العلاقة بين بعض الصفات النوعية لشتلات التبغ الملقحة بفطر المايكورايزا مع صخر الفوسفات المستعمل كمصدر للسماد الفوسفاتي

نريمان داود سلمان

قسم التربة والمياه – كلية الزراعة – جامعة بغداد

المستخلص

نفذت تجربة حقلية بأستعمال اربعة مستويات من صخر الفوسفات المركز (0 ، 80 ، 160 و 240 كغم فسفور . هـ$^{-1}$)في تسميد شتلات التبغ الملقحة بخليط فطر المايكوريزا *Glomus etunicatum* و *Glomus mosseae* بهدف دراسة العلاقة بين بعض الصفات النوعية واضافة السماد الحيوي عند زراعة بذور التبغ . اوضحت النتائج ان شتلات التبغ الملقحة بفطر المايكورايزا ادت الى زيادة محتوى الكلوروفيل a و b والكلي ونسبة البروتين والسكريات الكلية مقارنة بالنباتات غير الملقحة . حافظت نسبة النيكوتين على القيم المسموح بها والتي تتراوح ما بين 1.68 % -1.77 % في النباتات الملقحة. ان تراكيز الاحماض العضوية في ورقة التبغ الخامسة أظهرت أن قيم حامض الستريك وحامض الماليك متقاربة من بعضها الآ أن حامض الاوكزاليك أزداد معنويا في النباتات الملقحة بفطر المايكورايزا وعد ذلك حالة جيدة في تلطيف الطعم في اوراق التبغ الملقحة بفطر المايكورايزا.

The Iraqi Journal of Agricultural Sciences, 36(3) : 1 - 6, 2005 Salman

THE RELATIONSHIP BETWEEN SOME QUALITY PROPERTIES OF TOBACCO SEEDLING INOCULATED BY MYCORRHIZAL FUNGUS WITH USING ROCK PHOSPHATE AS SOURCE OF PHOSPHATE FERTILIZER

N.D. Salman

Soil Science Department – College of Agric – Univ . of Baghdad

ABSTRACT

A field experiment was conducted by using four levels of rock phosphate(0, 80 , 160 and 240 Kg P. ha^{-1}) in fertility tobacco seedling inoculated with mycorrhizal fungus mixture *Glomus mosseae* and *Glomus etunicatum* to study the relationship between some quality properties and application of fungal biofertilizer of tobacco seed culture. The results reveled that tobacco seedling inoculated with mycorrhizal fungus significantly increased the content of chlorophyll a , b and the total , the percentage of protein and total sugars compared with non mycorrhizal plants. The percentage of nicotine in mycorrhizal tobacco plants had constant value which was around (1.68 % – 1.77 %) . An organic acids concentrations in 5th tobacco leaf had similar value of citric acid and malic acid. However, the concentration of oxalic acid significantly increased in mycorrhizal plants . The using of oxalic acid represent good condition to testy of tobacco leaves which had inoculated with mycorrhizal fungus.

المقدمة

بينت دراسات عديدة فعالية فطر المايكورايزا في زيادة الاستفادة من الصخر الفوسفاتي كمصدر للفسفور (32 و24). إن الإضافة المزدوجة من صخر الفوسفات وفطر المايكورايزا في زراعة بعض المحاصيل القابلة للتشل مثل الطماطة (15) والتبغ (7) واحدة من التقنيات التي تساعد على استعمال صخر الفوسفات كمصدر للأسمدة الفوسفاتية . في دراسة طريقة اضافة فطر المايكورايزا عند زراعة البذور والحصول على شتلات مايكورايزية قد يسهم في تقليل الإصابات المرضية في الشتلات (3).كما لاحظ Shaul واخرون (31) ان وجود المايكورازا مع نباتات التبغ قلل الاصابة بالأمراض الفايروسية وقلت نسبة النيروتين والنيكوتين في الاوراق وزاد من نسبة السكر في الورقة وهي حالة ايجابية من ناحية الجودة للتبوغ . يعد محتوى الاوراق من صيغة الكلوروفيل علامة مميزة على نضارة وصحة الأوراق وخصوصا في المحاصيل الورقية والتبغ منها وتختفي هذه الصيغة في المراحل المبكرة للتصفير ، ويحتوي التبغ على العديد من الأحماض العضوية ولاسيما حامض الماليك والستريك والاوكزاليك، وتوجد هذه

*تاريخ استلام البحث 2004/7/7 ، تاريخ قبول البحث 2004/11/2

الأحماض على شكل أملاح الكالسيوم والمغنيسيوم والبوتاسيوم (17) . توصل Blandez واخرون (14) الى ان تراكيز الأحماض العضوية (الستريك والماليك) كانت متشابهة في الجذور المصابة وغير المصابة ، اما حامض الاوكزاليك فكان اكثر في الجذور المصابة من غير المصابة . ان النقل المبكر لشتلات التبغ يساعد على تحسين نوعية اوراق التبغ(20). أن هدف الدراسة هو 1 – معرفة تأثير السماد الحيوي من فطر المايكورايزا في بعض الصفات النوعية لمحصول التبغ. 2 – إمكانية استعمال صخر الفوسفات كمصدر للسماد الفوسفاتي مع نباتات التبغ الملقحة بفطر المايكورايزا .

المواد وطرائق العمل

نفذت تجربة حقلية في محطة ابحاث الرائد خلال الموسم 2002 . جمعت عينات سطحية (0- 30 سم) من موقع التجربة. وجففت هوائيا ونخلت منخل (2ملم) . وتم تقدير الصفات الكيمائية والفيزيائية للتربة قبل الزراعة حسب الطرائق التي وردت في Page واخرون (27) (جدول ،1) .

جدول1. بعض الصفات الكيميائية والفيزيائية لتربة الدراسة قبل الزراعة

الصفة	الوحدة	القيمة
التوصيل الكهربائي ECe	ديسي سيمنز . م-1	2.6
درجة التفاعل pH		7.5
السعة التبادلية الكاتيونية	سنتي مول . كغم-1	20
النتروجين الكلي	غم.كغم-1	1.2
المادة العضوية		10.1
الكلس النشط		54.7
معادن الكربونات		220
الفسفور الجاهز	ملغم.كغم-1	2.7
الطين	غم.كغم-1	472
الغرين		428
الرمل		100
نسجة التربة	—	طينية غرينية

استعمل تصميم القطاعات الكاملة المعشاة (RCBD) وبثلاثة مكررات . وقد كانت المعاملات هي 1- تلقيح شتلات التبغ بخليط فطر المايكورايزا (etunicatum . G و G.mosseae) ورمز لها (VAM +) وشتلات غير ملقحة رمزلها (VAM -) 2- استعملت اربعة مستويات من الفسفور (0، 80 ، 160 و240) كغم فسفور . هكتار -1 رمز لها (P3 , P2, P1, P0) على التوالي وتضمنت التجربة 24 وحدة تجريبية . اشتملت التجربة على ثلاثة مكررات وكل مكرر قسم الى ثمانية مروز حسب معاملات التجربة طول كل مرز 90 سم والمسافة بين نبات واخر 50 سم ، زرعت بذور التبغ Nicotiana tabacum صنف 77 فرجيني الاصل مستنبط محليا مسجل ومعتمد من قبل منظمة الطاقة الذرية 1995 متأقلم للزراعة في المنطقة الوسطى من العراق (1) في 10/ 2 / 2002 وسقيت الدايات طيلة مدة وجودها بالمشتل للشتلات غير الملقحة اما الشتلات الملقحة (حضر خليط من 4: 1: 1 من رمل : تربة : بتموس مطحون على التوالي ومنخول بمنخل 4 ملم)وعقم بجهاز المؤصدة (121م0 و 1 كغم . سم- 2) لمدة 1.30 ساعة للتخلص من الاحياء الموجودة فيها (23) زرعت بذور التبغ صنف 77 في 16/ 2/ 2002 في اصص سعة 3 كغم ثم سقيت الدايات طيلة بقائها بلمشتل، بعد ذلك نقلت الشتلات الى المكان الدائم في الحقل . زرعت عشر شتلات من التبغ الملقحة وغير الملقحة لكل مروز في المكان الدائم في 10 / 4 / 2002 تمت اضافة صخر الفوسفات المركز حسب المعاملات ثم رقعت النباتات بعد خمسة ايام من الشتل . اضيف سماد اليوريا (46% N) وكبريتات البوتاسيوم (41.5 % K) بمقدار 100 N و 400 K كغم . هكتار -1على التوالي بدفعتين لسماد النتروجين وبمقدار ثابت للمعاملات جميعها على طول خط كل مرز بعد عشرة ايام من الشتل (2) . استمرت عملية الري طيلة مدة بقاء المحصول في الارض حسب حاجة النبات . قرطت المجاميع الزهرية عند اكتمال نمو النباتات قبل تفتحها مع الاستمرار بأزالة السرطانات والنموات الطرفية و نباتات الادغال يدويا مع العزق والتعشيب كلما دعت الحاجة . اجريت عمليات قطف الاوراق عند ظهور علامات النضج على الاوراق ، وجمعت بشكل مجاميع (باقات) ثم نقلت مباشرة الى مكان خاص ، بعد ذلك اجريت عملية التصفير والتجفيف بموجب الطريقة التي وصفها Popov واخرون (28) . تم أخذ عينات اوراق التبغ لكل معاملة ولكل مكرر القطفات المعدة للتحليل الكيميائي والمجففة هوائيا وخلطت جيدا وطحنت وحفظت في قناني زجاجية لحين تقدير الصفات الخاصة بها (8) . تم تقدير النيكوتين

بأستعمال طريقة التقطير البخاري لاستخلاص النيكوتين بحامض (Silico Tungist acid) كما اوردها Griffith (19) وبموجب الطريقة القياسية A.O.A.C (12) رقم الطريقة 3.126 . قدر الرماد بعد حرق العينات الى درجة 600 مه في جهاز Muffle furnace بموجب الطريقة المتبعة من قبل Gaines (17) وتم الاحتساب على اساس الوزن الجاف لاوراق التبغ . قدرت النسبة المئوية للسكريات الكلية حسب طريقة Joslyn (22) ، اذ استعمل جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer وبطول موجي قدره 940 نانوميتر . تم تقدير النسبة المئوية للبروتين حسب الطريقة المتبعة من قبل شفيق ومصطفى(8) . تم تقدير الكلوروفيل في الاوراق الخضراء للتبغ بطريقة استخلاصه بالاسيتون باستعمال جهاز المطياف الضوئي بين طولين موجيين (642.5 - 600 نانوميتر) حسب الطريقة الموضحة من قبل Ranganna (29) . تم تقدير الاحماض العضوية في الورقة الخامسة (خضراء) لنبات التبغ وعمل معلق 1:1 وضع في جهاز الطرد المركزي (3000 دوره / 15 دقيقة) للحصول على المحلول الرائق وقدر فيها حامض الستريك حسب طريقة Marier و Boulet (25) ، ثم قدر حامض الاوكزاليك حسب طريقة Bateman و Beer (13) وكذلك تم تقدير حامض الماليك حسب الطريقة الموضحة في دلالي و صادق (6)

النتائج و المناقشة

يبين الجدول(2) ان تلقيح نباتات التبغ بفطر المايكورايزا سبب زيادة معنوية في محتوى الكلوروفيل a و b و المحتوى الكلي

جدول2 . تأثير خليط فطر المايكورايزا وصخر الفوسفات المضاف في محتوى الكلوروفيل (ملغم.100غم$^{-1}$) في اوراق التبغ

فطر الـ VAM	مستويات الفسفور P0	P1	P2	P3	المعدل
	محتوى كلوروفيل a				
VAM-	236.7	146.0	134.2	130.3	161.8
VAM+	278.8	236.9	214.1	175.3	226.3
المعدل	257.8	191.5	174.2	152.8	
L.S.D 0.05	VAM	الفسفور	VAM × الفسفور		
	3.613	5.110	7.227		
	محتوى كلوروفيل b				
VAM-	137.80	122.68	113.20	98.22	118.0
VAM+	233.40	140.50	128.23	117.10	154.8
المعدل	185.60	131.60	120.72	107.66	-
L.S.D 0.05	VAM	الفسفور	VAM × الفسفور		
	2.883	4.077	5.766		
	محتوى الكلوروفيل الكلي				
VAM-	374.1	274.1	252.7	247.1	287.0
VAM+	469.4	376.8	354.6	292.2	373.3
المعدل	421.8	325.5	303.7	269.7	-
L.S.D 0.05	VAM	الفسفور	VAM × الفسفور		
	2.932	4.147	5.865		

الا ان زيادة مستويات صخر الفوسفات سببت انخفاضا في محتوى الكلوروفيل ولكن حافظت اوراق التبغ على محتوى جيد من الكلوروفيل حتى عند اعلى مستوى من صخر الفوسفات المضاف P3 . لقد بلغت نسبة الزيادة المتحققة في محتوى الكلوروفيل a و b والكلي في النباتات المعاملة بالفطر المايكورايزي مقارنة بمعاملة المقارنة (17.8% و 62.3% و 59.5% و 34.5%) و (6.9 % و 14.5% و 13.3% و 19.2%) و (25.5% و 37.5 % و 40.3% و 18.3%) عند مستويات صخر الفوسفات على التوالي . أن هذه النتائج متفقة مع ما توصل اليه (4) مع نباتات القمح ، اذ أدى التلقيح بفطر المايكورايزا Glomus mosseae الى زيادة محتوى الكلوروفيل والحديد وقد أعزى السبب الى دور فطر المايكورايزا في تحرر مركب السايدروفورس الذي يسهم في زيادة امتصاص الحديد وأكساب الاوراق محتوى عال من الكلوروفيل واعطاء نضارة وصحة للاوراق . وفي دراسة أخرى وجد Fester واخرون (16) ان التلقيح بفطر المايكورايزا ادى الى زيادة عالية في البلاستيدات الخضراء وبالتالي زيادة الكلوروفيل في أوراق التبغ .

يبين الجدول (3) أن اضافة السماد الحيوي سوية مع البذور عند تهيئة الشتلات لفطر المايكورايزا سببت زيادة معنوية في نسب البروتين و السكريات الكلية وقد بلغت نسبة الزيادة في نباتات الملقحة (6.0% و 10.3%) مقارنة بنباتات التبغ غير الملقحة. أن تأثير مستويات صخر الفوسفات والسماد الحيوي الفطري والتداخل بينهما كان معنويا في نسبة البروتين والسكريات الكلية وأن أعلى نسبة

جدول3 . تأثير فطر المايكورايزا وصخرالفوسفات المضاف في النسب المئوية للبروتين والسكريات الكلية في الاوراق الجافة لنباتات التبغ

مستويات الفسفور

فطر الـ VAM	P0	P1	P2	P3	المعدل
	% للبروتين				
VAM-	5.21	5.28	5.39	5.55	5.36
VAM+	5.44	5.58	5.77	5.97	5.68
المعدل	5.33	5.43	5.58	5.74	
L.S.D 0.05	VAM	الفسفور	VAM × الفسفور		
	0.063	0.089	0.126		
	% للسكريات الكلية				
VAM-	18.01	18.04	18.25	18.31	18.15
VAM+	19.61	19.91	20.16	20.34	20.01
المعدل	18.81	18.98	19.21	19.33	-
L.S.D 0.05	VAM	الفسفور	VAM × الفسفور		
	0.011	0.015	0.022		

من البروتين والسكريات الكلية كانت عند المستوى P3 في المعاملات الملقحة . أن الزيادة في نسبة البروتين يمكن أن تعزى الى زيادة محتوى الاوراق من النتروجين مما انعكس على نسبة البروتين (9) . لقد أشار Hiroyuki واخرون (21) الى ان انخفاض محتوى الأحماض الامينية في النباتات المايكورايزية يعطي الدليل على زيادة محتوى النتروجين في النبات كنتيجة لتمثيله الى البروتين في انسجة النبات العائل . فضلا على أن تحسن أمتصاص الفسفور وزيادة محتواه في الاوراق قد يساعد على زيادة النتروجين وهذا ما انعكس على نسبة البروتين ، اذ ان كلا من عنصر النتروجين والفسفور يدخلان في تداخل موجب من حيث الامتصاص (5). لقد وصف معامل شموك العلاقة بين تركيز السكريات وجودة التبغ في الاوراق (10). في هذه الدراسة فأن النباتات الملقحة بفطر المايكورايزا حافظت على نسبة جيدة من السكريات الكلية بلغت 20.34 % عند P3 وأن هذه النتائج متفقة مع ما وجده Shaul واخرون (31) ،اذ لاحظ أن نسبة السكريات الكلية في الاوراق تزداد مع اضافة الأسمدة الحيوية من فطر المايكورايزا مع انخفاض في نسبة البروتين والنيكوتين .

بين الجدول (4) أن نسبة النيكوتين في اوراق نباتات التبغ الملقحة بفطر المايكورايزا أزدادت معنويا مقارنة بنباتات المقارنة الآ أن نسبة النيكوتين في الأوراق كانت ضمن الحدود المسموح بها للصنف بغداد 1.8% وهي ايضا تقع ضمن نسبة النيكوتين عالميا والتي تتراوح ما بين 1.27 % و 2.9 % (25) . أن نسبة الرماد في نباتات اوراق التبغ الملقحة انخفضت معنويا مقارنة بالنباتات غير الملقحة . في جميع معاملات التجربة فأن نسبة الرماد يتراوح 16.3 % و 17.4 % وهي تقع ضمن نسبة الرماد في التبوغ العراقية والتي تصل في بعض المناطق من زراعة التبغ الى 17.7 % (30) .

جدول4 . تأثير خليط فطر المايكورايزا وصخر الفوسفات المضاف في النسب المئوية للنيكوتين والرماد في الاوراق الجافة لمحصول التبغ

مستويات الفسفور

فطر الـ VAM	P0	P1	P2	P3	المعدل
	% للنيكوتين				
VAM-	1.68	1.70	1.72	1.74	1.71
VAM+	1.75	1.77	1.79	1.80	1.78
المعدل	1.72	1.74	1.76	1.77	
L.S.D 0.05	VAM	الفسفور	VAM × الفسفور		
	0.006	0.010	0.014		
	% للرماد				
VAM-	17.14	28.17.	34.17.	17.43	30.17.
VAM+	16.29	16.37	16.53	71.16.	16.48
المعدل	16.71	16.83	16.94	17.07	-
L.S.D 0.05	VAM	الفسفور	VAM × الفسفور		
	0.035	0.050	0.070		

يبين جدول (5) تراكيز حامض الستريك وحامض الاوكزاليك والماليك . أن تراكيز حامضي الستريك والماليك انخفضت معنويا في الورقة الخامسة لنباتات التبغ الملقحة بفطر المايكورايزا الا ان تركيز حامض الاوكزاليك ازداد معنويا في النباتات الملقحة مقارنة بالنباتات غير الملقحة من بين تراكيز الاحماض العضوية الثلاثة فأن تركيز حامض الاوكزاليك كان اقل من حامضي الستريك والماليك في النباتات الملقحة وغير الملقحة ، وقد اقتربت قيم تراكيز حامضي الستريك والماليك من بعضهما . أن هذه النتائج متفقة مع نتائج Blaudez (14) والذي وجد أن تراكيز الأحماض العضوية (الستريك والماليك) كانت متشابه في النباتات الملقحة وغير الملقحة ، اما تركيز حامض الاوكزاليك فكان اكثر في الجذور المصابة عن غير المصابة. أن وجود تركيز حامض الاوكزاليك يسهم في تلطيف طعم الدخان (11). يستنتج من هذه الدراسة امكانية استعمال صخر الفوسفات مع خليط فطر المايكورايزا عند زراعة البذور في وقت مبكر من عمر النبات لتكون الفائدة اكبر من اضافة اللقاح المفرد وكبديل اقتصادي باللقاح عند اضافتة اسفل النبات في الحقل.

جدول 5 . تأثير خليط فطر المايكورايزا وصخر الفوسفات المضاف في تقدير الأحماض العضوية في اوراق محصول التبغ

مستويات الفسفور

فطريات الـ VAM	P0	P1	P2	P3	المعدل
	حامض الستريك (%)				
VAM-	90.1	95.1	0 2.1	2.20	2.03
VAM+	1.80	1.83	1.86	1.89	1.85
المعدل	1.85	1.89	1.98	2.01	
L.S.D 0.05	VAM	الفسفور	VAM × الفسفور		
	0.018	0.026	N.S		
	حامض الاوكزاليك (%)				
VAM-	1.07	1.10	1.15	1.18	1.13
VAM+	1.20	1.23	1.27	1.30	1.25
المعدل	1.14	1.17	1.21	1.24	-
L.S.D 0.05	VAM	الفسفور	VAM × الفسفور		
	0.024	0.033	N.S		
	حامض الماليك (%)				
VAM-	1.93	2.02	2.06	2.08	2.02
VAM+	1.80	1.82	1.84	1.90	1.84
المعدل	1.87	1.92	1.95	1.99	-
L.S.D 0.05	VAM	الفسفور	VAM × الفسفور		
	0.019	0.027	N.S		

المصادر

1 - ابراهيم ، اسكندر فرنسيس ، فائز غني عزيز ، لبيب داود يونان ، هيثم عبد الوهاب جدوع وثريا خليل ابراهيم . 2001 . استحداث صنفين جديدين من التبغ الفرجيني لاشعة غاما ، دراسات . العلوم الزراعية ، 28 (1) : 121 - 129 .

2-ابراهيم ، خالد احمد ومحمد عباس المصري . 1989. اساسيات انتاج التبغ المجفف بالهواء الساخن . جمهورية العراق . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . جامعة صلاح الدين . مترجم عن الانكليزية. المكتبة الوطنية. ص120 .

3-اسطيفان ، زهير عزيز ، محمد صادق حسن ، حافظ ابراهيم عباس وباسمة جورج انطوان. 1999 . تأثير فطريات المايكورايزا الداخلية على المعقد المرضي لمرض الذبول وتيماتودا العقد الجذرية في نباتات الطماطة والباذنجان . مجلة الزراعة العراقية . 4 (4) : 56 - 60 .

4-السامرائي ، اسماعيل خليل . 2002. دور الاسمدة الحيوية في معالجة نقص الحديد في نباتات الحنطة . مجلة الزراعة العراقية . 7 (8):7-16.

5-جواد ، كامل سعيد ونريمان داود سلمان . 1998 . تأثير مستويات الاسمدة النتروجينية والفوسفاتية في حاصل ونوعية الطماطة تحت ظروف الزراعة المحمية . مجلة العلوم الزراعية العراقية 29 (1) : 167- 178 .

6-دلالي ، باسل كامل ، صادق حسن الحكيم .1987. تحليل الاغذية . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . جامعة الموصل. ص 422 .

7-سلمان ، نريمان داود .2003 . تأثير فطريات المايكورايزا في امتصاص الفسفور من السوبر

فوسفات والصخر الفوسفاتي وعلاقته بنمو وحاصل التبغ *Nicotiana tabacum*. اطروحة دكتوراه قسم التربة والمياه. كلية الزراعة . جامعة بغداد .

8- شفيق ، جلال وفرهاد كريم مصطفى .1977. تكنولوجيا التبوغ المنهج العملي / قسم المحاصيل الحقلية. كلية الزراعة . جامعة السليمانية. مطبعة اربيل 31-33 ص.

9 - عباس ، حافظ ابراهيم ، ابراهيم لفتة جياد . 2001. استجابة محصول فول الصويا للتلقيح بفطريات المايكورايزا والرايزوبيا عند مستويات مختلفة من السماد الفوسفاتي . مجلة الزراعة العراقية . 6 (2) : 73-82 .

10- عبدالله ، فوقي .1970. المواد المضافة لتحسين الطعم والرائحة . محاضرة ادارة التنظيم والخدمات، مراقبة التنظيم والتدريب ومتابعة التقييم . الجمهورية العراقية. 1- 8 ص .

11-غالب ، انور.1965. زراعة التبغ وانتاجه ، المطبعة الكاثوليكية . بيروت . لبنان. 117-119 ص .

12- A.O.A.C. 1975. Official Methods of Analysis Association of Official Analytical Chemists. Washington DC. USA.pp56.

13- Bateman, D.F. and S.V.Beer 1965. Simultaneous production and synergistic action of oxalic acid and polygalacturonase during pathogenesis by *scloerotium rolfsii*. phytopathology AgriResearch Institute,New Delhi. 55: 204-211.

14- Blandez, D., M. Chalot , P.Dizenaremel and B. Botton. 1998. Structure and function of the ectomycorriza ssociation between *Paxillus involutus* and *betulapendula*. 11. Metabolic changes during mycorrhiza formation. New Phytologist. 138 (3): 543 -552 .

15 - Bryla, D.R. and R.T. Koide. 1998. Mycorrhizal response of two tomato genotypes related to their ability to acquire and utilize rock phosphate. Annals of Botany. 82 (6): 849-857.

16- Fester, T.,D. Strack and B. Hause. 2001. Reorganization of tobacco root plastids during arbuscule developments. Planta. 213 (6): 864 - 868 .

17- Gaines, T.P. 1971. Chemical methods of tobacco plant Analysis, Research report. No. 97. 24-26 College of Agriculture. Experiment Station, University of Georgia, USA.pp.164-169.

18 -Garner, W.1951. The Production of Tobacco. McGraw- Hill Book Co., USA. P.304 -375.

19 -Griffith, R.B. 1957. The rapid determination of total alkaloids by steam distillation.Tobacco Science.1: 130 -137.

20- Hayee, M.A., S.H. Shah, G.M. Sarwar. 1981. Yield and quality response of (Hukka) tobacco to different potash levels and dates of transplanting. Pak. Tob. 5(1) P. 15-17.

21- Hiroyuki, S., S.Kazunori and Y.Tomio. 1997. Arbuscular mycorrhizal infection decreases the free amino acid contents in the host plant . T. Ando et al. (eds), Plant nutrition – for sustainable food production and environment . 775-776.

22- Joslyn, M.A. 1970. Methods in food Analysis physical chemical , and Instrumental methods of Analysis. 2nd ed. Academic press. New York and London. USA , pp. 424 – 425 .

23 - Louis , I. and G. Lime . 1988. D ifferential response in growth and mycorrhizal colonization of soybean to inoculation in soils of different availability . Plant and Soil. 112 : 37- 43.

24 - Lukiwati , D.R., S.Hard. Y. Fakuara, I. Auas., T.R.Wiradarya and A. Rambe. 1997. Improvement of phosphorus uptake of forage legumes by rock phosphate fertilization and vesicular-arbuscular mycorrhiza inoculation. Plant Nutrition. 5 : 945-946.

25- Marier, J.R.and M.Boulet. 1958. Direct determination of citric acid in milk unimproved pyridine acetic acid anhydride method. J. Dairy Science , 41: 1683 – 1692.

26– Marlan, W.R. and J.M. Moseley. 1955. Tobacco, In *Encycloped of Chemical Technology*,., Vol.14, 1st. ed ., Kirk-Othmer, New York. pp . 684.

27 - Page, A.L.; R.H. Miller and D.R . Keency (eds) (1982). Chemical and Microbiological Properties. 2nd edition. Am. Soc. Agron. Wisconsin, USA. . 149-577.

28 - Popov, A., K.. Pavlvo and P. Popov. 1968. Tabacco, Rastenovidstvo. Vol. 4: 279 – 410 .

29- Ranganna , S. 1977. Manual of Analysis of Fruit and Vegetable Products. Central Food Technological Research Institute Mysore . pp. 80-83 .

30 - Shafik, J. and M. Mustafa, 1978. Manual of Tabacco Technology 1st ed. College of Agric. Univ. of Suliamaniyah , Iraq. 9-12. 20-33.

31- Shaul, O . , S.Galili , H. Volpin, I.Ginzberg. Y. Elad, I. Chet and Y. Kapulnik. 1999. Mycorrhiza – induce changes in disease severity and Protein expression in tobacco leaves. Molecular Plant Microbe Interactions . 12 (11): 1000 – 1007.

32-Tawaraya,K.; H.Kiso and T. Wagatsuma. 1997. Responses of phosphorus uptake and growth of (*Allium fistula* L.). cultivars to arbuscular mycorrhizal colonization. Ando et al . (eds .) , Plant nutrition – for sustainable food production and environment . 771 – 772.