التي يمكن استعمالها لازالة التلوث (Abdullah واخرون 2019) وتشمل المعالجة الحيوية Bioremedation استعمال اللقاحات الحيوية سواء كانت لقاحات بكتيرية وفطرية وطحلبية في تحطيم المركبات السامة وتحويلها الى مركبات اقل سمية حيث ان الاحياء لها القدرة على امتصاص العناصر الثقيلة بالاستخلاص الحيوي المعزز باستعمال المواد القادرة على خلب العناصرالثقيلة (January , 2006).

أشار الكثير من الباحثين الى ان عملية المعالجة الحيوية هي عملية صديقة للبيئة وغير ضارة حيث تقوم بازالة الاثار الضارة التي تسببها هذين العنصرين (الكادميوم والرصاص) على الانسان والنبات بشكل خاص (ettiarachchi واخرون 2012)

وقد يشير هذا المصطلح الى مفهوم استعمال التداخل بين النباتات والاحياء المجهرية وتوظيف هذا التداخل فيما بينها لغرض التخلص من الملوثات التي من شانها تؤثر على الانسان والحيوان بشكل خاص ومنها عنصري الكادميوم والرصاص حيث ان هناك بعض النباتات التي لها القدرة على تجميع العناصر الملوثة داخل اجزاءها الخضرية والجذرية لذلك تستعمل في المعالجات الحيوية مع الاحياء المجهرية للترب الملوثة بالعناصر الثقيلة كذلك تعمل على تقليل زمن المعالجة من خلال امتلاكها معدل نمو عال وامتلاكها قابيله كبيرة على نقل وتكوين كتلة حيوية (Mahmood, 2010)

فان النهج البيولوجي (المعالجة الحيوية) ، الذي يتم تحقيقه من خلال العمليات الطبيعية التي تتضمن زراعة نباتات لها القابلية على امتصاص الملوثات من التربة يشجع على استعمال التربة المعالجة لنمو النباتات الاقتصادية بالمقارنة مع تقنيات المعالجة الاخرى اضافة الى ذلك فهي تقنية صديقة للبيئة ومجدية اقتصاديا (Malik واخرون 2020)

تتمثل الطرق التقليدية لمعالجة المواقع الملوثة بالعناصر الثقيلة هي عملية في التنقيب والطمر وان هذه التقنيات تكون مناسبة للسيطرة على التلوث ولكن ليس ازالة العناصر الثقيلة الملوثة وبشكل دائم من التربة، ومع ذلك فان لها بعض العيوب من بينها الكلفة العالية وتكون نواتج ثانية جراء الطمر من ناحية اخرى من المحتمل ان تحل المواد بايلوجيا هذه العيوب كذلك العناصر الثقيلة لها كثافة عالية نسبيًا سامة حتى عندما يكون تركيزها منخفضا (Bahi واخرون 2012)

اذ ان استعمار الجذور بالبكتريا المحللة للملوثات تسمح بتغلغل وانتشار هذه البكتريا المفيدة الى مناطق اخرى من التربة . هذه العمليات التي تحدث بشكل طبيعي تكون فعالة في معالجة عدد كبير من الملوثات البيئية وتحللها (علي واخرون, 2022).

فقد بين Mariusz ،وأخرون (2018) ان بالامكان معالجة التلوث الناتج عن الهيدروكربونات البترولية من خلال الاحياء وبالتحديد البكتريا المحللة للهيدروكربونات البترولية المتواجدة في كل مكان في الطبيعة ويمكن استعمالها كمصدر للكاربون والطاقة ، لذا تم استعمال البكتريا للتقليل من الملوثات التي تنتجها الصناعات الكيميائية ، اذ ان تعامل البكتريا مع الملوثات البيئية اصبح تقنية واعدة بسبب تكلفتها المنخفضة وأنها صديقة للبيئة الطبيعية (Guerra ،واخرون .2018)

بين Ayandele (2018) أن أعلى نسبة تحلل بعد 10 اسابيع من المعالجة الاحيائية بلغت 89.2 البكتريا Micrococcus بينما بلغت نسبة التحلل لفطر Rhizopus sp أقل من 79.9% فقد اتضح ان للفطريات دورا في تحلل الهيدروكربونات اذ تمكن فطر Aspergillus ochraceus من تحليل الكيروسين

تعد العناصر المغذية من العوامل المهمة التي يجب الاشارة اليها كونها ضرورية جداً في المعالجة الحيوية، اذ وجب توافرها لعمل الميكروبات المحللة، ومن اهم العناصر الغذائية التي يجب توافرها لضمان التحلل الحيوي الناجح هي النيتروجين والفسفور والحديد احيانا.(Al-Hawash واخرون , 2018)

اذ أكد Navarro-Leon واخرون (2019) أن تلوث التربة بالملوثات العضوية والمركبات الكيميائية يؤثر على نمو النبات ويؤخر نموها ويثبط تنفسها ، اذ بين

Abed واخـــرون ، (2019) أن جـــذور نبـــات الجـــزر المعامـــل بالمشـــتقات النفطيـــة اصـبحت ذات شـكل غيـر منـتظم وصـغر حجمهـا وعـدم انتظـام فروعهـا الجذريـة مقارنـة بالمعاملة غير معاملة بالمشتقات .

أشـــار Gosa (2015) الـــى أن العديـــد مـــن الدراســـات اوضـــحت أن الميكروبـــات لـــديها القـدرة علـى ازالـة العناصـر التقيلـة مـن التربـة الملوثـة بهـا جـراء الانشـطة البشـرية المختلفـة ومنهـا عنصـر الكـادميوم والزنـك والنحـاس والرصـاص و مـن بـين أمـور أخـرى بعـض الكائنـات الحيـة الدقيقـة التـي تلعـب دورا كبيـرا فـي المعالجـة الحيويـة للمعـادن الثقيلـة ومن هذه الاحياء*Bacillus spp*.

2-2-المعالجة بالنبات او المعالجة النباتية (PHytoremedation)

هـي مجمـوع العمليـات التـي يقـوم بهـا النبـات لامتصـاص العناصـر الثقيلـة و السـامة مـن التربـة وقـد تعـرف علـى انهـا الطريقـة التـي يـتم بواسـطتها خفـض تراكيـز الملوثـات فـي التربـة مـن خـلال امتصاصـها مـن قبـل النباتـات المزروعـة وهـي طريقـة ممتـازة لازالـة الملوثات وتنظيفها من التربة.(Mudgal واخرون 2010)

بينمـا عـرف Keshav واخـرون (2010) علـى انهـا تقنيـة تعتمـد علـى اسـتعمال نظـام بـايولوجي متمثـل بزراعـة نبـات مجمـع للعناصـر الثقيلـة (الملوثـات) اومتحمـل لهـا . يشـير الميـاحي(2008) ان Phytoremediation الـى قـدرة النباتـات فـي معالجـة الملـوث، اذ ان بعـض النباتـات طـورت مـن امكانياتهـا فـي ازالـة بعـض الملوثـات بشـكل اختيـاري مـن التربـة او تقييـد حركتهـا فـي التربـة او المـاء مـن خـلال فعاليتهـا الحيويـة والكيميائيـة والفيزيائيـة او كنتيجـة لطبيعـة تكيفهـا للعـيش فـي التـرب الملوثـة بالعناصـر الثقيلـة وتتضمن امكانية الامتصاص وتنظيم توزيع العناصر داخل انسجة النبات.

المعالجـة الحيويـة (النباتيـة) تسـتعمل لتقليـل تـاثير الملوثـات الصـناعية اوالزراعيـة فـي التـرب الملوثـة والتـي تـؤدي بـدورها الـى أزالـة سـمية العناصـر الثقيلـة الملوثـة للتربـة وتعـد هـذه الطريقـة مقبولـة و صـديقة للبيئـة اي انهـا تقنيـة ازالـة الملوثـات باقـل نـواتج عرضية ممكنة و قليلة التكلفة . (Karami و Shamsuddin ,2010)

ذكـر(Vijayalakshmi ,2010) ان المعالجـة النباتيـة طريقـة واطئـة الكلفـة وذات كفـاءة عاليـة مقارنـة مـع اسـتعمال الطـرق الكيميائيـة الاخـرى ، اذ يـتم فـي هـذه العمليـة اسـتعمال نباتـات مجمعـة للعناصـر الثقيلـة ولهـا قابليـة تجميـع عاليـة فـي داخـل انسـجة النبـات.ان زيـادة كفـاءة الاستصـلاح الحيـوي يعتمـد علـى عـدة عوامـل منهـا الملوثـات الرئيسـة و الظـروف المناخيـة واختيـار النبـات الملائـم , ان استصـلاح الملوثـات بصـورة رئيسـة باسـتعمال طريقـة Phytoremedation والتـي تسـتعمل النباتـات كدالـة للتمثيـل والسـيطرة علـى الملوثـات وتـتم هـذه العمليـة باسـتعمال ميكانيكيـات متعـددة . (Mukhopdhyay وMaiti ,2010) . كمـا أشـار Chhotu و Fulekar (2009) الـى ان المعالجـة الحيويـة باسـتعمال النباتـات تعـد تقنيـة حديثـة تسـتعمل لتنظيـف المواقـع الملوثـة ولهـا اضـرار قليلـة وذات كفـاءة عاليـة وهـي طريقـة مفضـلة للتـرب ذات التلـوث السـطحي بالعناصـر الثقيلـة اوالملوثـات العضـوية . أسـتخدم Sarma واخـرون (2019) المعالجـة النباتيـة للتربـة الملوثـة بالهيـدروكربونات الملقـاة مـن المصـافي النفطيـة فـي الهنـد، واوضـحت النتـائج ان اضـافة الفحـم الحيـوي (المنـتج النبـاتي الغنـي بـالكربون الـى التربـة الملوثـة بـ (PAHs) ادى الـى اثـار ايجابيـة فـي ازالـة (PAHs) من قبل النبات وبمساعدة الميكروبات النباتية الجذرية.

2-2-1-استعمال النباتات في تنقية البيئة من الملوثات

المعالجـة النباتيـة هـي الطريقـة التـي يـتم بوسـطتها خفـض تراكيـز الملوثـات فـي التربـة مـن خـلال أمتصاصـها مـن قبـل النباتـات المزروعـة وهـي طريقـة ممتـازة لازالـة الملوثـات وتنظيفهـا مـن التربـة, حيـث تعـد طريقـة واطئـة الكلفـة وذات كفـاءة عاليـة مقارنـة مـع أسـتعمال الطـرق الكيميائيـة الاخـرى ، اذ يـتم فـي هـذه العمليـة اسـتعمال نباتـات متراكمـة للعناصـر الثقيلـة ولهـا قابليـة تجميـع عاليـة فـي داخـل انسـجة النبـات (Karami وShamsuddin، 2010) .

و طريقـة تقنيـة المعالجـة النباتيـة ال Phytoremediation فـي تنقيـة البيئـات الملوثـة، وهـي الاكثـر حيويـة ورخيصـة وذات فوائـد بيئيـة متعـددة(Azhar واخـرون , 2006)

وتتواجد هذه النباتات بشكل طبيعي او تكون معدلة وراثيا مع ميكروبات التربة لازالة الملوثات من البيئة او لتحويلها الى شكل غير مؤذي .وتمتاز هذه الطريقة بانها تحافظ على خصائص التربة، كما انها صديقة للبيئة ويمكن تطبيق هذه التقنية على الملوثات العضوية واللاعضوية الموجودة في التربة الرسوبيات او الماء او الهواء في ان واحد ((Malikواخرون 2020)

تختلف النباتات في امتصاصها للعناصر من قبل الجذور ونقلها للسيقان واالوراق بأختلاف نوع النبات عمق الجذور وعمر النبات وحركة وتثبيت العناصر بواسطة الجذور في التربة وهذه هي العوامل المحددة لسلوكية العناصر الثقيلة وأمتصاصها ونقلها للنبات (فضل والسعيدي،2018) .

ان الميكروبات التي تعيش في التربة الملوثة المحيطة بالنباتات تزيد من توافر العناصر الاساسية لنمو النبات وتطوره، اذ ستوفر الاستراتيجية التي تشتمل على كل من النبات والميكروبات تقنية قابلة للتطبيق ومناسبة للمعالجة السريعة التربة الملوثة بالهيدروكربونات وبالمقابل فان النبات يعمل على توفيرالكربون ومصادر الطاقة للبكتريا الجذرية المتركزة في منطقة الجذر(Hussain ، واخرون 2018)

أكد Udo, Aniefiok (2019) على دور النباتات والميكروبات لمعالجة التربة الملوثة من خلال تحلل الهيدروكربونات نتيجة التفاعلات التي تحدث بين النباتات والميكروبات فيما يتعلق بالتحلل الحيوي . فقد بين علاوي (2019) عند استخدم نبات الجت بالتازر مع بكتر ايا الرايزوبيا عند اضافة اللقاح Rhizobium meliloti . لمعالجة التربة الملوثة بالنفط الاسود ان التحلل الحيوي بلغ 90.35% عند (1%)، اما عند2% فقد كانت نسبة التحلل الحيوي لمعاملة اضافة اللقاح 80.70%.

بين الدوسري ، (2021) أن نسبة أزالة الهيدروكربونات بأستعمال بكتريا الرايزوبيا ونبات البرسيم بلغت (57.28% ، 59.10%، 59.33% عند مستوى الملوثات 2 و 3 و 4% على الترتيب تعمل على زيادة امتصاص المغذيات وانتاج الفيتامينات والهرمونات (انتاج الاوكسينات وحامض الجبرلين والسايتوكاينينات وافراز المركبات الفينولية والدبالية) وكذلك تشجع التثبيت الحيوي للنتروجين الجوي في

النبـات (التميمـي والسـامرائي ، (2018) .اذ تعـد البكتريـا المذيبـة للفوسـفات ذات طاقـة عاليـة كسـماد حيـوي ولاسـيما فـي التـرب قليلـة المحتـوى منالفسـفور وكـذلك لهـا القابليـة علـى تقليـل والسـيطرة علـى أمـراض النباتـات وأنتـاج مضـادات حيويـة (Dubeyواخـرون ، 2020).

ولاحـظ Souhir واخـرون، (2018) ان زيـادة الملوثـات قـد أثـرت علـى أنتاجيـة النبـات وكتلتهـة الحيويـة عنـد زراعـة نبـات الهرطمـان بتربـة ملوثـة بالعناصـر الثقيلـة وعنـد معاملتـة بلقـاح الرايزوبيـا تـم زيـادة انتـاج النبـات وانخفـاض الملوثـات لـذا يمكـن تصـنيفه مـن النباتات المعالجة للمواقع الملوثة عند معاملتة بالاحياء المجهرية.

ويجـب أن تمتلـك الانـواع النباتيـة المثاليـة المسـتعملة لتقنيـة ال Phytoremediation كتلـة حيـة عاليـة وسـريعة النمـو وقـادرة علـى مراكمـة كميـات كبيـرة مـن العناصـر التقيلـة ومتحملـة لهـا وذات مجمـوع جـذري متطـور ومتحملـة لظـروف بيئيـة مختلفـة ومقاومـة للامراض والحشرات (Kafle واخرون,2022).

2-2-2-الية المعالجة النباتية في ازالة العناصر الثقيلة

ذكـر Sharma واخـرون (2023) الاليـات المختلفـة لمعالجـة وازالـة العناصـر الثقيلـة من التربة بوساطة النباتات بالتالي:-

1-تحفيز وتنشيط فعالية الاحياء المجهرية في المنطقة الجذرية.

2- تعقيد و ترسيب الملوثات الاروماتية بالانزيمات التي تفرزها الجذور .

3-تكسير المواد العضوية المعقدة بالانزيمات التي تفرزها الانسجة النباتية.

4-تجميـع العناصـر الثقيلـة او تقييـد حركـة و فعاليـة العناصـر بشـكل كبيـر فـي الانسجة النباتية (الاستخلاص النباتـي و الترشيح الجذري والتطاير.

وتكـون اليـات معالجـة التـرب الملوثـة بالعناصـر الثقيلـة بالنباتـات مـن خـلال عمليـات الترسـيب والترشـيح والامتـزاز والامتصـاص والاكسـدة والاختـزال (Mahmood،2010)

2-2-3-اهم الطرق المستعملة في المعالجة النباتية

تضـم تقنيـة ال**Phytoremediation** طـرق عديـدة لمعالجـة التربـة و المـاء والهـواء الملـوث وقـد أتفقـت أراء معظـم البـاحثين (Keller واخـرون ,2006) حـول وجـود سـبع عمليـات اساسـية مهمـة للمعالجـة النباتيـة لازالـة الملوثـات مـن التـرب والميـاه الملوثـة والرواسب ويمكن اجمالها

بالطرق التالية:

1-الاستخلاص النباتي Phytoextraction

تمـتص جـذور النباتـات بهـذه الطريقـة الملوثـات العضـوية واللاعضـوية ومنهـا العناصـر التقيلـة مـن التربـة وتراكمهـا فـي اجزائهـا الهوائيـة القابلـة للحصـاد ، ومـن ثـم تحصـد هـذه الاجـزاء لازالـة الملوثـات مـن التربـة بشـكل نهـائي وتتميـز النباتـات المختـارة Phytoextraction بعـض الخصـائص منهـا سـريعة النمـو وقـادرة علـى النمـو بشـكل مسـتمر، متحملـة للتلـوث متاقلمـة مـع الظـروف البيئيـة ومقاومـة للامـراض والحشـرات (Watson و Pulford ,2003)

2-التحطيم النباتي Phytodegradation

وتـدعى ايضـا Phyturansfermatonحيـث يقـوم النبـات بامتصـاص الملوثـات العضـوية مـن التربـة المـاء او الرسـوبيات عبـر جـذوره ونقلهـا الـى اجزائـه الهوائيـة ومـن ثـم تفكيكهـا بمسـاعدة انزيمـات النبـات او الميكروبـات وتحويلهـا الـى مركبـات متطـايرة او تخزينهـا فـي النبـات (Shah و Yang ,2007) او يحطمهـا خارجـا (Rhizodegradation) بواسـطة بعـض البروتينـات والانزيمـات التـي ينتجهـا النبـات او الكائنـات الحيـة الدقيقـة فـي التربة وذلك ضمن منطقة الRhizosPhere .

تعد عملية ال Rhizodegradation علاقة تكافلية تنشا بين النباتات والميكروبات، تقدم فيها النباتات المواد الغذائية الضرورية لازدهار المجتمعات الميكروبية، بينما تقدم الميكروبات بيئة تربة سليمة لنمو النباتات (صالح , 2012).

3-التثبيت النباتي Phytostabilisation

تقوم النباتات بهذه الطريقة بتثبيت وتعقيد الملوثات وبالتالي شل حركتها او منع هجرتها، حيث تتحرر من الجذور مواد كيميائية تقوم بتثبيت (تقييد) الملوثات وبالتالي عدم اتاحتها لذلك تسمى احيانا Phytoimmobilization هو ايضا Phyturestoration وتتميز الاشجار المستعملة بـ Phytostabilization- بنظام جذري متطور وكتلة حية عالية (Susarla واخرون ,2003)

من اهم فوائد هذه النباتات التقليل من هجرة الملوثات داخل طبقات التربة وبالتالي الحد من تلوث المياه الجوفية، وكذلك الحد من انتقال الملوثات الى مناطق اخرى ومن ثم حماية البيئة والانسان من مخاطرها(Hooda, 2007) .

4-الترشيح النباتي Phytofiltration

وهي تقنية استعمال النباتات المائية والارضية التي تقوم بامتصاص المعادن الثقيلة من المصادر المائية الملوثة وتركزها في جذورها (Vandenhove, 2006)

وبشكل عام تفضل النباتات الارضية على المائية لانها تمتلك جهازا جذريا ليفيا واكثر طولا حيث يساعد على زيادة مساحة انتشار الجذور (Jadia و fulekar ,2009).

5-التطاير النباتي Phytovolatilization

تقوم النباتات بامتصاص الملوثات العضوية وغير العضوية من التربة او الماء ومن ثم نقلها الى الاوراق وتحويلها الى مركبات طيّارة (غازات) ثم تطرحها الى الغلاف الجوي تستعمل هذه التقنية بالدرجة الاولى لازالة الزئبق حيث تحوله الى زئبق عنصري اقل سمية يحرر الى الجو، وتكمن الخطورة في هذه الحالة بامكانية تجدد الخطر عن عودة الزئبق مع المطر لينتج ميثيل الزئبق مجددا بواسطة البكتيريا اللاهوائية (يوسف,2012).

6- تحليل الجذور Rhizodegradation:

يُحطَّم الملوِّث في هذه الحالة من خلال نشاط الجذور أو محيطها، حيث تتوفر الإنزيمات والمساعدات الإنزيمية التي تفرزها الجذور. كما قد تساهم مكروبات المحيط الجذري مثل البكتريا والخمائر والفطريات في هذا التحطيم. ويبدو أن العلاقة بين النبات والأحياء الدقيقة في المحيط الجذري علاقة تعاضدية يقدم من خلالها النبات المغذِّيات الضرورية للمكروبات في حين توفر الأحياء الدقيقة تربة أكثر سلامة.

7-الضخ النباتي Phytopumping والسيطرة على التوازن المائي:

يقوم النبات في هذه الحالة بدور مضخة عضوية تسحب حجماً أكبر من الماء الملوث من خلال عملية النتح مما يسبب خفض هجرة المادة الملوثة إلى الماء الأرضي مع احتمال امتصاصه. وكلما زادت قدرة النبات على سحب كميات أكبر من الماء؛ كان أفضل لتحقيق هذا الغرض، ويعدّ نبات الصفصاف متميزاً في هذا المجال؛ إذ يمكن أن تضخ الشجرة الواحدة نحو 200 لترٍ من الماء في اليوم مما يجعله صالحاً لمعالجة تلوث الماء الأرضي غير العميق.

2-2-4-ازالة الملوثات باستعمال زهرة الشمس

يعد تلوث النباتات من المشاكل البيئية المهمة في الوقت الحاضر بسبب الحاجة الملحة للنباتات لكونها المصدر الرئيس لتغذية الحيوان والانسان ، ويعرف تلوث النبات بانه ارتفاع تراكيز العناصر الثقيلة والمواد الاخرى في انسجتها اذ تفوق الحدود المسموح بها والتي تقوم بالحاق الضرر بكل من يستهلك هذه النباتات سواءا كان حيوانا ام انسانا (Salma واخرون ،2006).

توصل Dhiman واخرون (2017) في دراسة قاموا بها على المعالجة النباتية للترب المتاثرة بالملوثات من خلال زراعة نبات زهرة الشمس ومعرفة قدرته وقابليته على امتصاص هذه الملوثات من التربة متمثلة بالعناصر الثقيلة حيث اظهرت النتائج من خلال دراسة عامل التراكم للعناصر الثقيلة داخل اجزاء النبات ان هناك فرطاً تراكمياً بمقدار 2.5 مرة من العنصر التقيل في الكتلة الحيوية للاوراق والازهار مقارنة بتركيز هذا العنصر الملوث في التربة وهذا يعطي مؤشراً عن قابلية هذه النباتات على امتصاص الملوثات من التربة مؤشر عن قابلية هذه النباتات على امتصاص الملوثات من التربة.

حيث اظهرت أهم النتائج التي توصلوا لها الباحثين أن جميع انواع *Pseudomonas* أظهرت قابلية عالية على زيادة قدرة نبات زهرة الشمس على الاستصلاح الحيوي لعنصري الرصاص والزنك وعند اجراء تحليل لاجزاء النبات نهاية التجربة تم التوصل الى عامل الانتقال الحيوي الذي تم تقييمة أعطى مؤشر الى أن انتقال عنصر الزنك كان سريعا عن طريق الجذور عند معاملتها بهذه الاحياء وقد كان أنتقال الزنك أعلى من انتقال الرصاص عند المعاملة الحيوية في نفس المعاملات الحيوية، أضافةً الى أن نبات زهرة الشمس له قدرة عالية على أمتصاص العناصر الثقيلة من التربة عند معاملته بالاحياء المجهرية (Turan و اخرون , 2014) .

أشارت Alori واخرون (2018) في دراسة قاموا بها حول الاستصلاح الحيوي لتربة ملوثة بعنصري الرصاص (Pb) والزنك (Zn) من خلال زراعة نبات زهرة الشمس ومعاملتها بالاحياء المجهرية في تربة ذات نسجة رملية(Loamy sand)

وجدت الخزعلي والتميمي (2014) في دراسة قاموا بها لمعرفة دور المعالجة الحيوية في ازالة عنصري الرصاص والكادميوم لتربة مسمدة بسماد كيميائي وعضوية ومروية بمياه مختلفة الملوحة وباستعمال محصول زهرة الشمس حيث اظهرت النتائج ان نوعية المياه المختلفة المستعملة في الدراسة ومستويات السماد الفوسفاتي والعضوي والتداخل فيما بينهما أدت الى حدوث اختلافات معنوية في تركيز عنصري الكادميوم والرصاص في المجموعة الخضرية والجذرية لنبات زهرة الشمس اعتمادا على الحدود المسموح بها لتركيز عنصري الكادميوم والرصاص (0.2) و 5 ملغم كغم" مادة جافة) في النبات وكما توصل الباحثان الى ان جميع نباتات زهرة الشمس كانت ملوثة بعنصر الكادميوم وان عنصر الرصاص سلك سلوك مشابه تقريبا لسوك عنصر الكادميوم من حيث تركيزه في اجزاء النبات العناصر الثقيلة الاكثر شيوعا في الطبيعة والتي لها تاثيرات ضارة على صحة الانسان هي Cd و Cr و CU و Hg و Pbو n2 التي يزيد عددها الذري عن 20 ولها خصائص معدنية مختلفة حيث ان لا يمكن تحلل هذه العناصر الثقيلة بسهولة ، وعادة ما يتطلب الازالة الحيوية من التربة (2015, Alori)

اشار الكثير من الباحثين الى ان هناك انواع مختلفة من النباتات التي لها القدرة على امتصاص العناصر الملوثة من التربة ومن هذه النباتات هو نبات زهرة الشمس الذي له القدرة على تجميع الرصاص والكادميوم في الاجزاء الخضرية والاجزاء الجذرية او يعد كنبات Hyperaccumulate اذ يعد من النباتات المستعملة في تقنية المعالجة الحيوية للملوثات من التربة (Mukhta واخرون2010).

تتباين النباتات فيما بينها في امتصاصها للعناصر الثقيلة فهناك انواع معينة من النباتات تستطيع ان تجمع كميات كبيرة من الملوثات في انسجتها من دون ان تظهر عليها اثار السمية (Bennett واخرون , 2003) وان مثل هذه النباتات تستعمل لازالة العناصر الملوثة من التربة وبكفاءة عالية . أشار Mohammad واخرون (2010) الى ان النباتات المراكمة والمستعملة في المعالجة النباتية (Phytoremediation) تمتلك قابلية عالية على سحب العناصر الثقيلة او استخلاصها داخل جذورها ولها القدرة العالية على تجميع هذه العناصر في جذورها

وتمتلك معدل نمو عالي فضلا على امتلاكها للقابلية العالية على تكوين كتلة حيوية كبيرة الوزن ونقل وتحويل العناصر الثقيلة الى الجزء العلوي من النبات (الساق والاوراق). بين عبد اللطيف (2016) في دراسته حول تاثير اضافة الحماة في تلوث التربة والنبات انه عند اضافة المستوى 90 غم. كغم $^{-1}$ من وزن التربة ادى الى زيادة تراكيز الرصاص والكادميوم وتراكمها في اجزاء النبات (الجذر والساق والاوراق) في تربتي الدراسة، وكان تراكم عنصري Cd , Pb في اجزاء النبات بالترتيب التالي

الورقة > الجذر > الساق و الجذر > الاوراق > الساق بالتتابع.

وضعت الكثير من المؤسسات البحثية الدولية و المنظمات العالمية عددا من التصانيف والحدود المسموح بها لتراكيز العناصر الثقيلة في اجزاء النبات المختلفة وقد اختلفت هذه المؤسسات والمنظمات في المدى المسموح به لتراكيز العناصر الثقيلة داخل النبات بالاعتماد على طبيعة التربة والظروف البيئة المحيطة فضلا عن سياسات الدول الاقتصادية, وسنختار تصنيفا عالميا واحدا اتخذته عدة دول هو نظام منظمة الغذاء والزراعة والصحة العالمية (WHO/FAO، 2007).لاحظ Abduljaba و Sameera (2017)في دراسة قاموا بها لمعرفة تركيز العناصر قدرة عالية على تجميع كميات من العناصر الملوثة داخل النبات ومنها نبات الخباز والكلغان وهذا يعطي مؤشر الى أمكانية الاستعمال مثل هذه النباتات كمستصلح حيوي للترب الملوثة بالعناصر الثقيلة وخاصة عنصري الكادميوم والرصاص اللذان يعدان من اكثر العناصر الثقيلة سمية في التربة.

2-3- بكتيريا الزوائف *Pseudomonas*

2-3-1- الخصائص العامة لبكتيريا *Pseudomonas*

ينتمي هذا الجنس البكتيري الى مملكة Domain bacteria والشعبة Proteo bacteria والصنف Gama proteo bacteria والرتبة Pseudomonadales والعائلة Pseudomonadacae (Palleroni واخرون ,2004). يوجد هذا الجنس البكتيري في نطاق واسع في التربة والمياه والنبات والحيوان والانسان مسببة امراضا

متنوعة للكائنات الحية ، ان البكتريا المنضوية تحت هذا الجنس من النوع السالب لملون كرام (G^{-ve}) متحركة (motile)، وهوائية (aerobic)، وعصوية (rods)، وبعضها منتجة لصبغات ذائبة في الماء (water- soluble pigments).

اعتمد تصنيف هذا الجنس على الصفات الوراثية (rRNA/DNA) وعلى الخصائص الزرعية (culture characteristics) (slonczewski و foster ،2013) ومن اهم انواعها:

Pseudomonas putida *Pseudomonas aeurginosa* *Pseudomonas fluorescens* *Pseudomonas stutzer* *Pseudomonas mendocina*

ينتمي جنس *Pseudomonas* الى العائلة *Pseudomonadaceae* ويشتمل على عدد كبير من الانواع المهمة من البكتريا (اكثر من 140 نوع) التي توجد بوفرة بشكل كائنات حرة المعيشة في التربة والماء العذب والبيئات البحرية ، وتوجد ايضا مترافقة مع النباتات او الحيوانات بوصفها نبيتا" طبيعيا (normal flora)"او عاملا"ممرضا.

افراد هذا الجنس رمية المعيشة (SaproPhytes)ذات تغذية كيميائيه عضوية (chemoorganotroPhs)هوائية ، و تعتمد على سلاسل نقل الالكترون لانتاج ATP وبالرغم من ان معظمها هوائية اجبارية الا ان قسما منها مثل *Pseudomonas aeruginosa*تستطيع ان تبقى على قيد الحياة في البيئات غير الهوائية عن طريق استعمال النترات مستقبلا" نهائيا"للالكترون؛ وبذلك تؤدي دورآ في تثبيت النتروجين ، كذلك يمكن ان تنمو لاهوائيا ولو ببطء بوجود الارجنين (arginine وكميات قليلة من مستخلص الخميرة (yeast extract) (Ali واخرون,2020)

صنفت انواع *Pseudomonas* الى خمس مجاميع اعتمادا على التشابه في RNA الرايبوسومي ، و سميت هذهِ المجاميع بـ(RNA similarity groups)

2-4- بكتريا *Pseudomonas aeruginosa*

2-4-1- الخصائص العامة

تتصف بكتريا *P. aeruginosa* بانها عصيات سالبة لصبغة كرام، تظهر بشكل منفرد او سلاسل قصيرة ومتحركة لامتلاكها سوطا قطبيا واحد Pollar flagella او عدة اسواط Several flagellan ، غير مكونة للسبورات Non-spore forming وتكون موجبة لانزيمي الكاتليز (Catalase) والاوكسيديز(Oxidase) ، وتشبه اعضاء العائلة المعوية Enterobacteriace ولكنها تختلف عنها بانها هوائية اجبارية Obligately aerobes اذ تحصل على الطاقة من الكاربوهيدرات بوساطة الاكسدة وليس التخمر النمو والبقاء على قيد الحياة حتى مع توفر عوامل نمو بسيطة مما يساعدها على البقاء ولمدة طويلة وتسمى Nonfermenters لانها غير مخمرة لسكر الكلوكوز (Levinson, 2016) لها القدرة على النموعلى السطوح والمعدات الطبية مسببة عدوى المستشفيات Nosocomial infection ، ومنتجة لصبغتين مهمتين في التشخيص المختبري وهما البايوسيانين Pyocyanin التي تستطيع ان تصبغ القيح في اصابات الجروح والحروق Wound and Burn Infections باللون الازرق المخضر، وصبغة بايوفردين (Pyoverdin) Fluorescein ذات اللون الاصفر المخضرتحت الاشعة البنفسجية Ultraviolet light ، ولديها قدرة ملحوظة على مقاومة المطهرات ومن ثم تؤدي هذه المقاومة دوراً في العدوى المكتسبة من المستشفيات Hospital-acquired infection وقد وجد انها تنمو في مادة HexachloroPhene الحاوي على محاليل الصابون وكذلك في المطهرات والمنظفات (Sudhakar واخرون، 2015) .وتستطيع النمو على وسط اكار الماكونكي وتبدو مستعمراتها شاحبة اللون ويعود ذلك لعدم قدرتها على تخمر سكراللاكتوز Non lactose fermentation وذات رائحة تشبه رائحة العنب المتخمر اما على وسط اكار الدم Blood agar فتظهر مستعمراتها غامقة اللون ومحاطة بهالة شفافة دلالة على قابليتها على تحليل الدم تحللا من نوع بيتا Hemolytic بسبب انتاجها لانزيم الهيمولايسين Hemolysin كما لها القابلية على النمو بدرجة حرارة41 °م (Diggle و2020,Whiteley) .عزلت بكتريا

P.aeruginosa من قبل الصيدلاني الفرنسي Carle Gessard من الجروح المتقيحة وسماها Bacillus pyocyaneas لكونها منتجة لصبغة Pyocynain حتى عام 1900 ثم تغير اسمها الى Pseudomonas pyocyaneas ثم سميت *P.aeruginosa* وهو مصطلح يوناني، المقطع الاول *Pseudomonas* يعني زائف والمقطع الثاني *aeruginosa* يعني زنجارية (Fetar ,2011) ، اذ تنتمي هذه البكتريا الى عائلة Pseudomonadaceae وان جنس Pseudomonas يضم عددا من الانواع وهي *P.fluorescens P.pseudomallei*، *P. aeruginosa* التي تصيب كل من الانسان والحيوان وتم الاعتماد على تسلسل16 SrRNA والموقع التصنيفي لها في (Slonczewski و foster , 2014)وكالاتي:

Kingdom: Bacteria

Phylum: Proteobacteria

Class: Gamma Proteobacteria

Order: Pseudomonadales

Supper family: Ribosomal RNAI

Family: Pseudomonadaceae

Genus: Pseudomonas

Species: Pseudomonas aeruginosa

تعود البكتريا الى عائلة الـ Pseudomonadaceae، اذ تضم هذه العائلة فضلا عن جنس *Pseudomonas* وجنس الـ *Xanthomonas* . ويضم جنس الـ *Pseudomonas* ثلاثة انواع ممرضة للانسان وهي: *P.aeruginosa* ، و *P. mallei* ، و *P.pseudomallei* (2003,Ehrlich) .

تكون البكتريا هوائية وغير مكونة للسبورات وعصوية وسالبة لصبغة غرام, متحركة اذ تمتلك قطبا مفردا, والخلية ذات عرض يقدر (0.5 -0.8) ميكرومتر

وطـول (1.5- 3.0) مـيكرومتر, وتمتلـك العديـد مـن عوامـل الـضراوة الـتي تتضمـن العوامـل الـتركيبية وكذلـك المكونـات الانزيميـة(Wu واخـرون , 2015). وللبكتريـا القابليـة علـى تحمـل مـدى واسـع مـن الظـروف الفيزيائيـة ومنهـا: درجـة الحـرارة وهـذه الخاصـية تسـهم فـي تعزيـز قـدرة البكتريـا بوصـفها ممرضـا منتهـزا للفـرص, وتفضـل البكتريـا النمـو فـي البيئـات الرطبـة, وهـذا يعكـس وجـود البكتريـا فـي التربـة والميـاه (Ellen واخرون,2003)

تمتلـك البكتريـا قابليـة فائقـة علـى التكيـف فـي البيئـات غيـر الـمناسبة لـنمو الاحيـاء المجهريـة والـتي قـد تكـون معدومـة الـمغذيات تقريبـا, حيـث تـتمكن مـن الـنمو حتـى فـي الـمياة الـمحتوية علـى كميـة قليلـة جـدا مـن الـمغذيات مثـل مـاء الحنـفيات, فقـد لـوحظ نمـوها فـي الـماء الـمقطر, ممـا يـدل علـى ان الـمتطلبات الـغذائية لهـذه الـبكتريا محـدودة جـدا, وتـاتي هـذه القابليـة فـي الانتشـار نتيـجة امـتلاك الـبكتريا الانـزيمات العـديدة الـتي تعـمل بتـنظيم جيـني (Lomholt واخـرون , 2001) تمتلـك البكتـريا اكـبر تـسلسل لازواج الـقواعد النتروجينيـة حيـث تمتلـك بكتريـا *P.aeruginosa* اكثـر مـن 6 ملايـين زوج قاعـدي وبمـا يقـارب 5500 جـين. بينمـا تمتلـك بكتريـا *E.coli* 4.6 مليـون زوج (Anthony واخرون ,2014)

2-5- بكتريا *Bacillus* :

2-5-1- الخصائص العامة

ان بكتريـا *Bacillus* بكتريـا عصـوية موجبـة لملـون كـرام مكونـة للسـبورات الداخليـة هوائيـة اجباريـة او لاهوائيـة اختياريـة منتجـة لانـزيم الكاتـاليز كمـا انهـا تسـتعمل اسـواطها للحركـة المتموجـة اذ تحـدث هـذه الحركـة علـى وسـط الاكـار شـبه الصـلب موجبـة لاختبـار الفـوكس بروسـكار وللكـاتليز ومحللـة للنشـا والجيلاتـين وسـالبة للانـدول قـادرة علـى تخمير البوتينـادول butanediol ولكنهـا لا تحلـل الـدهون المفسـفرة PhosPholipids ولا الكـازئين ويعـد الكليسـرول Glycerol المصـدر الامثـل لهـا للكـاربون و L-glutamic acid مصـدرا للنيتـروجين (Jamil، 2007)، واوضـح السـامرائي (2002) الـى انـه

من خلال تكوين المعقدات العضوية المعدنية فان الاحياء في منطقة الرايزوسفير يمكن ان تحقق وظيفتين اهمها تكوين معقدات وخلب المعادن وبذلك تضمن بقاءها ملاصقة لسطح الجذور فضلا عن دورها المهم في تسهيل دخول العناصر المغذية الصغرى مثل الزنك والنحاس والحديد بشكل مركبات مخلبية الى داخل الجذر، كما توجد انواع عديدة تابعة لهذا الجنس من البكتريا التي تنتج العديد من الانزيمات مثل الاميليز والبروتيز وغيرها واهم هذه الانواع

Bacillus subtilis , Bacillus megaterium , Bacillus pulvifacians Bacillus Bacillus pumilus , Bacillus cereus , Bacillus circulans Bacillus anthix,

وتفرز بكتريا *B. subtilis* انزيمات عديدة مثل الاميليز Amylase والبروتيز Protease والبلونينيز Pullulanase والكايتينيز Chitinase والزايلينيز Xylanase واللايبيز Lipase (Morikawa ، 2006).ان خلايا هذه البكتريا مكونة للسبورات وهذه الصفة تعطيها قدرة التحمل للظروف القاسية من ارتفاع درجات الحرارة او الجفاف ، ذات هيئة لزجة تتواجد في التربة والمياه تنمو بدرجات حرارة متوسطة اي انّها معتدلة الحرارة ودرجة الحرارة المثلى لنموها 25-30مº (Joan واخرون،2011).وهي اماكن تواجدها في التربة والمياه والغذاء وهي حرة غير متطفلة. ينتمي هذا الجنس الى مملكة Domain bacteria شعبة متينات الجدار Firmicutes رتبة Bacillaies عائلة Bacillccae ، تحت الظروف البيئية غير الملائمة يكون عمل السبورات الداخلية للحفاظ على النوع وتبقى في طور السكون اطول فترة ممكنة لحين ملائمة الظروف البيئية(Celandron واخرون، 2019).

2-6- بكتيريا *Bacillus Subtilis*

2-6-1- الخصائص العامة

وهو احد الانواع الشائعة لجنس الـ *Bacillus* ويطلق عليها ايضا عصيات القش او العشب bacillus grass or bacillus Hay هذه البكتريا عصوية موجبة لملون

كرام هوائية اجبارية وقد تكون الهوائية اختيارية مكونة للسبورات وهذه الصفة تعطيها قدرة التحمل للظروف القاسية من ارتفاع درجات الحرارة او الجفاف ، ذات هيئة لزجة تتواجد في التربة والمياه وجوف الحيوانات المجترة وفي الانسان منتجة للانزيمات معتدلة" تنمو بدرجات حرارة متوسطة (Bandow واخرون،2002)

،وان انواعها تتصف بكونها متباينة التغذية معتدلة الاحتياج للحرارة هوائية, بكتريا *B.subtilis* تستعمل اسواطها للحركة المتموجة اذ تحدث هذه الحركة على وسط الاكار شبه الصلب موجبة لاختبار الفوكس بروسكار وللكاتليز ومحللة للنشا والجيلاتين وسالبة للاندول قادرة على تخمير البوتينادول ولكنها لاتحلل الدهون المفسفرة PhosPholipidsوال الكازئين و يعد الكليسرول المصدر الامثل لها للكاربون و acid glutamic-Lمصدرا للنيتروجين (Jamil, 2007).

تفرز بكتريا *B. subtilis* انزيمات عديدة مثل الاميليز Amylase والبروتيز Proteaseوالبلونينيز Lipase والالييز Xylanase والزايلينيز Chitinase الكايتينيز (Morikawa , 2006) .

مستعمراتها النموذجية تكون بيضاء الى عجينية المظهر لماعة وبعضها مخاطية القوام افرادها عصيات مستطيلة ، غالبا ما تتشكل على هيئة ازواج او سالسل وبمظهر منقط تحت المجهر يعود الى السبورات الداخلية التي تكونها كما ان النسبة المئوية للقواعد النيتروجينية 32-62% .هي %G+Cاظهرت دراسة (Bernalواخرون، 2002) على جنس *Bacillus spp* على انه من الصفات المميزة لهذا الجنس هي الانتاجية الايضية الوافرة في الانظمة الطبيعية وبخاصة المضادات الحياتية، فضلاً عن كون بعض منتجاتها من النمط المقاوم للحرارة (الزبيدي وبرهان الدين,2012)

2-6-2- بكتيريا *Bacillus* ودورها في التسميد الحيوي

تم التوصل الى قدرة بعض الاحياء المجهرية ومنها بكتريا *Bacillus* من خلال خفض Ph التربة ان حوالي 20% من فسفور التربة غير الجاهز يتحول الى فسفور جاهز عند اضافة البكتريا المذيبة للفسفور و خفض قيمة درجة تفاعل التربة من

7.14 الى 5.75 بالقياس الى عدم الاضافة، كما وجد ان زيادة كمية الفسفور المتحررة عند انخفاض حموضة الوسط (حسن 2012).

اوضح Yavada واخرون (2011) أن أستعمال البكتريا المذيبة للفوسفات (*Bacillus*) ادى الى زيادة معنوية في حاصل الحنطة اذ بلغ 3.8 طن هـ$^{-1}$ قياسا مع معاملة المقارنة التي اعطت 1.9 طن هـ$^{-1}$.

فقد وجد ان تلقيح بذور الشعير بست عزلات من بكتريا *Bacillus* ادت الى زيادة نمو النبات وكمية الفوسفور الممتصة بالاضافة لزيادة الكثافة الميكروبية مع زيادة ملحوظة في الوزن الجاف للمجموع الخضري والجذري (Timmusk واخرون، 2011).

أشار Yazdani واخرون (2009) الى أن تلقيح نباتي الحنطة و الذرة الصفراء ببكتريا الـ *Bacillus* ادى الى الحصول على زيادة معنوية في ارتفاع النبات والوزن الجاف والحاصل الكلي قياسا بمعاملة المقارنة

يشير مصطلح الرايز وسفير RhizosPhere الى التربة الواقعة تحت تاثير النظام الجذري للنبات رايز وسفير المنطقة الجذرية يتصف بتاثير الاقرارات المايكروبية اذ تكون متاثره بشكل كبير بالاحياء سواء جذور النبات او الاحياء المجهرية بالاضافة الى التداخلات المعقدة بين الاحياء المجهرية والجذور (Baker واخرون, 2013).

يعد جنس *Bacillus* من اجناس البكتريا التي لها القدرة العالية على تحلل المشتقات النفطية في البيئات الملوثة لذلك تستطيع النمو في البيئات المختلفة (Dubeyواخرون 2020

توصل Hussain واخرون (2016) عند دراستهم تاثير بكتريا الـ-*Bacillus* وبكتريا *Pseudomonas* في نمو وحاصل الحنطة الى تفوق بكتريا الـ-*Bacillus* في اغلب صفات النمو اذ اعطت اعلى متوسطات ارتفاع النبات وعدد الاشطاء وعدد السنيبلات وطول السنبلة اذ بلغت 87.12سم، 385 شطا م^2 ، 17.32 سنيبلة سنبلة$^{-1}$ للصفات على التتابع، في حين اعطت معاملة بدون لقاح اقل متوسطات بلغت 66.23سم، 267 شطا م^2 ، 15.12 سنيبلة سنبلة$^{-1}$ للصفات على التتابع.

2-7-التلوث بالعناصر الثقيلة

تعرف العناصر الثقيلة بانها تلك العناصر التي تمتاز بانها ذات كثافة نوعية أكبر من 5 غم سم$^{-3}$ وأعدادها الذرية أكبر من 20 (Zaikov واخرون , 2017).جميع العناصر الثقيلة سامة للكائنات الحية عند تواجدها بتراكيز عالية وبعضها ضروري للكائنات الحية عند تواجدها بتراكيز قليلة مثل الحديد والنحاس والزنك والكوبلت والبعض الاخر غير ضروري كالرصاص والكروم والنيكل (Gennady, 2017).

تعد العناصر الثقيلة من اخطر المواد المطروحة الى التربة وتتمركز خطورتها في بقائها بالتربة لفترة طويلة من الزمن دون ان تتحلل او يطرأ عليها اي تغيرات كيميائية، ونتيجة تواجدها في الترب الزراعية فانها لا تؤثر فقط في نمو النبات حيث انها تؤدي الى تلويث الفواكه والخضروات التي يتناولها الانسان وبذلك اشارت دراسات حديثة الى ان من الضروري. التخلص من هذه العناصر الثقيلة وابتكار طرق معالجة مختلفة لغرض التخلص منها بسبب قدرة هذه العناصر على الدخول في السلسلة الغذائية(Aliواخرون ,2019)

تتنوع مصادر العناصر الثقيلة فمنها الطبيعية كالبراكين والبشرية كحرق الوقود وعمليات التعدين وصهر المعادن وحرق النفايات ومخلفات المجاري والاسمدة الكيميائية والمخلفات العضوية والمبيدات الزراعية ومخلفات الصناعات الغذائية ومتبقيات احتراق الوقود والصناعات البتروكيميائية والتي تساهم جميعها في زيادة تركيز العناصر الثقيلة في التربة (Asrari , 2014)

ذكر حمود (2010) ان استعمال المبيدات الحشرية في الاراضي الزراعية يعد من اهم مشاكل تلوث التربة لانه يؤثر على خصوبتها ويؤدي في النهاية الى تلوثها بالمبيدات ,حيث ان المبيدات تؤثر على الكائنات الحية المفيدة في التربة والتي لها دور في تحلل المواد العضوية وغير العضوية في التربة فبعض مبيدات الكلور العضوية لها خاصية الثبات الكيميائي في التربة ولفترات طويلة . يعد تلوث التربة بالعناصر الثقيلة احد صور التلوث البيئي الناجم عن الانشطة الطبيعية والبشرية بصفة خاصة الممارسات الزراعية المكثفة والعمليات الصناعية (Mishra واخرون ، 2019) .

ان ازدياد مشكلة هذا التلوث بزيادة انتاج المواد الكيميائية واستعمالها في الصناعة، اذ يؤدي التخلص من هذه المواد الى تلوث التربة والماء، ويزداد حجم مشكلة التلوث من الصناعة حينما يكون هناك اهمال او عدم اهتمام بالتخلص من مخلفات المصانع الكيميائية بالوسائل التي تحافظ على التربة والماء من التلوث(Pawel واخرون 2014). ان محتوى التربة من العناصر الثقيلة يعتمد بصورة رئيسية على نوع الصخور الام فالصخور النارية تحتوي على العناصر الثقيلة بكميات اعلى من الصخور الرسوبية (Mitra واخرون ،2022) .وتنتج عن بعض الانشطة البشرية كالانشطة الصناعية والنفايات المنزلية مواد وعناصر تحدث تلوثا في التربة ومن أهمها المواد الكيميائية التي تنتج بسبب الافراط في استعمال الاسمدة ومبيدات الافات او بسبب الري بمياه الصرف الصحي غير المعالجة وبعض هذه العناصر سببها تسرب النفط او ترشيح المواد المتحللة من مدافن النفايات (Natalia واخرون ,2018) .و قدتتسبب في اثار خطيرة على صحة الانسان عند زيادة حدودها عن الحدود المسموح بها (Elhdad ،2019)

وجد الكثير من الباحثين ان العناصر الثقيلة الملوثة للتربة الرصاص والكادميوم والنيكل وغيرها من العناصر من اخطر العناصر الملوثة للتربة والماء والهواء ومن أهم مصادر التلوث هو مخلفات ونفايات المصانع والمنازل ومخلفات الاسمدة واحتراق الوقود الاحفوري وايضا الابخرة والغازات المتصاعدة من عوادم السيارات (صالح ,2012) . ومع ذلك فان بعض العناصر الثقيلة الاخرى مثل النيكل والزنك والكوبلت تكون مغذيات دقيقة واساسية وهامة للانسان (Zhang واخرون ،2020).

2-7-1- عنصر الكادميوم (Cd)

يعد الكادميوم احد العناصر عالية السمية ومصدره الطبيعي في الهواء البراكين وحرائق الغابات واهم مصادره البشرية احتراق النفط ومشتقاته والرماد الناجم عن حرق النفايات (الحلفي ,2012). ان التلوث بعنصر الكادميوم يعد الاكثر انتشارا في الوقت الحاضر وقد ركزت الدراسات الطبية و البيئية على عنصري الكادميوم

والرصاص بسبب ضررهما على صحة الانسان والكائنات الحية بصورة عامة ، ويسبب تلوث الغذاء او الماء بالكادميوم الى فشل الكلية وسرطانها وارتفاع ضغط الدم ، ان التسمم الحاد في الجهاز التنفسي يسبب الى ضيق التنفس والسعال والالتهاب الرئوي المزمن والحمى (Dekhil واخرون،2011).

تاتي اهمية الكادميوم من الاستعمال الواسع له في الصناعة، كونه من العناصر المهمة اقتصاديا، اذ يستعمل 60% منه في طلاء المعادن، وفي الكثير من التطبيقات الصناعية الاخرى مثل البطاريات ولحام المعادن واللدائن والسيراميك وغيرها (Hayat واخرون, 2019). تعد التربة ملوثة باحتوائها على مادة او مواد بكميات او تراكيز اعلى من الحدود والمديات الحرجة فتسبب خطر على صحة الانسان والحيوان والنبات او المنشات الهندسية وتعد من ابرز مشكلات البيئة واكثرها تعقيدا واصعبها حلا (عثمان واخرون، 2018)،

ان مستويات عنصر الكادميوم في الترب قد تزداد نتيجة التوسع في استعمال بعض الاسمدة الفوسفاتية الحاوية صخورها على نسبة معينة من الكادميوم (Huang واخرون, 2018)

اظهرت نتائج عباس (2018) في دراسة لتلوث بعض الترب الكلسية بالعناصر الثقيلة وصور وجودها، اختلاف مكونات التربة في قابلية حجز العناصر الثقيلة، بحسب نسبة ونوع المكون، وان تسلسل مكونات التربة في حجز العناصر الثقيلة حسب التركيز كانت كالاتي:

المادة العضوية < الطين < اكاسيد وهيدروكسيدات الحديد <معادن الكاربونات

وجد Gabarron واخرون (2019) في دراسة عن تاثير خصائص ترب زراعية ذات تفاعل تربة مائل للقاعدية (Ph=8.1) على صور بعض العناصر الثقيلة بوساطة الاستخلاص المتعاقب ان الصور السائدة للكادميوم هي الصورة القابلة للتبادل مما يشير الى امكانية حركة العنصر في التربة.

بين Markovic واخرون (2019) في دراسة عن توزيع الكادميوم في التربة وتاثير خصائص التربة على مستوى التلوث ارتباط الكادميوم بشكل اساسي بالاجزاء القابلة للتبادل، مما يسبب مشاكل بيئية خطيرة بسبب قابليته العالية على التغير للصورة الجاهزة.

بينت نتائج الحسون (2015) ان النشاطات الصناعية ولا سيما الصناعات النفطية ونواتج احتراق الوقود هي العامل الرئيسي لتراكم الكادميوم في التربة وزيادة تركيزه في التربة .

بين Attiya (2016) ان زيادة تركيز الكادميوم في التربة عن 0.5 ملغم كغم$^{-1}$ تربة يعد دلالة على تلوث التربة بالكادميوم حيث بينت منظمة الصحة العالمية (WHO, 2007)الحدود المسموح بها الكادميوم الكلي في التربة والماء والنبات جدول (1)

جدول 1 : الحدود المسموح بها للكادميوم الكلي في التربة والماء والنبات

المحدد	تركيز الكادميوم		
	تربة ملغم كغم$^{-1}$	ماء ملغم لتر$^{-1}$	نبات ملغم كغم$^{-1}$ مادة جافة $^{-1}$
2007, WHO	3	0.01	0.1

المصدر : الدايني , 2019

ان البعد والقرب عن مصدر التلوث له دور كبير في تلوث التربة والماء والنبات فقد وجد العمر (2017) ان تركيز الكادميوم في التربة قد ازداد في المواقع القريبة من معامل الطابوق وقل بالبعد عنها وقد اعزا السبب الى انبعاثات معامل الطابوق التي تطلق الغازات والعناصر الثقيلة الى الجو والتي تترسب في المواقع القريبة من مصدر التلوث .

اشارت نتائج الحكاك (2021) الى أن تركيز الكادميوم في التربة قد ازداد في المواقع القريبة من محطة الكهرباء والتي تبعد 5 كم وسجل اعلى قيمة بلغت 14.20 ملغم Cd كغم$^{-1}$ تربة وكانت اعلى من المحددات العالمية قياسا بالبعد الثالث (25كم) والذي سجل أقل قيمة بلغت 8.80 ملغم Cdكغم$^{-1}$ تربة واعزا السبب للانبعاثات

الناتجة من محطة الكهرباء والتي تترسب في المواقع القريبة من المحطة . يعد الكادميوم من العناصر الثقيلة لكونه يمتلك عددا ذريّا عاليا ً48 وكتلة ذرية 112.40 وكثافة عالية تقدر بـ 8.64 ميكا غرام. م-3, ويمتاز بانه معدن لين نسبيا، لونه ابيض فضي ويذوب في الحوامض ولا يذوب في القواعد(Li واخرون، 2018)

يزداد تركيز الكادميوم في التربة نتيجة استعمال الاسمدة الكيميائية ومخلفات المجاري الصلبة (الحماة) والتوسع في استعمال الاسمدة الفوسفاتية (Rashid واخرون ، 2023) وهذه بالمقابل يزيد من احتمالية تعرض الانسان والحيوان الى مستويات من الكادميوم في الغذاء والماء. اما في المياه فيمكن ان يوجد الكادميوم في البحيرات والبرك القريبة من مواقع تصريف الفضلات الخطرة (Bouida واخرون , 2022).

2-7-2- عنصر الرصاص (Pb)

الرصاص عنصر ثقيل لونه رمادي مزرق , درجه انصهاره منخفضة وعدده الذري 207.2 غم وكثافة الرصاص 11.34 غم سم-3 ودرجه انصهاره 327.47 م° وذلك وفقا لمنظمة التعاون والتنمية الاقتصادية (الجميلي واحمد , 2018) .

لعنصر الرصاص تاثيرات سلبية على صحة الانسان والتي تاتي نتيجة الزيادة في تركيز العنصر عن الحدود المسموح بها , ياتي الرصاص من النشاطات البشرية مثل استعمال الاسمدة والمبيدات وصناعة البطاريات والاصباغ وعمليات الطباعة وكذلك من نواتج احتراق الوقود للسيارات (العمر , 2017) كذلك يؤثر الرصاص سلبيا على صفات النبات.

ان لخصاص التربة الكيميائية والفيزيائية دور فعال في تقييد حركة العناصر الثقيلة ومنها الرصاص حيث ذكر الراشدي (2011) ان درجة تفاعل التربة والمادة العضوية ومحتوى التربة من الطين والغرين والتفاعل مع العناصر الاخرى تعد من العوامل المحددة لوفرة العناصر الثقيلة في التربة كذلك يؤثر اختلاف نسجة التربة تاثيراً كبيراً في جاهزية الرصاص في التربة فقد وجد القدور واخرون (2017) ان كمية الرصاص الممتز في الترب الرملية اقل بكثير من الرصاص الممتز على سطوح

المعـادن الطينيـة . بينـت منظمـة الصـحة العالميـة (2007, WHO)الحـدود المسـموح بها للرصاص الكلي في التربة والماء والنبات جدول (2).

جدول 2: الحدود المسموح بها للرصاص الكلي في التربة والماء والنبات

المحدد	تركيز الرصاص		
	تربة ملغم كغم $^{-1}$	ماء ملغم لتر $^{-1}$	نبات ملغم كغم $^{-1}$ مادة جافة $^{-1}$
2007, WHO	100	5	0.3

المصدر : الدايني , 2019

ان زيادة الرصاص في النظام البيئي وخاصة في المناطق الصناعية يعتمد على قربها او بعدها عن مصدر التلوث حيث وجد العمر (2017) ان تركيز الرصاص في التربة بلغ (192.69) ملغم كغم$^{-1}$ في المواقع القريبة من مصدر التلوث (معامل الطابوق) والتي تبعد 500 م عن مصدر التلوث مقارنة بالبعدين 1000 و 2000 م والتي اعطت قيما اقل بلغت (127.76 و 57.35) ملغم كغم$^{-1}$ بالتتابع وان تركيز الرصاص في التربة للبعد الاول قد زاد عن المحددات العالمية بنسبة 66% حسب منظمة (2007, WHO)

أشار الحكاك (2021) في دراسته الى تأثير محطة كهرباء واسط الحرارية في تلوث التربة ببعض العناصر الثقيلة ومنها الرصاص ان تركيز الرصاص الكلي سجل اعلى قيمة بلغت 168.63 ملغم كغم$^{-1}$ في البعد الاول 5 كم قياسا بالبعد الثالث 25 كم والذي سجل اقل قيمة بلغت 99.85 ملغم كغم$^{-1}$ وقد عزا السبب الى الاحتراق غير التام للوقود في محطة الكهرباء حيث تحتوي الانبعاثات على العناصر الثقيلة والتي تنقل بواسطة الهواء الى المناطق القريبة من مصدر التلوث .

2-8-علاقة التسميد الحيوي بالتلوث بالعناصر الثقيلة

يعد التسميد الحيوي البديل الواعد للتقليل من استعمال الاسمدة الكيميائية وفي الوقت ذاتة التقليل من مصادر التلوث بالعناصر الثقيلة والذي يتم من خلال أضافة اللقاحات المايكروبية الى البذور او البادرات او الى التربة مباشرتا مكملا للاسمدة الكيميائية والعضوية وقد استعمل في دول عظمى مثل روسيا وامريكا وايضا الهند (Lopez واخرون ,2008)

اشار Margaret واخرون (2016) في دراسة قاموا بها الى ان العناصر الثقيلة بعد نفادها من خلال الغشاء الخلوي للخلية البكترية ، اما ان تشترك في دورة الايض للخلية او تؤدي دورا سلبيا في محتويات الخلية عن طريق تكوين معقدات مع التنوع الواسع الموجود في الخلية وتمتلك الاحياء المجهرية قدرة على تراكم بعض المعادن مثل النحاس والمنغنيز والنيكل والحديد.

تعتمد البكتريا على التطوير الوراثي بسلالات من الاحياء المجهرية وذلك من خلال استغلال قابليات البكتريا الموجودة في مناطق التلوث والتي اكدت الدراسات انها ذات كفاءة جيدة في استهلاك المركبات الهيدروكاربونية المختلفة فضلاً على احتواء البكتريا على بلازميدات مسؤولة عن تحلل بعض المركبات الهيدروكاربونية، لذا طورت سلالات بكتيرية حاوية على بلازميدات مختلفة قادرة على تحليل انواع مختلفة من الهيدروكاربونات (Danko واخرون , 2004).

وجد حامد واخرون 2015) في دراسة قاموا بها لدراسة كفاءة البكتريا المعزولة من مياه الصرف الصحي في أمتزاز عنصر الرصاص حيث اظهرت النتائج التي توصلوا اليها الى ان جميع أنواع البكتريا التي تم تشخيصها تميزت بقدرات عالية على أمتزاز الرصاص الموجود في مياه الصرف الصحي لكنها اختلفت فيما بينها في مدى قياس التركيز المثبط الادنى حيث وجدوا حصول تباين في العزلات البكتيرية في مدى تحملها لتركيز الرصاص (Rajkumar واخرون ،2010) .

توصل Agostinho وأخرون (2012) في دراسة قام بها الى أن أمتزاز العناصر الثقيلة بواسطة المكونات الداخلية للخلية البكتيرية يعود الى الامتزاز الخلوي الداخلي

وهو معقد وغير مفهوم بصورة كاملة، ويلعب الغشاء السايتوبلازمي دوراً مهماً في تحديد المعادن الثقيلة التي تنتقل الى داخل الخلايا ومرورها قد يختزل او يمنع او يزداد بالتلاعب بالغشاء الخلوي ويركز ان يصبح الغشاء الخلوي ممزقاً في الحالات المتطرفة من التسمم المعدني، الامتزاز داخل الخلية ليس بالضرورة ان يرتبط دائما مع ايض الخلية.

وجد خليفة واخرون (2018) انَّ للتلقيح الحيوي تاثير في زيادة تركيز الحديد والزنك وبزيادة مقدارها 15.51% و 09 14% عن معاملة عدم التلقيح ويعود ذلك الى دور البكتريا في تحفيز امتصاص العناصر الصغرى عن طريق افرازها للاحماض العضوية وخفض الاس الهيدروجيني للتربة.

حيث تقوم الاحياء المجهرية بافراز مضادات حيوية تحمي النبات من المسببات المرضية الموجودة في التربة من خلال تثبيط نمو بعض الميكروبات الممرضة للنبات مما يساهم في خفض استعمال المبيدات الكيميائية وبالتالي فهي تساهم في حماية البيئة من التلوث (Bonaterra واخرون , 2022)

ان تلوث التربة بالعناصر الثقيلة مشكلة بيئية كبيرة ولة تأثير سلبي على صحة الانسان والزراعة، حيث يؤدي النظام او المحيط الجذري للنباتات دوراً مهماً في المعالجة النباتية للتربة الملوثة بالعناصر الثقيلة، حيث من المعروف أن التجمعات الميكروبية تؤثر على حركة العناصر الثقيلة وتوفرها بالشكل المناسب للامتصاص من قبل النبات من خلال أطلاق مواد مخلبية ، وحوامض تؤدي دوراً في تغييرات الذوبان والاختزال للعناصر الثقيلة وبالتالي لديها القدرة على تعزيز عمليات المعالجة النباتية في هذة الترب أذ حظيت استراتيجيات المعالجة النباتية مع الاحياء المجهرية للتربة باهتمام متزايد من قبل الكثير من الباحثين من خلال دراسة تأثير الاحياء المجهرية الجذرية وأهميتها في المعالجة النباتية للتربة الملوثة بالعناصر التقيلة (jing واخرون2007)

وجدت صبري واخرون (2017) في دراسة قاموا بها لغرض تقويم كفاءة بكتريا *Bacillus*في جاهزية الصخر الفوسفاتي تحت تأثير الاجهاد الملحي العالي بأستعمال

تربة مزيجية طينية ومحصول الشعير حيث أظهرت النتائج وجود فروق معنوية في جميع صفات النبات المدروسة وأيضا الحاصل البايوليوجي هذا كان عند التلقيح بلقاح *Bacillus* فقد كان ارتفاع العناصر الثقيلة في التربة باستعمال عزلتين محلية من بكتريا *Bacillus subtilis* في تربة ملوثة حيث أظهرت اهم النتائج التي تم التوصل لها أن العزلتان اثبتت بمقدرتهما على أزالة العناصر الثقيلة اذ بلغت نسبة الازالة للمعادن النيكل والنحاس والخارصين والحديد والرصاص النبات 79.66 سم والحاصل البايولوجي 45.11 غم اصص .

توصل الهام واخرون (2017) في دراسة قاموا بها لمعرفة قابلية الازالة الحيوية للعناصر العناصر الثقيلة في التربة بأستعمال عزلتين محلية من بكتريا *Bacillius subtilis* في تربة ملوثة حيث أظهرت أهم النتائج التي تم التوصل لها أن العزلتان أثبتت بمقدرتهما على أزالة العناصر الثقيلة اذ بلغت نسبة الازالة للمعادن النيكل والنحاس والخارصين والحديد والرصاص والكادميوم وبنسبة 84.60 % 87.7 % ، 71.50% ، 91.20% ، 97.90% ، 88.1% بأستعمال عزلتين من بكتريا *Bacillus subtilis* وعلى التتابع ، حيث اثبت العزلتان مقدرتهما على التامة على أزالة غالبية العناصر الثقيلة قيد الدراسة من محاليلها بتراكيز مختلفة ، بلغت النسبة المئوية لازالة المعادن الثقيلة بأستعمال الكتلة الحيوية الحية للبكتريا حوالي 90.00 87.00، 98.80 98.40 ، 98.40، 98.30 ، 96.60% لعناصر النحاس والزنك والرصاص والنيكل والكادميوم والحديد على التتابع.

عزل الشمري ، (2022) سبعة أنواع من البكتريا وتميزت بكتريا *Bacillus licheniformis* من ضمن ثلاثة أنواع لأزالة الهيدروكربونات في الاوساط الزراعية السائلة بشكل منفرد ولمدة حض 10 و 20 و 30يوما.

لاحظ Alwan (2011) في دراسة قام بها حول الاسمدة الحيوية الى أن الاسمدة الحيوية لا يمكن استعمالها كبدائل عن الاسمدة الكيميائية بل هي عبارة عن مخصبات مكملة مع الاسمدة الكيميائية لزيادة نمو النبات وتحسين أنتاجيته حيث وجد أنها تساهم وبشكل فعال في زيادة خصوبة التربة و *Bacillus subtilis* تفوقت على باقي العزلات البكتيرية المختبرة خصوبة وفعالية الاسمدة الكيميائية في الترب القليلة

الخصوبة بكتريا *Bacillus Subtilis* تعد من الكائنات المجهرية الامنة هذه المجموعة لا تحتاج الى كائن حي اخر تتعايش معه ويسمى هذا المسار التثبيت غير التعايشي للنتروجين، وقد منحت لقب GRAS وهو مختصر لكلمة Generally Recognizeda as Safe من قبل منظمة الغذاء والزراعة الدولية الأمريكية FAO (zweers واخرون ,2008)

2-10- الاسمدة الحيوية البكتيرية

هي عبارة عن مخصبات حيوية تحتوي على خلايا بكتيرية لها وظائف مختلفة وتتباين انواع البكتريا التي تضاف كسماد حيوي وتختلف استعمالاتها من حيث كونها مثبتة للنتروجين او مذيبة للفسفور مثل بكتريا الزوائف *(Pseudomonas)* وبعض العناصر الغذائية حيث توجد انواع مختلفة منها مثل بكتريا الرايزوبيا و الازوتوبكتر و الازوسبيرلم فضلا عن وجود بعض الانواع التي تقوم بتحليل المواد العضوية وافراز بعض منشطات النمو (2021, Basu)

الاسمدة الحيوية هي منتجات تحتوي في تكوينها على الكائنات الحية التي تعيش او ترتبط مع العوائل النباتية مختلفة (Santos واخرون , 2019) .

ذكر Odoh وأخرون (2020) ان تلقيح التربة باستعمال السماد الحيوي البكتيري ادى الى زيادة تجمعات التربة وثباتيتها نتيجة لافرازها لبعض السكريات المتعددة والمواد الرابطة ما ادى الى تحسين بنائها ورفع قابليتها على مسك الماء وايضا انتاجها للحوامض العضوية التي لها دور مهم في خفض قيم Ph وخاصة للترب الكلسية والقاعدية كما تعمل على خلب الايونات الثنائية الموجبة المسؤولة عن تثبيت الفوسفور من قبل تلك الترب وبالتالي زيادة جاهزية الفسفور فيها.

اوضحت Akhtar واخرون (2022) ان عملية نجاح السماد الحيوي المضاف الى وسط نمو النبات يعتمد على عدة عوامل وهي كفاءة الكائن الحي المستعمل ومدى التوافق بين العائل النباتي والكائن الحي المجهري وقدرة الكائن الحي على التنافس مع

الاحياء المجهرية الاخرى في التربة وايضا اعداد تلك الكائنات الحية الموجودة في التربة فضلا عن خصائص وظروف التربة

ان استعمال الاسمدة الحيوية كعامل مساعد في التسميد ادى الى التقليل من استعمال الاسمدة المعدنية النيتروجينية بمقدار قد تصل نسبته الى نصف كمية الاسمدة الموصى بها (Sumbul واخرون ،2020). تودي الاسمدة دورآ حيوياً من خلال زيادة النشاط الانزيمي وزيادة نمو المجموع الجذري وزيادة التمثيل الغذائي للنبات (زيادة امتصاص الماء والمعادن) والحد من المسببات المرضية (Perez-Montaio واخرون ,2014). نتيجة لارتفاع تكاليف استعمال الاسمدة الكيميائية الذي يعود اساسا الى الكميات المستعملة سنويا من هذه الاسمدة فضلا عن تلويث البيئة اتجهت الدراسات الحديثة الى استعمال الكائنات المجهرية مكملا من الاسمدة الكيميائية لتوفير العناصر الغذائية للنبات عن طريق حيوي من اجل خفض تكاليف الانتاج الزراعي وتقليل التلوث البيئي. اذ تستعمل الاسمدة الحيوية للتقليل من اضافة الاسمدة الكيميائية بما لا يقل عن (25%) فضلا عن دورها في الحد من مشكلات التلوث البيئي وتعمل على استدامة الزراعة. كما ان استعمال الاسمدة الكيمائية احد الممارسات الزراعية التي تهدد النظام البيئي حاليا وواحدة من اهم المشاكل التي تؤثر في الصحة العامة للكائنات الحية (El-Ghamry واخرون، 2018). ان اضافة اللقاح البكتيري بغض النظر عن نوع العزلة ساهم في تحسين صفات النبات المزروع من خلال زيادة كفاءة الاسمدة الكيميائية المستعملة وهذا ما يعطي مؤشرآ حيوياً وفعالآ اتجاه دور المخصبات الحيوية (Jbar, 2018)

عادة ما يطلق على البكتريا التي تستعمل كاسمدة حيوية في بعض المحاصيل الزراعية بمصطلح البكتريا المحفزة لنمو النبات Plant Growth Promoting Rhizobacteria و تكتب اختصارا (PGPR) وهي بكتريا مفيدة للتربة وهناك انواع عديدة من هذه البكتريا التي تنمو في تربة رايزوسفير النباتات وبعضها ينمو في انسجه جذور النبات او عليها او حولها والتي تحفز نموه باليات عديدة(Grobelak و اخرون، 2015). ويمكن انتاج الاسمدة الحيوية من عزل وتنقية وتوصيف احياء مجهرية مختلفة وتنقيتها واكثارها في مزارع ملائمة لحين استعمالها بوصفها لقاحا

يخلط مع البذور قبل الزراعة او تعفر به جذور البادرات او تضاف مباشرة في الحقل قرب جذور النباتات النامية وعادة ما تحمل على مواد عضوية مختلفة بعد اجراء اختبار الحيوية وبقائها لمدة مناسبة. (الاسدي ،2013) . اثبت تاج الدين والبركات (2016) انَّ استعمال اللقاح الحيوي آدى الى زيادة معنوية في بعض صفات النمو للنبات بالاضافة الى زيادة في تركيز بعض العناصر الغذائية في التربة والنبات.

تُعد الاسمدة الحيوية جزءا مهما من النظام التكميلي الغذائي الذي لا بد ان يحظى بالعناية وذلك لان الاسمدة الكيميائية والاسمدة العضوية لا يمكن ان تسد الاحتياجات الغذائية للمحاصيل تحت نظام الزراعي الكثيف وانخفاض مستوى خصوبة للتربة. لذا لا بد من عملية دعم واسناد لرفع من قدرة التربة الانتاجية عن طريق استعمال احياء مجهرية لها القدرة على تثبيت النتروجين الجوي او زيادة ذوبانية وجاهزية الفوسفور الموجود في التربة (Zhou واخرون، 2021). ان استعمال الاسمدة الحيوية زاد مؤخرا نتيجة لتاثيراتها المفيدة في نمو النبات التي لا تقتصر فقط على تثبيت النتروجين الجوي او زيادة جاهزية الفوسفور ولكنها مرتبطة بقدرة هذه البكتريا على افراز المركبات المشجعة لنمو النبات التي تتضمن الفايتوهرمونات والسايدرفورات فضلا عن مقدرتها على اذابة الفوسفات (Wiggins واخرون ،2022).

2-11- نبذة تاريخية عن زهرة الشمس

ينتمي محصول زهرة الشمس الى العائلة المركبة Compositae والتي تحتوي على 65 نوعاً Andrew واخرون ، (2013) وأن أسم Helianthus مشتق من الكلمتين Helios والتي تعني الشمس والكلمة Anthus والتي تعني الزهرة وله المعنى نفسه في اللغة الانكليزية Sunflower وزهرة الشمس نبات حولي يمتلك زهرة كبيرة راس مزهر ويكون ساق النباتات خشناً وشعرياً واوراق خشنة مسننة وعريضة واقراص دائرية من الازهار تتكون الرؤوس من العديد من الازهار الفردية والتي تنضج الى

بـــذور علـــى قاعـــدة الاقـــراص الزهريـــة Seghatoleslami وأخـــرون ، 2012 وبعـــد محصـــول زهـــرة الشـــمس رابـــع اكبـــر محصـــول للبـــذور الزيتيـــة فـــي العـــالم فتســـتعمل بـــذوره غـــذاء وســـاقه وقـــودا(Muller واخـــرون, 2011) يعتمـــد نمـــو زهـــرة الشـــمس علـــى اســـتعمال النتـــروجين اكثـــر مـــن المغـــذيات الاخـــرى ونظـــرا للنظـــام الجـــذري العميـــق تســـتطيع نباتـــات زهـــرة الشـــمس اســـتعمال النيتـــروجين فـــي طبقـــات التربـــة التـــي لا يمكـــن الوصـــول اليهـــا مـــن نبـــات القمـــح والـــذرة والمحاصـــيل الاخـــرى ويتطلـــب النبـــات كحـــد اقصـــى 150 كغـــم هـــذا وهنـــاك حاجـــة الـــى الفســـفور والبوتاســـيوم والبـــورون والمغنيســـيوم والمولبيـــديوم لتحقيـــق أفضل أنتاج (Ahmed و Jabeen ، 2017)

أن لمحصـــول زهـــرة الشـــمس القـــدرة علـــى أفـــراز مركبـــات أيضـــية ويســـهم محصـــول زهـــرة الشـــمس فـــي التقليـــل مـــن تركيـــز الملوثـــات فـــي التربـــة والمـــاء ولـــه القـــدرة علـــى أحتـــواء الملوثـــات ومشـــتقاتها وازالتهـــا مـــن التربـــة وهـــي واحـــدة مـــن اكثـــر النباتـــات التـــي تمـــت دراستها علـى نطـاق واسـع لعـلاج وأزالـة العناصـر الثقيلـة مـن التربـة فمـن المعـروف جيـداً قـدرة محصـول زهـرة الشـمس علـى أحتـواء وأزالـة العناصـر الثقيلـة مـن التربـة(Kara و Gul ، 2015)

المواد وطرائق العمل Materials and methods

3-1- جمع عينات التربة

جمعت 10 عينات من تربة منطقة الرايزوسفير من حقول مزروعة بالبرسيم والجت والفجل والريحان والذرة الصفراء والشعير ضمن الرقعة الجغرافية لمحافظة ذي قار و المثنى والقادسية والنجف، اعتمد جمع العينة المركبة من خلال جمع العينات من الحقل الواحد والمحصول المحدد وخلطها مع بعضها وذلك لتقليل نسبة الخطا والتجانس في اخذ العينات لتكوين عينة ممثلة للحقل, جميع العينات وضعت في اكياس بلاستيكية معقمة وحفظت في الثلاجة لحين استعمالها (الشيباني، 2005) و الجدول رقم(3)يبين ارقام عينات الترب واسماء المناطق والمحاصيل التي جمعت منها.

جدول (3) ارقام عينات الترب واسماء المناطق والحقول التي جمعت منها

رقم النموذج	اسم المنطقة	نوع المحصول
1	ذي قار	حقل برسبم
2	ذي قار	حقل جت
3	ذي قار	حقل برسيم
4	ذي قار	حقل ريحان
5	السماوة	حقل فجل
6	السماوة	حقل ذرة صفراء
7	السماوة	حقل جت
8	السماوة	حقل جت
9	القادسية	حقل فجل
10	النجف	حقل شعير

2-3 -الاوساط الزرعية والكواشف المستعملة في عزل وتشخيص البكتريا

1-2-3 -تحضير الاوساط الزرعية

1-1-2-3وسط اكار الماكونكي (MacConky Agar Medium):

حضر باذابة 5.2غم من الوسط في 100 مل من الماء المقطر وعقم بالموصدة بدرجة حرارة 121 مْ وضغط 15 باوند / انج^2 ولمدة 15 دقيقة , ثم برد على اطباق بتري معقمة ، حيث استعمل بوصفه وسطا انتخابيا للبكتريا السالبة لملون غرام وللتفريق بين المستعمرات المخمرة وغير المخمرة لسكر اللاكتوز.

2-1-2-3وسط بيكوفسكي Pikovskayamedium لعزل البكتريا المذيبة للفوسفات

حضر هذا الوسط باذابة 10 غم من Glucose و5.0 غم Cas3(PO4)2 و0.1 غم (NH4)2 SO4 و0.1 غم $7H_2O$ .MgSO4 و0.2 غم KCL و0.01 غم MnSO4 و0.001 غم FeSO4 و0.5 غم extract Yeast و 15.1 غم Agar و 1000مل Distilled water ذوبت مكونات الوسط باستعمال جهاز Magnetic Stirrer لخلط المكونات ومجانستها بعد ضبط Ph الوسط الى 7.0 ثم وضع في الموصدة للتعقيم على درجة حرارة 121م وضغط 15باوند انج-2 لمدة 15دقيقة.

3-1-2-3وسط King's Broth

حضر هذا الوسط من اذابة 20 غم ببتون , 2.5 غم فوسفات البوتاسيوم الثنائية K_2HPO_4 و 6 غم من كبريتات المغنيسيوم المائية $7H_2O$. $MgSO_4$ ، 9 غم اكار و 15 مل كليسرول في لتر من الماء المقطر ، وضبط الرقم الهيدروجيني Ph على 7.2وعقم بالموصدة بدرجة حرارة 121م^0 وضغط 15 باوند / انج^2 (StePhane و Jacques،2000).

4-1-2-3وسط اختبار الحركة Motility test medium

حضر باضافة 4 غم من مسحوق الاكار الى 20غم من مسحوق الوسط المغذي السائل واذيبت المحتويات في 1 لتر من الماء المقطر، وعقم بالمؤصدة بدرجة حرارة 121م^0

وضغط 15 باوند / انج^2 ثم وضعت الانابيب بصورة عمودية، واستعمل للكشف عن قابلية البكتريا على الحركة (Collee واخرون،1996) .

3-2-1-5وسط مرق احمر المثيل –فوكس بروسكاور (Methyl red-Voges proskauer broth medium)

حضر الوسط باذابة 5 غم من الببتون ، 5 غم من الكلوكوز ، 5 غم من فوسفات البوتاسيوم الاحادية في 900 مل من الماء المقطر واكمل الحجم الى اللتر , ضبط الرقم الهيدروجيني الى 7.5 ثم عقم بالموصدة بدرجة حرارة 121م^0 وضغط 15 باوند / انج^2 ثم وزع على انابيب اختبار بمقدار 5 مل لكل انبوب اختبار , استعمل الوسط للتحري عن قابلية البكتريا على انتاج الحامض من تخمر الكلوكوز (Godber،1989).

3-2-1-6وسط اكار النشا Starch agar medium

استعمل الوسط لاختبار قابلية البكتريا على انتاج انزيم الاميليز amylase الذي يعمل على تحليل النشا Starch hydrolysis , حضر الوسط باذابة 2 % نشا Starch Soluble في الوسط المغذي الصلب Nutrient agar (الذهب , 1998) ثم عقم بالمؤصدة بدرجة حرارة 121م^0 وضغط 15 باوند / انج^2.

3-2-1-7وسط اختزال النترات السائل Nitrate reduction broth

استعمل هذا الوسط للتحري عن قابلية البكتيريا على اختزال النترات الى نتريت والذي حضر باذابة 0.2 غم من نترات البوتاسيوم و5 غم من الببتون في 1 لتر من الماء المقطر , ووزع على انابيب اختبار بمقدار 5 مل لكل انبوب ثم عقم بالمؤصدة بدرجة حرارة 121م^0 وضغط 15 باوند / انج^2 حسب ما موصوف من (Collee واخرون،1996) .

3-2-1-8وسط تربتوفان السائل TryptoPhan broth medium

حضر باذابة 10 غم تربتوفان , 5 غم ملح كلوريد الصوديوم في 1 لتر ماء مقطر ضبط الرقم الهيدروجيني على 7.5 وزع في انابيب اختبار وعقم بالموصدة بدرجة حرارة 121م^0 وضغط 15 باوند/ انج^2 وأستعمل الوسط للكشف عن أنتاج الاندول (Harrigan و McCance،1976).

3-2-1-9وسط سترات سايمون Simmon citrate medium

حضر حسب تعليمات الشركة المجهزة (Biolife) واستعمل لاختبار قابلية البكتريا على استهلاك السترات بوصفه مصدرا وحيدا للكاربون (Collee واخرون،1996) .

3-2-1-10وسط اكار ثلاثي السكريات الحديد Triple sugar iron agar medium

استخدم الوسط للتحري عن قابلية البكتريا في تخمر كل من سكر الكلوكوز واللاكتوز والسكروز وانتاج H_2S و CO_2 والذي حضر حسب تعليمات الشركة المجهزة (Himedia) ووزع على انابيب اختبار بشكل مائل ولقح بالتخطيط والطعن (Collee واخرون،1996) .

3-2-1-11وسط الجيلاتين Gelatin liquid faction medium

حضر باضافة 12غم من الجيلاتين الى 1 لتر من المرق المغذي ووزع في انابيب اختبار وبمقدار5 مل/انبوب وعقم بالموصدة بدرجة حرارة 121م^0 وضغط 15 باوند / انج^2 وتم استعمال هذا الوسط للتعرف على قابلية البكتريا على انتاج انزيم Gelatinase (Collee واخرون ,1996).

3-2-1-12اكار اليوريا Urea agar

حضر باذابة 4.6 غم من مسحوق وسط اليوريا الاساس في 195 مل ماء مقطر معقم بعدها عقم الوسط ثم برد الى درجة حرارة 50 مْ وبعدها اضيف 10 مل من محلول

اليوريـا 4 % المعقـم بالترشـيح الـى الوسـط ثـم وزع الـى انابيـب اختبـار معقمـة, اسـتعمل هــذا الوســط للتحــري عــن قابليــة البكتريــا علــى انتــاج انــزيم اليــوريز (Collee واخرون،1996) .

CHROMagar Pseudomonas : 13-1-2-3

حضــر باذابــة 3.32غـم مــن الوســط CHROMagar Pseudomonas فــي 100 مــل مـن المـاء المقطـر ومـزج الخلـيط مـن خـلال التـدوير البطـيء الـى ان يـذوب باكملـه , ثـم يسـخن المـزيج بدرجـة 100مْ فـي الفـرن دون اسـتعمال الموصـدة ومـن ثـم يبـرد الوسـط فـي حمـام مـائي الـى درجـة 48 مْ ويصـب باطبـاق بتـري ويتـرك ليتصـلب ويحفـظ امـا فـي درجـة حـرارة الغرفـة او يحفـظ لعـدة ايـام فـي الثلاجـة بدرجـة حـرارة تتـراوح بـين 2- 8مْ والحفظ يكـون فـي مكـان معـتم بعيـدا عـن الضـوء. يسـتعمل هـذا الوسـط للكشـف عـن بعـض انواع جنس. *Pseudomonas*

14-1-2-3وسط الحفظ Maintenance medium

حضـر هـذا الوسـط باضـافة الكلسـيرول بتركيـز 15 % الـى الوسـط المـرق المغـذي NA استعمل هذا الوسط لحفظ العزلات البكتيرية (Feltham واخرون،1978)

2-2-3 تحضير الكواشف

2-2-3 -1كاشف الكاتليز Catalase reagent

اسـتخدم الكاشـف للتحـري عـن انتـاج البكتريـا لانـزيم catalase حضـر بنسـبة 3% مـن بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 (Benson،2002).

2-2-3 -2كاشف فوكس بروسكاور voges –proskuer reagent

استعمل للكشف عن قابلية البكتريا على تخمير الكلوكوز وتضمن تحضير محلولين :

محلـول A – اذيـب 5غـم مـن مـادة α–naPhthal فـي 90 مـل كحـول اثيلـي 99 % ثـم اكمل الحجم الى 100مل .

محلـول B- اذيـب 50غـم هيدروكسـيد البوتاسـيوم فـي 90 مـل مـاء مقطـر ثـم اكمـل الحجـم الى 100 مل (Collee واخرون،1996) .

2-2-3 -3كاشف المثيل الاحمر Methyl Red (MR)

حضـر مـن اذابـة 0.1 غـم مـن Methyl Red فـي 300 مللتـر كحـول اثيلـي ومـن ثـم اكمـل الحجم الى 500 مللتر بالماء المقطر (Collee واخرون،1996) .

2-2-3 -4 كاشف لوكال Lugol's reagent

حضـر باذابـة 2غـم يوديـد البوتاسـيوم فـي 100 مـل مـن المـاء المقطـر ثـم اذيـب 1 غـم مـن اليـود فـي المحلـول السـابق واكمـل الحجـم الـى 300 مـل مـن المـاء المقطـر ، اسـتعمل للتحري عن قابلية البكتريا على تحليل النشا (Buxton و Fraser،1977).

2-2-3 -5كاشف اختزال النترات Nitrate reduction

ويتكون من محلولين :

A- حـامض السـلفانيك Sulfanilic acid حضـر باذابـة 8 غـم مـن حـامض السـلفانلك في 1 لتر من حامض الخليك Acetic acid .

B- محلـول الفـا نفثـول 5 % α–naPhthal حضـر باذابـة 5 غـم مـن صـبغة الفـانفثول فـي 100مل حامض الخليك 40 % .

تم تحضير المحلولين وتركا جانبا كل على حدة لحين الاستعمال (Cowan،1977) .

2-2-3 -6 كاشف الفنيل الاحمر

حضر الكاشف باضافة 0.2 غم من صبغة الفنيل الاحمر الى 1 لتر من الماء المقطر .

2-2-3 -7 ملون كرام Gram stain

يتكون ملون كرام من المواد الاتية:-

البلور البنفسجي Crystal violet

ايودين Iodine

ايثانول Ethanol

سفرانين Sofran

: CHROMagar Pseudomonas

CHROMagar Pseudomonas8-2-2-3 ؛ انفا في تشخيص بكتريا الزائفة الزنجارية *Pseudomonas auroginosa* كون هذا الوسط يعد وسطا خاصا لعزل وتشخيص هذه البكتريا ,وتم تمييزها من خلال ظهورها بلون اخضر مزرق Blue – green.

9- 2-2-3وسط اكار الماكونكي Macconkey agar

استخدم هذا الوسط والمحضر في اعلاة لتنمية مستعمرات البكتريا السالبة لملون كرام على هذا الوسط اذ يعد هذا الوسط وسطا تفريقيا لذلك استخدم لدراسة الصفات المظهرية وللتفريق بين المستعمرات البكتيرية المخمرة لسكر اللاكتوز عن غير المخمرة لسكر اللاكتوز حيث ظهرت المستعمرات المخمرة بالوان وردية على سطح الوسط والغير المخمرة ظهرت مستعمراتها شاحبة على سطح الوسط .

10- 2-2-3 تخمر السكريات الثلاثية Triple sugar iron agar test (T.S.I.agar test)

استعمل هذا الاختبار للتحري عن قدرة البكتريا على تخمير السكريات (كلوكوز , سكروز , لاكتوز) . لقح وسط الـ T.S.I.agar المائل (Slant) والمحضر وفق الفقرة اعلاة بالعزلات البكتيرية , وحضن لمدة 24 ساعة وبدرجة حرارة 37 مْ. يعد تحول لون الوسط من الاحمر الى الاصفر في الجزء العميق (Button) نتيجة موجبة لتخمر سكر الكلوكوز فقط , بينما تحول لون الوسط ككل اي الجزء العميق (Button) والسطح المائل (Slant) الى اللون الاصفر يعد نتيجة موجبة لتخمر سكر اللاكتوز والسكروز , كما ان ظهور فقاعات غازية دلالة على انتاج غاز CO_2 , وتكوين راسب اسود دلالة على انتاج كبريتيد الهيدروجين H_2S .

3-3-عزل البكتريا

3-3-1- العزل الاولي لبكتريا *Pseudomonas*

حضرت تخافيف متسلسلة لكل عينة من عينات التربة وذلك باضافة 10 غم من كل عينة من عينات تربة الى 90 مل من الماء المقطر المعقم في دوارق سعة 250 مل ، مزجت جيدا واجريت سلسلة تخافيف عشرية متسلسلة(10^{-1}-10^{-7}) وذلك بنقل 1 مل من عالق التربة الى انابيب اختبار تحوي على 9 مل من الماء المقطر المعقم ولكل عينة من عينات التربة ، استعمل الوسط(King B) لزرع تخافيف التربة عليه. اخذ 1 مل من تخافيف التربة المحضرة اعلاه لتلقيح انابيب اختبار تحتوي على 9 مل من الوسط المعقم King B اعلاه وبواقع مكررين لكل تخفيف ، حضنت الانابيب على درجة حرارة 28 م ^{0} ولمدة 3 ايام. فحصت الانابيب لملاحظة تكون غشاء رقيق ابيض على السطح والذي يعد مؤشرا اوليا لنمو بكتريا *Pseudomonas Spp* . اخذ 0.1 مل من الانابيب التي اعطت مؤشرا للنمو ونشرت على سطح طبق بتري يحتوي على وسط King A الصلب حضنت الاطباق على درجة حرارة 28 م ^{0} ولمدة (2-3) أيام، أعيد تخطيط الاطباق وذلك للحصول على مستعمرات نقية من البكتريا. بعدها تم الحصول على مستعمرات ذات لون اصفر مخضر تم عزلها بصورة نقية على بيئات صلبة واعطيت رموزاً وارقاماً حسب المنطقة التي عزلت منها.

3-3-2 العزل الاولي لبكتريا Bacillus

حضرت تخافيف عينات التربة بالطريقة نفسها المشار اليها في الفقرة 3-3-1 ثم وضعت هذه الانابيب في حمام مائي على درجة حرارة 80 درجة مئوي لمدة نصف ساعة للتخلص من الخلايا الخضرية المرافقة لسبورات بكتريا *.Bacillus spp*. نقل 1 مل من تخفيف التربة الى انابيب اختبار تحوي على 9 مل من الوسط الزرعي ، استعمل الوسط (Nutrient brouth) المعقم الحاوي على 1% نشا لتلقيح تخافيف التربة وبواقع مكررين لكل تخفيف ، حضنت الانابيب على درجة حرارة 30م ^{0} ولمدة 3 ايام، فحصت الانابيب بملاحظة تكون غشاء رقيق ابيض قريب عن السطح والذي يعد مؤشرا اوليا لنمو بكتريا ***Bacillus***، اخذ 0.1 مل من الانابيب التي اعطت مؤشرا للنمو ونشرت على سطح طبق بتري يحتوي على وسط الاكار

المغـذي .حضـنت الاطبـاق علـى درجـة حـرارة 30م^0 ولمـدة 3 ايـام ، اعيـد تخطـيط الاطبـاق وذلـك للحصـول علـى مسـتعمرات نقيـة مـن البكتريـا بعـدها تـم الحصـول علـى مسـتعمرات ذات لـون ابـيض مصـفر ذات حـواف مفصصـة تـم عزلهـا بصـورة نقيـة علـى بيئات صلبة واعطيت رموزا وارقاما حسب المنطقة التي عزلت منها.

3-3-3 تنقية العزلات البكتيرية

لغـرض الحصـول علـى مسـتعمرات نقيـة مـن البكتريـا *P. aeruginosa* اختيـرت عـدد مـن المسـتعمرات المنفـردة التـي اعطـت صـفات مورفولوجيـة مطابقـة للبكتريـا *P. aeruginosa* اذ اسـتخدمت طريقـة التخطـيط Streeking لغـرض اعـادة زرع هـذه البكتريـا علـى سـطح وسـط King B و باسـتعمال الناقـل loop وتحـت ظـروف التعقـيم ، حضـنت الاطبـاق لمـدة (24 - 48) سـاعة لحـين ظهـور مسـتعمرات متباعـدة او قريبة من بعضها ، لغرض اجراء الفحص المجهري والاختبارات الكيميوحيوية .

4-3 تشخيص البكتريا Identification of bacteria

1-4-3 الفحوصات الزرعية Cultural tests

لغـرض تشـخيص عـزلات البكتريـا قـد تـم ملاحظـة الصـفات المظهريـة للمسـتعمرات النامية مـن حيـث اشـكالها والوانهـا وسـطح المسـتعمرات وحوافهـا ووجـود روائـح مميـزة و شفافيتها و قوامها على سطح الاكار المغذي Nutrient agar (Blak،1965).

2-4-3 الفحوصات المجهرية Microscopical tests

فحـص العـزلات البكتيريـة مجهريـا وذلـك باخـذ مسـحة مـن المسـتعمرات البكتيريـة النامية علـى الاوسـاط الزرعيـة وتثبيتهـا وتصـبيغها بملـون كـرام لملاحظـة اشـكال وترتيـب الخلايـا البكتيرية وتفاعلها مع الصبغة (موجبة او سالبة) .

3-4-3 الفحوصات الكيموحيوية Biochemical tests

❖ اختبار انتاج انزيم الكاتليز Catalase test

اجري هذا الاختبار باخذ جزء من المزرعة البكتيرية النامية على الوسط الزرعي ووضعه على شريحة زجاجية ،واضيفت قطرة من بيروكسيد الهيدروجين 3% على المزرعة البكتيرية فوق الشريحة الزجاجية ، انَّ تحرر فقاعات مباشرة يدل على قدرة العزلة على انتاج انزيم الكاتليز (Baron و Fingold،1990) .

❖ اختبار انتاج انزيم الاوكسديز Oxidase test

رطبت قطعة من ورق الترشيح بقطرات من محلول كاشف الاوكسيديز ثم نقل جزء من المستعمرات البكتيرية المطلوب اختبارها بواسطة عيدان خشبية معقمة الى ورق الترشيح المرطب بمحلول الكاشف وظهور اللون البنفسجي خلال 10 -60 ثانية يعد نتيجة موجبة لانتاج انزيم الاوكسيديز (Atlas واخرون،1995) .

❖ اختبار الحركة Motility test

لقحت انابيب الاختبار الحاوية على وسط الاكار المغذي شبه الصلب بالبكتريا بطريقة الطعن وبعد الحضن بحرارة 37 مْ ولمدة 24 ساعة فان انتشار النمو خارج منطقة الطعن دلالة على قدرة العزلة على الحركة (Collee واخرون،1996).

❖ اختبار اختزال النترات Nitrate reduction test

لقحت الانابيب الحاوية على وسط النترات السائل وحضنت لمدة 96 ساعة بحرارة 37مْ .ثم اضيف 0.1 مل من كاشف اختزال النترات الى الانابيب , ظهور اللون الاحمر خلال عدة دقائق يدل على ايجابية الاختبار (Collee واخرون،1996).

❖ **اختبار انتاج انزيم اليوريز Urease test**

خطط اكار اليوريا المائل بالبكتريا المراد اختبارها وحضنت لمدة 24 ساعة بحرارة 37مْ ، تغير لون الوسط من الاصفر الى الوردي الاحمر دل على قابلية البكتريا على انتاج انزيم اليوريز (Collee واخرون،1996).

❖ **اختبار المثيل الاحمر (MR)**

لقحت الانابيب الحاوية على وسط MethylRed-Voges proskauer broth بالبكتريا , حضنت بدرجة حرارة 37 مْ لمدة 24-48 ساعة, ثم اضيفت 5 قطرات من كاشف المثيل الاحمر, تحول الوسط الى اللون الاحمر يعد نتيجة موجبة للاختبار (Collee واخرون،1996).

❖ **اختبار الفوكس بروسكاورVP**

لقحت الانابيب الحاوية على وسط MethylRed-Voges proskauer broth بالبكتريا و حضنت بدرجة حرارة 37 مْ لمدة 24 ساعة, ثم اضيف 1 مللتر من كاشف فوكس بروسكاور يعد ظهور اللون الاحمر بعد 5 دقائق نتيجة موجبة (Collee واخرون،1996) .

❖ **فحص الاندول Indol test**

لقح وسط تربتوفان السائل TryptoPhan broth الموزع في انابيب اختبار بالبكتريا المراد اجراء الاختبار لها , وحضنت المزارع البكتيرية بدرجة حرارة 25 مْ لمدة ثلاث ايام ،بعد انتهاء مدة الحضن اضيف لكل انبوبة عدة قطرات من كاشف كوفاكس ، ظهور حلقة حمراء على سطح الوسط المزروع دل على ايجابية الاختبار (Harrigan و McCance،1976).

❖ **اختبار تحلل النشا Starch hydrolysis test**

نشر 0.1 مل من العالق البكتيري على سطح وسط اكار النشا ، حضنت الاطباق بحرارة 37 مْ لمدة 24 ساعة وعندما لوحظت المستعمرات المحاطة بهالة شفافة ، اضيف اليها 1 مل من محلول Logul's iodine ، انَّ تلون الوسط باللون الازرق عدا المناطق الشفافة المحيطة بالمستعمرات يعني ان النتيجة موجبة اي ان البكتريا محللة للنشا (Baron و Fingold،1990) .

❖ **اختبار الجلاتين Gelatin hydrolysis test**

لقحت انابيب وسط الجلاتين بالعزلات البكتيرية النقية بطريقة الطعن وحضنت عند درجة حرارة 37 مْ لمدة 24-48 ساعة .ثم وضعت في الثلاجة عند درجة حرارة 4 مْ لمدة نصف ساعة , ان تحول الوسط الى الحالة السائلة يدل على النتيجة الموجبة للاختبار .

❖ **اختبار استهلاك السترات Citrate Vtilization test**

لقحت موائل اكار سترات سايمون Simmon Citrate agar بمستعمرة عمرها 24 ساعة من المزارع البكتيرية ثم حضنت عند درجة حرارة 37 مْ ولمدة 24 ساعة ، ان تغير لون الوسط بعد الحضن من الاخضر الى الازرق يدل على النتيجة الموجبة (Collee واخرون،1996).

❖ **اختبار النمو بدرجة حرارة 41 مْ و 4 مْ**

خطط جنس البكتريا *Pseudomonas spp.* على الاكار المغذي بمكررين لذات المستعمرات، حضنت احدهما بدرجة حرارة 42 مْ والاخرى بدرجة حرارة 4 مْ ولمدة 24 ساعة ، ولوحظت قابلية النمو في درجتي الحرارة كليهما (Lennette واخرون،1985).

3-6- التجارب المختبرية

3-6-1 تقدير دليل الاذابة Determination of solubilization index (SI)

قدر معامل اذابة فوسفات الكالسيوم الثلاثية (وهو نسبة القطر الكلي للمستعمرة + الهالة الشفافة الى قطر المستعمرة) من قبل العزلات البكتيرية حيث استعمل الوسط الغذائي Pikovskaye اذ حضر الوسط وعُقم في المؤصدة على درجة حرارة 121 مئوي وضغط 15 باوند/ انج^2 لمدة 20 دقيقة ثم صب الوسط في اطباق بتري وترك ليتصلب ثم نقل 0.1 مل بواسطة الماصة الميكانيكية المعقمة من لقاح العزلات ونشر على سطح الوسط بواسطة ناشر L-shape وباستعمال ثلاثة مكررات وحضنت الاطباق على درجة حرارة 28°م وبعد مرور ثلاثة ايام على الحضن تم قياس قطر المستعمرة وقطر الهالة الشفافة وباستعمال المعادلة التالية لتقدير معامل الاذابة (Edi-Premono واخرون،1996).

SI= D/C

حيث ان :-

SI=دليل معامل الاذابة

D= القطر الكلي للمستعمرة + الهالة الشفافة (سم)

C = قطر المستعمرة فقط (سم)

3-7 تحاليل التربة

3-7-1 الصفات الكيميائية

1- درجة تفاعل التربة

تم قياس درجة تفاعل التربة في معلق تربة :ماء بنسبة 1:1 باستعمال جهاز Ph - meter وحسب ما وصف في(Page واخرون،1982) .

2- الايصالية الكهربائية (EC)

تم قياس الايصالية الكهربائية (EC) في مستخلص العجينة المشبعة باستعمال جهاز التوصيل الكهربائي (EC-meter) حسب ما موصوف في (Richards،1954).

3- المادة العضوية

قُدرت المادة العضوية حسب طريقة Walkely and Black وحسب ما جاء في (Black ،1965).

4- النتروجين الجاهز

قُدر باستخلاصه بوساطة(2N KCl) وحسب ما موصوف (Brmner ،1965).

5- الفسفور الجاهز

استخلص الفسفور الجاهز بواسطة محلول بيكاربونات الصوديوم 0.5 مولاري و Ph 8.5 وطور اللون بواسطة محلول بمولبيدات الامونيوم وحامض الاسكوربيك وفقا لطريقة Olesn وتم التقدير باستعمال جهاز المطياف SpectroPhoto meter و عند طول موجي 882 نانوميتر كما ورد في(Page واخرون،1982) .

6- الكالسيوم و المغنسيوم

تم تقدير الكاليسيوم والمغنيسيوم بطريقة التسحيح بمحلول 0.01 عياري فرسنيت (Na_2EDTA) (Ethylene diaamine tetra acetic acide) اما المغنيسيوم فقد قدر باستعمال (0.01عياري) (Na_2EDTA) ودليل (EBT) وحسب الطريقة الموصوفة في (Richards،1954) .

7- الصوديوم والبوتاسيوم

قدر الصوديوم والبوتاسيوم بجهاز اللهب FlamPhotometer وحسب ما ورد في (Page واخرون،1982).

8- الكبريتات

قدرت الكبريتات بطريقة الترسيب بواسطة كلوريد الباريوم كما ورد في (Rhoades، 1982).

9- الكاربونات والبيكربونات

قدرتا بالتسحيح مع 0.02 عياري من حامض الكبريتيك حسب الطريقة الموصوفة في (Jackson، 1958)

10- الكلوريد

قدرت ايونات الكلوريد بطريقة التسحيح مع نترات الفضة 0.03 عياري حسب الطريقة الموصوفة في (Jackson ،1958).

11- الكاربونات الصلبة الكلية

قدرت بالطريقة الوزنية باستعمال حامض الهيدروكلوريك HCl 3 عياري وفقا لما جاء (Richards، 1954) .

12- السعة التبادلية للايونات الموجبة (CEC)

قدرت السعة التبادلية حسب ما جاء في (Polemio و Rhoades، 1977) .

13-الكادميوم والرصاص

تم تقديرهما بحسب الطريقة الموصوفة من Norvell and Lindsay(1978) , باستعمال المركب المخلبي (DTPA) (Diethylene triamine penta aceticacid) داي اثلين تراي امين بنتا استك اسد, قيست بجهاز الامتصاص الذري Atomic Absorption Spectrometer

3-7-2 الصفات الفيزيائية: تم تقدير الصفات الفيزيائية للتربة.

3-7-2-1نسجة التربة

قدرت نسجة التربة بطريقة الماصة Pipette method وحسب ما جاء في (Black، 1965).

3-7-3 التحليلات البيولوجية

1- البكتريا الكلية

تم تقدير اعداد البكتريا الكلية في التربة بطريقة التخفيف والعد بالاطباق باستعمال وسط الاگار المغذي وحسب ما جاء في Black (1965).

2- الفطريات

قُدرت اعداد الفطريات في التربة باستعمال طريقة التخفيف والعد بالاطباق باستعمال الوسط potato Dextrose agar بحسب ما جاء في .Black (1965) .

3-بكتيريا *P. aeruginosa*

تم تقدير اعداد البكتريا الكلية في التربة بطريقة التخفيف والعد بالاطباق باستعمال وسط الاگار المغذي وحسب ما جاء في Black (1965).

4-بكتيريا *B. subtilis*

تم تقدير اعداد البكتريا الكلية في التربة بطريقة التخفيف والعد بالاطباق باستعمال وسط الاگار المغذي وحسب ما جاء في Black (1965).

3-8- القياسات النباتية

1- ارتفاع النبات
2- الوزن الجاف للنبات
3- مساحة ورقة العلم
4- قطر القرص
5- وزن 500 حبة
6- الكادميوم في النبات
7- الرصاص في النبات
8- N في النبات
9- P في النبات
10-K في النبات

جدول (4) بعض الصفات الفيزيائية والكيميائية والحيوية لتربة الحقل قبل الزراعة

الصفة	الوحدة	القيمة
درجة التفاعل PH 1:1		7.9
الايصاليه الكهربائية Ec	dsm^{-1}	6.3
النتروجين الجاهز N	ملغم كغم تربة$^{-1}$	29.01
الفسفور الجاهزP		9.58
البوتاسيوم K		109.08
المادة العضوية	غم كغم$^{-1}$	8
كاربونات الكالسيوم	غم كغم$^{-1}$	177.1
الكالسيوم الذائب		28.02
المغنيسوم الذائب	ملي مكافئ لتر$^{-1}$	20.49
الصوديوم الذائب		9.62
الكلور الذائب		63.09
البيكاربونات الذائبة		3.68
الكبريتات		5.83
الكاربونات		Nill
البوتاسيوم الذائب		2.47
CEC	سنتيمول شحنة.كغم$^{-1}$	31.12
الرصاص	Ppm	27.66
الكادميوم		1.03
الرمل	غم كغم$^{-1}$ تربة	212
الغرين		680
الطين		108
النسجة		Silty loam
الفطريات الكلية	Cfu g^{-1} dry soil	143×10^6
البكتريا الكلية		187×10^8
بكتريا *P. aeruginosa*		97×10^3
بكتريا *B. subtilis*		78×10^3

3-9 التجربة الحقلية

3-9-1موقع تنفيذ التجربة :

نفذت التجربة الحقلية في محطة الابحاث الثانية (2 كم عن مركز محافظة المثنى) التابعة لكلية الزراعة – جامعة المثنى للموسم الزراعي 2022 - 2023 لدراسة تاثير اضافة العزلتين المنتخبة من بكتريا *pseudomonas aeruginosa* و بكتريا *Bacillus subtilis* وتداخلهما في نمو نبات زهرة الشمس وامتصاص العناصر الثقيلة cd,pb حيث صممت التجربة وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة Randomized Completely Block Design (RCBD) وذلك باستعمال عاملين للتجربة بثلاث مكررات وباربعة مستويات بكل عامل .

3-9-2عوامل التجربة الحقلية

العامل الاول

اللقاحات الحيوية وباربعة نوعيات اخذت الرموز الاتية :-

B0= بدون اضافة اللقاح البكتيري

B1 = اضافة بكتريا *pseudomonas aeruginosa*

B2 = اضافة بكتريا *Bacillus subtilis*

B3 = اضافة التداخل من اللقاح *pseudomonas aeruginosa* + *Bacillus subtilis*

العامل الثاني

4 مستويات من العناصر الثقيله (الكادميوم والرصاص) وبتراكيز مختلفة اخذت الرموز الاتية:-

C0 = تركيز 5 PPM كادميوم + 100 PPM رصاص

C1 = تركيز 10 PPM كادميوم + 150 PPM رصاص

C2 = تركيز 15 PPM كادميوم + 200 PPM رصاص

C3 = تركيز 20 PPM كادميوم + 250 PPM رصاص

نفذت التجربة بثلاثة مكررات اذ بلغ عدد الوحدات التجريبية = 4×4×3 = 48 وحدة تجريبية

مخطط التجربة

R1	R2	R3
B0C1	B1C1	B3C2
B3C1	B0C3	B2C1
B2C0	B2C3	B3C3
B0C3	B0C1	B0C2
B3C0	B1C3	B1C2
B0C0	B3C2	B0C0
B2C3	B2C1	B3C0
B2C2	B3C3	B2C2
B1C0	B0C0	B0C3
B1C3	B0C2	B2C0
B3C2	B1C2	B1C0
B2C1	B2C2	B0C0
B3C3	B2C0	B3C1
B1C1	B1C0	B2C3
B0C2	B3C1	B1C3
B1C2	B3C0	B1C1

3-10- تحضير التربة والزراعة

3-10-1-العمليات الزراعية :

تم تحضير التجربة بحراثتها حراثتين متعامدتين باستعمال المحراث المطرحي القلاب بعدها اجريت عملية التنعيم باستعمال الامشاط القرصية ثم اجريت عملية التسوية والتمريز بهدف اعداد مهد مناسب للبذور . تم تقسيم الحقل الى (48) وحدة تجريبية , مساحة كل وحدة تجريبية 6 م^2 (3م×2م) وقسمت الوحدات الى مروز المسافة بين مرز واخر (70 سم) و المسافة بين جوره واخرى (25) سم وتركت مسافة واحد متر بين الوحدات التجريبية و 1.5م بين القطاعات, اعطيت رية التعيير وتركت لحين الجفاف المناسب لاجراء عملية الزراعة , ، ثم زرعت بذور زهرة الشمس صنف شموس بواقع (4 بذرة \جوره) بتاريخ 2023/3/7, وبعمق (3 سم) (الساهوكي ,1994) في الثلث العلوي من المرز , وبعد اكتمال البزوغ وتكوين الزوج الاول من الاوراق الحقيقية اجريت عملية خف النباتات الى نبات واحد في الجورة . اجريت عمليات الري والتعشيب كلما دعت الحاجة , بعد اكتمال عملية التلقيح وقبل الوصول لمرحلة النضج الفسيولوجي تم تغطية النباتات بالشبك لتلافي اضرار الطيور , وعند ظهور علامات النضج التام (تلون القنابات الخارجية باللون البني وتحول الجهة الخلفية للاقراص الى اللون الاصفر تم حصاد الحقل في 2023/6/26 بعد اخذ العينات لكل وحدة تجريبية .

3-10-2 التسميد

تم اعتماد التوصية السمادية الكاملة 160 كغم N .هكتار$^{-1}$ باستعمال سماد اليوريا(N 46%) و باستعمال سماد السوبرفوسفات الثلاثي (46% P2O5 50% من التوصية السمادية) 100 كغم P2O5 للهكتار و باستعمال سماد كبريتات البوتاسيوم (K 2O %50) 160 كغم K2O للهكتار (العابدي،2011)

اذ اضيف السماد النتروجيني بدفعتين دفعة عند الزراعة ودفعة بعد مرور 45 يوماً من الزراعة اما السماد الفوسفاتي والبوتاسي فاضيف دفعةً واحدة.

3-10-3 تلقيح البذور

لقحت بذور زهرة الشمس من خلال اضافتها الى الدوارق الحاوية على اللقاح البكتيري وللانواع الثلاثة من اللقاح (*B. subtilis* + *P. aeruginosa* ، *B. subtilis* ، *P. aeruginosa*) ثم اضيف 100 مل من الصمغ العربي المحضر بتركيز 10% الى الدوارق كافة حضنت الدوارق بالحاضنة لمدة 72 ساعة وعلى درجة حرارة 28° م بعد ذلك استخرجت البذور ونشرت على ورق مقوى وبعيدا عن اشعة الشمس لمدة نصف ساعة قبل زراعتها، وتم زراعة البذور تلقيما في الجور وحسب نوع اللقاح مع مراعاة نوع المعاملة حيث تم زراعة البذور غير الملقحة اولا قبل يوم وذلك لضمان عدم تلوثها.

3-11الصفات المدروسة :

صفات النمو : تم اخذ القراءات الخاصة بصفات النمو لخمس نبتات من المرز الوسط من الوحدات التجريبية.

1-ارتفاع النبات (سم) : تم قياسه من سطح التربة الى قاعدة القرص .

2-المساحة الورقية ($م^2$) : تم حسابها باستعمال المعادلة التي اوردها (حردان والساهوكي ,2014) :

مجموع مربعات عرض اوراق اللفة السادسة × 4.31

3-قطر القرص (سم) : حسب بقياس الجزء الذي يشمل الازهار القرصية .

4- وزن 500 حبة (غم . نبات$^{-1}$): حسب كمتوسط لاقراص المرز الوسط لخمس نبتات من كل معاملة ثم عدل الوزن على اساس 8% رطوبة (الساهوكي , 1994) .

5-الوزن الجاف للنبات (غم . نبات$^{-1}$): حسب كمتوسط لخمسة من نبتات المرز الوسط من كل معاملة(الساهوكي , 1994)

3-12- 1 تحليل الاجزاء النباتية (مجموع خضري)

جففت **العينات النباتية** بواسطة فرن كهربائي عند درجة حرارة (65) مْ لمدة 48 ساعة لحين ثبات الوزن ومن ثم طحنت (المجموع الخضري) جيدا لضمان تجانس العينة التي سوف تهضم هضما كليا لتقدير محتواها من العناصر الثقيلة وتقدير الـ NPK فقد هضمت عينات النبات هضما تاما بواسطة الحوامض (H_2SO_4 - $HClO_4$) وتم اخذ 0.2 غم من العينة المجففة والمطحونة طحنا جيدا والمنخولة بمنخل قطر فتحاتة 2 ملم ووضعت في قنينة من البايركس

سعة (250) مل واضيف لها (4)مل من حامض الكبريتيك المركز (H_2SO_4) وتركت لمدة 24 ساعة ومن ثم وضعت العينات على صفيحة ساخنة لدرجة حرارة 80 مْ لمدة ساعة كاملة ثم بردت العينات هوائياً بعد ذلك اضيف لها 2مل من حامض البيروكلوريك $HClO_4$ في درجة حرارة 180 مْ لمدة 2 -3 ساعة على صفيحة ساخنة حتى تحول اللون من البني الغامق الى عديم اللون (رائق) تدريجيا ثم بعد ذلك تم الترشيح بورق الترشيح واكمل الحجم الى 50 مل بالماء المقطرومن ثم استخدم جهاز الامتصاص الذري Atomic Absorption Spectrometer لتقدير العناصر الثقيلة. تم قياس النتروجين الكلي كما موضح في الطريقة الموصوفة في Haynes (1980) عن طريق استعمال جهاز المايكروكلدال (Microkjeldal) تم تقدير النتروجين بطريقة التقطير بعد إضافة هيدروكسيد الصوديوم(10 مولاري). وقدر الفسفور بطريقة (مولبيدات الامونيوم) وباستعمال جهاز SpectroPhotometer حسب ما وضح في (Haynes، 1980). بينما قدر البوتاسيوم باستخدام جهاز (Flame Phmeter) ، كما ورد في (Haynes،1980).

2-12-3 تحليل التربة بعد الزراعة

حصدت نباتات التجربة واخذت عينات للتربة بعد الزراعة وقدرت فيها تراكيز العناصر الثقيلة الكلية الرصاص والكادميوم بحسب الطريقة المعتمدة من قبل وكالة حماية البيئة الأمريكية EPA سنة (1986) الوارد ذكرها في كتاب تحليل التربة والنبات دليل مختبري (and Sayegh 2007,Issam) وتمت مقارنة النتائج التي توصلنا اليها بالمعايير الدولية الحديثة لمنظمة الصحة العالمية WHO (2007) لتراكيز العناصر الثقيلة في التربة والنبات. كذلك قدر نتروجين التربة الجاهز حسب الطريقة الواردة في page وآخرون (1982) بطريقة الاستخلاص بواسطة (محلول كلوريد البوتاسيوم M2).وقدر الفسفور التربة الجاهز كما اشار page واخرون (1982) باستعمال (محلول بيكربونات الصوديوم NaHCO3.5M عند Ph =8.5) حسب طريقة Olsen وآخرون (1954) ، تم تطوير اللون الازرق باستعمال محلول مولبيدات الامونيوم وحامض الاسكوربيك باستعمال جهاز Spectro-Photometer بطول موجي 840(nm).

قدرالبوتاسيوم بطريقة الاستخلاص بواسطة خلات الامونيوم N1 حسب الطريقة الموصوفة من قبل (Page وآخرون , 1982).

13-3التحليل الاحصائي

تم استعمال برنامج (Genstat) تحت نظام التشغيل (Windows XP) لاجراء التحليلات الاحصائية اذ استعمل في تنفيذ التجربة الحقلية تصميم القطاعات العشوائية الكاملة (RCBD) لدراسة التاثيرات الرئيسة والتداخلات بين المعاملات وتمت مقارنة المتوسطات باستعمال اختبار اقل فرق معنوي (LSD Test) عند مستوى احتمال 0.05 .

النتائج والمناقشة Results & Discussion

4-1- نتائج تشخيص عزلات بكتريا *Pseudomonas aeruginosa*

4-1-1- الصفات المزرعية والمجهرية

يبين الجدول (5) بعض الخصائص الزرعية والمجهرية لعزلات البكتريا التي تم عزلها من ترب ورايزوسفير بعض المحاصيل الحقلية اذ وجد ان معظم مستعمرات هذه العزلات البكتيرية ناعمة، ذات سطح محدب ، لونها اخضر مصفر، متوسطة الى كبيرة الحجم، دائرية كما ان الصبغة الخضراء المصفرة كانت واضحة الظهور بمرور الوقت. وبناءً على الصفات الزرعية والمجهرية لهذه العزلات قد وجد انها تتطابق مع الصفات المزرعية والمجهرية لبكتريا الزوائف *Pseudomonas* (Migula،1900). في حين بيّنت نتائج فحص الشرائح المصبوغة بملون كرام ان هذه الخلايا ذات اشكال عصوية مستقيمة، سالبة لملون كرام. غالبا ما تكون على شكل ازواج منفردة او على شكل سلال .

4-1-2- نتائج الاختبارات الكيميوحيوية

شخصت العزلات البكتيرية للبكتريا بالاعتماد على بعض الاختبارات التشخيصية الكيموحيوية المبينة في الجدول (6) اذ اعطت العزلات نتيجة موجبة لاختباري انزيمي الاوكسديز و الكتاليز، كما ظهرت اغلب العزلات نتيجة سالبة لاختباري الفوكس – بروسكاور, وللبكتريا القدرة على انتاج غاز H_2S , وتمكنت البكتريا من استهلاك السترات وظهرت على عزلاتها قابليتها على الحركة , كما ظهرت هذه البكتريا نتيجة موجبة لاختبار انزيم الجلاتينيز ولها القدرة على استعمال النشا كمصدر للكربون كما اعطت نتيجة سالبة لاختبار انتاج الاندول وموجبة لاختزال النترات كما ظهرت النتائج عدم قدرة البكتريا على انتاج انزيم اليوريز ولها القابلية على النمو في درجة حرارة 41 مئوي في حين لم تستطع النمو في درجة حرارة 4 مئوي .

الجـــدول (5) الشـــكل المورفولـــوجي علـــى وســـط Nutrient Agar و MacConky للعزلات البكتيرية لبكتريا *pseudomonas*

رقم العزلة	التربة المعزول منها	الوصف
1	حقل برسيم	مستعمرة صفراء مخضرة ، محدبة ، دائرية ، عصوية قصيرة ، غير متحركة ، موجبة لصبغة كرام
2	حقل جت	مستعمرة خضراء ، دائرية ، محدبة ، كروية ، متحركة ، سالبة لصبغة كرام
3	حقل برسيم	مستعمرة صفراء، هلامية ، مسطحة، متحركة ، عصوية ، موجبة لصبغة كرام
4	حقل ريحان	مستعمرة صفراء، دائرية ، متعرجة الحافة ، متحركة ، عصوية قصيرة ، موجبة لصبغة كرام
5	حقل فجل	مستعمرة صفراء مخضرة، دائرية ، غير شفافة ، متحركة ، عصوية ، سالبة لصبغة كرام
6	حقل ذرة صفراء	مستعمرة كريمي ، حافة غير منتظمة ، محدبة ، عصوية قصيرة، سالبة لصبغة كرام ، غيرمتحركة .
7	حقل جت	مستعمرة صفراء مخضرة، مستوية مع السطح ، حافة مسننة ، عصوية قصيرة ، متحركة ، سالبة لصبغة كرام
8	حقل جت	مستعمرات بيضاء ، غير شفافة ، مستديرة الحافة ، مقببة ، عصوية قصيرة ، سالبة لصبغة كرام متحركة
9	حقل فجل	مستعمرات صفراء مخضرة، متعرجة الحافة ، عصوية ، سالبة لصبغة كرام متحركة ، محدبة
10	حقل شعير	مستعمرات صفراء ، مستديرة الحافة ، مقببة ، عصوية قصيرة ، متحركة ، سالبة لصبغة كرام.

جدول (6) الاختبارات الكيميوحيوية لبكتريا *pseudomonas*

Iso.no. / . Bio.che	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Gram stain	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-
Motility t.	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
Vo . Pro.t	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Starch hydrolysis	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nitrate reduction	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Indole t.	_	+	_	_	+	_	_	_	_	_
Catalase test	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Oxidase test	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Urease test	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MethylRed T.	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+
Gelatin hydrolysis test	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
CitrateVtilization test	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+
Growth in 41C°	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
Growth in 4C°	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-

وبناءًا على نتائج لاختبارات الكيموحيوية والصفات الزرعية والمجهرية قد وجد ان هذه العزلات البكتيرية تحمل صفات بكتريا *P. aeruginosa* وهذا يتفق مع ما ذكره Starr واخرون(1981) و Collee واخرون(1996) . كما مبين في جدول (7).

جدول (7) العزلات البكتيرية المشخصة كبكتريا *Pseudomonas aeruginosa*

رقم العزلة / الاختبار	2	5	7	8	9	10
Gram stain	-	-	-	-	-	-
Motility test	+	+	+	+	+	+
Vo . Pro. Test	-	-	-	-	-	-
Starch hydrolysis	+	+	+	+	+	+
Nitrate reduction	-	+	+	+	+	+
Indole test	+	+	-	-	-	-
Catalase test	+	+	+	+	+	-
Oxidase test	+	+	+	+	+	+
Urease test	-	-	-	-	-	-
MethylRed test	+	+	+	-	+	+
Gelatin hydrolysis test	+	+	+	+	+	+
Citrate utilization test	+	+	+	+	+	+
Growth in 41C°	+	+	+	+	+	+
Growth in 4C°	-	-	-	-	-	-

4-2- نتائج تشخيص عزلات بكتريا *Bacillus subtilis*

4-2-1-الصفات المزرعية والمجهرية

يوضح جدول(8) بعض الخصائص الزرعية والمجهرية للعزلات البكتيرية التي تم عزلها من ترب ورايزوسفير بعض المحاصيل الحقلية، اذ وجد ان معظم مستعمرات هذه العزلات البكتيرية دائرية الشكل (Circular)، ناعمة(Smooth)، ذات سطح محدب(convex)، لونها ابيض مصفر (White yellow) ،متوسطة الى كبيرة الحجم مخاطية(Mucous)،الحافة تكون مفصصة (Lobate) . في حين بينت نتائج فحص الشرائح المصبوغة بملون كرام ان هذه الخلايا ذات اشكال عصوية مستقيمة او مستطيلة (rectangular rode)، موجبة لملون كرام. غالبا ما تكون على شكل ازواج او سلاسل . وبناءً على هذه الصفات المجهرية قد وجد انها تتطابق مع صفات بكتريا Bacillus (Saha واخرون،2012).

4-2-2- نتائج الاختبارات الكيموحيوية

الجدول (9) يوضح نتائج الاختبارات الكيموحيوية التي اعتمدت في تشخيص العزلات البكترية اذ اعطت اغلب العزلات نتيجة موجبة لاختبار انزيم الكتاليز وموجبة لاختبار السترات بينما اعطت هذه العزلات فحصا سالبا لافراز انزيم اليوريز وموجبا لاختبار اختزال النترات. كما ظهرت العزلات نتيجة موجبة لاختبار الفوكس – بروسكاور وسالبا لاحمر المثيل , وتمكنت من تحليل النشا نتيجة لقابليتها على افراز انزيم الاميليز وظهرت هذه البكتريا قابليتها على الحركة , كما اعطت نتيجة موجبة لاختبار انزيم الجلاتينيز وموجبة لاختبار الاوكسيديز وبناءا على ذلك قد اظهر ان هذه العزلات تحمل صفات بكتريا *Bacillus subtilis* وهذا يتفق مع ما ورد في Holt واخرون(1994) و Bergeys (1974).

الجـدول (8) الشـكل المورفولـوجي علـى وسـط Nutrient Agar و MacConky للعزلات البكتيرية لبكتريا *Bacillus*

رقم العزلة	التربة المعزوله منها	الوصف
1	حقل برسيم	مستعمرة ذات لون كريمي، هشة، مفصصة ، محدبة ، دائرية ، عصوية قصيرة ، متحركة ، موجبة لصبغة كرام
2	حقل جت	مستعمرة صفراء ، معتمة ، مفصصة محدبة ، كروية ، متحركة ، موجبة لصبغة كرام
3	حقل برسيم	مستعمرة كريمي ، هلامية ، مسطحة، متحركة ، عصوية ، سالبة لصبغة كرام
4	حقل ريحان	مستعمرة صفراء، دائرية ، متعرجة الحافة ، متحركة ، عصوية قصيرة ، موجبة لصبغة كرام
5	حقل فجل	مستعمرة بنية، دائرية ، معتمة، متحركة ، عصوية ، موجبة لصبغة كرام
6	حقل ذرة صفراء	مستعمرة كريمي ، حافة غير منتظمة ، مرتفعة قليلا ، عصوية قصيرة، موجبة لصبغة كرام ، متحركة .
7	حقل جت	مستعمرة بيضاء ، مسطحة ، حافة مسننة ، عصوية قصيرة ، غير متحركة ، موجبة لصبغة كرام
8	حقل جت	مستعمرات بيضاء ، معتمة، مفصصة الحافة ، مقببة ، عصوية قصيرة ، سالبة لصبغة كرام,غير متحركة
9	حقل فجل	مستعمرات بيضاء ، متعرجة الحافة ، عصوية ، موجبة لصبغة كرام متحركة ، مسطحة
10	حقل شعير	مستعمرات صفراء ، مفصصة الحافة ، مقببة ، عصوية قصيرة ، متحركة ، سالبة لصبغة كرام.

جدول (9) الاختبارات الكيميوحيوية لبكتريا *Bacillus*

Iso.no. / Bio.che.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Gram stain	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-
Motility t.	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Vo . Pro.t	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
Starch hydrolysis	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Nitrate reduction	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Indole t.	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+
Catalase test	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxidase test	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Urease test	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MethylRed T.	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-
Gelatin hydrolysis test	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Citrate Vtilization test	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-

و اعتمـادا علـى ذلـك اذ اختيـرت العـزلات مـن البكتريـا التـي تحمـل الصـفات التشخيصـية للبكتريا *Bacillus subtilis* كما مبين في جدول (10) .

جدول (10) العزلات البكتيرية المشخصة كبكتريا *Bacillus subtilis*

رقم العزلة / الاختبار	1	2	4	5	6	9
Gram stain	+	+	+	+	+	+
Motility t.	+	+	+	+	+	+
Vo . Pro.t	+	+	+	+	+	+
Starch hydrolysis	+	+	+	+	+	+
Nitrate reduction	+	+	+	+	+	+
Indole t.	-	-	-	-	-	-
Catalase test	+	+	+	+	+	+
Oxidase test	+	+	+	+	+	+
Urease test	-	-	-	-	-	-
Methyl Red T.	-	-	+	-	-	-
Gelatin hydrolysis test	+	+	+	+	+	+
Citrate Vtilization test	-	-	+	+	+	+

3-4- تقدير معامل الاذابة solubilization index (SI)

اشـارت النتـائج الـى ان كـل العـزلات البكتيريـة المشخصـة اظهـرت فعاليـة متفاوتـة فـي اذابتهـا للفوسـفات الصـلبة والـذي اسـتدل عليـه مـن خـلال تكـوين منـاطق شـفافة رائقـة حـول المسـتعمرات ، اذ ان منطقـة الاذابـة حـول المسـتعمرات علـى وسـط بيكوفيسـكي الصـلب بعـد ثلاثـة ايـام مـن التحضـين علـى درجـة حـرارة 28º مئويـة ومـن بـين العـزلات كافـة قـد وجـدت بعـض العـزلات الفعالـة فـي اذابتهـا للفوسـفات وكانـت العزلـة P2 لبكتريـا *P. aeruginosa* والعزلـة البكتيريـة $_{B3}$ لبكتريـا *B. subtilis* قـد اعطـت اعلـى قيمـة فـي فعاليتهـا لاذابـة الفوسـفات مـن خـلال قطـر المنطقـة الرائقـة حـول المسـتعمرة والتـي كانتـا 5.12 ، 4.0 بالتتـابع اذ اوضـحت النتـائج تفـوق العزلـة البكتيريـة رقـم P2علـى بـاقي العـزلات وبلغـت 2.46 كمـا اشـارت النتـائج الـى تفـوق العزلـة رقـم P10 علـى العـزلات الاخـرى وقـد بلغـت 2.41 والتـي لـم تختلـف معنويـا عـن العزلـة رقـم P1 والتـي بلغـت 2.33 كمـا سـجلت العزلـة رقـم P3 والتـي بلغـت 1.40 اقـل قـيم معامـل الاذابة.وقـد يعـود تفـوق العـزلات اعـلاة فـي ذوبانيـة الفوسـفات الـى بعـض الصـفات الوراثيـة والبيئيـة التـي تتميـز بهـا هـذه العـزلات نتيجـة افرازهـا بعـض الاحمـاض العضـوية وخفـض PH وبالتالي زيادة ذوبانية الفوسقات (Gupta واخرون,2021)

وقـد يعـود سـبب ذلـك لقابليـة البكتريـا علـى افـراز عـدد مـن الاحمـاض العضـوية مثـل حـامض السكسـنيك والكلوتاميـك والماليـك والفيومـارك التـي تعمـل علـى اذابـة الفوسـفات ويتفق هذا مع ما وجده Mardadواخرون(2013) .

اشـارت النتـائج فـي الجـدول ذاتـة الـى تـاثير العـزلات البكتيريـة فـي قـيم حاصـل الاذابـة اذ تفوقـت العزلـة رقـم B4علـى بـاقي العـزلات وبلغـت 3.50 كمـا اشـارت النتـائج الـى تفـوق العزلـة رقـم B2 علـى العـزلات الاخـرى وقـد بلغـت 2.60 والتـي لـم تختلـف معنويـا عـن العزلـة رقـم B1والتـي بلغـت 2.28 كمـا سـجلت العزلـة رقـم B9 والتـي بلغـت 1.09اقـل قـيم معامـل الاذابـة. اذ يعـزى سـبب ذلـك لكـون البكتريـا المذيبـة للفوسـفات تفـرز مركبـات كنـواتج ايضـية ومنهـا الاحمـاض العضـوية وبعـض الانزيمـات ومنهـا انـزيم الفوسـفاتيز والتـي تعمـل علـى اذابـة الفوسـفات وقـد يعـود تفـوق العـزلات اعـلاة فـي ذوبانيـة الفوسـفات

الـى بعـض الصـفات الوراثيـة والبيئيـة التـي تتميـز بهـا هـذه العـزلات نتيجـة افرازهـا بعـض الاحماض العضوية وخفض PH وبالتالي زيادة ذوبانية الفوسفات (صبري ,2017)

هـذه النتـائج تتفـق مـع مـا وجـده Tripti واخـرون(2012) والـذي اشـار الـى تفـوق بكتريـا *B. subtilis* علـى بكتريـا *P. aeruginosa* فـي قـيم معامـل الاذابـة وتبـاين العـزلات لجنسي البكتريا في اذابتها للفوسفات.

جدول (11)) قيم معامل الاذابة لعزلات بكتريا *P. aeruginosa* و *B. subtilis*

رقم العزلة	قيم معامل الاذابة *P. aeruginosa*	قيم معامل الاذابة *B. subtilis*
1	2.33	2.28
2	2.46	2.60
3	1.42	1.33
4	1.75	3.50
5	1.50	1.73
6	1.67	1.90
7	1.75	1.50
8	1.70	1.30
9	2.06	1.09
10	2.41	1.57
Lsd	0.63	0.47

4-4 تحاليل النبات

4-4-صفات النمو

4-4-1-1ارتفاع النبات (سم)

يشير نتائج جدول 12 تاثير تلقيح بكتريا *P. aeruginosa* و*B. subtilis* والتداخل بينهما على ارتفاع النبات اذ بينت تفوق المعاملة B1 على باقي المعاملات والتي سجلت 240.1 سم وبنسبة زيادة بلغت 15.85% نسبة لمعاملة المقارنة وقد يعد سبب ذلك لفعل اللقاحات الحيوية حيث تقوم البكتريا بدور فعال في تجهيز النبات بالعناصر الضرورية اللازمة لنموه واتمام دورة حياته وبسبب زيادة زيادة حجم الخلايا البكترية وافرازاتها التي تؤدي الى تحسين نمو النبات وزيادة نشاطه وبالتالي زيادة ارتفاعة وهذه تتفق مع ما توصل اليه عطية واخرون (2018) . كما اشارت النتائج الى تفوق المعاملة ذاتها على المعاملة B2 التي سجلت 230.8 سم وبنسبة زيادة بلغت 4.01 % وقدد يعود سبب ذلك لتفوق بكتريا *P. aeruginosa* على بكتريا *B. subtilis* في قدرتها على زيادة جاهزية العناصر الغذائية وافرازها لمنظمات النمو وهذا ماذهب اليه خليفة واخرون (2018) كما اشارت النتائج لعدم وجود فروق معنوية بين المعاملة B2 والمعاملة B3 .

كما بينت نتائج جدول 12 الى تفوق المعاملة C1 في صفة ارتفاع النبات على باقي المعاملات اذ سجلت 237.50 سم وبنسبة زيادة بلغت 2.37% نسبة لمعاملة المقارنة وقد يعود سبب ذلك للتاثير الضار للكادميوم والرصاص على ايض الخلية للنبات وتراكمه داخل الانسجة والذي وصل مرحلة السمية وهذا ماذهب اليه ابوضاحي (1999) اذ يلاحظ انخفاض ارتفاع النبات عند زيادة التركيز من C1 الى C2 و C3 ,والتي اختلفت معنويا فيما بينها والتي سجلت 220.75 سم و 211.72 سم بالتتابع.

اشارت نتائج جدول 12 الى تاثير التداخل بين العاملين في صفة ارتفاع النبات اذ بينت تفوق المعاملة B3C0 على باقي المعاملات والتي سجلت 254.33 سم وبنسبة زيادة بلغت 22.66% وقد يعود سبب ذلك لتحطيم المركبات السامة للكادمبوم

والرصاص وتحويلها لمركبات غير سامة او حجزها في فجوات الخلية (Margaret واخرون 2016) كما اشارت النتائج الى تفوق B1C0 على المعاملة B2C0 والتي سجلت 244.67 سم وبنسبة زيادة بلغت 10.37% نسبة للمعاملة B2C0 وقد يعود سبب ذلك لكفاءة بكتريا بكتريا *P. aeruginosa* في زيادة جاهزية الفسفور في التربة والذي يزداد امتصاصه من قبل النبات الأمر الذي يؤدي لبناء مجموع خضري كثيف يزيد من امتصاص النيتروجين الذي يزيد من بناء الخلايا وزيادة ارتفاع النبات (2018, Talwar) في حين لم يلاحظ وجود فروق معنوية بين المعاملتين B1C3 و B2C3.

جدول (12) تاثير بكتيريا *P. aeruginosa* وبكتيريا *B. subtilis* في ارتفاع نبات زهرة الشمس (سم)

C / B	C0	C1	C2	C3	المعدل
B0	207.33	217.33	216.33	188.00	207.25
B1	244.67	242.67	240.00	233.33	240.1
B2	221.67	247.33	221.67	232.67	230.83
B3	254.33	242.67	205.00	192.90	223.72
المعدل	232.00	237.50	220.75	211.72	
L.S.d	B	C	BC		
	3.77	3.77	7.55		

2-1-4-4 - المساحة الورقية (سم^2)

اشـارت نتـائج جـدول 13 تـاثير تلقـيح بكتريـا *P. aeruginosa* و*B. subtilis* والتـداخل بينهمـا علـى مسـاحة ورقـة العلـم اذ بينـت النتـائج تفـوق المعاملـة B2 علـى بـاقي المعـاملات التـي سـجلت 261.6 سـم^2 وبنسـبة زيـادة بلغـت 22.58 % نسـبة الـى معاملـة المقارنـة وقـد يعـود سـبب ذلـك لزيـادة فـي حجـم المسـاحة الورقيـة الـى الافـرازات البكتيريـة ومنظمـات النمـو كالجبريلينـات والساسـتوكاينينات الأمـر الـذي يـؤدي الـى زيادة الانقسام الخلوي للورقة بالتالي زيادة مساحتها (de-Bashan, 2010)

كمـا اشـارت النتـائج الـى وجـود فـروق معنويـة للتراكيـز المختلفـة مـن الكـادميوم والرصـاص علـى المسـاحة الورقيـة وقـد يعـزى ذلـك الـى عوامـل وراثيـة متعلقـة بالصـنف شـموس المسـتعمل بالدراسـة وهـذا مـا اشـار اليـة Sarwar واخـرون (2013) الـذين بينوا الاختلاف في حجم مساحة ورقة العلم باختلاف الاصناف .

كمـا اشـارت نتـائج التـداخل الثنـائي الـى تفـوق المعاملـة B2C1 علـى بـاقي معـاملات التـداخل اذ سـجلت 287.5 سـم^2 وبنسـبة زيـادة بلغـت 38.75% نسـبة الـى المعاملـة B0C0 وقـد يعـود سـبب ذلـك الـى قابليـة العـزلات البكتيريـة ووافرازاتهـا المختلفـة فـي تحسـين صـفات النمـو ومنهـا مسـاحة ورقـة العلـم لمحصـول زهـرة الشـمس (Parta, 2013)

كما اشارت النتائج الى عدم وجود فروق معنويه في معاملات التداخل الاخرى

جدول (13) تاثير بكتيريا *P. aeruginosa* وبكتيريا *B. subtilis* في مساحة ورقة العلم لنبات زهرة الشمس(سم^2)

C / B	C0	C1	C2	C3	المعدل
B0	207.2	212.3	208.7	225.4	213.4
B1	272.8	248.5	230.0	207.1	239.6
B2	265.9	287.5	239.5	253.7	261.6
B3	264.6	216.0	262.1	258.8	250.3
المعدل	252.6	241.1	235.1	236.2	
L.S.d	B	C	BC		
	6.07	6.07	12.14		

3-1-4-4 قطر القرص (سم)

بينت نتائج التحليل الاحصائي في جدول (14) تاثير تلقيح بكتريا *P. aeruginosa* و*B. subtilis* والتداخل بينهما في قطر القرص لنبات زهرة الشمس اذ تفوقت المعاملة B2 على باقي المعاملات اذ سجلت 18.44 سم وبنسبة زيادة بلغت 14.96% نسبة لمعاملة المقارنة وقد يعزى السبب في ذلك الى قابلية الاحياء المجهرية المضافة وافرازاتها المختلفة كالحوامض العضوية والمغذيات مما يحفز عوامل النمو وصنع الغذاء وزيادة النواتج الايضية وزيادة انتقال المواد الى نوره الزهرية وبالتالي زيادة قطر القرص وهذا يتفق مع Demir (2020) كما تفوقت نفس المعاملة على المعاملة B3 (التلقيح ببكتريا *P. aeruginosa* + التلقيح ببكتريا *B. subtilis*) ، كما بينت النتائج الى عدم وجود فروق معنوية بين المعاملة B2 و المعاملة B1

كما اشارت نتائج الجدول ذاته الى عدم وجود فروق معنويه لتاثير كل من تركيز الكادميوم والرصاص على قطر القرص .

كما بينت نتائج جدول 14 لتاثير التداخل الثنائي اذ تفوقت المعاملة B1C3 على باقي المعاملات اذ سجلت 18.967 سم وبنسبة زيادة 20.53% نسبة لمعاملة المقارنة وقد يعود سبب ذلك الى ان امتزاز العناصر الثقيلة بواسطة المكونات الداخلية للخلية البكتيرية يعود الى الامتزاز الخلوي الداخلي وهوامر معقد وغير مفهوم بصورة كاملة، ويلعب الغشاء السايتوبلازمي دورا مهما في تحديد المعادن الثقيلة التي تنتقل الى داخل الخلايا والامتزاز داخل الخلية ليس بالضرورة ان يرتبط دائما مع ايض الخلية وهذا يتفق مع ما الشار الية Agostinhoواخرون (2012).

كما تفوقت نفس المعاملة على المعاملة B3C3 والتي سجلت 17.000 سم وقد يعود سبب ذلك لتاثير العزلات البكتيرية على النبات في حين وجد تاثير تضاد بين نوعي البكتريا (الراشدي ,1987)

في حين اشارت النتائج لعدم وجود فرق معنوي بين المعاملة B2C3 والمعاملة B1C3.

جدول (14) تاثيرلقاح بكتيريا *P. aeruginosa* وبكتيريا *B. subtilis* في قطر القرص لنبات زهرة الشمس(سم)

C / B	C0	C1	C2	C3	المعدل
B0	15.73	15.50	16.40	16.53	16.04
B1	18.20	18.16	17.66	18.96	18.25
B2	17.70	18.66	18.63	18.76	18.44
B3	18.33	18.20	17.80	17.00	17.83
المعدل	17.49	17.63	17.62		17.81
L.S.d	B	C	BC		
	0.50	N.S	1.00		

4-1-4-4نسبة النتروجين في المجموع الخضري (%)

اشـارت نتـائج جـدول 15 لتـاثير التسـميد الحيـوي مـن لقـاح بكتيريـا *P. aeruginosa* مـع بكتيريـا *B. subtilis* ومسـتويات مختلفـة مـن الكـادميوم والرصـاص فـي محتـوى النبـات مـن النتـروجين اذ بينـت النتـائج عـدم وجـود فـروق معنويـة للتلقـيح ببكتريـا *P. aeruginosa* و بكتريا *B. subtilis*

كمـا اشـارت النتـائج الـى وجـود فـرق معنـوي فـي تراكيـز الكـادميوم والرصـاص علـى محتـوى النبـات مـن النتـروجين اذ تفوقـت المعاملـة C1 علـى المعاملـة C0 اذ سـجلت 1.25% وقـد يعـود سـبب ذلـك الـى تـاثير الكـادميوم والرصـاص علـى تكـوين المركبـات العضـوية النتروجينيـة عالاحمـاض الامينيـة نتيجـة دخولهـا فـي تفـاعلات الايـض والـذي يـؤدي الـى تعـرض الخليـة للاجهـاد الأمـر الـذي يـؤدي الـى زيـادة فـي امتصـاص نتـروجين التربـة لمجابهـة الاجهـاد وبتـالي يـؤدي الـى زيـادة فـي امتصـاص النتـروجين فـي التربـة (Dhiman واخرون , 2017)

كمـا بينـت النتـائج عـدم وجـود فـرق معنـوي بـين المعاملـة C1 والمعاملـة C2 والمعاملـة C3.

كمـا اشـارت نتـائج التحليـل الاحصـائي للتـداخل الثنـائي الـى عـدم وجـود فـروق معنويـة بـين جميع التداخلات الثنائية .

جـدول (15) تـاثير بكتيريـا *P. aeruginosa* وبكتيريـا *B. subtilis* علـى النسـبة المئوية للنتروجين في المجموع الخضري لنبات زهرة الشمس %

C / B	C0	C1	C2	C3	المعدل
B0	0.86	1.24	1.20	1.24	1.14
B1	1.14	1.33	1.20	1.24	1.23
B2	1.15	1.26	1.23	1.24	1.22
B3	1.20	1.18	1.18	1.19	1.19
المعدل	1.09	1.25	1.20	1.23	
L.S.d	B	C	BC		
	N.S	0.10	N.S		

5-1-4-4نسبة الفسفور في المجموع الخضري (%)

بينـت نتـائج التحليـل الاحصـائي فـي جـدول (16) نسـبة الفسـفور فـي المجمـوع الخضـري بوجـود فـروق معنويـة فـي معاملـة التـداخل B3اذ سـجلت 0.91 بالنسـبة الـى معاملـة المقارنـة B0 التـي سـجلت 0.55 وبنسـبة زيـادة بلغـت 64.91% وقـد يعـود السـبب فـي ذلـك الـى بعـض الصـفات الوراثيـة والبيئيـة التـي تتميـز بهـا هـذه العـزلات نتيجـة لافرازهـا الحـوامض العضـوية وخفـض Ph وكـذلك دورهـا فـي زيـادة جاهزيـة العناصـر الصـغرى والكبرى الاساسية في دورة حياة النبات وهذا ما اكدة مكي (2017)

كما اشارت النتائج الى عدم وجود فروق معنوية بين مستويات الكادميوم والرضاص.

كمـا اوضـحت النتـائج الـى عـدم وجـود فـروق معنويـة بـين التـداخلات الثنائيـة لعوامـل التجربة.

جدول (16) تاثير بكتيريا *P. aeruginosa* وبكتيريا *B. subtilis* على فسفور نبات زهرة الشمس%

C / B	C0	C1	C2	C3	المعدل
B0	0.80	0.47	0.37	0.56	0.55
B1	0.67	0.76	0.64	1.08	0.79
B2	0.54	0.57	0.63	0.74	0.62
B3	0.74	0.69	1.05	1.15	0.91
المعدل	0.69	0.72	0.62		0.86
L.S.d	B	C	BC		
	0.21	N.S	N.S		

6-1-4-4نسبة البوتاسيوم في المجموع الخضري (%)

بينت نتائج التحليل الاحصائي في الجدول (17) تاثير تلقيح بكتريا *P. aeruginosa* و*B. subtilis* والتداخل بينهما على بوتاسيوم النبات اذ تفوقت المعاملة B2التي سجلت 1.65 على باقي المعاملات معاملة المقارنة B0بدون لقاح سجلت 0.49 وهذا قد يعود للدور الذي تلعبه بكتيريا *B. subtilis* في زيادة جاهزية البوتاسيوم نتيجة افرازها للحواض العضوية وخفض قيمة pH وتحويلة من الى صور اكثر جاهزية للامتصاص من قبل النبات وكذلك تحرير البوتاسيوم وتحويله من مصادر غير جاهزة الى مصادر قابله للامتصاص من قبل النبات وهذا ما اكده الراضي واخرون (2018)

كما بينت نتائج الجدول ذاته عدم وجود فروق معنوية في تركيز الكادميوم والرصاص في بوتاسيوم النبات .

كما اشارت النتائج الى عدم وجود فروق معنوية بين التداخلات الثنائية لعوامل التجربة.

جدول (17) تاثير بكتيريا *P. aeruginosa* وبكتيريا *B. subtilis* على بوتاسيوم نبات زهرة الشمس%

C / B	C0	C1	C2	C3	المعدل
B0	0.72	0.42	0.50	0.31	0.49
B1	1.49	1.68	1.69	1.60	1.61
B2	1.60	1.75	1.83	1.40	1.65
B3	1.44	1.89	1.36	1.84	1.63
المعدل	1.31	1.43	1.35	1.29	
L.S.d	B	C	BC		
	0.27	N.S	N.S		

4-5-التركيز الكلي للعناصر الثقيلة

4-5-1-تركيزالكادميوم

تشير نتائج التحليل الاحصائي في جدول (18) تاثير عنصر الكادميوم في المجموع الخضري لنبات زهرة الشمس حيث بينت النتائج ان المعاملة B2 سجلت اعلى قيمة اذ بلغت 3.05 وبنسبة زيادة بلغت 36.16 % على معاملة المقارنة التي بلغت 2.24 وسبب ذلك قد يعود الى الدور الذي تلعبة العزلات البكتيرية حيث عملت هذه الاحياء المجهرية كمساعد لتحسين عملية Phytoremdation اذ تعمل على تسهيل حركة العناصر الثقيلة وتوفرها بشكل مناسب للامتصاص من قبل النبات من خلال تحرير الحوامض والمواد المخلبية والاختزال للعناصر بشكل يمكن للنبات امتصاصه ومن ثم

تعزيز عملية المعالجة النباتية وهذا ما اكده Dhimainواخرون (2017) من خلال دراسة قاموا بها على نبات زهرة الشمس الى زيادة الكادميوم الممتص من قبل نبات زهرة الشمس

كما اشارت النتائج الى تفوق المعاملة C3 وسجلت 3.80 متفوقه على معاملة المقارنة C0 اذ سجلت 2.19 وان السبب في ذلك قد يعود الى فعالية اللقاح البكتيري الحيوي وتحليلها للمخلفات العضوية مما ساهم في زيادة نقل العناصر الملوثة من التربة الى النبات (Turan،2014)

اما بالنسبة لمعاملة التداخل فقد بينت النتائج في الجدول ذاته الى عدم وجود اي تاثير معنوي.

جدول (18) تاثير بكتيريا *P. aeruginosa* وبكتيريا *B. subtilis* في الكادميوم نبات زهرة الشمس (ميكروغرام Cd غم مادة جافة$^{-1}$)

C / B	C0	C1	C2	C3	المعدل
B0	2.19	2.19	2.26	2.33	2.24
B1	2.36	2.28	2.31	2.35	2.32
B2	2.35	2.75	3.33	3.80	3.05
B3	2.35	2.75	2.29	2.29	2.42
المعدل	2.31	2.49	2.30	2.44	
L.S.d	B	C	BC		
	0.03	0.03	N.S		

4-5-2-تركيزالرصاص

تشير نتائج التحليل الاحصائي في الجدول (19) الى تركيز عنصر pbداخل انسجة النبات اذ بلغت المعاملة B3 6.46 وبنسبة زيادة بلغت 48.50 % عن معاملة المقارنة التي بلغت 4.35 مما يدل على وجود نقل بشكل فعال من الجذور الى المجموع الخضري للنبات وقد يعود سبب ذلك الى دوراللقاح البكتيري في زيادة امتصاص عنصر الرصاص من التربة وتراكمه داخل انسجة النبات بسبب دورالاحياء المجهرية في تحسين نمو النبات وتحسين انتاجيتها في التربة الملوثة وخاصة عنصري الكادميوم والرصاص عن طريق توفير نظام جذري كفوء في امتصاص الماء والعناصر الغذائية بما في ذلك زيادة امتصاص النبات للعناصر الثقيلة لعملية المعالجة النباتية Phytoremdationوانجاح عملية المعالجة وهذاما اكده Dhiman (2017)

وكما اشارت نتائج الجدول ذاته الى عدم وجود تاثير معنوي للمعاملات الاخرى .

جدول (19) تاثير بكتيريا *P. aeruginosa* وبكتيريا *B. subtilis* في الرصاص لنبات زهرة الشمس(ميكروغرام Pb غم مادة جافة $^{-1}$)

C / B	C0	C1	C2	C3	المعدل
B0	4.33	4.36	4.35	4.37	4.35
B1	4.41	4.46	4.41	4.45	4.43
B2	5.43	5.52	5.40	5.49	5.46
B3	6.45	6.44	6.49	6.47	6.46
المعدل	5.15	5.15	5 .16	5.19	
L.S.d	B	C	BC		
	0.06	N.S	N.S		

3-5-4 -تركيز الكادميوم في التربة بعد الحصاد (ميكروغرام Cd كغم تربة$^{-1}$)

تشير نتائج التحليل الاحصائي في الجدول (20) الى تركيز عنصر الكادميوم في التربة حيث بينت النتائج ان معاملة المقارنة بلغت اعلى قيمة اذ سجلت 0.43 ملغم Cd كغم تربة$^{-1}$ وبنسبة زيادة بلغت 47.44% عن المعاملة B3التي سجلت اقل قيمة 0.22 ملغم Cd كغم تربة$^{-1}$ اذ لوحظ حصول انخفاض في التراكيز الكادميوم والسبب في ذلك قد يعود لدور الذي تلعبه البكتريا وافرازاتها في تعديل الذوبانية وخفض Ph الأمر الذي يساهم في تحسين عملة Bioremdation مما شجع على خلق ظروف مناسبة لجاهزية العناصر وامتصاصها من قبل النبات وتراكم العنصر في المجموع الخضري اذ ان نبات زهرة الشمس له دور في امتصاص عنصر الكادميوم من التربة الملوثة وتراكمه داخل انسجة النبات عند ارتفاع تركيز العنصر في التربة التي ينمو فيها هذا النبات وهذا يتفق مع ما توصل اليه Abdaljaba و Sameara (2017) الذي يبين ان ارتفاع تركيز cd داخل النبات بسبب وجود علاقة ارتباط عالية بين معدل تركيز العناصر الثقيلة داخل التربة وبين تركيزها داخل النباتات النامية في ظل ظروف التربة الملوثة .

جدول (20) تاثير بكتيريا *P. aeruginosa* وبكتيريا *B. subtilis* على الكادميوم في التربة (ملغم Cd كغم تربة$^{-1}$

C / B	C0	C1	C2	C3	المعدل
B0	0.48	0.43	0.32	0.47	0.43
B1	0.19	0.19	0.21	0.50	0.27
B2	0.16	0.33	0.21	0.21	0.23
B3	0.20	0.23	0.16	0.29	0.22
المعدل	0.26	0.30	0.23	0.37	
L.S.d	B	C	BC		
	0.12	N.S	N.S		

4-5-4- تركيز الرصاص في التربة بعد الحصاد (ملغم Pbكغم تربة-1)

بينت نتائج جدول (21) الى تركيز عنصر الرصاص في التربة الملوثة تحت تاثير معاملات التسميد الحيوي اذ بلغت المعاملة B0 اعلى قيمة (5.70) ملغم Pbكغم تربة-1 وبنسبة زيادة بلغت 12.19 %على المعاملة B3 التي سجلت 2.57 ملغم Pbكغم تربة-1وهذا يعطي مؤشر لانخفاض تركيز عنصر الرصاص وهذا المؤشر يعود الى دور اللقاح البكتيري في زيادة امتصاص عنصر الرصاص من التربة الى الاجزاء الخضرية للنبات وقد يعزى سبب ذلك الى دور البكتريا في تحويل العناصر الثقيلة الى صور يسهل امتصاصها من قبل النبات من خلال الجذور ونقلها الى المجموع الخضري بعملية المعالجة الحيوية Bioremdation التي تقوم بها الاحياء المجهرية وهذا يدل على نجاح اللقاحات البكتيرية وتقليل التلوث من التربة باستعمال العزلات البكتيرية Dhiman (2017)

وكما تشير نتائج الحليل الاحصائي في ذات الجدول الى عدم وجود اي تاثير يذكر لباقي المعاملات

جدول (21) تاثير بكتيريا *P. aeruginosa* وبكتيريا *B. subtilis* على الرصاص في التربة (ملغم Pbكغم تربة-1)

C / B	C0	C1	C2	C3	المعدل
B0	6.15	6.37	3.93	6.37	5.70
B1	1.75	1.38	1.53	4.34	2.25
B2	1.81	3.03	2.09	2.26	2.30
B3	2.60	2.60	2.22	2.85	2.57
المعدل	3.08	3.34	2.45	3.95	
L.S.d	B	C	BC		
	3.146	N.S	N.S		

4-6-صفات الحاصل

4-6-1- وزن 500 بذرة (غم . نبات$^{-1}$)

بينت نتائج التحليل الاحصائي في جدول (22) تاثير تلقيح بكتريا *P. aeruginosa* و*B. subtilis* والتداخل بينهما على وزن 500 حبة الى وجود فروق معنوية بين المعاملات و قد تفوقت المعاملة B2 البالغة 275.8 غم . نبات$^{-1}$ وبنسبة زيادة بلغت 11.43% على معاملة المقارنة التي بلغت 247.5 غم . نبات$^{-1}$ وقد يعود السبب في ذلك الى دور الاحياء المجهرية التي تتمتع بالعديد من الصفات الايجابية التي تنعكس على نمو النبات وزيادة قابلية امتصاصه للمغذيات الضرورية الاساسية في اكمال دورة حياته وكذلك زيادة جاهزية العناصر الكبرى والصغرى وزيادة تحرر Hpo4 و H2po4 بسبب قدرة هذه الاحياء على افراز احماض عضوية مثل , Acetic lachysuccinic , isobutyric , isovalerie وانتاج انزيم الفوسفاتيز PhosPhatase وكذلك اذابة و تحرر البوتاسيوم الى محلول التربة مما يساعد النبات على سهولة امتصاصة وبالتالي زيادة النمو الخضري الذي يعمل على زيادة وزن البذور وهذا ما اكدة (Kangواخرون 2014) و Etasami (2017) .

وكذلك اشارت نتائج الجدول ذاته الى تفوق المعاملة C3 اذ سجلت 270.0 غم . نبات$^{-1}$ على معاملة المقارنة C0 التي سجلت 260.8 غم . نبات$^{-1}$ وقد يعود سبب ذلك الى تاثير البكتريا المضافة في افرازها لمنظمات النمو مثل الجبرلينات والسايتوكاينات الذي يؤدي الى زيادة النمو الخضري والتمثيل الضوئي ونقل المواد المصنعة الى اماكن خزنها في البذور (Yazdani واخرون،2009).

كما بينت النتائج التداخل الثنائي الى تفوق المعاملة B2C3 غم . نبات$^{-1}$ على معاملات التداخل ونسبة زيادة 17.83 % نسبة الى معاملة المقارنة B0C0 التي سجلت 243.3 غم . نبات$^{-1}$ وقد يعود سبب ذلك الى تاثير البكتريا المضافة في زيادة النمو الخضري والتمثيل الضوئي ونقل المواد المصنعة الى اماكن خزنها في البذور (Yazdaniواخرون،2009).

جـدول (22) تـاثير بكتيريـا *P. aeruginosa* وبكتيريـا *B. subtilis* علـى وزن 500 حبة لنبات زهرة الشمس (غم . نبات$^{-1}$)

C / B	C0	C1	C2	C3	المعدل
B0	243.3	248.3	243.3	255.0	247.5
B1	261.7	263.3	253.3	276.7	263.8
B2	265.0	278.3	273.3	286.7	275.8
B3	273.3	281.7	275.0	261.7	272.9
المعدل	260.8	267.9	261.2	270.0	
L.S.d	B	C	BC		
	6.58	6.58	13.16		

4-6-2-الوزن الجاف(غم . نبات$^{-1}$)

بينـت نتـائج التحليـل الاحصـائي فـي الجـدول (23) وجـود تـاثير معنـوي لاضـافة اللقاحـات البكتريـة اذ سـجلت المعاملـة B2 214.56غـم . نبـات$^{-1}$ وبنسـبة زيـادة بلغـت 20.06 % علـى معاملـة المقارنـة التـي سـجلت 178.71 غـم . نبـات$^{-1}$ وقـد يعـود سـبب هـذه الزيـادة الـى الاحيـاء المجهريـة المضـافة التـي تعمـل باليـات وميكانيكيـات مختلفـة منهـا اذابـة بعـض المغـذيات مـن مركباتهـا غيـر الذائبـة فـي التربـة فضـلا عـن افـراز بعـض الاحمـاض العضـوية وبعـض الهرمونـات ومنظمـات النمـو المـؤثرة فـي انقسـام الخلايـا وتنشـيط نمـو النبـات و تـدعم هـذه الافـرازات نمـو النبـات ومنهـا زيـادة وزنـه الجـاف وهـذا مـا اكـدهTahir واخرون(2013)

وكذلك بينت النتائج تفوق معاملة التداخل الثنائي B2C3 على جميع معاملات التداخل اذ سجلت 230.59 غم . نبات$^{-1}$ وقد يعزى سبب ذلك الى تاثير اللقاح الحيوي المضاف في ارتفاع النبات والمساحة الورقية في الجداول (12، 13) على التوالي وهذا يعود الى الدور الايجابي الذي تلعبة البكتريا وافرازاتها الايضية المحفزة لنمو النبات وقد يرجع الفرق بين معاملة المقارنة وبين معاملات العزلات البكتيرية في هذه الدراسة الى قدرة هذه الاحياء المجهرية على تجهيز العناصر الغذائية مما يسمح لها بالاسهام في بناء النبات واستطالتة (الركابي 2012) حيث ان هذه العزلات تزيد من كمية الوزن الجاف للمجموع الخضري نتيجة لزيادة كمية النتروجين والفسفور و البوتاسيوم الجاهزة والممتصة من قبل النبات وهذا ما اكده (الكبيسي 2017)

جدول (23) تاثير بكتيريا *P. aeruginosa* وبكتيريا *B. subtilis* على الوزن الجاف لنبات زهرة الشمس (غم . نبات$^{-1}$)

C / B	C0	C1	C2	C3	المعدل
B0	180.48	179.50	179.35	175.54	178.71
B1	195.52	205.55	200.60	210.53	203.05
B2	200.57	211.52	215.59	230.59	214.56
B3	203.53	205.53	190.57	215.60	203.80
المعدل	195.02	200.52	196.52	208.06	
L.S.d	B	C	BC		
	0.04	N.S	N.S		

4-7-تحاليل التربة بعد الحصاد

4-7-1 كمية النتروجين الجاهز في التربة بعد الحصاد (ملغم N كغم تربة$^{-1}$)

اشـارت نتـائج جـدول 24 لتـاثير التسـميد الحيـوي ومسـتويات مختلفـة مـن الكـادميوم والرصـاص فـي محتـوى التربـة مـن النتـروجين اذ بينـت النتـائج وجـود فـروق معنويـة للتلقـيح ببكتريـا *P. aeruginosa* و بكتريـا *B. subtilis* حيـث سـجلت المعاملـة B3 اعلـى القـيم وبلغـت 51.24 ملغـم N كغـم تربـة-1 وبنسـبة زيـادة بلغـت 65.71% نسـبة الـى معاملـة المقارنـة التـي سـجلت 30.92 ملغـم N كغـم تربـة-1 وقـد يعـزى السـبب فـي ذلـك الـى التـاثير المتاخـل للقاحـات البكتيريـة فـي زيـادة جاهزيـة المغـذيات عامـة والنتـروجين خاصـة مـن خـلال تحسـين نمـو النبـات وتكـوين مجمـوع جـذري كثيـف ذات سعة امتصاص عالية (Jing, 2007)

كمـا اشـارت النتـائج الـى وجـود فـرق معنـوي فـي تراكيـز الكـادميوم والرصـاص علـى محتـوى النبـات مـن النتـروجين اذ تفوقـت المعاملـة C1 علـى المعاملـة C0 اذ سـجلت 51.32 ملغـم N كغـم تربـة-1 وقـد يعـود سـبب ذلـك الـى نشـاط التجمعـات الميكروبيـة مـن خـلال اطـلاق المـواد المخلبيـة والحـوامض التـي لهـا القـدرة علـى تعزيـز عمليـات الامتصـاص مـن قبـل النبـات وتحسـين صـفات النمـو وزيـادة انتاجيتهـا فـي التـرب الفقيـرة بالعناصـر الغذائيـة او الملوثـة بالعناصـر الثقيلـة لاسـيما بعنصـري الكـادميوم والرصـاص مـن خـلال تـوفير نظـام جـذري كفـوء فـي امتصـاص العناصـر الغذائية والمـاء وخاصـة النتـروجين والفسـفور والكالسـيوم والمغنيسـيوم وغيرهـا مـن العناصر الضـرورية (Smith, 1989)

كمـا بينـت النتـائج الـى عـدم وجـود فـروق معنويـة فـي تـاثير التـداخل الثنـائي علـى نتـروجين التربة.

جـدول (24)تـاثير بكتيريـا *P. aeruginosa* وبكتيريـا *B. subtilis* فـي نتـروجين التربة(ملغم N كغم تربة-1)

C / B	C0	C1	C2	C3	المعدل
B0	29.80	31.13	29.23	33.50	30.92
B1	39.73	63.07	41.47	44.50	47.19
B2	48.43	54.73	47.83	43.23	48.56
B3	45.33	56.37	53.77	49.50	51.24
المعدل	40.82	51.32	43.07	42.68	
L.S.d	B	C	BC		
	5.18	5.18	N.S		

2-7-4-كمية الفسفور الجاهز في التربة بعد الحصاد (ملغم P كغم تربة$^{-1}$)

اشـارت نتـائج جـدول (25) الـى تـاثير تلقـيح بكتريـا *P. aeruginosa* و*B. subtilis* والتـداخل بينهمـا علـى فسـفور التربـة اذ بينـت تفـوق معاملـة التلقـيح بنـوعي البكتريـا *P. aeruginosa + B. subtilis* علـى بـاقي المعـاملات بتركيـز الفسـفور فـي التربـة اذ سـجلت المعاملـة B3= 19.85 ملغـم P كغـم تربـة$^{-1}$ وبنسـبة زيـادة بلغـت 82.61% نسـبة الـى معاملـة المقارنـة التـي بلغـت 10.87 وقـد يعـود سـبب ذلـك لكفـاءة البكتيريـا انتـاج انـزيم الفوسـفاتيز الـذي يعمـل علـى تحـول الفسـفور العضـوي الـى الفسـفور المعـدني وكـذلك تجويـة المعـادن والصـخور الفوسـفاتية و فـي افرازهـا للحـوامض العضـوية وخفـض قـيم PHالتربة الذي يؤدي الى زيادة جاهزية الفسفور في التربة (Talwar،2018)

كما اشارت نتائج الجدول الى عدم وجود فروق معنويه لتاثير تراكيز الكادميوم والرصاص على فسفور التربة

كما بينت النتائج الى عدم وجود فروق معنوية في تاثير التداخل الثنائي على فسفور التربة.

جدول (25) تاثير بكتيريا *P. aeruginosa* وبكتيريا *B. subtilis* على فسفور التربة

C / B	C0	C1	C2	C3	المعدل
B0	10.60	10.27	10.27	12.33	10.87
B1	15.33	19.93	19.10	17.83	18.05
B2	18.30	19.40	17.53	17.83	18.27
B3	18.50	20.37	22.63	17.90	19.85
المعدل	15.68	17.49	17.38	16.48	
L.S.d	B	C	BC		
	2.15	N.S	N.S		

4-7-3- كمية البوتاسيوم الجاهز في التربة بعد الحصاد (ملغم K كغم تربة$^{-1}$)

بينت نتائج التحليل الاحصائي في جدول (26) عدم وجود تاثير معنوي يذكر لجميع المعاملات

جدول (26) تاثير بكتيريا *P. aeruginosa* وبكتيريا *B. subtilis* على بوتاسيوم التربة

C / B	C0	C1	C2	C3	المعدل
B0	141	170	273	185	192
B1	187	198	261	160	201
B2	247	691	196	235	342
B3	170	185	193	217	191
المعدل	186	311	231	199	
L.S.d	B	C	BC		
	N.S	N.S	N.S		

5- الاستنتاجات والمقترحات Conclusions and Suggestions

5-1-الاستنتاجات

1- استعمال اللقاح الحيوي (لقاح بكتيريا *P. aeruginosa* وبكتيريا *B. subtilis* والتداخل بينهما) له دور فعال في ازالة الملوثات من التربة وزيادة جاهزية العناصر الضرورية للنبات مع إمكانية تقليل استخدام الأسمدة وهذا يساهم في تقليل تلوث البيئة ويختزل تكاليف الإنتاج.

2- ان اللقاح الحيوي البكتيري له تاثير معنوي في اغلب معايير نمو نبات زهرة الشمس كارتفاع النبات والمساحة الورقية وقطر القرص ووزن 500 بذرة.

3- توجد علاقة ايجابية بين اللقاح الحيوي المضاف و نبات زهرة الشمس ، وان هذه العلاقة تعتمد على نوع المحصول واللقاح الحيوي المستعمل بشكل توليفة او مفرد.

4- لنبات زهرة الشمس دور في إزالة العناصر الثقيلة (الكادميوم والرصاص) من التربة

5-2 المقترحات

1- استعمال طرائق صديقة للبيئة للتخلص من التلوث البيئي بالعناصر الثقيلة بتقنيتي الاستصلاح الحيوي النباتي (**Phytoremediation** و**Bioremediation**) بزراعة نباتات لها القابلية العالية في امتصاص هذه العناصر من التربة الملوثة بها وتجميعها ومراكمتها في انسجتها المختلفة ومن ثم اتلافها بالطرق الامنة.

2- تشجيع اجراء دراسات مستقبلية باستعمال نباتات اخرى للتخلص من الملوثات البيئية والتوجه بزراعة النباتات التي تثبت نجاحا بمقدرتها في الاستصلاح الحيوي لتنقية الترب الملوثة بالعناصر الثقيلة وبالطرائق الصديقة للبيئة.

3- القيام بعملية المتابعة المستمرة لتراكيز العناصر الثقيلة السامة في الخضاروالفواكهة والتي تتميز بكثرة استهلاكها البشري ومقارنتها بشكل دوري ومستمر بالحدود المسموح بها دوليا. .

4- على المؤسسات الزراعية دعم وتشجيع انتاج وتصنيع الاسمدة الحيوية والعضوية لغرض تقليل التكاليف الاقتصادية والمالية وتقليل التلوث البيئي.

6- المصادر Reference

6-1-المصادر العربيةِ

ابو ضاحي ، يوسف محمد ومؤيد احمد اليونس . (1988). دليل تغذية النبات . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جامعة بغداد.

الاسدي , دعاء نايف .(2013) . دراسة امكانية توظيف بكتيريا Bacillus sppفي السيطرة على اصابة بعض حبوب المحاصيل الاقتصادية بفطر والتلوث بسمومها في المخزن .رسالة ماجستير .جامعة كربلاء .كلية العلوم.

الهام , اسماعيل الشمري ومحمد احمد طة .)2017 .)االازالة الحيوية لعناصر المعدنية الثقيلة باستعمال عزلتين محمية من subtilis Bacillus مجلة االنبار للعلوم ـ الزراعية, مجلد 51 (عدد خاص بالمؤتمر) :531-546.

تاج الدين ، منذر وحنون ناهي كاظم البركات ..2016. تاثير التسميد الحيوي والرش الورقي والاضافة الارضية الحامضي الهيوميك والفولفيك في جاهزية N و P و K في التربة. مجلة المثنى العلوم الزراعية ، المجلد (4)، العدد (1)

الجبوري , عبد الله كريم جبار .(2016) . عزل بكتريا *Pseudomonas fluorescens* و*Bacillus subtilis* وتشخيصها بتقنية PCR ودراسة تاثيرهما بتقنية اللقاح المثبت في نمو وحاصل الذرة الصفراء (.Zea mays L) . اطروحة دكتوراه .كلية الزراعة . جامعة بغداد .

الجبوري، دنيا عبد الرزاق عباس . 2016. دراسة المعايير الكمية المختلفة للتلوث بعناصر الكادميوم والرصاص والنيكل والزنك لترب ونباتات جوانب الطريق في محافظة بغداد. اطروحة دكتوراه. كلية الزراعة - جامعه بغداد.

الجميلي , محمود فاضل وسلوى هادي احمد (2018). تلوث التربة والمياه .دار الكتب والوثائق بغداد 677. عدد الصفحات 425.

حامد, نهاد محمد , احمد محمد تركي , محمود مصطفى المهداوي وحارث جبار فهد 2015(. (.كفاءة البكتريا المعزولة من مياه الصرف الصحي لمستشفى الرمادي العام في امتزاز الرصاص . مجلة جامعة االنبار للعلوم الصرفة)3(:94-106. . العدد(, 9(ال

حردان , هبة مخلف ومدحت مجيد الساهوكي . 2014 . تقدير المساحة الورقية لنبات زهرة الشمس باعتماد لفة واحدة وعلاقة الحاصل بقطر القرص . مجلة العلوم الزراعية .45 (5) : 39-47 .

حسن, بشرى خالد.2012 . قياس التلوث بالرصاص على الهواء, الانسان, التربة والنبات في ناحية الدورة ببغداد. مجلة التقني. 25 (2): 1-11

الحسون, سميرة ناصر (2015). امتزاز وتحرر الكادميوم والزنك في الترب المتاثرة بالاملاح والمتغدقة لمناطق الاهوار وتاثيرها في نمو وحاصل الحنطة . اطروحة دكتوراه . كلية الزراعة . جامعة بغداد

الحكاك , وسام مهدي هادي (2021). تاثير محطة كهرباء واسط الحرارية في تلوث التربة والمياه والنبات ببعض العناصر الثقيلة (. (Cr , Co, Pb ,Cd, Niرسالة ماجستير .كلية الزراعة . جامعة واسط .

الحلفي , سلوى جمعة فاخر (2012) . السلوك الكيميائي للكادميوم في بعض الترب الكلسية تحت تاثير مستويات مختلفة من ملوحة مياه الري والتسميد الفوسفاتي . اطروحة دكتوراه . كلية الزراعة . جامعة البصرة .

حمود , حسين محمد (2010). المبيدات السامة تصدر الى العالم الثالث من دون رقابة وهي منتشرة في لبنان . مجلة الجيش . العدد (296) . بيروت – لبنان .

الخزعلي , دنيا خيرالله خصاف وهيفاء جاسم حسين التميمي .)2014 .)دور االاستصلاح الحيوي Bioremediationفي ازالة عنصري الكادميوم و الرصاص من الترب المسمدة بالفسفور والمخلفات العضوية المروية بمصادر مياه مختلفة . مجلة ابحاث البصرة العلميات(العدد40 (المجلد3)146-160.

خليفة, خلف محمود ومازن فيصل سعيد ومظفر احمد الموصلي .(2018). تاثير التسميد الحيوي في زيادة كفاءة استعمال السماد الكيميائي لمحصول الذرة الصفراء المزروعة في ترب جبسية. مجلة كربلاء للعلوم الزراعية-المجلد 3 العدد5092-525.

الدايني , ليث جودة كريم (2019). دراسة سلوك بعض العناصر الثقيلة باستعمال مياه ملوثة معالجة باستعمال مواد عضوية ومعدنية وتاثيرها في نمو محصول الذرة الصفراء Zea mays L.في تربتين مختلفتي النسجة . اطروحة دكتوراه , كلية الزراعة ,جامعة بغداد .

الدوسري ، سهف خالد غالب. .2021 دور بكتريا Rhizobia و Bacillusونبات البرسيم في تحلل وازالة مركبات النفط الاسود من الترب الملوثة .رسالة ماجستير كلية الزراعة جامعة الانبار

الذهب, ازهار عمران لطيف .(1998).الفعالية التضادية لمستخلصات نباتات عراقية في بعض البكتريا الممرضة .رسالة ماجستير .كلية العلوم –جامعة بابل.

الراشدي , حسين صابر محمد علي (2011) .تاثير التلوث البيئي على النباتات النامية في مناطق ملوثة بالعناصر الثقيلة في محافظة نينوى . اطروحة دكتوراه. كلية التربية . جامعة تكريت .

الراشدي ، راض كاظم الراشدي (1987). احياء التربة المجهرية . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . جامعة البصرة

الراضي، هدير عدنان صالح وحسن علي عبد الرضا وحميد على هدوان. (2018). تاثير السماد الحيوي المنتج محليا من كل من بكتريا *Bacillus megaterium*و*Bacillus subtili* و *Bacillus mucilaginosus* و*المستورد* في نمو وحاصل البطاطا. *Solanum tuberosum* L. المجلة العراقية لدراسات الصحراء،8(2):53-65.

الراوي، خاشع محمود وعبد العزيز ابراهيم خلف الله.1980 تصميم وتحاليل التجارب الزراعية.وزارة التعليم العالي والبحث العلمي.كلية الزراعة والغابات.جامعة الموصل.

الركابي، صوفيا جبار جاسم. (2012). تاثير التلقيح ببكتريا Rhizobium leguminosarum وبكتريا *Pseudomonas fluorescens* والتداخل بينهما في نمو وتطور نبات الباقلاء Vicia faba L رسالة ماجستير . كلية الزراعة . جامعة المثنى.

الزبيدي، سحر قاسم و سناء برهان الدين . (2012). كفاءة تقنيات التقييد لبكتريا *Bacillus subtilis* المنتجة لانزيم الاسبارجينيز . مجلة مركز بحوث التقنيات الاحيائية . المجلد (6) العدد (2) .

السامرائي ,اسماعيل خليل (2002) . دور الاسمدة الحيوية في معالجة نقص الحديد في نباتات الحنطة . مجلة الزراعة العراقية . مجلد (8) . عدد (2) . 2002 .

السامرائي ، اسماعيل خليل والتميمي، فارس محمد سهيل .2018. مفاهيم وتطبيقات احياء التربة المجهرية . مطبعة جامعة ديالى . العراق.

الساهوكي ، مدحت مجيد .1994. زهرة الشمس انتاجها وتحسينها. مركز اباء للابحاث الزراعية، بغداد.ع ص 346.

الشمري ،احمد جري شبيب ، .2022 كفاءة بعض العزلات البكتيرية والفطريات المعزولة في الاستصالح الحيوي للترب الملوثة بالهيدروكربونية النفطية محافظة البصرة . اطروحة مقدمة الى مجلس كلية الزراعة - جامعة البصرة.

الشمري, هند صائب ابراهيم.2020. امتزاز وتحرر الزنك والنيكل في بعض الترب الكلسية المتاثرة بنشاط المنشات الصناعية. رسالة ماجستير. كلية علوم الهندسة الزراعية - جامعة بغداد.

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.

العابدي , جليل اسباهي . 2011 . دليل استعمال الاسمدة الكيميائية والعضوية في العراق . الهياة العامة للارشاد والتعاون الزراعي . وزارة الزراعة . العراق .

صالح, فرح صبحي.2012 .تاثير تلوث التربة بتراكيز محتلفة من الكادميوم م والرصاص على تركيز الكاربوبيدرات والبروتينات وبعض العناصر المعدنية في نبات زهرة الشمس. Helianthusannuus L. مجلة علوم الرافدين.23 (4):41-55.

صبري ,علا موفق وبسام كنعان عبد الجبار وبيداء عبد الجبار الحديثي.)2017 .)كفاءة بكتريا Bacillus. SPPالمذيبة للفوسفات في نمو وحاصل الشعير عند مستويات االاجهاد الملحي في التربة .مجلة الزراعة العراقية البحثية)عدد خاص)6(:111-122. -)عدد(22(

عباس, احمد كريم.2018. تاثير الابخرة والغازات لمعملي الفرات للمواد الكيميائية وسمنت السدة في محافظة بابل في تلوث التربة والمياه والنبات بعناصر الرصاص والنيكل والكادميوم. اطروحة دكتوراه. كلية علوم الهندسة الزراعية - جامعة بغداد.

عبد اللطيف ، علي اكرم . 2016. تاثير اضافة الحماة في تلوث التربة والنبات بعنصري الرصاص والكادميوم. رسالة ماجستير. جامعة القاسم الخضراء – كلية الزراعة.

عثمان, احمد فاروق عبد الحميد, رفعت مصطفى شريف و ايمن محمود حلمي. .2018 تلوث التربة بالكيمياويات الزراعية وعلاقته بصحة الانسان فى الصين مقارنة بالظروف المصرية 15(6):2409 -2416.

عطية، حياوي ويوه و ايفان عبد الحسن محمد علي و سولاف حامد تيموز.2018. تاثير التكامل بالتسميد الحيوي والعضوي والمعدني في نمو الباقلاء وناتجه صنف Luz-be-otono وامتصاص بعض العناصر الغذائية ، مجلة جامعة بابل ،للعلوم الصرفة والتطبيقية والعلوم الهندسية .المجلد 26 العدد 2.

علاوي، حنان عبد القادر عبداللة .2019. دور المعالجة الحيوية برايزوبيا الجت والمايكورايزا في استصلاح التربة الملوثة بالنفط . رسالة ماجستير كلية الزراعة –جامعة الانبار.

علي، نور الدين شوقي وعلاوي ، محمد مصطفى مجيد ، ندى حميد .2022. ادارة الرايزوسفير والاستدامة الزراعية . وزارة التعليم العالي و البحث العلمي .بغداد كلية علوم الهندسة الزراعية

العمر , حسن جاسم عبيد نومان (2017). تاثير معامل طابوق الناصرية في تلوث التربة والماء والنبات ببعض العناصر الثقيلة . دبلوم عالي . كلية الزراعة . جامعة بغداد

فضل ، امباركة محمد و محمد علي السعيدي . 2018 .استجابة نبات الدخن للري بمياه الصرف

القدور, محمد باهر وعزيزة عجوري وهشام محمد ميواك (2017) . دراسة حركية ادمصاص الكادميوم والرصاص في التربة باستعمال تجربة العمود . مجلة جامعة البعث .39(17).

الكبيسي ، حيدر راغب ، الشجيري، جمال صالح، الحديثي ، عبد الخالق صالح2017. .عزل بكتريا الرايزوبيا من نبات السيسبان وتقييم تحملها للملوحة وتاثيرها في بعض مؤشرات النمو. المجلة العراقية لدراسات الصحراء7:)1.)

المغير, حيدر عبد الحسين محسن (2019). تاثير االحماض العضوية والـ NPK وتجزئته في نمو و حاصل زهرة الشمس.اطروحة دكتوراة , كلية الزراعة جامعة المثنى.

مكي، علياء عدنان. (2017). التاثير المتداخل للتلقيح بالعزلات المحلية لبكتريا *Rhizobium leguminosarum*ومستويات مختلفة من ملوحة التربة في نمو وحاصل محصول الباقلاء. رسالة ماجستير في كلية الزراعة – قسم الانتاج النباتي/علوم التربة والموارد المائية – جامعة المثنى.

المياحي ,عبد الرضا اكبر علوان .2008. النباتات المائية والتقنيات النباتية Aquatic plants and Phyto-technology.

يوسف، ندى توفيق. 2012تقييم دور بعض الانواع النباتية المزروعة/في شارع الزراعة في الالذقية/في تنقية الوسط المحيط من بعض العناصر الثقيمة . رسالة علمية اعدت لنيل درجة الماجستير في الهندسة الزراعية ،جامعة تشرين، كلية الزراعة، ،96 صفحة.

2-6- المصادر الاجنبية

Abdulilah, H. A., Al-Asafi, E. A. A. and Hameed, A. T.(2019) Role of Rhizobia (Rhizobium meliloti) of Alfalfa In The Bioremediation of contaminated soil with hydrocarbons, Plant Archives Vol. 19, pp. 146-152.

Abduljaba, R. A. and Sameera F.M.(2017). Estimation of Metal Accumulation by Boiconcentration Factor Through The Determination of some Heavy Metals in Soil and Common Plants in Different Habitats in Kirkuk City.

Abdullahi, A., Lawal, M.A. and Salisu, A.M. (2021) 'Heavy metals in contaminated soil: source, accumulation, health risk and remediation process', Bayero Journal of Pure and Applied Sciences, 14(1), pp. 1–12. Available at: https://doi.org/10.4314/bajopas.v14i1.1.

Abed,I.A. A.T Hameed؛ H.A.Q Abdulilah. 2019. The role of Glomus mosseae in the biochemical recommendation of contaminated hydrocarbon (black oil) soils. Plant Archivesthis link is disabled, 2019, 19, pp. 322–326

Abraham,PeeleKarlapudi؛T.C.Venkateswarulup؛JahnaviTammineed i؛ Lohit Kanumuri؛ Bharath Kumar Ravuru؛ Vijaya ramu Dirisala؛ Vidya Prabhakar Kodali.2018. Role of biosurfactants 117 in bioremediation of oil pollution-a review. Petroleum .V. 4, Issue 3, Pages 241-249.

Agostinho, A.; A. Marcia, Sergio,A.; M. Patricia, G. Renato, S. Carmen, A. Cleonice, and H. Ernesto, .(2012). Heavy meatal tolerance (Cr, Ag and Hg) in bacteria isolated from sewage. Braz. J. Microbiol. 34 (4)

Akhtar, N., Ilyas, N., Meraj, T. A., Pour-Aboughadareh, A., Sayyed, R. Z., Mashwani, Z. U., and Poczai, P. (2022). Improvement of Plant Responses by Nanobiofertilizer: A Step towards Sustainable Agriculture. Nanomaterials (Basel, Switzerland), 12(6), 965. https://doi.org/10.3390/nano12060965.

Al-Hawash, A. B., Dragh, M. A., Li, S., Alhujaily, A., Abbood, H. A., Zhang, X., and Ma, F. (2018). Principles of microbial ~114~ degradation of petroleum hydrocarbons in the environment. The Egyptian Journal of Aquatic Research, 44(2), 71–76.

Ali, A. F., Salim H. A. and M. H. M. Alsaady.2019. Response of two wheat cultivars to inoculation of Bacillus subtilis and PHosPhorus fertilizer. IOP Conf. Series: Journal of PHysics: Conf. Series 1294 (2019) 092036. doi:10.1088/1742-6596/1294/9/092036.

Ali, S.M., Mahesar, J.H., Shahzad, J., Zaman, A., Sajid, T. and Khattak, S.K., 2020. Spectrum of Pseudomonas Aeruginosa Sensitivity in Chronic Otitis Media. Journal of Saidu Medical College, 9(2).0

Alori E. (2015). PHytoremediation Using Microbial Community, In: A. A. Ansari, et al. (Eds.), PHytoremediation: Management of EnvironmentalContaminantsSpringerInternational Publishing, Switzerland pp. 183-190.,

Alori,E. , JosePh A.and Timothy O. (2018). Bioremediation potentials of sunflower and Pseudomonas species in soil contaminated with lead and zinc . African Journal of Biotechnology. Full Length Research Paper :1324-1330.

Alwan, T. A. (2011) .Gypsiferous soil management. Al Hilal Printing Press and Publishing. Beirut. Tikrit Journal for Agricultural Sciences- Vol. (17) No.(3):103-121.

Anthony, D.; Amanda, J., Eshwar, M.; Pavel, D.; Wieslaw, K.; Zuzanna, D. and Stoyanka R. (2014) . MicrobiologyOpen. Developing an international *Pseudomonas aeruginosa* reference panel. Blackwell publishing Ltd. 389: 23-46.

Andrew, R.L., N.C. Kane, G.J. Baute, C. J. Grassa and L. H. Rieseberg (2013) Recent nonhybrid origin of sunflower ecotypes in a novel habitat. Mol Ecol 22(3): 799-813.

Aniefiok E. Ite and Udo J. Ibok.2019. "Role of Plants and Microbes in Bioremediation of Petroleum Hydrocarbons Contaminated Soils." International Journal of Environmental Bioremediation and Biodegradation,Vol. 7, No. 1: 1-19. doi: 10.12691/ijebb-7-1-1.

Asrari, E. (2014).Heavy metal contamination of water and soil analysis Assessment , and Remediation Strategies Apple Academic Press ,Canada CRC Press Taylor & Francies Group.

Atlas, R.M.; Brown, A.E. and Parks, L.C. (1995). "Experimental Microbiology Laboratory Manual". McGraw-Hill Companies, Mosby Company, St. Louis, pp. 400-402.

Attiya,R.M.(2016). Investigation of some Heavy Metals Concentration in Certain Vegetable Crops Grown in Industrially Polluted and non – Polluted areas in Misurata city .the lst international conference on chemistry , petroleum and gas Engineering (ICCPGE2016) 20th De.2016 ,Alkhoms –Libya 1,25-30.

Ayandele ,A,A.2018. Microbial Treatment of Soil Contaminated with Spent engine oil / Biotreatment of soil Contaminated with Spent Engine by Microorganism . https://doi.org/10.1101/268185.

AZHAR, N., ASHRAF, M.Y., HUSSAIN,M. & HUSSAIN,F .PHytoextraction of Lead (Pb) by EDTA application through Sunflower (Hellanthus Annuus L.) Cultivation:Seedling Growth studies .Pak.j.Bot.,38(5) , 2006, 1551-1560

Bahi, J. S., Radziah, O., Samsuri, A. W., Aminudin, H. and Fardin, S. (2012). Bioleaching of Heavy Metals from Mine Tailings by Aspergillus fumigatus.Bioremediation Journal, 16: 57-65.

BAKER, A.J.M., AND WALKER, P.L. 1990EcoPhysiology of metal uptake by tolerant plants. In A.J.Shaw(Ed.), Heavy metal tolerance in plants:Evolutionary aspects. Boca Raton,El:CRC Press.,155-177.

Bakker, P.A., Berendsen, R.L., Doornbos, R.F., Wintermans, P.C. & Pieterse, C.M. (2013). The rhizosPhere revisited root micro biomass. Front Plant Sci, 4, p. 165.

Bandow, J.E;.Br tz, H.; Hecker ,M. (2002). Bacillus subtilis Tolerance of Moderate Concentrations of Rifampin Involves the B-Dependent Generaland Multiple Stress Response . Journal of Bacteriology. January; 184(2):459 _ 467.

Baron , E. J. and Finegold , S. M. (1990) . Diagnostic Microbiology . 8th ed. . C. V. Mosby company . USABaseline study for Bioremediation of diesel contaminated soil site of Anand, India . I. Res. J. Che.,4: 37 – 53 .

Bashan, Y. and LE. de-Bashan (2010) How the plant growth-promoting bacterium Azospirillum promotes plant growth – a critical assessment. Adv Agron108: 77–136.

Basu A, Prasad P, Das S.N, Kalam S, Sayyed RZ, Reddy MS, El Enshasy H.(2021). Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) as Green

Bioinoculants: Recent Developments, Constraints, and Prospects. Sustainability.13(3):1140 .

Batrich, M.; Maskeri, L.; Schubert, R.; Ho, B.; Kohout, M.; Abdeljaber, M., et al. (2019). Pseudomonas diversity within urban freshwaters. Frontiers in microbiology, 10, 195

Bennett , L. E ; J. L. Burkhead ; K. L. Hale ; N. Terry ; M. pilon and E. A. pilonsmith . 2003. Analysis of transgenic lndian mustard plants for Phytoremediation of metal, contaminated mine tailings . J. Environ Qual 32:432 – 440.

Benson, J. H. (2002). Microbiological Applications : Laboratory Manual in General Micrbiology. 8th ed. McGraw Hill.P. 145, 168 – 175.

Bergey, D. H.; R. E. Buchanan and N. E. Gibbson (1974). Manual of determinative bacteriology. 8th Edition, Baltimore: the William and Wilkins company.

Bhat, S. A., Bashir, O., Haq, S. A. U., Amin, T., Rafiq, A., Ali, M., ... & Sher, F. (2022). PHytoremediation of heavy metals in soil and water: An eco-friendly, sustainable and multidisciplinary approach. *ChemosPhere*, *303*, 134788.

Black, C.A. (1965) . Methods of Soil Analysis, Part 2. Chemical and microbiological properties, Am. Soc. Agron. Inc. Madison , Wisconsin, USA.

Bonaterra, A., Badosa, E., Daranas, N., Francés, J., Roselló, G., & Montesinos, E. (2022). Bacteria as biological control agents of plant diseases. *Microorganisms*, *10*(9), 1759.

Borghi D , A. Solisio, C., Perego, P. and Genon, G. 2005. Identification of emission sources by trace metal concentration. Department of chemical and Process Engineering, Genoa University, Turin Polytechnic, Italy, P.7.

Bouida, L., Rafatullah, M., Kerrouche, A., Qutob, M., Alosaimi, A. M., Alorfi, H. S., & Hussein, M. A. (2022). A review on cadmium and lead contamination: Sources, fate, mechanism, health effects and remediation methods. Water, 14(21), 3432.

Buxton , A. and Frase , G. (1977) . Animal microbiology vol (1) Black well scientific publication , 145.17.

Celandroni, F., Alessandra Vecchione, Alice Cara, Diletta Mazzantini, Antonella Lupetti and Emilia Ghelardi.2019.Identification of Bacillus species: Implicationon the quality of probiotic formulations. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217021

Chhotu D. J. and M. H. Fulekar .2009. PHytoremediation of heavy metals: Recent techniques African Journal of Biotechnology Vol. 8 (6), pp. 921-928, 20 March, 2009 Available online at http:// www. academicjournals.org/AJB.

Collee, J. G. ; Miles, R. S. and Watt, B. (1996.). Tests for the Identification of Bacteria. In : Practical Medical Microbiology 14th ed. Ed. by J. Gerald Collee, Barrie, P, Marmion, Andrew, G. ; Fraser and Anthony Simmons. Churchill Livingstone. New York. P. 132 – 149.

Cowan, S.T.(1977).Cown and steel manual for the identification of medical bacteria .2nded Cambridge University Press, Cambridge.

Danko,Anthony S., Meizhong Luo, ChristoPher E. Bagwell, Robin L. Brigmon, and David L. Freedman.(2004). Involvement of Linear Plasmids in Aerobic Biodegradation of Vinyl Chloride. Applied and Environmental Microbiology, p. 6092-6097, Vol. 70, No. 10.

Dekhil , A. B ; Y. Hannachi ; A. Ghorbel and T. Boubaker. 2011. Comparative study of the removal of cadmium from equeous solutions by using low-cost adsorbents. J. Environ. Sci. Technol., 4: 520-533.

Demir,I.,2020.Inter and Inter Row Competition Effects on Growth and Yield Components of Sunflower (Helianthus annuus L.)Under Rainfed Conditions.The Journal of Animal &Plant Sciences ,30(1):2020,Page:147-156.

Dhiman SS, Zhao X, Li J, Kim D.and Kalia VC,. (2017) Correction: Metal accumulation by sunflower (Helianthus annuus L.) and the efficacy of its biomass in enzymatic saccharification. PLOS ONE 12(6): e0179746.

Diggle, S. P. and Whiteley, M. (2020). Microbe Profile: Pseudomonasaeruginosa: opportunistic pathogen and lab rat. Microbiology, 166(1): 30

Dubey, R. K؛ V. Tripathi؛ R. Prabha ؛ R. Chaurasia؛ D. P. Singh ؛C.S. Rao and P. C. Abhilash. 2020. Belowground Microbial Communities: Key Players for Soil and Environmental Sustainability. In Unravelling the Soil Microbiome (pp.5-22). 126 Springer, Cham.

EAPEN, S., D'SOUZA, S.F. Prospects of Genetic Engineering of Plants for PHytoremediation of Toxic Metals. Biotechnology Advances, 23, 2005, 97-114.

Edi-Premono, M., Moawad, M.A., Vleck, P.L.G. (1996). Effect of PhosPhate solubilizing Pseudomonas putida on the growth of maize and its survival in the rhizosPhere. Indonesian Journal of Crop Science. 11, 13-23.

Ehrlich ,R.L. (2003). Critical link: *Pseudomonas aeruginosa.*Heal. Peop. Hael. Comm. 7 (12): 1-17.

El-Ghamry, A., Mosa, A. A., Alshaal, T., & El-Ramady, H. (2018). Nano fertilizers vs. bio fertilizers: new insights. Environment, Biodiversity and Soil Security, 2: 51-72.

Elhdad, A.M.A. (2019) 'Assessment of surface water quality, raw versus treated, for different uses at Dakahlia Governorate, Egypt', Egyptian Journal of Chemistry, pp. 1517–1529. Available at: https://doi.org/10.21608/EJCHEM.2019.6975.1582

Ellen ,J.L.; Cowell, B.A.; Evans, D.J. and Fleiszig, M.J. (2003). Contribution of *exs* A-regulated factors to corneal infection by cytotoxic and invasive *Pseudomonas aeruginosa* in murine scarification model. Invest. OPhthalmol. Vis. Sci.44: 3892-3898.

Etesami. H; Emami. S and Alikhani. H A. (2017). potassium solubilizing bacteria (KSB): Mechanisms, promotion of plant growth, and future prospects – a review. Journal of soil Science and plant Nutrition, 17(4), 897- 911.

Feltham , K. A. ; Power , A. K. ; Pell , P. A. and Sneath , P. H. (1978) . Asimple method for the strorage of bacteria . J. App. Bacteriol. 44,313-316

Fetar, H. (2011). Characterization of the MexT Regulator of the mexEF-oprN Multidrug Efflux Operon of Pseudomonas aeruginosa .Ph.D thesis, Queen's University, Kingston. Ontario. Canada.

Gennady , E. Zaiky; (2017). Larissa,I.Weisfed ;E.M.Lisitsyn and Sarra, A.Bekuzarov Heavy Metals and other Pollution in the Environment Apple Academic Press, Inc.USA.

Godber , G. E. (1989) . The bacteriological examination of water supplies , Department of health and social security , London.

Gosa G.(2015). Microbial Bioremediation of some Heavy Metals in Soils: An updated review. Journal of Resources Development and Management. Vol.10: 62-73.

Grobelak, A., Napora, A., & Kacprzak, M. (2015). Using plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) to improve plant growth. Ecological Engineering, 84, 22-28.

Guerra, A. B.؛ J.S. Oliveira؛ R.C. Silva-Portela؛ W. Araujo؛ A.C. Carlos؛ A.T.R. Vasconcelos . 2018. Metagenome enrichment approach used for selection of oil-degrading bacteria consortia for drill cutting residue bioremediation. Environ. Pollut. 235, 869–880. doi: 10.1016/j.envpol.2018.01. 014.

Gul, Volkan and Kara, Kemalettin .2015. Effects of different Nitrogen Doses on Yield and Quality Traits of Common Sunflower (*Helianthus annuus L*.) Species. Turkey. Turkish Journal of Field Crops. Turkish Journal Field Crops. 2015, 20 (2), 159 – 165. Abst.

Harrigan, W.F .and McCance ,D.(1976). Laboratory method in food and dairy. Academic Press ,London ,New York, San Freancisco.362PP.

Hayat, M. T., M. Nauman, N. Nazir, S. Ali and N. Bangash, 2019. Environmental hazards of Cadmium: past, present, and future. In Cadmium Toxicity and Tolerance in Plants. pp. 163-183.

Hettiarachchi, G. M., S. C. A. Arbelaez, N. O. Nelson and Y. A. Mulisa. (2012). PHytoremediation, Protecting the Environment with Plants. Kansas State University, United State Department of Agriculture.

Holt, J. G. ; Kreig, N. R. ; Sneath, P. H. ; Staley, J. T. and Williams, S. T. (1994). Bergey's Manual For Determinative Bacteriology. 9th ed. Williams and Wilkins U.S.A. P.93 , 151-155.

HOODA, V. PHytoremediation of Toxic Metals from Soil and Waste Water. Journal of Environmental Biology 28(2), 2007, 367-376.

Haynes, R.J. 1980. A Comparison of two modified kjeldhal digestion techniques for Multi- element plant analysis with conventional wet and dry ashing methods. Communein. Soil. Sci. plant Analysis. 11(5): 459- 467.

Huang, Q., Y. Yu, Y. Wan, Q.Waneg and H., Li. 2018. Effects of continuous fertilization on bioavailability and fractionation of Cadmium in soil and its uptake by rice (Oryza sativa L.).Journalof Environmental Management.215:.13-21.

Hussain ؛ Imran ؛Markus ؛Puschenreiter؛ Soja؛ Gerhard ؛PHilipp Schöftner ؛ Sohail Yousaf؛ Aijie Wang؛ Jabir Hussain Syed and Thomas G. Reichenauer. 2018. Rhizoremediation of Petroleum Hydrocarbon-Contaminated Soils: Improvement Opportunities and Field Applications. Environmental and Experimental Botany 147. Elsevier B.V.:202–19.

Hussain, M., Zeshan Asgher, Muhammad Tahir, Muhammad Ijaz, Muhammad Shahid, Hakoomat Ali and Abdul Sattar.2016. Bacteria in combination with fertilizers improve growth, productivity and net returns of wheat (Triticum aestivum L.). Pak. J. Agri. Sci., Vol. 53(3), 633-645; 2016 . DOI:10.21162/PAKJAS/16.4901

International Agency for Research on Cancer (IARC).(2018). Beryllium, cadmium, mercury, and exposures in the glass manufacturing industry. In:

IARC monograPhs on the evaluation of carcinogenic risks to humans and their supplements.;1–444.

Jabeen, N and R. Ahmed (2017) growth response and nitrogen metabolism of sunflower (Helianthus annuus L.) to vermicompost and biogas slurry under salinity stress. Journal of Plant Nutration Vol.(40) No, 1 : 104-114.

Jackson ,M.L. (1958) Soil chemical analysis Prentico hall. Inc Englewood,Cliffs,N.j. Jackson , M.L. (1973). Soil chemical analysis . Engle wood N.J.prentice Hal Inc.

JADIA, C.D. & FULEKAR, M.H. 2009PHytoremediation :The application of vermicompost to remove Zinc , Cadmium, Copper, Nickel and Lead by Sunflower plant. Environmental Engineering and Management Journal,Vol.7,No5, , 547-558.

Jamil, B.2007. Isolation of *Bacillus subtilis* MH-4 from Soil and its Potential of Polypeptidic Antibiotic Production . Pak J PHarm Sci . Vol; 20(1)pp:26-31.

January, M. C. 2006. Hydroponic PHytormediation of Cd (II), Cr(III), Ni (II), As (V), ann Fe(II) by Helianthus Annuus a Thesis Presented to The Graduate Faculty of The University of Akron In Partial Fulfillment of the Requirement for the Degree Master of Science.Jordan. Journal of Applied Sciences 15 (11): 1318-1321.

Jbar, A. K.(2018). Influence of biological inoculant of Paenibacillus polymyxa on available PhosPhorous from PhosPhorous rock on growth and yield of Zea mays L. Agric. College, Al-Muthanna Univ.

Jing,y.d.,Hi z.l.and yang,x,.(2007). Role of soil rhizobacteria in Phytoremediation of heavy metal contaminated soils. J Zhejiang Univ Sci B;8(3):192-207.

Joan, L.; Slonczewski and John W. Foster.2011. Microbiology: An Evolving Science (2nd Edition), Norton. Celandron

Kafle, A., Timilsina, A., Gautam, A., Adhikari, K., Bhattarai, A., & Aryal, N. (2022). PHytoremediation: Mechanisms, plant selection and enhancement by natural and synthetic agents. *Environmental Advances*, *8*, 100203.

Kang, S. M.; R. Radhakrishnan; Y. H. You; G. J. Joo; I. J. Lee; K. E. Lee and J. H. Kim. (2014). PHosPhate solubilizing Bacillus megaterium mj1212 regulates endogenous plant carbohydrates and amino acids contents to promote mustard plant growth. Indian. J. of microbiology, 54 (4): 427-433.

Karami, A. and Z. H. Shamsuddin .2010. PHytoremediation of heavy metals with several efficiency enhancer methods African Journal of Biotechnology Vol. 9(25), pp. 3689-3698.

KELLER, C. Efficiency and Limitation of PHytoextraction by High Biomass Plants: The Example of Willows. In PRASAD, M.N.V, KENNETH, S., SAJWAN & RAVIN, A. Trace Elements in the Environment Biogeochemistry, Biotechnology, and Bioremediation. Taylor and Francis Group is the Academic Division of T&F informa, plc.689, 2006, 483-506

Keshav, P. S ; N. K, Singh and S. Sharma .2010. Bioremediation: Developments, Current Practices and Perspectives Genetic Engineering and Biotechnology Journal volum GEBJ-3.

Lennette, E.H.; Ba;ows, A.; Hausler, W.J. and Shadomy, H.J. (1985). "Manual of Clinical Microbiology". 4th ed., American Society for Microbiology, Washington, D.C., pp. 350-372.

Levinson, W. (2016). Medical Microbiology and Immunology . 14th . Mc Graw Hill Education. USA . 821.

Li, D., M. L. Li., W. R. Liu., Z. Z. Qin and S. A. Liu. 2018. Cadmium Isotope Ratios of Standard Solutions and Geological Reference Materials Measured by MC-ICP-MS. Geostandards and Geoanalytical Research. 42(4): 593-605**.**

Lomholt, J.A.; Poulsen, K. & Kilian, M. (2001). Epidemic population structure of *Pseudomonas aeruginosa* : evidence for a clone that is pathogenic to the eye and that has a distinct combination of virulence factors. Infect. Immun. 69 (10): 6284-6295.

Lopez, O.; Morera, C.; Miranda-Rios, J.; Girard, L.; Romero, D. and Soberon, M. 2001. Regulation of gene expression in response to oxygen in Rhizobium etli: Role of Fnr N in fix NO QP expression and in symbiotic nitrogen fixation. J. Bacteriol. 183 (24): 6999-7006

Mahmood , T. 2010. PHytoextraction of heavy metals – the process and scope for remediation of contaminated soils Soil & Environ. 29(2): 91-109.

MALIK, R.N., HUSAIN, S.Z., NAZIR, I. 2020Heavy Metal Contamination and Accumulation in Soil and Wild Plant Species from Industrial area of Islamabad, Pakistan. Pak.J. Bot., 24(1), , 291-301

Mardad, Ilham Mardad, Aurelio Serrano and Abdelaziz Soukri.(2013). Solubilization of inorganic PhosPhate and production of organic acids by bacteria isolated from a Moroccan mineral PhosPhate deposit. African Journal of Microbiology Research Vol. 7(8), pp. 626-635.

Margaret, L.C.; S. G. Kristina; J. M Arcega, R. Norbertine, G. L. Cabigao, and S.U. Sia,. (2016). Isolation and Identification of Heavy Metal-Tolerant Bactria from an Industrial Site as a Possible Source for

Bioremediation of Cadmium, Lead, and Nickel. Advances in Environmental Biology, 10(1)10-15.

Mariusz ؛Cycon and Poland.2018 . Petroleum Hydrocarbon-Degrading Bacteria for the Remediation of Oil Pollution Under Aerobic Conditions:A Perspective Analysis .vol;9/2885,doi 10;3389/fmicb.2018.0288.

Marković, J., M. Jović, I. Smičiklas, M. Šljivić-Ivanović, A. Onjia, K. Trivunac and A. Popović. 2019. Cadmium retention and distribution in contaminated soil: effects and interactions of soil properties, contamination level, aging time and in situ immobilization agents. Ecotoxicology and Environmental Safety. 174:305-314.

Mburia R. (2016) . Cleaning contaminated soil of heavy metals . J. Soil Compost .Pp: 1. http://www.Sciencedirect.com

Migula, W. (1900) System der Bakterien, Vol. 2. Jena, Germany: Gustav Fischer.

Mishra, S., R. N. Bharagava, N. More, A. Yadav, S. Zainith, S. Mani and P. Chowdhary. 2019. Heavy metal contamination: an alarming threat to environment and human health. In Environmental Biotechnology: For Sustainable Future (pp. 103- 125). Springer, Singapore.

Mitra, S., Chakraborty, A., Tareq, A., Emran, T., Bin, F., Khusro, A., Idris, A., Khandaker, M., Osman, H., Alhumaydhi, A. and Simal, J. (2022) 'Impact of heavy metals on the environment and human health: Novel therapeutic insights to counter the toxicity', Journal of King Saud University - Science, 34(3), p. 101865. Available at: https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.101865.

Mohammad , G; J. Abbas and R. Mohammad . 2010. Effects of treated municipal waste water on soil chemical properties and heavy metals uptake by Sorghum. (Sorghum Bicolor L.) .J. Agri . sci . 2 (3).

Morikawa, M.2006. Beneficial Biofilm Formation by Industrial Bacteria *Bacillus subtilis* and Related Species. Journal of Bioscience and Bioengineering. Vol.:101 No.1 1**., L.; Slonczewski and John W. Foster.2011**. Microbiology: An Evolving Science (2nd Edition), Norton.

Mudgal V ; N. Madaan and A. Mudgal 2010. Heavy metals in plants: Phytoremediation: Plants used to remediate heavy metal pollution Agric. Biol. J. N. Am., 2010, 1(1): 40-46 .

Mukhopdhyay, S. and S.K. Maiti .2010.PHytoremedation of metal mine wasteapplied ecology and environmental research 8(3): 207-222.

Mukhtar, S ; H. N. Bhatti ; M. Khalid ; M.A. Ulhaq and S.M. Shahzad .2010. Potaential of sunflower(Heliathus Annuus L.) for Phytoremedation of Nickle (Ni) and Lead (Pb) contaminated water pak. J.Bot.,42(6):4017-4026.

Muller, M. H. , M. Latreille and C. Tollon (2011) The origin and evolution of a recent agricultural weed: population genetic diversity of weedy populations of sunflower (Helianthus annuus L.) in Spain and France. Evol Appl 4(3): 499-514.

Natalia ,E . ; M. Michael and P.Daniel (2018).Soil Pollution A Hidden Reality .Italy .Food and Agriculture Organization Page : 1,6,7,9,10,11,15,49,50,52,57 .Edited.

Navarro-León؛ E.J. Oviedo-Silva؛ J.M. Ruiz. 2019 . Blasco, B. Possible role of HMA4a TILLING mutants of Brassica rapa in cadmium Phytoremediation programs. Ecotoxicol. Environ. Saf. 180, 88–94.

Odoh, C.K., Sam, K., Zabbey, N., Eze, C.N., Nwankwegu, A.S., Laku, C., & Dumpe, B.B. (2020). Microbial Consortium as Biofertilizers for Crops Growing Under the Extreme Habitats.

Oteino, N.; Lally, R.D.; Kiwanuka, S.; Lloyd, A.; Ryan, D.; Germaine, K.J.; Dowling, D.N.2015.Plant growth promotion induced by PhosPhate solubilizing endoPhytic Pseudomonas isolates. Front. Microbiol., 6, 745

Olsen , S.R. 1954. Inorganic PhosPhorus in alkaline and calcareous soils. Advan. Agron. 4 : 84-122.

Page, A.L.; R.H. Miller and D.R. Keeney. (1982). Methods of soil analysis. Part (2) 2nd .ed. Agrnomy series 9. Amer. Soc of Agron. Madison. Wisconsin. USA. –

Palleroni, N. J. and Moore, E. R. (2004). Taxonomy of pseudomonads: experimental approaches. In Pseudomonas (pp. 3-44). Springer, Boston, MA.

Patra P., B.K. Pati, GK. Ghosh , S.S. Mura and A. Suha (2013) Effect of Biofertilizers and SulPhur on growth, yield and oil content of Hybrid sunflower (Helianthus annus L.) in Typical Lateritic soil 2:603 : to 4172/ scientific reports. 603.

PaweL M.and Anna L.and Katarzyna Z. (2014). Soil pollution with heavy metals in industrial and agricultural areas: a case study of Olkusz District . Journal of Elementology . 20(2): 353-362.

Perez-Montano,F., C. Alias-Villegas,R.A. Bellogin, P. del Cerro, M.R. Espuny, I. Jimenez-Guerrero,F.J. Lopez-Baena,F.J. Olleroand T.

Cubo.2014. Plant growth promotion in cereal and leguminous agricultural important plants: from microorganism capacities to crop production. Microbiological Res., 169(5-6):325-336.

Polemio , M. and Rhoades , J.D. (1977). Determining cation exchange capacity. A new proced. Ure for caleareous and Gypsi ferous soils. Soil. Sci. Soc. Amer. 1941 : 524-528.

PULFORD, I.D., WATSON, C. PHytoremediation of Heavy MetalContaminated Land by Trees- A review. Environmental International,29, 2003, 529-540.

Rajkumar, M., N. Ae, M. N. V. Prasad, and H. Freitas. (2010). Potential of sideroPhore-producing bacteria for improving heavy-metal Phytoextraction. Trends in Biotechnoogy 28:142–149

Rashid, A., Schutte, B. J., Ulery, A., Deyholos, M. K., Sanogo, S., Lehnhoff, E. A., & Beck, L. (2023). Heavy Metal Contamination in Agricultural Soil: Environmental Pollutants Affecting Crop Health. *Agronomy*, *13*(6), 1521.

Richards , L.A. (1954). Dignosis and Improvement of saline and Alkali soils. U.S. Dept. Agr. H.B. No. 60.

Saha: G.D. Purkayastha1, A. Ghosh1, M. Isha2 and A. Saha2.(2012). ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF TWO NEW BACILLUS SUBTILIS STRAINS FROM THE RHIZOSPHERE OF EGGPLANT AS POTENTIAL BIOCONTROL AGENTS. Journal of Plant Pathology (2012), 94 (1), 109-118.

Salma, AK. And MA ,Radwan. 2006. Market basket survey for some heavy metals in Egyptian fruits and vegetables. Food chem. Toxicol. 44:1273-1278.

Santos, Mariana & Nogueira, Marco & Hungria, Mariangela. (2019). Microbial inoculants: reviewing the past, discussing the present and previewing an outstanding future for the use of beneficial bacteria in agriculture. AMB Express. 9. 10.1186/s13568-019-0932-0.

SARMA, H. (2019)Metal Hyperaccumulation in Plants : A Review Focusing on PHytoremediation Technology. Journal of Environmental Science and Technology ,4(2), 2011, 118-138.

Sarma, H., Nava, A.R. and Prasad, M.N.V.(2018). Mechanistic understanding and future prospect of microbe-enhanced Phytoremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil, ~132~ Environmental Technology and Innovation Volume 13, Pages 318- 330.

Seghatoleslami, M.J. , R. Bradaran, E. Ansarinia, and S.G. Mousavi (2012) Effect of irrigation and nitrogen level on yield, yield components and some morPhological traits of sunflower. Pak J Bot 44(5): 1551-1555.

SHAH, K., NONGKYNRIH, J.M. Metal Hyperaccumulation and Bioremediation. Biologia Plantarum, 51(4), 2007, 618-634.

Sharma, J. K., Kumar, N., Singh, N. P., & Santal, A. R. (2023). PHytoremediation technologies and their mechanism for removal of heavy metal from contaminated soil: An approach for a sustainable environment. *Frontiers in Plant Science*, *14*, 1076876.

Slonczewski, J. L. and Foster, J.W. (2014). Microbiology an evolvlng science. 2nd ed. . Norton and company. Alabama . 1100 pp.

Smith, E.; Sims, E.; Spencer, D.; Kaule, R. and Olson, M. (2005). Evidence for diversifying selection at the pyoverdine locus of Pseudomonas aeruginosa. J. Bacteriol., 187(6): 2138-2147.

Souhir Abdelkrim ؛Salwa Harzalli Jebara؛Omar Saadani؛Manel Chibou b؛ Ghassen Abid؛Khediri Mannai1؛ Moez Jebara .2018. Heavy metal accumulation in Lathyrus sativus growing in contaminated soils and identification of symbiotic resistant bacteria https://doi.org/10.1007/s00203-018-1581-4.

Starr,M.P.;H.Stop;H.G. Truper and H.G.Schlegel.(1981).The Prokaryotes . Vol . 1 . Springer-Verlage . Berlin , Heidelberg , New York.

StePhane, P .and Jacques , L.(2000). Specific of biovars of Ralstonia solanacearum in plant tissues by Nested .PCR RELP. Euripen J.Plant Pathology 106:255-265.

SudhaKar, T.; Karpngam, S. and Premkumer, J. (2015). Biosynthesis antibacterial activity of pyocyanin pigment ced produced by pseudomonas aeruginosa SU1. JCPRG5. 7(3):921-924.

Sumbul, A., Ansari, R. A., Rizvi, R., & Mahmood, I. (2020). Azotobacter: A potential bio-fertilizer for soil and plant health management. Saudi journal of biological sciences, 27(12), 3634–3640. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.08.004

SUSARLA, S., MEDINA, V.F., McCUTCHEON, S.C. PHytoremediation: An Ecological Solution to Organic Chemical Contamination. Ecological Engineering 18, 2002, 647-658

Tahir, M. and M. A. Sarwar . (2013) . A Budding complement of synthetic fertilizers for improving crop production. Pak. J. Life Soc. Sci. 11 (1) : 1-7.

Talwar Harleen K. and Chatli Anshu Sibbal. "Isolation and Enumeration of beneficiary microbes from soils of Punjab". International Journal of Science and Research, Vol. 7(9), pp.869-873, 2018

Timmusk S, Nevo E.2011. Plant root associated biofilms. http://pub-epsilon. slu.se:8080/2534/. In: Maheshwari DK, ed. Bacteria in agrobiology (vol 3) plant nutrient management. Berlin: Springer Verlag.

Todar , K. (2003). Todars on line textbook of bacteriology : The genus Bacillus , University of Wisconsin – Madison , Department of Bacteriology.

Toddar, K. (2005). *Pseudomonas aeruginosa* opportunistic infections. Internet explorer. Toddar's on line Text book of Bacteriology.

Tripti, Tripti, Vipin Kumar and Anshumali.2012. PHosPhate Solubilizing Activity of Some Bacterial Strains Isolated from Chemical Pesticide Exposed Agriculture Soil. International Journal of Engineering Research and Development. Volume 3, Issue 9 PP: 01-06.

Turan M.,Güneş, A., , Güllüce, M., Sahin, F. 2014. Nutritional content analysis of plant growth-promoting rhizobacteria species. Eur. J. Soil Biol. 60, 88-97.

VANDENHOVE, H. PHytomanagement of Radioactively Contaminated Sites. In PRASAD, M.N.V, KENNETH, S., SAJWAN & RAVIN, A. Trace Elements in the Environment Biogeochemistry, Biotechnology, and Bioremediation. Taylor and Francis Group is the Academic Division of T&F informa, plc.689, 2006, 583-609

Vijayalakshmi , V.K ; K. Revathi and P.N. Sudha . 2010. Comparative studies on the Effect of Antioxidant properties of the Plants Helianthus annus and Solanum nigrum Exposed to the Heavy Metal Chromium J. PHarm. Sci. & Res. Vol.2 (12):889-895.

WHO / FAO. 2007. Joint WHO/FAO. Food standard programme codex Alimentarius commission 13th session .

Wiggins, G., Thomas, J., Rahmatallah, Y., Deen, C., Haynes, A., Degon, Z., & Mukherjee, A. (2022). Common gene expression patterns are observed in rice roots during associations with plant growth-promoting bacteria, Herbaspirillum seropedicae and Azospirillum brasilense. *Scientific Reports*, *12*(1), 1-11.

Wu, W., Jin, Y., Bai, F., & Jin, S. (2015). Pseudomonas aeruginosa. In Molecular medical microbiology (pp. 753-767). Academic Press.

Yavada, J.; S. Yavada and Singh G.2011. Plant growth promotion in wheat crop under environmental condition by PSB as bio Fertilizer, Res. J. Agric. Sci. 2 (1) : 76-78.

Yazdani, M.; Bahamanyar, M. A.; H. Pirdashti, and Esmaili, M. A. (2009). Effect of PhosPhate solubilization microorganisms (PSM) and plant growth promoting Rhizobacteria (PGPR) on yield and yield components of corn (Zea mays L.). International Journal of Agriculture and Biological Engineering, 3(1), 50-52

Zaikov ,G.E. ; L.I Weisfeld ; E.M. Lisityn and S.A.Bekuzarova (2017). Heavy Metals and other Pollutions in the Environment by Apple Academic Press .Inc.

Zhang, Y., Wu, D., Wang, C. Fu, X. and Wu, G. an. (2020) 'Impact of coal power generation on the characteristics and risk of heavy metal pollution in nearby soil', Ecosystem Health and Sustainability, 6(1). Available at: https://doi.org/10.1080/20964129.2020.1787092.

Zhou W., Ma Q., Wu L., Hu R., Jones D.L., Chadwick D.R., Jiang Y., Wu Y., Xia X., Yang L., et al.(2021). The effect of organic manure or green manure incorporation with reductions in chemical fertilizer on yield-scaled N2O emissions in a citrus orchard. Agric. Ecosyst. Environ. 2022; 326:107806. doi: 10.1016/j.agee.2021.107806.

Zweers, J.C., Baràk, I., Becher, D., Driessen, A.J.M., Hecker, M., Kontinen, V.P., Saller, M.J., Vavrova, L. and Dijl, J.M.V. (2008). Towards the development of Bacillus subtilis as a cell factory for membrane proteins and protein complexesMicrobial cell factories, (7):(10)

الملاحق Appendices

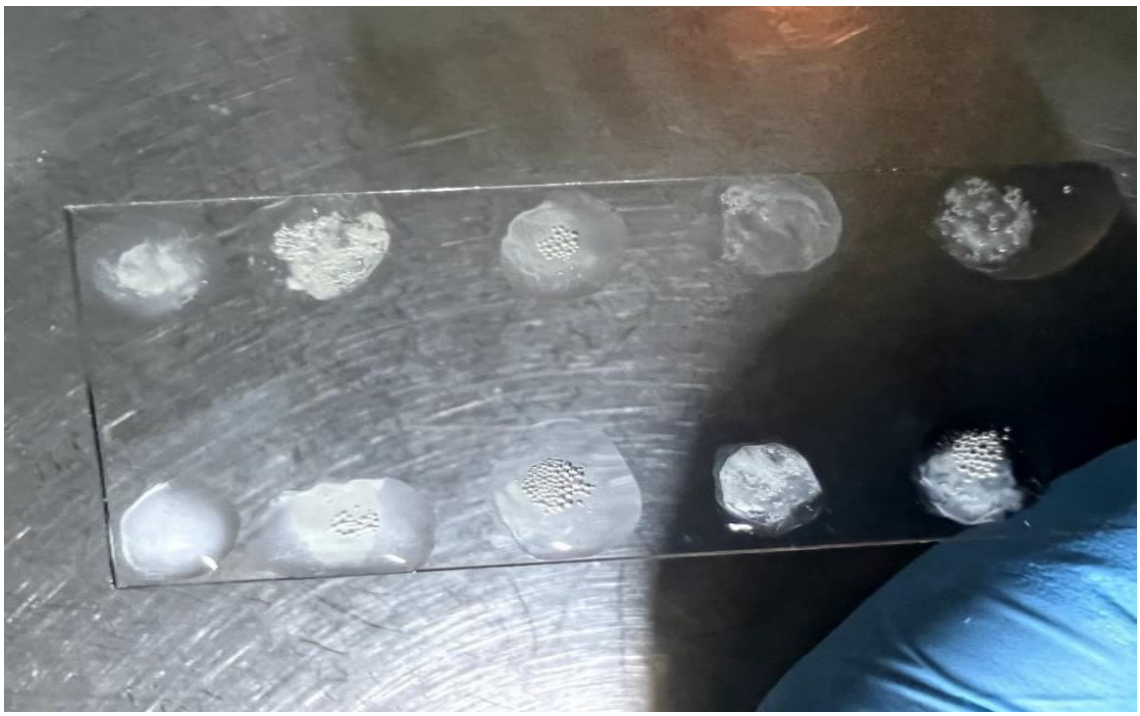
الصور المختبرية

ملحق (1) تحضير بعض الاوساط

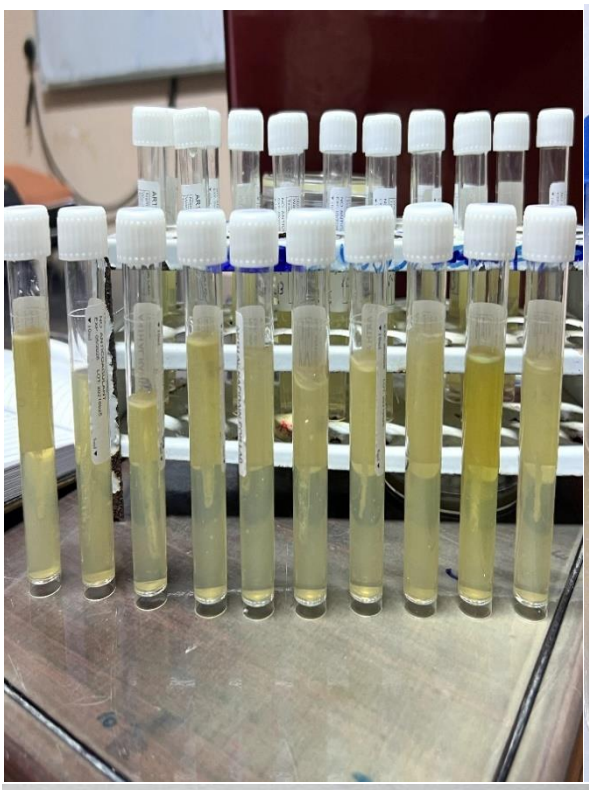
ملحق (2) نمو البكتريا على وسط المكونكي

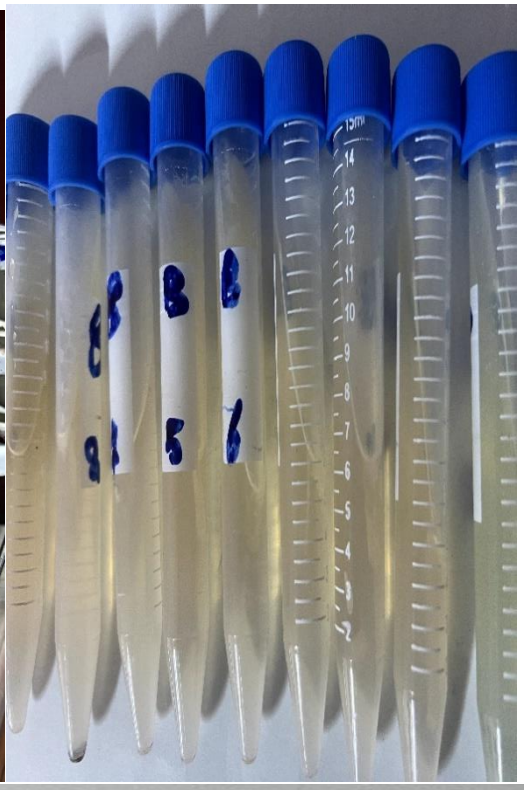
ملحق (3) نمو البكتريا على وسط كروم اكار

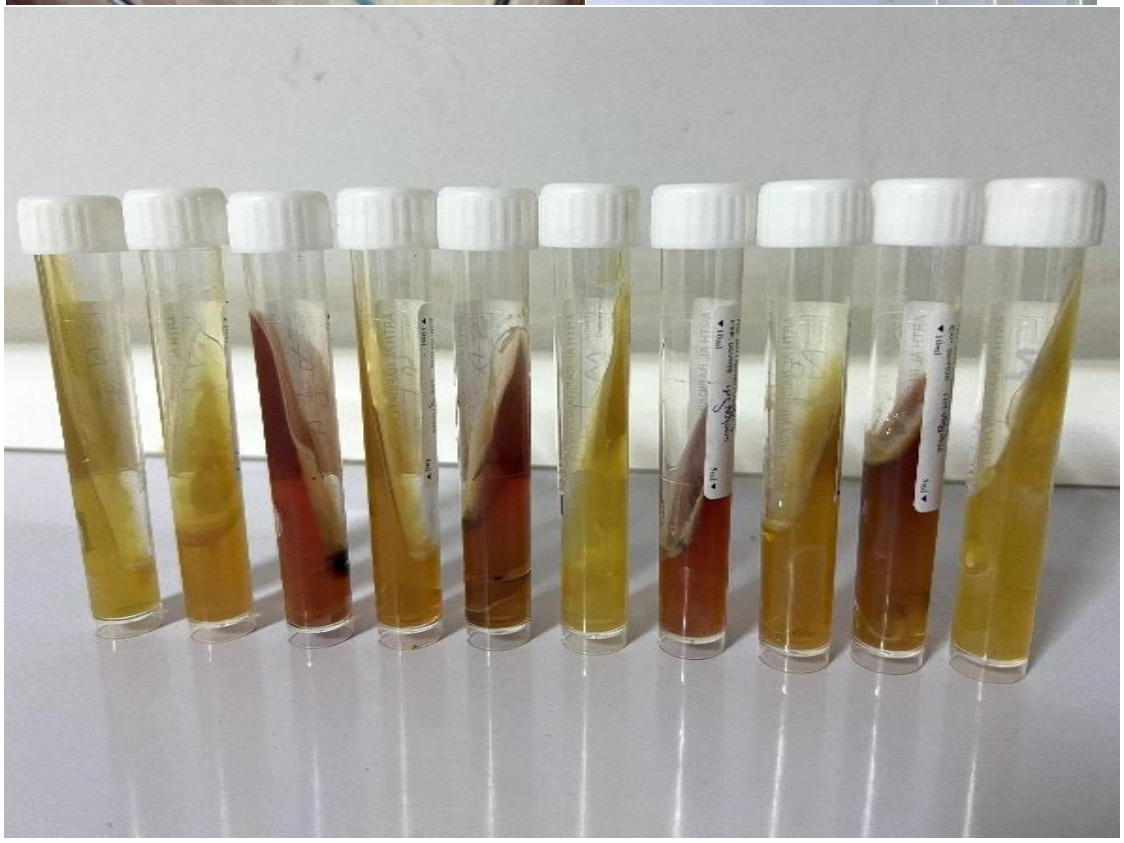
ملحق رقم (4) تنمية البكتيريا على الاوساط الزراعية



ملحق (5) كاشف الكاتليز







ملحق (6) بعض الاختبارات

الصور الحقلية

ملحق (7) عمليات ادارة التربة

ملحق (8) رية المعايرة

ملحق (9) الرية الاولى

ملحق (10) بعد مرور 10 أيام من الزراعة

ملحق (11) بعد مرور شهر

ملحق (12) بعد مرور 40 يوم

ملحق (13) بعد مرور 60 يوم

ملحق (14) بعد مرور 90 يوم

Summary

A field experiment was conducted during the spring season of 2023 with the aim of studying the effect of bacteria *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis* in bioremudation removing some heavy metalls cadmium and lead polluting the soil by using the Phytoremediation technique using the low cost and environmentally friendly sunflower plant, as well as studying the role of microorganisms using the bioremediation technique. Bioremediation and its use in the environmental purification of polluted soils.The study was conducted at the Agricultural Research Station - College of Agriculture - Al-Muthanna University, which is 2 km south of the city of Samawah. The study included the isolation of both *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis*, as 10 samples were collected from the soil and rhizosPhere of different crops such as (barley, radish, alfalfa).) to different locations in Dhi Qar, Al-Muthanna, Al-Qadisiyah, and Al-Najaf governorates, and diagnosed them by studying the cultural , microscopic, and biochemical characteristics of the isolates.The field experiment was carried out using a randomized complete block design, using two experimental factors with three replications.The first factor included bacterial inoculum with four levels were taken:- B0 = without adding the bacterial inoculum, B1 = addition of *pseudomonas aeruginosa* , B2 = *Bacillus subtilis* added and B3 = Addition of the enteration of *Pseudomonas aeruginosa* + *Bacillus subtilis*

As for the second factor, it included the heavy metalls (cadmium and lead) and in different concentrations, as to flows C0 = 5 ppm cadmium concentrate + 100 ppm lead, C1 = 10 ppm cadmium concentrate + 150

ppm lead, C2 = 15 ppm cadmium concentration + 200 ppm lead and C3 = 20ppm cadmium concentrate + 250ppm lead.

The results of isolation and diagnosis showed the isolation of ten bacterial isolates, six of then have the characteristics of *P. aeruginosa* bacteria, and other six isolates that have the characteristics of *B. subtilis* bacteria. of solubitiy of PhosPhate in Pikovskay the is medium to estimate the solubility index , as they recorded values of 2.46 and 3.50, for both isolates, respectively.

The results of the field experiment showed the superiority of the bacterial inoculum treatments, regardless of the type of inoculum, in all parameters of sunflower plant growth and the removal of pollutants from the soil. The dry weight and weight of 500 seeds and the total concentration of cadmium in the plant were recorded as 18.4 (cm2), 261.6 (cm2), 1.651 (%), 34 (mg K kg-1 soil), 214.56 (gm. plant-1), 275.8 (gm. plant). -1), 3.05 (mg kg -1 dry matter) respectively, and the interaction of *P. aeruginosa* + *B.Subtilis* together was superior in the concentration of available nitrogen in the soil, the concentration of available Phosphorus in the soil, the percentage of Phosphorus in the shoot, and the total concentration of lead in the plant, as it recorded 51.24 (mg N kg-1 soil), 19.85 (mg P kg-1 soil), 0.91, 6.46 (mg kg-1 dry matter) respectively , as the results showed the superiority of the inoculum treatment of *P. aeruginosa* in plant height and nitrogen percentage In the shoot , it recorded 240.1 cm, 1.243 (%), respectively

Republic of Iraq

Ministry of Higher Education and Scientific Research

Al-Muthanna University / College of Agriculture

Department of Soil Sciences and Water Resources

Effect of *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis* on bioremediation of lead and cadmium polluted soils planted with *Helianthus annuus* L.

A Thesis Submitted to

The Council of the Agriculture College/ for Al-Muthanna University in Partial Fulfillment of the Requirements the Degree of Master in Agriculturist Science/ Microscopic soil revival

By

Mohammed Abood Ayesh Al-Tai

Supervised by

Dr. Abdullah Karim Jabbar Al-Jubouri

2023 AD **1445 H**