

أوليات... التربة

للدكتور أحمد حسنين القفل

قسم وقاية النبات في كلية الزراعة بجامعة القاهرة

يعتبر العالم Ehrenberg (١٨٣٧) أول من أشار إلى وجود أنواع مختلفة من الأوليات في التربة، كما أشار إلى علاقة هذه المجموعة من الحيوانات بكتيريا التربة، وبالتالي بخصوبة الأرض الزراعية.

ولم يكن نشاط الأوليات الحرة في التربة وأثرها يحظى باهتمام الباحثين والعلماء، كما كان الحال بالنسبة للأوليات الحرة في المياه العذبة أو المالحة حتى كانت نظرية Russel & Hutchinson (١٩٠٩) التي وضحت أثر التعقيم الجزئي Partial sterilization على التربة وبواسطتها فسر «مرض التربة» «Soil sickness» على أنه يتسبب عن وجود عدد كبير من الأوليات النشيطة أو الخضرية Active or trophic التي يعزى إليها التأثير على العمليات البكتيرية وعدم استمرارها، نظراً لقدرة الأوليات على ابتلاع هذه الكائنات. ويؤدي تعقيم التربة إلى قتل الأوليات فتوصف إذن كعلاج. ومع أن هذه النظرية لم تؤخذ على علاتها إلا أنها فتحت الطريق أمام الأبحاث عن أنواع الأوليات ونشاطها وأوصافها في التربة.

ماهية أوليات التربة :

تتطلب كل الأوليات في التربة الماء السائل Liquid water لكي تقوم بنشاطها العادي، ولذا فإن هذه المجموعة من الحيوانات تعتمد في تحوالها ومزاولة نشاطها على الشقوق المغمورة بالماء، وعلى الأنفاق الشعرية

في الأرض ، وعلى الأغشية المائية المغلفة لجيبات التربة . ولما كانت كمية الماء بالتربة صغيرة نسبياً عادة فإن أوليات التربة تكون هي الأخرى صغيرة الجرم إذا ما قورنت بنفس الأنواع التي تعيش في البرك أو المستنقعات أو المياه المفتوحة .

وليس للأوليات وطن خاص ، فهي منتشرة في كل بقاع العالم Cosmopolitan حيث تتوافر إمكانيات معيشتها وازدهارها ، ولذا فإن البقاع المختلفة تشتمل على أوليات متشابهة تقريباً من حيث النوع ، وإن كانت تختلف كما على حسب الظروف الطبيعية والحيوية السائدة في هذه البقعة ، كما يلاحظ أن كثيراً من أوليات التربة يشابه كثيراً أوليات المياه العذبة (ومياه الري) من حيث تعدد أنواعها لامن حيث جرمها .

يوجد بالتربة عدد لا بأس به من الأوليات المختلفة لها تأثيرها الذي لا شك فيه على بكتيريا التربة ، وعلى الحيوانات الأخرى بها ، وقد تتدخل في خصوبة التربة . وتوجد أوليات التربة بصورتين :

(أ) إما أن تكون في حالة نشيطة Active وتعرف الأوليات عندما تكون كذلك بأنها في الصورة الخضرية vegetative form أو أنها في مرحلة التغذية Trophic phase

(ب) أو تكون في حالة راحة أى غير نشيطة وتعرف بأنها في حالة تحوصل Encystment ويعزى تحوصل الأوليات في التربة إلى ظروف سيئة طارئة مثل الجفاف ، أو الحرارة ، أو البرودة ، أو قلة الغذاء ، أو وجود مواد كيميائية غير مرغوبة لها ، وعند التحوصل يفقد الحيوان الأولى الأسواط أو الأهداب ، وقد يفقد أعضاء خلوية أخرى ثم يفرز جداراً حوله يتكون عادة من طبقتين : إحداها داخلية رقيقة ، والأخرى خارجية أغلظ سمكاً وأقوى ، وتعيش الحوصلات عدة أشهر أو عدة سنين مادامت الظروف السيئة باقية . وقد احتفظت بعض الحوصلات بحيويتها

أربعين سنة ، ومع هذا قد تعود الحوصلة إلى الحالة النشيطة بمجرد زوال الظروف السيئة في مدى وقت وجيز .

تتأثر الأوليات في التربة بعوامل شتى أهمها الحرارة والرطوبة والتركيب الكيماوى لمياه التربة والحموضة والقلوية والرصيد الغذائى ودرجة توفر المواد العضوية والعمليات الزراعية ... الخ ..

الأوليات الموجودة في التربة تنتمي إلى ثلاثة مجاميع هي :

(١) السوطيات Flagellates ، شكل ١ ، وقد أشار الباحثون إلى وجود أنواع من السوطيات في التربة تتبع الاجناس :
Bodo , Heteromitus , Oikomonas كما لوحظ أن الحيوان السوطى Cercomonas crassicauda يظل بنشاطه العادى حتى آخر قطرة من الماء في التربة وكل السوطيات الارضية تقريباً تتغذى على البكتريا الموجودة في التربة .

(ب) الشعاعيات Rhizopoda (Sarcodina) الأميبات العارية قليلة في التربة ، ومثلها Amoeba gruberi , (Naegleria) A. وهما يتغذيان على البكتريا ، وقد لوحظ أن A. terricola تفترس غيرها من الشعاعيات ، بل قد تفترس العجليات Rotifers وأنها تفضل الطبقات السطحية من التربة حيث يكثُر وجود النباتات الدنيئة من الطحالب Moss ولا توجد مطلقاً في الدبال Humus ويشيع في التربة وجود الأميبات المغطاة ذات الهيكل الخارجى (Or Thecamoebae) Testacea وعلى الأخص في الأراضى الحمضية الفقيرة في البكتريا وتعيش هذه الشعاعيات في الطبقات السطحية الغنية بالمواد العضوية في المراحل المختلفة لتحللها ومثال هذه الشعاعيات « شكل ٢ و ٣ » :

Microchlamys patella, Arcella discoides وكذلك أنواع من عائلة Euglyphidae مثل Euglyphulaevis E. ciliata,

كما توجد أنواع تفضل طبقات أعمق من التربة مثل :

Diffflugia Phyrganella sp *urceolata*

والأمبيات المغطاة تتغذى على مخلفات حيوانية أو نباتية ، ومنها المفترسات مثل أنواع جنس *Nebela* , *Diffflugia* التي تفترس أوليات أخرى .
(ح) الهدبيات *Ciliatez* : تضم الفراغات المملوءة بالماء أنواعا قزمية *Dwarfed specimens* من الهدبيات والأوليات الشائعة هي «شكل ٤» *colpoda* , *cacullus Colpidium colpoda* & *C. steini* وأنواع جنس *Chilodon* .

وقد وجدت أنواع من جنس *Vorticella* في الأغشية المائية للأنفاق الشعرية في التربة . وتعتمد بعض الهدبيات في غذائها على البكتيريا . وقد لوحظ أن النوع *Spathidium* , *spathula* يفترس الأمبيات ذات الغطاء ، وأنه يوجد غالباً في الطبقات السطحية حيث تسكثر المواد العضوية . ويبين «شكل ٦» الهدبيات الأخرى الشائعة في التربة والمياه العذبة .

أوليات التربة والبكتيريا :

أشرنا فيما سبق إلى أن *Russell* , *Hutchinson* هما أول المشيرين بطريقة عملية إلى إيضاح أثر الأوليات على بكتيريا التآزت في التربة ، وبالتالي على خصوبتها ، وذلك بعمل التجارب التي تؤدي إلى إجراء تعقيم جزئي للتربة يقضي على الأوليات دون أن يقتل بكتيريا التآزت *Nitrifying Bacteria* فيها ، وبهذا تتخلص البكتيريا من عدو حيوي لها فتتشاط وتتكاثر ، ويزيد بذلك تثبيت الأزوت في التربة ، وبالتالي تزيد خصوبتها .

ولقد ثبت أن كثيراً من أنواع الشعاعيات والسوطيات تتغذى على البكتيريا ، وأن الهدبيات فيها ما يتغذى على البكتيريا ، ومنها ما يمكنه أن يستغنى عن وجودها مثل أنواع جنس *Colpoda* الذي يمكنه أن

يعيش نشيطاً في المواد العضوية المنحلة بالتربة، على أن كثيراً من أنواع الأوليات يتخصص في التغذية على أنواع خاصة من البكتيريا وخاصة البكتيريا السالبة بالنسبة لصبغة جرام *gram-negative Bacteria* وتوجد في التربة بكتيريا لا تستخدم غذاء الأوليات، وهي فوق ذلك تفرز مواد سامة للأوليات التي توجد في محيطها وقد تتغير قابلية الأوليات لتفضيل نوع خاص من البكتيريا بتغير الظروف البيئية.

ويعتقد بعض العلماء أن للأوليات دورها المهم في انحلال المواد العضوية بالتربة، فهي فوق كونها تتغذى على أنواع خاصة من البكتيريا فإن لها القدرة على هضم مواد عضوية أخرى، كما أن من الأوليات ما يترمم فيتغذى بالامتصاص على مواد عضوية، كما هو الحال في سوطيات التربة.

وقد أجريت تجارب على مبلغ تأثير وجود بعض أوليات التربة في تثبيت الآزوت بواسطة بكتيريا تثبيت الآزوت الجوى *Azotobacter* واستخدمت لذلك أنواع من الأوليات من جنس *Colpidium* عملت لها مزارع صناعية، ووجد أن الأوليات المشار إليها كانت سبباً في زيادة كمية الآزوت المثبتة بواسطة هذه البكتيريا، وفسر ذلك بأن تغذية الأوليات على الآزوتوبكتيرية نمت هذه البكتيريا وجعلها تحافظ على كفايتها في تثبيت الآزوت مدة أطول، بعكس مزارع البكتيريا النقية التي غابت فيها الأوليات.

ويستنتج مما سبق أن الأوليات وإن كانت تقلل من عدد البكتيريا في التربة بتغذيتها عليها إلا أن الدليل على أن للأوليات تأثيراً خطراً على نشاط الكائنات الحية الدقيقة وعلى عمليات التربة عموماً لا يزال يحتاج إلى أبحاث تثبته أو تنفيه.

أوليات التربة والفطريات :

لوحظ حديثاً أن هناك أنواعاً من الفطر تفرس أنواعاً من الأوليات،

وتنتمى أنواع الفطر هذه إلى مجموعتين رئيسيتين هما : مجموعة *Phycomycetes* ، ومجموعة *Hyphomycetes* وتنتمى أغلب الفطريات المفترسة للأوليات إلى المجموعة الأولى، ونظراً لخواصها المميزة في التغذية فإنها أوضع في رتبة مستقلة بها تعرف باسم *Zoopagales* ويكون الاقتباس بطرق منها :

(١) بواسطة هيفات داخلية مثل أنواع فطر *Cochlonema* *Endocochlus* ، *Aplectosoma* (شكل ٧) وهذه إذا لصقت أحد جراثيمها بالحيوان الأولى أو إذا ابتلعها فإنها تنمو داخله وتقضى عليه .

(٢) بواسطة هيفات تعمل عمل المصايد كأنواع فطر *Dactylella* *passalopaga* الذى يصطاد الأوليات بالالتصاق ، وكذلك الفطر *Pediliospora dactylopaga* الذى تخرج منه بروزات لاصقة تصطاد الأوليات .

(٣) بواسطة هيفات خارجية ، فالفطر المنتمى إلى جنس *Stylopage* و *Acaulopage* sp. يستخدم بعض الأميبات بعد أن يصل إليها كمائل ، ثم بعد ذلك ينشر هيفاته في جسم عائله ويمتصه كما في (شكل ٨) في مزارع الأصص تفترس الفطريات أعداداً كبيرة من الأميبات ، ولو قدر للفطر أن يعمل بمثل هذه القوة تحت الظروف الطبيعية في الحقل لأمكن الاستفادة بهذه الظاهرة استفادة عظيمة من حيث المقاومة .

الأوليات في التربة المصرية :

ظهر من التجارب التى أجريت في سنة ١٩٢٤ بواسطة مستر ماكنزى تيلور ومستر شاملى بيرنز وكذلك ظهور من المزارع التى تعمل بين آن وآخر للدراسة العادية أن أرض الجزيرة الزراعية تحتوى على الأوليات الآتية :

(١) السوطيات *Flagellates* . ويوجد منها اليوجلينيا الخضراء .

Euglena viridis *Monas guttula*, *Bobocaudatus*,

(شكل ١) *Bobo Ovatus*.

Prorobon ovum (٢) الهدبيات *Ciliates* : ويوجد منها

Colpoda *calculus* *Caldium* *colpoda*, *Chilodon* *Oxytricha*, *Vorticella*, *paramoecium* وسوطيات تتبع الاجناس

(شكل ٦، ٥، ٤) *Euplotes* *Pleurenema* *Stylonychia*

(٣) الشعاعيات *Rhizopoda* : وتوجد منها أميبات تتبع الاجناس

Actinosphaerium *Amoeba* *radiosa*, *Dactylosphaeria*

(شكل ٣، ٢)

وتوجد مثل هذه الأنواع أيضا في مياه النيل وفي الترع الرئيسية، وكذلك في الترع والقنوات الصغيرة التي تمتد الحقول بالمياه مباشرة.

والأوليات السابقة توجد على صورتين الخضرية والمتحولة في الأراضي الزراعية، وأهم عامل في تحوصل الأوليات في التربة المصرية هو عامل الجفاف والحرارة - الشراقي، فقد وجد بالتجارب أن الأوليات كانت جميعها متحولة إبان فترة الشراقي في أرض الجيزة، وتراوح عدد الأوليات السكلى في هذه الفترة (٢٢ يونيو ١٩٢٤ - ١٧ أغسطس ١٩٢٤) بين ٥٦٠٠٠ و ٦٥٠٠٠ للجرام الواحد، والهدبيات بين ١٠٠٠ و ٥٠٠٠ للجرام الواحد، والشعاعيات بين ٧٥٠٠ و ١٠٠٠٠ للجرام الواحد والسوطيات حوالى ٥٠٠٠٠ للجرام الواحد، وتبين من الفحص الذي أجرى بعد إطفاء الشراقي وجود زيادة ملحوظة في السوطيات والشعاعيات، ويفهم من ذلك أن فترة الجفاف والحرارة التي تمر بها التربة بالجيزة لا تقتل الأوليات كلية، وإنما تدخلها في طور تحوصل، لأنه إذا كانت أقصى درجة للحرارة يصل إليها سطح التربة - وليس داخل التربة نفسها - هي ٦٨° م كما بين Sutton (١٩٤٦) فإن التجارب دلت على أن الأوليات المتحولة

في التربة لا تموت إلا عند درجة ٨٠° م للشعاعيات والسوطيات ، وعند درجة ٧٣° للهديات تقريباً .

وقد وجد أن الوقت اللازم لنقل الحيوان الأولى من حالة التحوصل إلى الحالة النشيطة تتوقف على نوع الوسط ، وتكون في المتوسط بين ٤ و٦ أيام للهديات ، وبين ١٤ و٢٠ يوماً للشعاعيات .

وقد وجد بالتجارب أن درجة الحرارة التي تموت عندها البرنوزوا في الأوساط السائلة تكون كما في الجدول الآتي :

النوع	درجة الحرارة التي تموت عندها الأوليات	
	الحالة النشيطة	الحالة المتحصلة
الهديات	٥٤° مئوية	٧٢° مئوية
الشعاعيات	٤٨	٧٢
السوطيات	٤٤	٧٢-٧٠

مزارع الأوليات :

تعمل المزارع لفحص وتقدير الأوليات ، وأفضل الطرق لدراسة الأوليات والتعرف عليها هو فحصها فحصاً مؤقتاً وهي حية ، فتؤخذ نقطة على شريحة ، يحسن أن تكون بجوفة وتعلق النقطة على غطاء الشريحة ، ويمنع التبخير في التحضير المؤقت بإحاطة غطاء الشريحة بالفازلين ، كما يمكن تعويق حركة الحيوان إذا كان نشيطاً لا يدركه البصر أثناء الفحص باستخدام الجيلاتين أو شعر القطن .

المزارع المختلطة Mixed cultures : تعمل للدراسة العامة بسهولة بواسطة مغلي القش أو الدريس أو القمح ، أو الأرز ، ثم تحقن بواسطة التربة ، أو المياه العذبة إذا رغب في فحص ماتحتويه من أوليات ، والمزارع الناجحة هي التي يحال بينها وبين وجود عديدات الخلايا فيها التي تتغذى

على الأوليات ، وكذلك التي تنظم فيها عوامل الضوء والحرارة والغذاء ، ودرجة تركيز أيون الايدروجين إلى الحد المناسب .

وفي المزارع المختلطة يلاحظ عادة أن أنواع الأوليات المختلطة لا تتكاثر أو تظهر دفعة واحدة أو في آن واحد ، ولكنها تتتابع في الظهور ، ففي مزرعة مغلي الدريس مثلاً تظهر أولاً السوطيات ثم الهدديات ، وبعد ذلك الشعاعيات ، وحالة التوازن في المزارع المختلطة قد لا تحدث ، ويعزى توقف نوع عن التكاثر وسيادة نوع آخر عليه إلى تراكم المواد الإخراجية للنوع الأول في المزرعة بحيث تصبح وسطاً غير مناسب لنشاطه ، وكذلك لأن ازدهار نوع من الأوليات قد يخلق ظروفاً حسناً لنمو نوع آخر وتكاثره بدوره . وفيما يلي طرق تحضير مزرعة مختلطة للأوليات للدراسة العامة :

(١) تؤخذ ١٠ جيم من القش أو الدريس وتجزأ إلى قطع صغيرة ، ثم تغلى في لتر من الماء المقطر يوضح بدورق أو كأس مناسب مدة تقرب من الساعة ، ثم يرشح مغلي القش ويجعل المرشح أميل قليلاً إلى القلوية ، وذلك بإضافة بضع نقط من الصودا الكاوية حتى يتلون عباد الشمس بالزرقه الخفيفة ثم يعقم المحلول بعد ذلك بالحرارة ، وبعد أن يبرد يقسم على عدد مناسب من أطباق بترى Petri dishes معقمة ثم يوضع في كل طبق ما لا يزيد على نصف جرام من تربة زراعية رطبة ، وتترك الأطباق على منضدة المعمل أو توضع في فرن على درجة ٣١ - ٢٢° م. ، وتفحص المزرعة عدة قرات متقاربة وتسجل المشاهدات أولاً بأول .

(٢) تغلى بضع حبات من القمح في كمية مناسبة من الماء المقطر أو ماء البركة الصافي ٤ حبات قمح لكل ١٠٠ سم^٣ ثم يعامل المحلول كما سبق .

(٣) واقد أشار Singh (١٩٤٦) إلى طرق عمل مزارع لأوليات التربة التي تتغذى على البكتيريا ، وأشار إلى مراعاة عاملين مهمين في مثل هذه المزارع :

(١) وجوب استعمال وسط لا يشجع نمو بكتيريا التربة ، وكذلك الكائنات الأخرى من غير الأوليات التي توجد مع الجزء المحقون من التربة soil inoculum

(ب) إضافة نوع أو أنواع من البكتيريا التي يمكن أن تستخدم كغذاء للأوليات ، ويمكن التغلب على الصعوبة الأولى باستخدام آجار غير مغذ non-nutrient agar أو هلام السيليكا silica jelley كما يمكن التغلب على الصعوبة الثانية بمعرفة أنواع البكتيريا التي يمكن أن تتغذى عليها الأوليات بعمل التجارب اللازمة ، وقد وجد Singh أن معظم أنواع البكتيريا السالبة لصبغة جرام Gram-negative bacteria يمكن أن تستخدم كغذاء لأغلب أوليات التربة ، وإليك طريقة لعمل مثل هذه المزرعة :

يصب ١٠ - ١٥ سم^٢ من آجار غير مغذ (١ - ١ ١/٢) / آجار في ١/٢ ص كل - PH ٦,٥ - ٧) في طبق بترى ، ويفضل أن يغسل الآجار قبل استخدامه بمدة تتراوح بين ٣ و٥ أيام بماء مقطر بحيث يغير الماء مرتين أو ثلاثاً يومياً ، فإن ذلك يساعد على التقليل من نمو الكائنات الدقيقة التي توجد في التربة ، وتضاف البكتيريا المغذية إلى الآجار ، ويحسن أن يكون ذلك في صورة حلقات ذات قطر مقداره بوصة تعمل فيها ثلاث أو أربع حلقات في الطبقة الواحد ، وتوضع كمية بسيطة من التربة المراد اختيارها في كل حلقة ثم توضع في فرن على درجة ٢١ - ٢٢ م° لمدة أسبوع أو أكثر وتندى التربة بماء معقم أو بمحلول ملح فسيولوجي ٠,٥٪ لأن هذا يساعد على نمو السوطيات والهدبيات التي تتطلب رطوبة تعوم فيها ، وتختبر الحلقات بواسطة المجهر أو بواسطة عدسة زينية بعد وضع غطاء شريحة على الآجار ، ويمكن عزل الأوليات للعمل مزارع نقية لها بواسطة استخدام ماصات دقيقة micro-pipettes

(٤) يمكن استخدام آجار مستخلص التربة soil-extract agra

لعمل مزرعة للأوليات خصوصاً السوطيات كالآتي :

٢٠٠ جم
٥٠٠ سم

تربة خصبة

ماء مقطر

ويترك المزيج ليغلي بهدوء مدة ساعة ، ثم يرشح ، ثم يكمل المترشح إلى ٥٠٠ سم^٣ ، ويعمل آجار مستخلص التربة بإضافة آجار ١,٥ ٪ والتعقيم تحت ضغط ١٥ رطلا لمدة ١٥ - ٢٠ دقيقة .

ويمكن عمل آجار منقوع القش hay-infusion agar كالآتي :

قش مجزأ ٥٠ جم { يغلي ويرشح ويعامل كما سبق
ماء مقطر لتر

فيصب آجار مستخلص التربة أو منقوع القش في أطباق بترى ثم تضاف أجزاء من التربة إلى سطح الآجار ثم تندى بمحلول ملح فسيولوجى ٠,٥ ٪ . وتوضع الأطباق في فرن على درجة ٢١ - ٢٢ لمدة ٣ - ٤ أسابيع وتفحص مجهرياً خلالها على فترات بأخذ عينات من مختلف مناطق الأطباق .

طريقة تقدير أعداد الأوليات في التربة

Method of estimating the numbers of soil Protozoa
في التربة العادية يتكون مهما أن نقدر ما بها من أعداد الأوليات وأنواعها قبل محاولة فهم الدور الذى تلعبه هذه الأوليات في التربة ، ويمكن الوصول إلى ذلك بطريقتين :

(١) الاختبار المجهرى المباشر لمعلق التربة . وفي هذه الطريقة تؤخذ نقطة من معلق التربة وتفحص مجهرياً ، إلا أن هذه الطريقة لا تعطى صورة حقيقية لإعداد الأوليات في التربة ، نظراً لصغر الأوليات التى يمكن أن يخطئها النظر ، وكذلك لصعوبة تخليص الحيوانات من حبيبات التربة التى تعلق بها .

(٢) طريقة التخفيف كالمئبوع فى البكتريا ، إذ يعمل معلق لعينة التربة ثم تعمل منه تخفيفات متعاقبة ، ثم يؤخذ حجم معين ومتناسق من كل

تخفيف ليضاف إلى أوساط مغذية ، ثم تقدر أعداد الأوليات من غياب أو وجود نمو للحيوانات الأولية عند التخفيفات المختلفة ، ولقد اتبعت في هذا الصدد طريقتان :

(أ) طريقة المزرعة السائلة Liquid. culture method :
وتعمل تخفيفات متتالية ، كما سنوضحه بعد ، فيؤخذ ١ سم^٣ من كل من التخفيفات النهائية لعينة التربة لتضاف إلى مزرعة معقمة ، كما سبق وصفه ، ثم تقدر الأوليات في هذه المزارع مفترضين أنها كانت موزعة بنظام تام ، وأن كل فرد منها كان موجوداً فقط في التخفيف النهائي الذي حصل فيه النمو .

(ب) طريقة التربة على آجار في طبق Agar plate method وضع Cutler وزملاؤه (١٩٢٢) ١ سم^٣ من التخفيفات المناسبة لمعلق التربة (التخفيفات) $\frac{1}{25}$ إلى $\frac{1}{204800}$ أو أكثر في آجار مغذ ، بطبق بترى ثم وضع الأطباق في فرن لمدة ١-٣ أسابيع على درجة حرارة مناسبة ؛ ثم قدر عدد الأوليات لكل جرام تربة ، وذلك بعد الأطباق التي يغيب فيها نمو الأوليات في كل تخفيف حسب طرق إحصائية ، ولكن وجدت صعوبات عند استخدام هذه الطريقة ، لأن زيادة المكررات لكل تخفيف تستدعي زيادة عدد الأطباق ، وتستدعي بالتالي صعوبة الفحص كما أنه يلزم فحص سطح الطبق جميعه للتأكد من وجود أو غياب الحيوانات .

وأفضل الطرق لعد الأوليات هي الطريقة التي توصل إليها Singh (١٩٤٦) وتعرف بطريقة الحلقات Ring method وسنوضحها تفصيلاً فيما يلي :
(١) أخذ العينة من الحقل : تؤخذ ١٢ عينة بعمق ٦ بوصات في التربة ثم تخلط جيداً لتكوين عينة شاملة ثم تنخل في منخل سعة ثقبه ٣ مم .

(٢) تجهيز التخفيفات المتتالية : تعمل التخفيفات من عينة التربة الشاملة كالآتي (شكل ٩) : يؤخذ من العينة ١٠ جم تضاف إلى ٥٠ سم^٣ من محلول ملح فسيولوجي ٥٠٠ / و ترج جيداً لمدة ٤-٥ دقائق ، وهذا يعطينا التخفيف ١-٥ (الأنبوبة ١) ومن هذا المعلق تعمل تخفيفات مزدوجة متتالية (اوب) تبدأ بتخفيف ١ : ١٠ حتى تخفيف ١ : ٨١٩٢٠٠ ويعمل كل تخفيف بإضافة ٥ سم^٣ من التخفيف السابق إلى ٥ سم^٣ من محلول ملحي معقم لتكوين التخفيف اللاحق في أنبوبة اختبار ؛ وهكذا (عادة يعمل ١٥ تخفيفاً) .

(٣) إعداد الأطباق : تنظم ثمانى حلقات (ا ، حتى ا١٠ ، ب ، حتى ب١٥) في كل طبق من أطباق بترى (تستخدم حلقات زجاجية قطر كل منها ٢ سم من الداخل وارتفاعها ١ سم وسمكها ١-٢ مم ويؤخذ العدد المناسب من هذه الأطباق وتوضع بها الحلقات وتعقم ، ثم يصب في كل طبق حوالي ١٥ سم^٣ من الآجار . وينظم وتوضع الحلقات الثمانى في كل طبق قبل تجمد الآجار بحيث تصبح الحلقات متساوية في أبعادها بعضها عن بعض تقريباً . ويعمل معلق سميك من نوع أو أكثر من البكتيريا التي يمكن أن تتغذى عليها الأوليات ، ثم توضع طبقة من هذا المعلق البكتيرى داخل كل حلقة بشكل دائرى (تؤخذ البكتيريا من مزارع مائلة Slope cultures عمرها بين ٢ و٧ أيام وتربى عادة على آجار بيتوني) وبهذا تصبح الأطباق معدة للحقن بمعلق التربة .

(٤) الحقن : تحقن كل حلقة في كل طبق بواسطة ٠.٥ سم^٣ على أن يتم حقن الثمانى حلقات الموجودة في الطبق الواحد بتخفيف واحد (شكل ١٠)

ويلاحظ أنه عند عمل التخفيفات المختلفة يلزم استعمال ماصة منفردة

لكل تخفيف ، أما في عملية الحقن فيمكن إضافة المقداره ٠.٥ سم^٣ باستخدام ماصة واحدة على شرط أن نبدأ بعملية الحقن من أوطى تخفيف ثم يليه الأعلى منه في الدرجة وهكذا .

(٥) بعد عملية الحقن من التخفيفات المختلفة (١٥ تخفيفاً) توضع الأطباق في فرن على درجة ٢١-٣٢° م ، وتختبر الأطباق بعد ٦-٧ أيام ، ويلزم ألا ينعكس وضعها أثناء هذه المدة ، وتفحص أسطح الحلقات بعد هذه المدة بالقوة الصغرى للمجهر للملاحظة غياب الأوليات أو وجودها في كل حلقة . ويمكن بواسطة هذا الفحص معرفة المجموعة التي تنتمي إليها الحيوانات في كل حلقة . وإذا كان المرغوب تقدير نوع الحيوان الأولى تفحص كل حلقة وتقيد الأنواع الموجودة بها والحلقات التي تغيب فيها هذه الأنواع ، ويستدعى ذلك استخدام العدسة القوية للمجهر . ويعمل اختبار ثان بعد ١٥ يوماً ، ويمكن في الاختبار الثاني عكس وضع الأطباق إذا كان ذلك مما يسهل عملية الفحص (لهذا تكون طبقة الآجار قليلة السمك ما أمكن) .

وإذا جف سطح الآجار في الحلقات أمكنت تنديته بمحلول ملح فسيولوجي معقم ، لأن وجود الرطوبة يساعد كثيراً على نمو الأوليات وعلى الأخص السوطيات والمهدبيات .

(٦) تقدير الأوليات : يقدر عدد الأوليات لكل جرام من التربة بعد الحلقات السالبة والموجبة من حيث غياب أو وجود النوات للحيوانات وذلك باستخدام الجدول الآتي (شكل ١٠) :

ولاستخدام هذا الجدول يلزم أن يعمل ١٥ تخفيفاً مزدوجاً تبدأ بتخفيف ١ : ٥ وتنتهى بتخفيف ١ : ٨١٩٢٠ وتكون مكررات كل تخفيف ثمانى حلقات ، ويكون الجزء المحقون في كل حلقة ٠.٥ سم^٣ وإذا استعملت مكررات أخرى (س مكرر مثلاً) وجب أن يضرب عدد المكررات في $\frac{٨}{س}$ قبل استخدام الجدول الآتي :

الجدول

عدد الاوليات	عدد الحلقات السالبة	عدد الاوليات	عدد الحلقات السالبة
٨٤٢٠٠	٣٢	١٦٩٠٠٠٠	٤
٧٧١٠٠	٣٣	١٤٣٠٠٠٠	٥
٧٠٥٠٠	٣٤	١٢٣٠٠٠٠	٦
٦٤٥٠٠	٣٥	١٠٦٠٠٠٠	٧
٥٤٠٠٠	٣٦	٩٣١٠٠٠	٨
٥٩٠٠٠	٣٧	٨٢٤٠٠٠	٩
٤٩٤٠٠	٣٨	٧٢٩٠٠٠	١٠
٤٥٢٠٠	٣٩	٦٥٠٠٠٠	١١
٤١٤٠٠	٤٠	٥٨١٠٠٠	١٢
٣٧٩٠٠	٤١	٥٢٠٠٠٠	١٣
٣٤٧٠٠	٤٢	٤٦٧٠٠٠	١٤
٣١٨٠٠	٤٣	٤٢١٠٠٠	١٥
٢٩٢٠٠	٤٤	٣٨٠٠٠٠	١٦
٢٦٧٠٠	٤٥	٣٤٤٠٠٠	١٧
٢٤٥٠٠	٤٦	٣١١٠٠٠	١٨
٢٢٤٠٠	٤٧	٢٨٢٠٠٠	١٩
٢٠٥٠٠	٤٨	٢٥٦٠٠٠	٢٠
١٨٨٠٠	٤٩	٢٣٢٠٠٠	٢١
١٧٣٠٠	٥٠	٢١١٠٠٠	٢٢
١٥٨٠٠	٥١	١٩٢٠٠٠	٢٣
١٤٤٠٠	٥٢	١٧٥٠٠٠	٢٤
١٣٣٠٠	٥٣	١٥٩٠٠٠	٢٥
١٢٢٠٠	٥٤	١٤٥٠٠٠	٢٦
١١١٠٠	٥٥	١٢٢٠٠٠	٢٧
١٠٢٠٠	٥٦	١٢١٠٠٠	٢٨
٩٣٨٠	٥٧	١١٠٠٠٠	٢٩
٨٥٧٠	٥٨	١٠١٠٠٠	٣٠
٧٨٦٠	٥٩	٩٢٠٠٠	٣١

عدد الاوليات	عدد الحلقات السالبة	عدد الاوليات	عدد الحلقات السالبة
٦٣٥	٨٨	٧٢١٠	٦٠
٥٨٢	٨٩	٦٦٠٠	٦١
٥٣٤	٩٠	٦٠٤٠	٦٢
٤٩٠	٩١	٥٥٤٠	٦٣
٤٥٠	٩٢	٥٠٨٠	٦٤
٤١٢	٩٣	٤٦٧٠	٦٥
٣٧٧	٩٤	٤٢٨٠	٦٦
٣٤٦	٩٥	٣٩٢٠	٦٧
٣١٧	٩٦	٣٦٠٠	٦٨
٢٩٠	٩٧	٣٣٠٠	٦٩
٢٦٥	٩٨	٣٠٢٠	٧٠
٢٤٣	٩٩	٢٧٧٠	٧١
٢٢٣	١٠٠	٢٥٤٠	٧٢
٢٠٣	١٠١	٢٣٣٠	٧٣
١٨٥	١٠٢	٢١٤٠	٧٤
١٦٩	١٠٣	١٩٦٠	٧٥
١٥٤	١٠٤	١٨٠٠	٧٦
١٤٠	١٠٥	١٦٥٠	٧٧
١٢٦	١٠٦	١٥١٠	٧٨
١١٣	١٠٧	١٣٩٠	٧٩
١٠١	١٠٨	١٢٧٠	٨٠
٩٠,٢	١٠٩	١١٧٠	٨١
٤٩,٤	١١٠	١٠٧٠	٨٢
٦٩,٥	١١١	٩٧٩	٨٣
٦٠,٢	١١٢	٨٩٨	٨٤
٥١,٣	١١٣	٨٢٣	٨٥
٤٢,٩	١١٤	٧٥٥	٨٦
٣٤,٨	١١٥	٦٩٣	٨٧
٢٧,٤	١١٦		

وفيا يلي مثال لهذا التقدير على عينة من تربة روتامستد بواسطة cutler :

التخفيف		الشعاعيات		السوطيات		الهدييات	
		-	+	-	+	-	+
٥,١		٠	٨	٠	٨	٠	٨
١٠,١		٠	٨	٠	٨	٠	٨
٢٠,١		٠	٨	٠	٨	٠	٨
٤٠,١		٠	٨	٠	٨	٠	٨
٨٠,١		٠	٨	٠	٨	٠	٨
١٦٠,١		٠	٨	٠	٨	٠	٨
٣٢٠,١		٠	٨	٠	٨	٠	٨
٦٤٠,١		١	٧	٠	٨	٠	٨
١٢٨٠,١		٣	٥	٢	٦	٠	٨
٢٥٦٠,١		٠	٨	٠	٨	٠	٨
٥١٢٠,١		٦	٢	٤	٤	٠	٨
١٠٢٤٠,١		٧	١	٦	٢	٠	٨
٢٠٤٨٠,١		٨	٠	٧	١	٠	٨
٤٠٩٦٠,١		٨	٠	٨	٠	٠	٨
٨١٩٢٠,١		٧	١	٧	١	٠	٨
المجموع		٤٠	٨٠	٣٤	٨٦	٩٤	٢٦
المزارع الموجبة		٨٠		٨٦		٢٦	
المزارع السالبة		٤٠		٣٤		٩٤	
العدد لكل جرام تربة من الجدول		٤١٤٠٠		٧٠٥٠٠		٣٧٧	

وحين نجرى تجارب مزدوجة يكون الخلاف بينهما مؤكداً إذا زاد العدد الناتج في التخفيفات المثالية المتشابهة للأولى عن :

$$ت \pm ١٩٦ \sqrt{م + م}$$

حيث ت = عدد المزارع السالبة

م = عدد المكررات في التخفيفات المتعاقبة الأولى

م = عدد المكررات في التخفيفات المتعاقبة الثانية .

ففي المثال السابق يكون الخلاف مؤكداً في حالة الشـعاعيات إذا زاد عدد المزارع السالبة في التخفيفات الثانية عن $40 + 1,96 \sqrt{8+8}$

$$40 + 1,96 \times 4 =$$

$$40 + 7,84 =$$

أو بمعنى آخر إذا كان الفرق بين التخفيفات المزدوجة يزيد على ٨ تقريباً وفي حالة التخفيفات غير المزدوجة يمكن استنتاج أكبر وأقل عدد ممكن وجوده من أى مجموعة من الحيوانات من المعادلات $40 + 1,96 \sqrt{8}$

تقدير الأوليات النشيطة والمتحوصلة في التربة كل على حدة :

الطريقة السابقة تعطينا تقديراً شاملاً لأوليات التربة جميعها من خضرية ومتحوصلة ، أما إذا أريد تقدير الأوليات الخضرية والمتحوصلة كل على حدة فنقدر الحوصلات وحدها بالطريقة الآتية ثم نطرح تقديرها من التقدير العام لنحصل على تقديرات الأوليات النشيطة وحدها .

ويمكن تقدير حوصلات الأوليات في التربة على انفراد بقتل الأوليات النشيطة مع المحافظة في نفس الوقت على حيوية الحوصلات ، ونلجأ في ذلك إلى طريقتين :

١ - طريقة قتل الأوليات النشيطة بالحرارة ، فقد وجد أن رفع درجة حرارة المعلق إلى ٥٨ - ٧٠ م° يقضى على الأوليات النشيطة دون الحوصلات ، غير أنه اتضح بالتجربة لبعض الباحثين أن كمية كبيرة من الحوصلات تؤذى بهذه المعاملة .

٢ - أفضل طريقة هي معاملة التربة بحامض الكلوريدريك ٢٪ عدة ساعات (٢٤ ساعة عادة) فقد وجد أن هذه المعاملة تقضى على الأوليات النشيطة ولا تؤذى الحوصلات .

تؤخذ ١٠ جم تربة وتقدر فيها الأوليات عموماً بطريقة الحلقات كما سبق ، ثم تؤخذ عينة أخرى مقدارها ١٠ جم تربة وتعامل بواسطة حامض كلوريدريك ٢٪ « ٤٠ - ٥٠ سم^٢ » وتقدر كمية الكربونات في التربة ثم تضاف كمية الحامض المناسبة بعد إزالة أكثر الحامض ، ويضاف محلول ملحي ٥٠٠ ٪ لعمل محلول مخفف ١ : ٥ كما سبق ، ومنه تعمل التخفيفات اللازمة .

التقدير العام للأوليات - تقدير الحوصلات على انفراد = الأوليات النشيطة فقط .

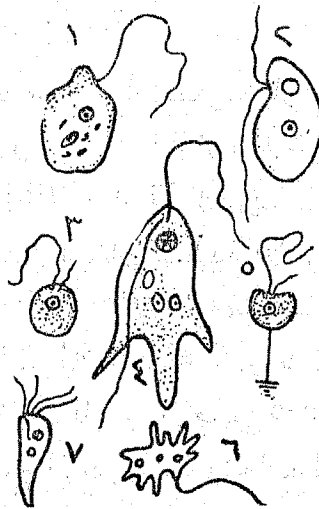
أوليات التربة كآفات زراعية :

تمضى بعض الآفات من الأوليات بعض أطوارها في التربة *Geophiles* بينما تتطفل على جذور النبات في أطوارها الأخرى ، ومثال ذلك الطفيل *Plasmodiophora brassica* الذى يسبب مرض تدرن أو تصولج جذور الكرنب وبعض النباتات الصليبية الأخرى *Club root of cabbage and other crucifers* ، فيسبب أوراما للمجموع الجذرى أو يجعله على هيئة الصولجان *Clubbin* أو بشكل الأصابع ، ويعرف المرض في هذه الحالة باسم المرض الأصبعى *Finger & toe disease* ومنذ عام ١٨٧٢ أصبح المرض عالمياً وأعطيت له أهمية خاصة في الممالك المختلفة .

وهناك طفيل آخر أولى آخر يعرف باسم *Sporangospora subterranea* يسبب مرض الجرب المسحوق في البطاطس *Powdery scab of potatoes* فيصيب الجذور والسوق مكوناً ثآليل صغيرة الحجم ، كما يصاب الدرناات مكوناً بثرات صغيرة مستديرة ، وهو ينتشر بشدة في الأماكن الرديئة الصرف ، وتعيش بعض أطوار هذا الطفيل بالتربة ، ومن هذه الأطوار تعدى النباتات السليمة .

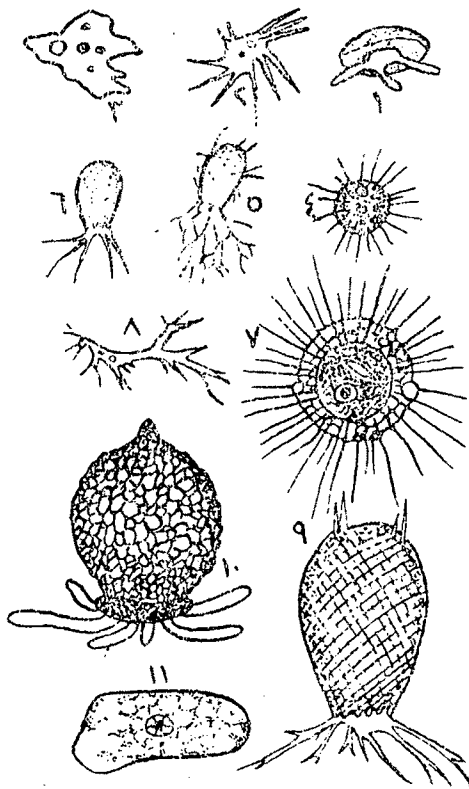
وينتمى هذان الطفيليان إلى رتبة Mycetozoa ويعتبر بعض العلماء أن الحيوانات التي تشملها هذه المجموعة من الأوليات هي أقرب إلى الفطريات منها إلى الحيوانات، ويطلقون عليها بمجموعة فطريات Myxomycetes بالنسبة لخاصية التجزئ التي تمر بها أمثال هذه الكائنات في تاريخ حياتها. غير أن الأشكال السوطية والاميبيية التي تمر بها أمثال هذه الحيوانات تجيز وصفها ضمن الأوليات التي تحت الرتبة السابقة، كما يشير إلى ذلك علماء آخرون. وسوف نتكلم عن أمراض الأوليات بالتفصيل في مناسبة أخرى.

(الأشكال)



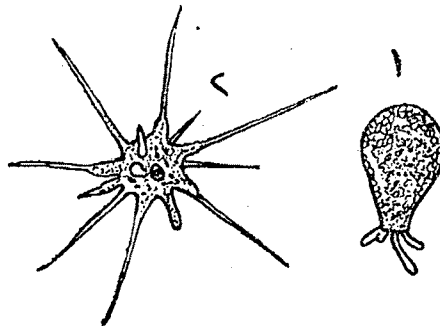
(شكل ١) بعض السوطيات الشائعة في التربة (أو المياه العذبة)

Bodo sp.	— ٢ —	Oikomonas termo	— ١ —
Cercomonas crassicauda	— ٤ —	Monas guttula	— ٣ —
Mastigamoeba	— ٦ —	Monas socialis	— ٥ —
		Tetramita	— ٧ —



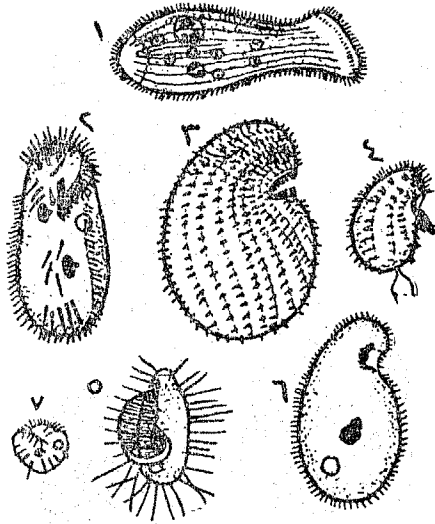
(شكل ٢) بعض الشعاعيات الشائعة في التربة (أو المياه العذبة)

Nuclearia	— ٢	Arcella sp.	— ١
Actinophrys	— ٤	Amoeba ps	— ٣
Euglypha	— ٦	Allogromia	— ٥
Biomyxa	— ٨	Actinosphaerium	— ٧
Diffugia urceolata	— ١٠	Euglypha alveolata	— ٩
		Naegleria	— ١٢



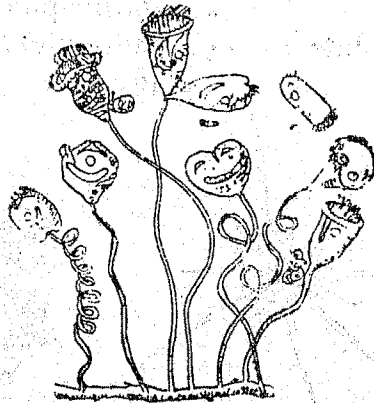
(شكل ٣) بعض الشعاعيات الشائعة في التربة (أو المياه العذبة)

Amoeba radiosa	— ٢	Nebela collaris	— ١
----------------	-----	-----------------	-----

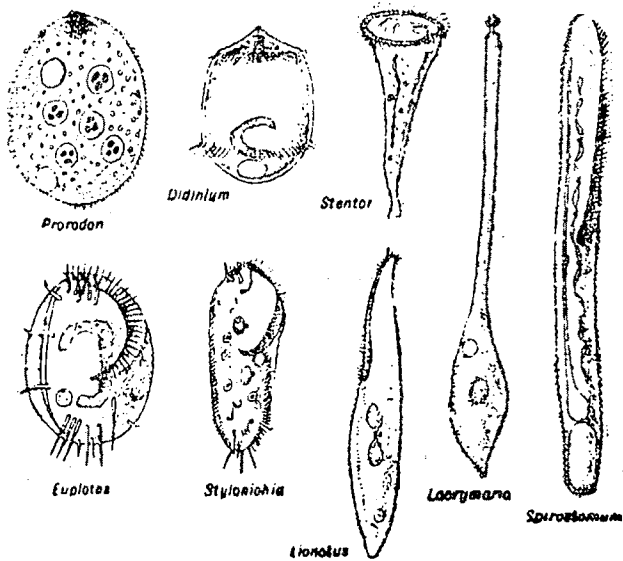


(شكل ٤) بعض الهدييات الموجودة في التربة (أو المياه العذبة)

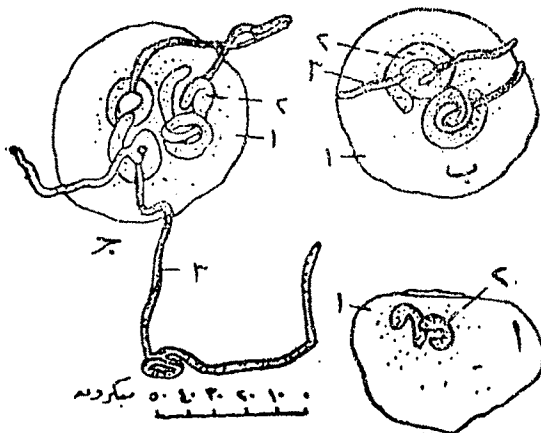
- | | | | |
|------------------|-----|----------------------|-----|
| Oxytricha fallax | — ٢ | Spathidium spathula | — ١ |
| Colpodo steini | — ٤ | Colpoda caeculus | — ٣ |
| Colpidium sp. | — ٦ | Pleuronema setigerum | — ٥ |
| | | Halteria | — ٧ |



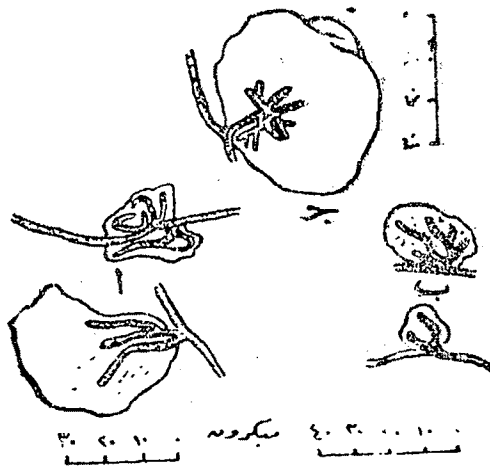
(شكل ٥) Vorticella sp.



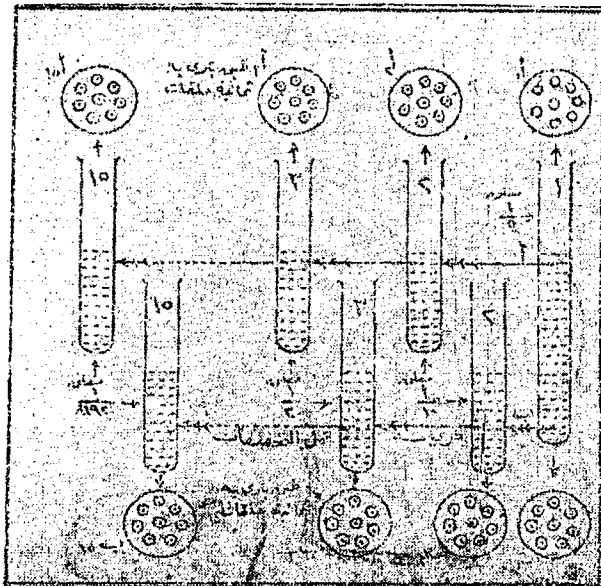
(شكل ٦) بعض الهديبات الشائعة في التربة والمياه العذبة (عن Storer)



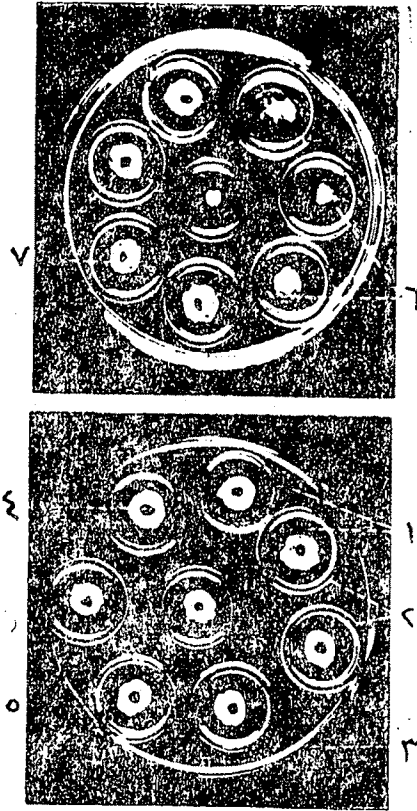
(شبنك ٧) الفعار *cochlonema* sp. الطفيل على الأيضا (عن Peach)
(١) المائل (٢) الطفيل (٣) هيئات تناسلية
(١) و (ب) و (هـ) تشير إلى تطور الطفيل داخل المائل.



(شكل ٨) نمو الهيفات الفطرية داخل الحيوان الأولى (عن Peach)
 Acaulopage lophospora (أ) الفطر
 A. dichotoma (ب) الفطر
 Stylopage cephalote (ج) الفطر



(شكل ٩) طريقة تقدير الأويات بالتخفيفات المتتالية وبطريقة الحلقات
 ١، ٢، ٣، ٤، ٥، ٦، ٧، ٨، ٩، ١٠، ١١، ١٢، ١٣، ١٤، ١٥ = التخفيفات المزدوجة المتتالية (أ، ب) كإشارة إليها الأسهم
 ١، ٢، ٣، ٤، ٥، ٦، ٧، ٨، ٩، ١٠، ١١، ١٢، ١٣، ١٤، ١٥ = أطباق بترى الموضوع بشكل منها الثاني
 حلقات (للتخفيف الأول)
 ١، ٢، ٣، ٤، ٥، ٦، ٧، ٨، ٩، ١٠، ١١، ١٢، ١٣، ١٤، ١٥ = أطباق بترى الموضوع بشكل منها الثاني
 حلقات (للتخفيف الثاني)



«شكل ١٠» طبقان من أطباق بترى مستخدمان لتقدير الأوليات بطريقة الحلقات .
الطبق السفلي عند بداية التجربة ، والعلوي بعد نمو الأوليات في مزارعها البكتيرية

١ — آجار غير مغذى ٢ — الحلقات الزجاجية ٣ — طبق بترى

٤ — مكان الحقن بمعلق التربة بمقداره ٥.٥ سم^٣ ٥ — حلقة البكتيريا

٦ — مزرعة موجبة أى بها نمو للأوليات

٧ — مزرعة سالبة أى خالية من الأوليات .