تقويم استجابة خمسة تراكيب وراثية من الحنطة للتلقيح بالبكتريا *Pseudomonas fluorescens* و*Pseudomonas putida*

*إسماعيل عباس جديع**

استلام البحث 28، حزيران، 2009
قبول النشر 28، نيسان ، 2010

الخلاصة:

اجريت هذه الدراسة في محطة ابحاث التويثه للموسم الزراعي 2002-2003 لتقويم استجابة خمسة تراكيب وراثية من الحنطة (مكسيباك،العز،ازرع-131،ابوغريب، دور-85) للتلقيح بالبكتريا ***Pseudomonas fluorescens*** (العزلة PFW6) و ***P. Putida***(العزلة PPW15).

اظهر التركيب الوراثي مكسيباك تفوقا معنويا في الاستجابة للتلقيح بالعزلة PFW6على اساس معاملة الشاهد اذ بلغت الزيادة في نسب الانبات 6.5% مع وجود كثافة سكانية عالية للبكتريا على الجذور اذا وصلت كثافتها $6,6\times10^6$ وحدة تكوين مستعمرة/غم جذور طرية وانعكس ذلك على الحاصل الكلي اذ بلغت الزيادة 30.6% . واظهر التركيب الوراثي (العز) استجابة عالية للتلقيح بالعزلة PPW15 بزيادة نسبة الانبات لتصل 7,8% رافقها كثافة سكانية عالية لعزلة البكتريا على الجذور اذ وصل عدد الوحدات التكاثرية 5.9×10^6 /غم جذور طرية وادت الاستجابة الى زيادة في الحاصل الكلي لتصل الى 20.4% .

الكلمات المفتاحية : ***Pseudomonas fluorescens*** ،***Pseudomonas putida***، **الحنطة**

المقدمة:

لقد استخدمت البكتريا في مجال المكافحة الاحيائية وزيادة نمو النبات في العديد من المحاصيل [1] واشارت الدراسات الى وجود انواع عديدة تعود الى اكثر من 20 جنس مستخدمة في كبح المسببات المرضية واثبتت فعاليتها تحت الظروف الحقلية وادت الى تحسين نموالنبات وزيادة انتاجيتة واستعملت بشكل تجاري [2]. وقي السنوات الاخيرة استخدمت انواع تعود الى الجنس ***Pseudomonas spp***. والتي تنتمي الى المجموعة البكتيرية المحفزة لنمو النبات Plant Growth Promoting Rhizobacteria [3] كما انها تعمل على تحفيز بزوغ البادرات Emergence Promoting Rhizobacteria [4] حيث تعمل كمبيد ومخصب حيوي مما يجعلها كمرشح قوي للدخول في برنامج انتاج المبيدات والمخصبات الحيوية . لقد اشارت الدراسات ان هذه البكتريا لها القدرة على تثبيت النتروجين [5] واذابة الفسفور [6] واكسدة الكبريت [7]كما انها تعمل على زيادة الا صابة بفطريات المايكورايزا [8] . ومن العوامل المؤثرة في نشاط هذه البكتريا هي التركيبة الوراثية للنبات العائل التي تؤثر في كثافتها السكانية وفي قدرتها الاستيطانية [9] ولعدم وجود دراسات كافية عن مدى استجابة تراكيب الحنطة الموجودة في العراق للتلقيح بالبكتريا ***Pseudomonas fluorescens*** و ***P.putida*** فقد اجريت هذه الدراسة.

المواد وطرائق العمل:

1- تحضير اللقاح البكتيري

تم الحصول على العزلتين المحليتين PFW6 التي تعود الى البكتريا ***P. fluorescens*** و PPW15 التي تتبع البكتريا ***P.putida*** من مختبر المكافحة المتكاملة /وزارة العلوم والتكنلوجيا, تم اكثار العزلتين في دوارق زجاجية حاوية على الوسط الزرعي السائل (KB) حضنت بدرجة حرارة 28 م لمدة 7 أيام , جمعت الخلايا بواسطة جهاز النبذ المركزي خفف اللقاح مع ماء مقطر معقم للحصول على التخفيف 7×10^5 وحدة تكوين مستعمرة /مل . اضيف الى اللقاح بضع قطرات من مادة التريتون (كمادة ناشرة) ثم أخذ 10مل من اللقاح واضيف الى 10غم من مادة النشأ مع الخلط الجيد وحضنت بدرجة حرارة 28مْ لمدة 4 أيام ثم تركت للجفاف بظروف المختبر واصبح اللقاح جاهز للاستعمال بشكل مستحضر جاف ، واستعملت بمقدار 20غم/كغم بذور تحتوي البذرة الواحدة على 5×10^5 وحدة تكوين مستعمرة[10].

2- تأثير البكتريا في نسب الانبات ومدة التبكير وتقدير الكثافة السكانية على المجموع الجذري للتراكيب الوراثية

استخدمت خمسة تراكيب وراثية من الحنطة وهي مكسيباك،ابوغريب،العز، ازرع-131،دور-85(مركز تكنلوجيا البذور /وزارة العلوم والتكنلوجيا) . عقمت البذور سطحيا بمحلول

*وزارة العلوم والتكنولوجيا- دائرة البحوث الزراعية - مركز المكافحة المتكاملة للافات.

هايبوكلورات الصوديوم(1%),بعدها غسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات ،رطبت جميع البذور بمحلول الصمغ العربي تركيز 50% ,ثم قسمت بذور كل صنف الى ثلاث مجاميع ،الاولى تمثل الشاهد (بدون معاملة)، الثانية لقحت بالعزلة PFW6 والثالثة لقحت بالعزلة PPW15. زرعت البذور في اصص بلاستيكية سعة 5كغم احتوت على تربة معقمة وبمقدار12بذرة/اصيص وبثلاث مكررات وبالتصميم الاحصائي تام التعشية في ظروف الظلة الخشبية للموسم الزراعي -2003 2002 . سجلت نسبة الانبات ومدة التبكير في الانبات بعد 14 يوما من الزراعة .قدرت الكثافة السكانية للبكتريا على الجذور وبثلاث مدد زمنية هي 60 ، 90 ، 120 يوما من الزراعة وذلك بقلع ثلاث نباتات لكل مدة وتقدير الكثافة السكانية بطريقة التخافيف والعد في الاطباق وبحسب طريقة [11].

3- تأثير البكتريا في بعض معايير النمو الخضري والانتاجية

تمت معملة البذور كما في الفقرة (2) . خفت النباتات في الاصص الى خمس نباتات، سجلت في نهاية التجربة معدل اطوال النباتات, عدد الفروع ,معدل الوزن الجاف للمجموع الخضري والجذري وكمية الحاصل/نبات .

النتائج والمناقشة :

1- تأثير البكتريا في نسب الانبات ومدة التبكير وتقدير كثافتها السكانية على المجموع الجذري

أظهرت نتائج جدول (1)حصول زيادة معنوية في معدلات الانبات على اساس الشاهد ولجميع التراكيب الوراثية ولكلا العزلتين وبنسب متفاوتة، وتفوق التركيب مكسيباك بزيادة معدلات الانبات بمقدار 13.5% وبمدة تبكير 4 يوم في العزلة PFW6 في حين تفوق التركيب العز للعزلة PPW15 اذ بلغت الزيادة 13.8% وبمدة تبكير 3 يوم ، واظهر التركيب دور-85 استجابة واطئة لكلا العزلتين اذ بلغت الزيادة 13.12% ومدة التبكير 2 يوم وتتفق هذه النتائج مع نتائج [13] بزيادة بزوغ بادرات الحنطة اذ بلغت الزيادة 12.5% و15% .وعلى التوالي كما ان صفة التبكير في الانبات مهمة في هروب النبات من الاصابة بالفطريات وهذا ما اكدته دراستي [14,10] من ان التبكير في بزوغ بادرات الحنطة لبذور معاملة بالبكتريا وبمدة تبكير 2-3 يوم يقلل من الاصابة بفطريات التربة المرضية ، وقد يعود سبب الزيادة في الانبات والتبكير الى قدرة انواع البكتريا ***Pseudomonas.spp*** على افراز منظمات النمو وزيادة كمياتها المفرزة مع زيادة الكثافة السكانية للبكتريا [3] . كما اوضحت النتائج في جدول (2)الى وجود تباين في الكثافة السكانية على المجموع الجذري باختلاف التراكيب الوراثية وكذلك العزلات والمدد الزمنية لاخذ العينات . ومن ملاحظة المعدل العام للوحدات البكتيرية خلال موسم النمو نجد تفوق معنوي للصنفين مكسيباك و ابو غريب اذ بلغ عدد الوحدات البكتيرية 6.6×10^6 غم/جذور مقارنة مع التركيب دور-85 اذ بلغت $5,8\times10^6$ غم/جذور للعزلة PFW6 في حين تفوق التركيب العز بعدد الوحدات البكتيرية اذ بلغت 5.9 مقارنة بالتركيبين دور-85 و ابوغريب اذ بلغت الوحدات 5.3 في العزلة PPW15 . وقد يعود سبب وجود كثافات سكانية عالية للبكتريا على تراكيب دون اخرى الى طبيعة هذه التراكيب من حيث كمية الافرازات الجذرية من جهة والاختلاف في القدرةالاستيطانية لهذه العزلات من جهة اخرى والتعايش مع هذه التراكيب معيشة تكافلية [13,9] .

جدول (1) : تأثير البكتريا*Pseudomonas fluorescens* (العزلة PFW6) و *Pseudomonas putida* (العزلة PPW15)في نسب الانبات ومدة التبكير لخمسة تراكيب وراثية من الحنطة .

التركيب الوراثي	العزلة PFW6		العزلة PPW15	
	*الزيادة في الانبات على اساس الشاهد (%)	**مدة التبكير (يوم)	الزيادة في الانبات على اساس الشاهد (%)	مدة التبكير (يوم)
مكسيباك	13.5 ***	4	11.4	3
العز	11.4	3	13.8	3
ازرع-131	11.5	3	9.3	3
ابو-غريب	11.6	4	9.4	2
دور-85	8.2	2	8.2	2
اقل فرق معنوي عند 5% p=0,5	1.8		2	
المعدل العام	11.24		10.42	
اقل فرق معنوي بين العزلتين = 0.6				

* % للزيادة في المعاملة(التركيب الوراثي) = (الانبات في المعاملة – الانبات في الشاهد) / الانبات في الشاهد × 100

** مدة التبكير لاي معاملة = مدة اكتمال الانبات (14 يوم) - اليوم الذي يصل فيه الانبات 50% .

*** كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاث مكررات .

جـدول(2):تقـدير الكثافـة السـكانية للبكتريـا *Pseudomonas fluorescens* (العزلـة PFW6) و *Pseudomonas putida* (العزلة PPW15)على المجموع الجذري لخمسة تراكيب وراثية من الحنطة

التركيب الوراثي	وحدة تكوين مستعمرة ×10^6/غم جذور طرية							
	العزلة PFW6				العزلة PPW15			
	60يوم	90يوم	120يوم	المعدل العام	60يوم	90يوم	120يوم	المعدل العام
مكسيباك	6.9 *	7.6	5.4	6.6	5.2	6.2	5.1	5.5
العز	6	7.2	5	6.1	5.8	6.8	5	5.9
ازرع-131	6.3	7.4	5	6.2	4.9	5.8	4.6	5.1
ابوغريب	6.8	7.8	5.2	6.6	5.2	6	4.8	5.3
دور-85	5.8	6.8	4.7	5.8	5	6.1	4.8	5.3
اقل فرق معنوي عند 5%	0.3			0.3	0.3			
معدل المعدلات				6.3				5.4
اقل فرق معنوي بين العزلتين =0.7								

* كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاث مكررات.

2- التأثير في بعض معايير النمو الخضري والحاصل

أظهرت نتائج جدول (3)وجود تأثير معنوي للبكتيريا في معظم معايير النمو الخضري وكذلك الحاصل وتباينت هذه التأثيرات اعتمادا على التركيب الوراثي للنبات والعزلة البكتيرية ، أظهر التركيب مكسيباك تفوقا معنويا لمعظم الصفات المدروسة في معاملة العزلةPFW6 وانعكس ذلك على الزيادة في الحاصل الكلي اذ بلغت 5.3% يليه التركيب ابو غريب اذ بلغت الزيادة 4% في حين تفوق التركيب العز في الاستجابة للتلقيح بالعزلة PPW15 بزيادة الحاصل بمقدار 2.6% يليه التركيب مكسيباك بزيادة مقدارها 2.4% .لقد لعبت البكتريا دورا مهما في تحفيز نمو النبات من خلال أليات مختلفة منها تثبيت النتروجين واذابة العناصر الغذائية كالفسفور وجاهزيتها للنبات وافراز منظمات النمو وهذا ما اكدته عدد من الدراسات [15,3,1].

يتضح من هذه الدراسة ان للتركيبة الوراثية للنبات تأثير في كمية ومكونات الاحياء المجهرية المضافة الى الجذور او في المنطقة المتأثرة بافرازات الجذور من خلال تباينها في كميات الافرازات الجذرية [9].وربما تلعب التركيبة الوراثية دورا مهما في تحسين كفاءة استيطان البكتريا للجذور وانعكاس ذلك في زيادة نمو النبات والانتاجية وتتفق نتائج البحث مع ما وجدة [16] من ان جذور خطي الحنطة S-615 و Rescue يحويان اعداد كبيرة من البكتريا المحفزة لنمو النباتات مقارنة بالصنف Apex .وكذلك مع نتائج(2)التي اشارت الى ان الكثافة السكانية لسلالة البكتريا 2-79 ***P. fluorescens*** على الصنف Wampum تفوق 100 مرة عن وجودها على الصنف Brevor .كما وجد من دراسة اخرى ان البكتريا ***P.putida*** السلالةW85 تختلف في قدرتا الاستيطانية على جذور النباتات لثلاث اصناف من القمح الشيلمي [17].

جـدول (3):تـأثير البكتريـا*Pseudomonas fluorescens* (PFW6) و *Pseudomonas putida* (PPW15) في بعض معايير النمو الخضري والحلصل لخمسة تراكيب وراثية من الحنطة.

التركيب الوراثي	* الزيادة في معدلات معايير النمو الخضري والحاصل محسوب على اساس معاملة الشاهد(%)									
	العزلة PFW6					العزلة PPW15				
	طول النبات (سم)	عدد الفروع لكل نبات	الوزن الجاف للمجموع الخضري غم/نبات	الوزن الجاف للمجموع الجذري غم/نبات	وزن الحاصل غم/نبات	طول النبات (سم)	عدد الفروع لكل نبات	الوزن الجاف للمجموع الخضري غم/نبات	الوزن الجاف للمجموع الجذري	وزن الحاصل غم/نبات
مكسيباك	4**	16.2	30.2	30.6	5.3	3	10.2	10.3	15.3	2.4
العز	2	10.4	20	23.6	2.7	2	12.3	14.3	20.4	2.6
ازرع-131	2	14.1	18.6	20.4	3.1	2	8.8	5.3	8.6	1.7
ابو غريب	3	15	26.4	25.8	4	3	9.1	7.3	10.6	1.8
دور-85	2	5.4	6.5	10.8	1.8	2	9.8	6.2	9.1	1.7
اقل فرق معنوي5%	n.s	8	12-8	10.6	1.7	n.s	1.2	3.8	4.5	2

$$* \% \text{ للزيادة في أي معيار ولاي تركيب} = \frac{\text{أ} - \text{ب}}{\text{ب}} \times 100$$

أ : القراءة للمعيار في التركيب المعين ب : القراءة لنفس المعيار للشاهد

** كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاث مكررات

المصادر:

1. Glick,B.R.1995.The enhancement of plnat growth by free living bacteria. Can. J. Microbiol. 41 (2):109-117.
2. Nandakumar, G; R. Babu; S. Viswanathan and Samiyappan R.2007 . Anew bio-formulation containing plant growth promoting rhizobacterial mixture for the management of sheath blight disease and enhanced grain yield in wheat. Biocontrol 46(4):493-510.
3. Hass, D.; Defago G. 2005. Biological control of Soil-borna pathogens by fluorescent pseudomonads. Nature Reviews in Microbiology 3(4): 307-319.
4. Kloepper,J. W., F. M. Scher, M. Lalibette, and B. Tipping 1986. Emergence-promoting rhizobacteria: Description and implication for agriculture, P:155-164. in:Iron, siderophores,and plant diseases. Swinburne, T.R. (ed.) Plenum press, NewYourk.
5. Wood,C.; Pereg-Grek, L. and R.deak. 2008. Biological nitrogen fixation in non-leguminous field crops. Plant Soil 188(3):55-69.
6. Wani, P.A. 1980 Studies on phosphate solubilization microorganisms. J. Microbiol. 5(6): 144-147.
7. Grayston, S.J., and J.J.Germida 1991.Sulfur-oxidizing bacteria as plant growth promoting rhizobacteria for Canola. Can.J. Microbial. 37(6):521-529
8. Garbaye,J.and Germida,J. 2008. Interaction between mycorrhzal fungi and other soil organisms. Plant soil,197(3):123-130.
9. Stamp,J.; P. sstop and H . schlegel . 2007. Host variation for interaction with beneficial plant-asso ciated microbes.Appl. Environ. Microbio. 65(4): 848-855 .
10. الدليمي,اسماعيل عباس وموسى,شيماء عبد اللطيف واحمد ،سمير محمد. 2003 تطوير وتقويم مستحضر جاف من البكتريا Pseudomonas fluorescens مجلة الزراعة العراقية 8 (3): 104-110.
11. Duijff, B,J;G. Recorbet; P.A.H.M. Bakker; J.E. Loper, and P. Lemanceau 1999. Microbial Antagonism at the root level is involved in the suppression of Fusarium wilt by the combination of nonpathogenic ***Fusarium oxysporum*** Fo47 and ***Pseudomonas putida*** WCS358. Phytopathology 89(4): 1073-1079.
12. جديع،اسماعيل عباس وحسن,حيدر رشيد ومحمد, ليث جاسم وموسى، شيماء عبد اللطيف .2009 . استخدام البكتريا Pseudomonas fluorescens كمخصب حيوي لتحسين نمو وانتاجية نبات الحنطة.مجلة الزراعة العراقية (مجلد خاص) 14(7) :104-112.
13. Haos,D. and Keel ,C. 2003. Regulation of antibiotic production in root-colonizing Pseudomonas spp. and relevance for biological control of plant disease. Annu. Rev . Phytopathol .14(2) : 117 – 153 .
14. Milus,E.A. and C.S., Rothrock (1997).Efficacy of bacterial seed treatments for controlling pythium root rot of winter wheat. Plant disease 81(4):180-184.
15. Wadi, A . D. 2006. Microbial inoculation of plant1.Establishment of free-living nitrogen fiting bacteria in the rhizosphere and their effect on some crops .Plant soil, 22 (4): 150-160.
16. Neal,J. L.Jr.; T.G., Atkinson and R.I.Larson1970.Changes in the rhizosphere microflora of spring wheat induced by disomic substitution of achromosome. Can.J. Miciobiol.16(3):153-158.
17. Zehnder G. ; J . F . Murphy ; E .J . Sikora and Klopper, J. 2004. Application of rhizobacteria induced resistance. Euro. J. of plant pathol. 107(3):39-50 .

Evaluation of five wheat cultivars response to inoculation with *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*

Ismael A. Jdaea*

*IPCR center, Direct, of Agric. Res., Ministry of Science and Technology.

Abstract:

This study was conducted to evaluate response of five wheat cultivars(Maxiback,AL-hez,Izrah-131,Abu-Graib,Dour-85) to inoculation with ***Pseudomonas fluorescens*** and ***P.putida***. The Maxiback genotype was revealed a highly significant in inoculation response with PFW6 baced on control treatment, the increasing in germiniation was reached 6.5 % with found a highly population density on roots which reached to 6.6×10^6 cfu/g fresh roots. As aconcequen, the increasing of total yield was reached to 30.6%. Also, AL-hez genotype was revealed a highly response to inoculation with PPW15 which increase the germination to 7.8% and found a highly population density on roots and the response caused increasing in total yield about 20.4%.