التقدم العلمى فى بحوث البكتريا العقدية واستخدام لقاحاتها على الصعيد العالمى

للدكتور يوسف على حمدى

لقد كان السؤال الذى واجه العالم الفرنسى Boussingault سنة ١٨٣٥ Wilson ١٩٥٧) هو : هل تقوم النباتات باستخدام آزوت الهواء الجوى ؟ وذلك عندما لاحظ أن النباتات البقولية تحتوى على آزوت بقدر أكبر مما يعطى لها عن طريق التسميد . ثم جاءت الإجابة على هذا السؤال بدليل قاطع فى عام ١٨٨٨ فقد تأكد للعالمين الألمانيين Hellrigle and Wilfarth أن النباتات البقولية تقوم بتثبيت الآزوت الجوى عن طريق العقد التى تشاهد عادة على جذورها. وكان Beijerinck أول من عزل بكتريا العقد الجذرية فى عام ١٨٨٨ وأطلق عليها اسم **Bacillus radicicala** ، (Wilson ١٩٥٧) . ومنذ ذلك الحين دخلت الريزوبيا إلى عالم البحث فى نطاق علم ميكروبيولوجيا الأراضى ، ولو أن البعض يريد لها علما أكثر تخصصا ، هو علم الريزوبيولوجى Rhizobiology .

ولقد انتشرت المعاهد والمراكز المتخصصة فى الخارج لبحوث الريزوبيا ، ونذكر منها من باب التمثيل لا الحصر محطة بحوث Beltsville التابعة لوزارة الزراعة الأمريكية ، والتى تضم معاملها ما يزيد على ١٥٠٠ سلالة بكتيرية تابعة لجنس الريزوبيا ، وهى على صلة دائمة بمثيلاتها فى جميع أنحاء العالم . وهناك محطة بحوث الريزوبيا باستراليا التابعة لـ (Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization) ، والتى تقوم ببحوث أصلية عن انتشار وتوزيع وتقسيم ووراثة الريزوبيا ، ثم هناك محطة بحوث Rothamestead بانجلترا ، فضلا عن محطات عديدة توجد فى الجامعات المختلفة أيضا أينما وجدت دراسة عن ميكروبيولوجيا الأراضى .

● الدكتور يوسف على حمدى : باحث بقسم بحوث ميكروبيولوجيا الأراضى ، مراقبة بحوث الميكروبيولوجيا الزراعية ، وزارة الزراعة .

ولتسهيل تداول المعلومات على المستوى العالمى قامت جامعة سيدنى باستراليا بالاشتراك مع قسم الإرشاد الزراعى بإصدار نشرة عن الريزوبيا Rhizobium Newsletter وتظهر مرتين فى العام ، حيث تحتوى على معظم البحوث الجارية والمنشورة فى مختلف البلاد عن الريزوبيا ، كذلك هناك الـ International Biological Program الذى يهتم بالشئون البيولوجية فى العالم ، وينطوى تحته فرع يسمى Production Processes Branch ، وهو متخصص فى دراسة تثبيت الآزوت الجوى بوجه عام والبكتريا العقدية بوجه خاص. ولقد كان آخر اجتماع لهذه اللجنة هو الاجتماع الذى عقد فى أديس أبابا فى الأسبوع الأول من شهر نوفمبر ١٩٦٧، وذلك لمناقشة تثبيت الآزوت الجوى على مستوى المناطق الإقليمية المختلفة فى العالم فضلا عن التلقيح البكتيرى للحاصلات البقولية .

ومع تطور علم الريزوبيولوجى انتشر التلقيح البكتيرى لتقاوى المحاصيل البقولية فى جهات مختلفة من العالم، وذلك بدرجات متفاوتة مع استخدام لقاحات مختلفة قد تكون فى صورة مزارع سائلة أو مزارع آجار أو مزارع محفوظة بالتجفيد Lyoplilization أو مزارع محملة على بيئات جافة أساسها التربة أو الرمل أو البيت . ويبين الجدول فى الصفحة التالية أسماء اللقاحات فى بعض بلاد العالم .

وللتلقيح البكتيرى فلسفة خاصة تعتمد على إضافة البكتريا العقدية ذات الكفاية العالية لبذور النباتات البقولية وبكثافة تسمح بتكوين أقصى عدد ممكن من العقد الجذرية ، ومن ثم كانت القاعدة الزراعية العامة ، والتى تتلخص فى تلقيح المحاصيل البقولية المزروعة فى أرض جديدة أو فقيرة أو فى أرض خاضعة للاستصلاح ، وكذلك المزروعة على حسب الدورات الزراعية ، أو بمعنى آخر كلما زرع أى محصول بقولى .

ولنقف قليلا عند هذه القاعدة التى هى أساس موضوع الندوة ، فهل يعم التلقيح البكتيرى عندنا أو يقتصر ممارسته فى الأراضى الجديدة ؟

ولمناقشة هذا السؤال أرجو أن تسمحوا لى بالتكلم عن العوامل المرتبطة أساسا باستخدام التلقيح من عدمه ثم نجاحه .

جدول يبين أسماء اللقاحات المستعملة فى بلاد مختلفة من العـــالم

المنطقة	اللقـــاح
الولايات المتحدة الأمريكية	Nodogen Nitragin, Legume-aid, Plant culture
استراليا	U D A L S, Nodule aid
نيوزيلاند	Legulin, Inoculaid
أرجنتين	Radibak
الصين	Soil-beach wood base inculant
هولندا	Peat cultures
الدانيمرك	Bactrial cultures
اليابان	Agar cultures, soil-sand cultures
أسبانيا	Leguminal, Nodosit, Nitrogin
بلغاريا	Radiksoya, Nitrogin
أورجواى	Peat culture
تشيكوسلوفاكيا	Nitrozon
روديسيا	Commercial inculant
بولندا	Soil-Peat inculant
الجمهورية العربية المتحدة	Okadin
المانيا الديموقراطية	Peat culture

أولا : العوامل المتصلة بالبكتريا والعائل البقولى

(١) المجموعات النباتية تبادلية التلقيح Cross inoculation groups :

تنقسم البكتريا العقدية التابعة لجنس Rhizobium إلى عدة أنواع ، وذلك على أساس قدرتها على التعايش مع نباتات بقولية معينة ، ويطلق على أى مجموعة من النباتات البقولية التى يصيبها نوع واحد من البكتريا بمجموعة النباتات تبادلية التلقيح Cross inoculation groups . وقد تحددت حتى الآن ٢٢ مجموعة نباتية ينطوى تحتها ٤٤٠ نوعا من البقوليات ، ولكن البكتريا المختصة ست منها فقط أعطيت الأسماء الآتية هى : **R. meliloti, R. tifolii, R. leguminosarum R. phaseoli, R. japonicum, R. lupini**

هذا بالإضافة إلى مجموعة أخرى تقترن باسم الـ cowpea group

(٢) تخصص النبات العائل وتفاوت السلالة : لقد ثبت أن السلالات المختلفة لنوع واحد من البكتريا ليست متماثلة فى قدرتها على التكافل مع كل الأجناس أو الأنواع المختلفة لأفراد النباتات البقولية التابعة لمجموعة البكتريا التى تصيبها ، فمثلا سلالة واحدة من الـ R. meliloti قد تكون قادرة على تكوين عقد فى كل من البرسيم الحجازى والبرسيم الحلو الأبيض والبرسيم الحلو الأصفر ، غير أن البرسيم الحجازى قد يتكافل مع هذه السلالة بفعالية أكبر من البرسيم الأبيض أو الأصفر . هذا ويمتد تفاوت فاعلية السلالات إلى الأصناف النباتية لنوع واحد من النبات البقولى .

ومن باب التمثيل لاختلاف السلالات والتخصص العائلى وجد أن تلقيح ٤ أصناف من البرسيم بتسع سلالات من بكتريا البرسيم أعطى درجات متفاوتة من الكفاية فى تثبيت الآزوت الجوى (Burton ١٩٦٤) وكذلك لوحظ فى تجاربنا (تحت النشر) أن تلقيح ٣ أصناف من فول الصويا لست سلالات من البكتريا المنفردة أو الخليطة يعطى اختلافا فى كمية الآزوت المثبتة فى الأصناف المختلفة والملقحة بسلالات مختلفة أيضا .

(٣) كفاية السلالات البكتيرية وعلاقتها بالعائل : ليس مجرد تكوين العقد البكتيرية دلالة على كفاية تثبيت الآزوت الجوى ، فهناك ما يسمى بالعقد الفعالة effective nodules والعقد غير الفعالة ineffective nodules ، حيث تقوم الأولى بتثبيت الآزوت الجوى بكفاية عالية ، بينما لا تقوم الأخرى إلا بالقدر القليل من النشاط . ومن الثابت أن فلورا التربة من الريزوبيا تكون عقدا فعالة على جذور نبات العائل بنسبة ٢٥ ٪ وعقدا متوسطة الفعالية بنسبة ٥٠ ٪ ، وعقدا غير فعالة بنسبة ٢٥ ٪ (Allen and Allen ١٩٥٨) . كذلك أثبتت الدراسات المختلفة على أن فعالية السلالات ليست صفة ثابتة ، فيمكن تغييرها بتكرار إمرار السلالة فى النبات العائل أو تنميتها فى بيئة غذائية تحتوى على مستخلص اللحم (Allen and Allen ١٩٥٨) أو نسبة عالية من الأحماض الأمينية (Hamdi ١٩٦٥) أو بعض المضادات الحيوية (Schwinghamer ١٩٦٣) . كذلك ثبت من سلسلة الدراسات التى أجراها (Nutman ١٩٥٤، ١٩٥٧، ١٩٥٩) أن هناك عوامل وراثية فى النبات العائل تتحكم فى فاعلية السلالات ، كما دلت عليها بحوثه فى محصول الـ T. subterraneum

ثانيا : العوامل المتصلة بالظروف البيئية

(١) درجة تركيز أيون الأيدروجين : تعتبر حموضة التربة عاملا محددا لانتشار الريزوبيا فى التربة وكذلك درجة تكون العقد الجذرية على النبات العائل ، ويختلف مدى تحمل أنواع الريزوبيا لدرجة الـ pH فبينما تعتبر بكتيريا البرسيم الحجازى R. meliloti حساسة جدا للحموضة فإن بكتيريا فول الصويا مقاومة لدرجة pH ٣,٢ (Vincent ١٩٦٥) .

(٢) الكالسيوم والمغنسيوم : ثبت من الدراسات العديدة أن الكالسيوم والمغنسيوم عنصران ضروريان للنمو الطبيعى لبكتيريا العقد الجذرية (Vincent ١٩٦٥) فضلا عن دور الكالسيوم فى معادلة حموضة التربة ، وبالتالى زيادة حيوية الريزوبيا وكفايتها فى تكوين العقد الجذرية وتثبيت الآزوت الجوى .

(٣) العناصر النادرة : ومن أمثلة ذلك ما يلى :

ا — المولبدينم : يلعب هذا العنصر دوراعاما فى عملية تثبيت الآزوت الجوى. ومن المعتقد أن أنزيمات الـ Nitrogenase (الأنزيم أو الأنزيمات التى تعمل على اختزال النيتروجين N_2 إلى الأمونيا NH_3 فى عملية التثبيت) تعمل بمساعدة عنصر المولبدينم (Nason and McElory ١٩٦٣). ومن الناحية التطبيقية وجد أن ١٠ — ٢٥ جزءا فى المليون، وأن ٤ — ٨ جزءا فى المليون من المولبدينم كانتا لازمتين على التوالى للبرسيم الحجازى، والبرسيم الـ T. subterraneum للحصول على أعلى درجة من تثبيت الآزوت (Jensen ١٩٤٨).

ب — البورون : ثبت أنه فى حالة نقص البورون فإن نمو الجهاز الوعائى للعقدة البكتيرية يكون غير طبيعى مما ينتج عنه نقص فى كمية الآزوت الجوى المثبتة (Mulder ١٩٤٨).

ج — الكوبلت : لقد تبين بصفة قاطعة أن للكوبلت دورا كبيرا فى تثبيت الآزوت الجوى، حيث وجد أن ٠,٠٠٦ إلى ٠,٠٠٦ جزء فى المليون من هذا العنصر قد رفع كمية الآزوت المثبتة فى البرسيم (Hallsworth ١٩٦٠).

(٤) مستوى الآزوت فى التربة : وجد أن للآزوت الكلى فى التربة تأثيرا مباشرا على كمية النتروجين المثبتة، فقد لوحظ أن ٥٥ جزء فى المليون قد منعت تكون العقد الجذرية على البرسيم الحجازى (Richardson et al ١٩٥٧). ووجد Weber أن استعمال ٥٠ و ١٠٠ و ١٥٠ رطل من النتروجين للأيكر قد أدى إلى خفض كمية العقد البكتيرية المتكونة على جذور فول الصويا.

(٥) الحرارة : تقع الحرارة المثلى لكل من البكتريا العقدية والنبات العائل بين ٢٠ — ٢٤° م (Van Schreven ١٩٥٨). وكما هو متوقع فكلما زادت درجة الحرارة كلما قلت حيوية الريزوبيا، وبالتالى تأثر تكون العقد الجذرية وعملية تثبيت الآزوت الجوى. ففى تجربة على البرسيم الذى نميت جذوره على درجات حرارة مختلفة بين ٥ — ٣٠° وجد أن كفاية التثبيت زادت بحد أقصى عند درجة ٢٢° م (Gibson ١٩٦١). وفى تجربة أخرى حفظت الريزوبيا على حبات زجاجية بواقع ١٣٢ ألف خلية ثم حضنت على درجات حرارة ٥ و١٦ و٣٧° م فكانت

أعداد الريزوبيا الحية بالنسبة لكل حبة زجاجية بعد ٤٦ يوما هى ٢١ و ١٧ و ٣ على التوالى (Vincent ١٩٥٨) .

(٦) غياب العائل البقولى : من المعروف أن البكتريا العقدية تعيش فى التربة داخل العقد الجذرية للنباتات البقولية أو منفردة فى التربة ، وطالما كان هناك نبات بقولى فمن المتوقع أن توجد البكتريا العقدية التى تتعايش معه ، ولو أنه يجب أن يؤخذ فى الاعتبار أن ١٠ ٪ فقط من عدد أنواع العائلة البقولية قد أتيح فحصه ، وتبين أن ٩٠ ٪ فقط من هذه الأنواع يحمل عقدا ، بمعنى أنه من المحتمل أن يجد الإنسان نباتات بقولية لم يعرف بعد تكون العقد الجذرية عليها (Allen and Allen ١٩٦١) . وكذلك يجب ملاحظة أنه إذا لم يكن النبات العائل ينمو طبيعيا فى المنطقة فمن المتوقع أن تكون البكتريا الخاصة به غير موجودة فى هذه التربة ، ومثال ذلك ما هو ملاحظ الآن فى نباتات فول الصويا التى تزرع حديثا فى أراضينا ، حيث لم يلاحظ تكون العقد إلا بالتلقيح ، وذلك لأنه فى اعتقادى ليس بالنبات المتوطن فى تربتنا .

ومن الثابت أنه فى غياب العائل البقولى تتناقص أعداد الريزوبيا فى التربة بدرجة ملحوظة ، ففى دراسة (Nutman Krasilinikov ١٩٦٣) اتضح أن عدد ريزوبيا البرسيم **R. trifolii** تحت البرسيم تصل إلى $١٠^{٧}$ خلية للجرام ، بينما تحت البرسيم الحجازى والبسلة كانت أعدادها حوالى $١٠^{٥}$ للجرام ، وفى أرض الذرة كانت أعدادها ١٠ خلية للجرام .

وفى محطة بحوث روثامستيد (Nutman ١٩٦٣) كانت أعداد بكتيريا العقد الجذرية لمجموعة البسلة فى أرض طميية ثقيلة كالآتى .

ا — أرض بور بعد حبوب : ٢٠ خلية للجرام .

ب — بور لسنة تالية بعد أرض مزروعة : $١٠^{٣}$ خلية للجرام .

ج — أرض حبوب بعد فاصوليا : $٣٫٧ \times ١٠^{٤}$ خلية للجرام .

د — فاصوليا بعد بطاطا : $٧٫٥ \times ١٠^{٤}$ خلية للجرام .

هـ — فاصوليا بعد فاصوليا : $١٠^{٥}$ خلية للجرام .

وضمن سلسلة هذه التجارب أيضا وجد أن عدد البكتريا العقدية لمجموعة البرسيم الحجازى والبرسيم والبسلة يتناقص تدريجيا بعد غياب العائل فى أرض خفيفة رملية وأرض طميية ثقيلة تركت بورا لبضع سنوات . وجملة القول : إن عدد البكتريا العقدية يتناقص بغياب العائل بدرجة لا تقبل الجدل .

ثالثا — العوامل الحيوية

(١) الكائنات الدقيقة فى منطقة الجذور Rhizosphere : إن التنافس بين سلالات الريزوبيا أمر معروف ، ولكن أسبابه لم تحدد حتى الآن ، فقد وجد Purchase أن سلالة غير فعالة تحد من تكاثر السلالة الفعالة الأم (Vincent ١٩٦٥) . أما من حيث علاقة الريزوبيا بالميكروبات الأخرى فقد ثبت أن هناك عوامل مثبطة لنمو الريزوبيا بواسطة البكتريا المتجرثمة ومجموعة الفطر والأكتينوميسيتس (Allen and Allen ١٩٥٨) . وقد عزى عدم نجاح التلقيح فى بعض أراضى استراليا إلى عدم تمكن اللقاح من النمو فى منطقة الجذور نتيجة التضاد Antagonism القائم بين هذه الميكروبات والريزوبيا ، حيث وجد أن تخفيف ١٠^٣ من التربة قد منع تكون العقد الجذرية على جذور نبات البرسيم (الملقحة Hely et al ١٩٥٧).

(٢) القاج Bacteriophage : لقد تكرر ذكر القاج على أنه عامل محدد لنجاح التلقيح، إلا أن هذا الرأى لا يزال تنقصه الدلائل القاطعة (Vincent ١٩٦٥) .

(٣) المواد الكيماوية : للمطهرات الفطرية ولمبيدات الحشائش والحشرات تأثيرها السيء على تكون العقد الجذرية وتثبيت الآزوت الجوى (Hamed ١٩٦٥).

وخلاصة القول إن هناك عوامل مختلفة تؤثر فى حيوية الريزوبيا وفاعليتها فى تثبيت الآزوت الجوى ، ولذلك اتخذت خطوات متقدمة فى تكنولوجيا التلقيح البكتيرى لضمان تواجد أعداد وفيرة من الريزوبيا فى منطقة البذرة وذلك باستخدام طريقتى التلقيح المسبق Pre-inoculation وتغليف البذور Seed pelleting :

ا — البذور المسبقة التلقيح Pre-inoculated Seeds : التلقيح المسبق لبذور البقوليات ، يعنى تلقيح البذور بواسطة المنتج أو الموزع لها قبل الزراعة بشهور عديدة وهذا بخلاف التلقيح العادى الذى يجريه الزراع قبل الزراعة مباشرة . وهناك وسيلتان : الأولى هى إضافة البكتريا للبذور ثم تعريضها للتفريغ ، حيث يعتقد أن البكتريا تدفع إلى داخل البذور عند إزالة التفريغ ، ومن أمثلتها Noculized seeds ؛ والثانية ، هى إضافة البكتريا على سطح البذور مع وجود مواد لاصقة ومنشطة ، ومن أمثلتها : Pre-inoc., Vicoated seeds, Nitro-charged, Micro-guard, Dormal . وتنتشر تلك الطريقة بصورة واضحة فى الولايات المتحدة الأمريكية

غير أنها تقابل بحذر فى استراليا ، ولا يزال الباحثون الاستراليون يعارضون انتشارها . وفى تحليل دقيق قال Burton : « من الممكن تلقيح البرسيم والبرسيم الحجازى شهورا مسبقة لموعد الزراعة ضمانا للحصول عل نتائج طيبة » .

ب — تغليف البذور باللقاح Seed Pelleting : وهى وسيلة لتلقيح بذور البقوليات بخليط من البكتريا وإحدى المواد اللاصقة ثم تغليفها بمسحوق من إحدى المواد المالئة . ومن أمثلة المواد اللاصقة الصموغ الطبيعية ، كالصمغ العربى ، أو المستحدثة كالميثيل سيليلوز . ومن أمثلة المواد المالئة الحجر الجيرى والدم المجفف والتربة والفوسفات الخام . وتتميز هذه الطريقة بحفظها للقاح يتغلب على الظروف غير المناسبة ، كانخفاض درجة الـ pH فى التربة والجفاف الشديد ، إلا أنه يجب زراعة هذه البذور فى غضون ٣ أسابيع . وقد انتشرت هذه الطريقة فى كل من استراليا وأمريكا الجنوبية .

وبعد هذا الاستعراض لابد لنا من العود إلى العوامل المؤثرة فى التلقيح البكتيرى من ناحية الظروف البيئية فى أراضينا ، فإن درجة تركيز أيون الأيدروجين فى التربة المصرية يميل إلى القلوية كما هو معروف ، كما أن تربتنا غنية فى الكالسيوم والماغنسيوم ولم يظهر بعد بصفة حاسمة نقص فى العناصر النادرة إلا فى الأراضى الخاضعة للاستصلاح ، ومن ناحية الآزوت فإن تربتنا تضج بفقرها فى الآزوت . ومعنى ذلك كله أن الظروف البيئية موانية تماما لنجاح التلقيح البكتيرى فى مصر ، غير أنه لابد من الإشارة تدعيما لضرورة ممارسة التلقيح البكتيرى كلما زرع محصول بقولى هو أننا نقع فيما يعرف بنطاق الأراضى الجافة والحارة فى الوقت نفسه ، أى أن درجة حرارة التربة وخاصة فى الصيف تصل الى الحد غير الملائم لمعيشة البكتريا العقدية المنفردة فى التربة ، هذا فضلا عن أن لنا زراعة خاصة تحكمها دورات زراعية معينة ، وقد يغيب العائل فى دورة السنتين أو السنوات الثلاثة .

والآن يحق لنا أن نجيب على السؤال الأصلى : هل يعمم التلقيح البكتيرى فى مصر فى الأراضى الجيدة والفقيرة على السواء ؟ فإننا نؤكد ضرورة التلقيح أينما زرع محصول بقولى ومما يعضد وجهة نظرنا سؤال وجهه Wagner (١٩٦٦) إلى ١٤ جامعة أمريكية مستفتيا فى فائدة التلقيح ، فأجابت عشر جامعات بأن التلقيح البكتيرى يفيد فى حالة الأرض التى تحوى البكتريا المناسبة ، ويرجع ذلك إلى أن التلقيح سيضمن تواجد البكتريا المتخصصة والمتفوقة بأعداد كبيرة تزيد من نسبة

تكون العقد ، حيث إن السلالات الجيدة فى الأرض عادة ما تكون قليلة . هذا وقد اعتذرت الجامعات الأربعة الأخرى عن الإجابة لعدم التخصص .

المراجع

(1) Allen, Ethel K., and O. N. Allen (1958) Biological aspects of symbiotic nitrogen fixation. **In** W. Ruhland (ed.) Handbuch der Pflanzenphysiologie, pp. 48-118.

(2) Allen, Ethel K., and O. N. Allen (1961) The scope of nodulation in the leguminosae. Recent Adv. Bot. Univ. of Toronto Press.

(3) Burton, J. (1964) The rhizobium legume association. **In** O. N. Allen and C. M. Gilmour, Microbiology and Soil Fertility. 25th Ann. Biol. Colloquium Proc., Oregon state university Press.

(4) Gibson, A. H. (1961) Root temperature and symbiotic nitrogen fixation. Nature (Lond.) 191 : 1080.

(5) Hallsworth, E. G., S. B. Wilson, and E. A. N. Greenwood (1960) Copper and cobalt in nitrogen fixation. Nature, 187 : 79-80.

(6) Hamdi, Y. A. (1965) Efficiency of **R. meliloti** strains as affected by sulfur-containing amino acids. Ph.D. Dissertation, Univ. of Wisconsin.

(7) Hamed, A. H. S. (1966) Effect of some insecticides, fungicides and herbicides on soil microflora and some plant nutrients. M.Sc. Thesis, Univ. of Ain Shams.

(8) Hely, F. W., F. J. Bergersen, and J. Brockwell (1957) Microbial antagonism in the rhizosphere as a factor in the failure of inoculation subterranean clover. Aust. Jour. Agric. Res., 8 : 24-44.

(9) Jensen, H. L. (1948) Nitrogen fixation in leguminous plants. Proc. Linn. Soc. New S. Wales, 72: 265-291.

(10) Mulder, E. G. (1948) Investigations on the nitrogen nutrition of pea plants. Plant & Soil, 1: 179-212.

(11) Nason, A., and W. D. McElory (1963) Modes of action of the essential mineral elements. **In** F. C. Steward (ed.) Plant Physiology, 3 : 451-536.

(12) Nutman, P. S. (1954) Symbiotic effectiveness in nodulated red clover. Heredity, 8 : 47-60.

(13) Nutman, P. S. (1957) Symbiotic effectiveness in red clover Heredity, 11 : 159-173.

(14) Nutman, P. S. (1959) Sources of incomptability affecting nitrogen fixation in legume symbiosis. Jour. Expt. Bot., 10 : 250-263.

(15) Nutman, P. S. (1963) Mutual advantage in legume symbiosis. **In** Symbiotic associations, 13th. Symposium of the Soc. for Gen. Microbiol. held at Royal Inst. London.

(16) Richardson, H. M., D. C. Jordon, and E. H. Garrard (1959) The influence of combined nitrogen on nodulation and nitrogen fixation by **R. melilot.** Canad. Jour. Plant Sci., 37 : 205-214.

(17) Schwinghamer, E.A. (1964) Association between antibiotic resistance and ineffectiveness in mutant strains of **Rhizobium** spp. Can. Jour. Microbial., 10 : 221-233.

(18) Van Schreven, D. A. (1958) Some factors affecting the uptake of nitrogen by legumes. **In** E. G. Hallsworth (ed.) Nutrition of Legumes. Academic Press, New York.

(19) Vincent, J. M. (1958) Survival of the root nodule bacteria. **In** E. G. Hallsworth (ed.) Nutrition of Legumes. Academic Press, New York.

(20) Vincent, J. M. (1965) Enviromental factors in fixation of nitrogen by legumes. **In** W. V. Bartholomow and Francis E. Clark (ed.) Soil Nitrogen. Amer. Soc. Agron. Inc.

(21) Wagner, G. H. (1966) Current legume inoculation practice. Soil Biol., 5 : 45.

(22) Williams, T. E. and Back, H. L. (1959/60) The combine drilling of lime and lucerne. Grassland Res. Inst. Rep., 107-109.

(23) Wilson, P. W. (1957) On the sources of nitrogen of vegetation. Bacteriol. Rev., 21 : 215-226.

المناقشات

الدكتور أمين النواوى : هل هناك دراسات عن أهمية المولبدينم بصفة عامة ؟

الدكتور على سرى : فى الواقع لا يوجد ، حيث إن نقص المولبيدينم يحدث عادة فى الأراضى الحامضية .

الدكتور يوسف عبد الملك : بحثت اثنتى عشرة حالة ، فلم يوجد المولبيدينم سواء فى التربة أو فى النبات ، وذلك بالنسبة إلى أربع حالات ، أما فى باقى الحالات فقد وجد المولبيدينم فى التربة وفى النبات ، وكان يوجد فانيديوم ، وعلى أية حال فإن موضوع العناصر الثانوية يحتاج إلى الاهتمام والبحث .

الدكتور على سرى : نحن نقوم ببحوث على الزنك والحديد والمنجنيز ، والحقيقة أن تقدير مثل هذه العناصر ليس من الأمور السهلة .

الدكتور صبرى عبد الغفار: لماذا لا نطرق الوسائل البيولوجية فى تقدير العناصر الثانوية طالما أن المشتغلين بتغذية النبات والتربة يجدون صعوبات عديدة فى تقديرها؟

الدكتور فؤاد عزازى : بهذه المناسبة أرى أن أشير الى عنصر الكوبلت ، فنقصه فى نباتات المراعى يسبب — كما يقال — النفوق الفجائى فى الأبقار أو فى عدم الحمل العادى للمواشى ، ولهذا أنادى بالاهتمام الجدى بجميع العناصر الثانوية إذا أردنا تهيئة جميع عوامل زيادة الإنتاج الزراعى .

* * *