اختبار كفاءة تقنية التقييد لبكتريا *Pseudomonas fluorescence* و*Bacillus subtilis* في اذابتها للفوسفات وتأثيرها في نمو وحاصل الذرة الصفراء *Zea mays* L.

غانم بهلول نوني-حنون ناهي كاظم -عبد الله كريم جبار
قسم التربة والموارد المائية -كلية الزراعة -جامعة المثنى
الكلمات المفتاحية: اللقاح المثبت، التسميد الحيوي، الباسلس، السيدوموناس، الذرة الصفراء
Kanembahlol23@gmail.com

المستخلص

تضمنت هذه الدراسة عزل وتشخيص عزلات محلية لبكتريا *Pseudomonas fluorescence* و *Bacillus subtilis* من مناطق مختلفة من جنوب العراق للاستعمالها في تجربة عامليه لدراسة تأثير أنواع من اللقاح البكتيري مع طرق مختلفة لتحمل اللقاح الحيوي (تقنية تقييد البكتريا) على نبات الذرة الصفراء *Zea mays L.* اذ تضمن العامل الحيوي أربعة أنواع من اللقاح البكتيري (بدون إضافة اللقاح ,اللقاح الحيوي لبكتريا *B. subtilis*, اللقاح الحيوي لبكتريا *P. fluorescence* , القاح البكتيري المزدوج *P. fluorescence* و*B. subtilis*) اما العامل الثاني تحميل اللقاح تضمن ثلاث مستويات (البنتونايت ,تثبيت القاح Immobilized inoculant , البنتونايت + تثبيت القاح Immobilized inoculant) . وبينت النتائج تفوق معاملة اللقاح المزدوج على باقي المعاملات فيما يخص بنوع اللقاح اذ حققت زيادة في اغلب الصفات المدروسة (ارتفاع النبات، وزن 500 حبه، عدد السطور في العرنوص، الوزن الجاف للمجموع الخضري، الحاصل الكلي) وقد سجلت (204.89 سم، 139.30 غم، 15.22سطر، 298.78غم، 7.07 ميكا غرام هكتار$^{-1}$) على التوالي. كذلك تفوقت معاملة اللقاح المثبت Immobilized inoculantعلى المعاملات الأخرى بطريقة التحميل وحققت اعلى النتائج في كل الصفات المدروسة ولنفس التأثير أعلاه اذ سجلت (196.25، 139.11، 15.25، 291.48،6.97) على التوالي. كذلك بينت النتائج تفوق معاملة التداخل للتلقيح المزدوج *P. fluorescence* و *B. subtilis*مع تقييد اللقاح اذ سجلت اعلى معدل للصفات المدروسة (211.33, 142.4, 16.67, 306.56 , 7.43) على التوالي .

EFFICIENCY STUDY OF IMMOBILIZED INOCULANT TECHNIQUE FOR *PSEUDOMONAS FLUORESCENCE* و*BACILLUS SUBTILIS* ON ITS SOLUBILITY ON PHOSPHATE AND INFLUENCE OF GROWTH AND YIELD OF *ZEA MAYS* L.

Ghanem B. Nooni Hanon N. Khadim, Abdullah K. Jabar
Dept. of Soil Sci. and Water Resources- Coll. of Agric. -Univ. of Al-muthana
Key word: biofertilizer, Immobilized Inoculant, *Pseudomonas fluorescence* ,*Bacillus subtilis*

Abstract

A factorial experiment (2 factors) was conducted in field during 2016-2017 season to study influences of inoculant *Pseudomonas fluorescence* and *Bacillus subtilis* and Immobilized inoculant technique for to study their effects in single and dual applications on growth and yield of maize plants (Zea mays L.) in rhizosphere. Randomized Completely Bloke Design (RCBD) was use. The experiment consist of (36) experimental units resulted from interaction between {(4) levels of biofertilizers, coded (F), (3) levels of application technique, coded (C) and the treatments were replicated (3) times. The inoculant dual treatment (F3) was the most effective in enhancing plant growth and gave considerable increases in (high plant, weight of 500 seeds, number of row in corncob , dry matter of vegetable, grain yield) of maize. A values was obtained with (196.25 cm, 139.11gm, 15.25,

7.07 mega gram hacter^{-1},) respectively, Compared with non-inoculated plants. Immobilized inoculant encapsulation of treatment (C1) gave a significant increases in the growth, Yield and its components high plant, weight of 500 seeds, number of row in corncob , dry matter of vegetable, grain yield, a of maize. The interactions between dual inoculant and type of carrier technique treatment (F3+ C1) gave better results than the other treatments, by increasing the high plant, 500 seeds, number of row in corncob, dry matter of vegetable, weight of and grain yield, of maize.

المقدمة

تعد الأسمدة أو المخصبات الحيوية مصادر غذائية للنبات رخيصة الثمن بديلا عن استخدام الأسمدة المعدنية، كذلك تعمل على الحد من تلويث التربة والمياه، وسيتم ا لتطرق في هذه الدراسة المرجعية إلى أشكال التلوث بالأسمدة الكيميائية، بالإضافة إلى أشكال التسميد الحيوي المختلفة وفوائدها في تقليل كميات الأسمدة الكيميائية المستعملة مما يعمل على تقليل التلوث [4]. يقتضي التطور الزراعي المستدام الاستعمال الأمثل لفعالية الكائنات الحية الدقيقة ونشاطها الحيوي في التربة الزراعية، والذي يعد بديلا آمنًا بيئيًا في توافر العناصر الغذائية للنبات مقارنة بالأسمدة الكيميائية وتعود الدراسات الأولى للتسميد الحيوي إلى مطلع القرن العشرين عندما قام الروس باستعمال البكتريا في التسميد الحيوي خاصة بكتريا الأزوتوباكتر والبكتريا المحللة للفوسفات [10]. واشار [9] الى ان التلقيح بالبكتريا المذيبة للفوسفات *Bacillus firmus* أدى الى زيادة في كمية الفسفور الجاهز من 11- 15.7 كغم P .هكتار$^{-1}$ مقارنة بالمعاملة غير الملقحة . واكد [6] على ان التلقيح ببكتريا *Pseudomonas fluorescence* أدى الى زيادة معنوية في امتصاص الفسفور بعد 90 يوم من النمو فضلا عن الزيادة في حاصل الحبوب. كما وجد [2] ان الفسفور المتحرر من الصخر الفوسفاتي ازداد في الترب الملقحة بالأحياء المذيبة للفوسفات مقارنة بغير الملقحة. يواجه استخدام الأسمدة الحيوية عند اضافته للتربة في الحقل بعض المشاكل أولها انخفاض اعداد الاحياء المجهرية المضاف فيه كسماد او قلة تنافسها مع الاحياء المجهرية الاصلية الموجودة في التربة لذلك سعى الباحثون حديثاً لحل هذه المشكلة من خلال محاولة إطالة عمر اللقاح المضاف وقد أدخلت تقنية استخدام اللقاح المثبت Immobilized inoculant لهذا الغرض من خلال استعمال مواد ذات طبيعة بوليميرية تستطيع حفظ البكتريا داخلها لأطول فترة ممكنة عند أضافتها للتربة اذ أشار [18] الى ان استخدام تقنية تثبيت اللقاح للبكتريا المذيبة للفوسفات كحامل لها قد زاد من كفاءة التلقيح بها وارتفع امتصاص النبات للفسفور بنسبة 64%. لذا تهدف هذه الدراسة الى التحري عن تأثير تداخل انواع مختلفة اللقاح البكتيري في زيادة جاهزية الفسفور والعناصر الغذائية الاخرى ودور تقنية اللقاح المثبت كحامل للبكتريا المذيبة للفوسفات مقارنة مع الطريقة التقليدية باستخدام البنتونايت ودراسة تأثيره في نمو وحاصل نبات الذرة.

مواد وطرق العمل

عزل وتشخيص البكتريا

جمعت 10 عينات من تربة منطقة الرايزوسفير من حقول مزروعة بالجت وزهرة الشمس والحنطة والشعير والطماطم ضمن الرقعة الجغرافية لمحافظة المثنى المبينة في جدول رقم 1، اعتمد جمع العينة المركبة من خلال جمع العينات من الحقل الواحد والمحصول المحدد وخلطها مع بعضها وذلك لتقليل نسبة الخطأ والتجانس في اخذ العينات لتكوين عينة ممثلة للحقل، جميع العينات وضعت في اكياس بلاستيكية معقمة بالكحول وحفظت في الثلاجة الى حين استعمالها. حضرت تخافيف لكل عينة من عينات التربة وذلك بإضافة 10 غم من عينة تربة الى 90 مل من الماء المقطر والمعقم في دوارق سعة 250 مل مزجت جيدا واجريت تخافيف متسلسلة (10^{-1}-10^{-7}) وذلك بنقل 1 مل من عالق التربة الى انابيب اختبار تحوي على 9 مل من الماء المقطر و المعقم ولكل عينة من عينات التربة ، استعمل الوسط (King B) لتلقيح تخافيف التـــربة لعزل بكتريا *P. fluorescence* . اخذ 1 مل من تخافيف التربة المحضرة اعلاه لتلقيح انابيب اختبار تحتوي على الوسط اعلاه، الذي حضر وعقم بجهاز المؤصدة لمدة 20 دقيقة على درجة حرارة 121 م^{0} وضغط 15 باوند. انج^{2} وبواقع مكررين لكل تخفيف، حضنت الانابيب على درجة حرارة 28 م ^{0} ولمدة 2-3 أيام. فحصت الانابيب بملاحظة تكون غشاء رقيق ابيض على السطح والذي يعد مؤشرا لنمو بكتريا *Pseudomonas Spp* . اخذ 0.1 مل من الانابيب التي اعطت مؤشرا للنمو ونشرت على سطح طبق بتري يحتوي على الوسط الصلب

(King B). حضنت الاطباق على درجة حرارة 28 م ^{0} ولمدة (2-3) يوم، اعيد تخطيط الاطباق وذلك للحصول على مستعمرات نقية من البكتريا. بعدها تم الحصول على مستعمرات اصفر مخضر تم عزلها بصورة نقية على بيئات صلبة.

ولعزل بكتريا *Bacillus subtilis* تم تسخين التخافيف العشرية على درجة حرارة 80 مئوي لمدة 10 دقائق للتخلص من الخلايا الخضرية وبقاء سبورات بكتريا Bacillus وبنفس الطريقة تم تلقيح اطباق بتري تحوي على الوسط الغذائي Nutrient agar الذي حضر وعقم ثم لقحت بـ ا مل من التخافيف وحضنت الاطباق لمدة ثلاثة أيام لوحظ بعدها مستعمرات صفراء اللون ذات حواف مفصصه اعيد تخطيط هذه المستعمرات للحصول على عزلات نقية من بكتريا *Bacillus subtilis* ثم اجريت عليها فحوصات مجهرية وسلسلة من الاختبارات الكيموحيوية لتشخيص البكتريا اذ كانت نتائج الاختبارات التشخصية للبكتريا تتفق مع ما ذكره [9] وبالتالي تم الحصول على عزلتين ورمز لها B_1 وB_2 لبكتريا *Pseudomonas fluorescence* وبكتريا *Bacillus subtilis* بالتتابع.

جدول(1): ارقام عينات الترب واسماء المناطق والحقول التي جمعت منها

رقم العينة	الموقع الجغرافي	المحصول
1	ابوجويلانة (جت)	السماوه
2	ابوجويلانة (شعير)	السماوه
3	ابوجويلانة (حنطة)	السماوه
4	البركات (جت)	الوركاء
5	البركات (شعير)	الوركاء
6	البركات (حنطة)	الوركاء
7	المجد (جت)	الرميثة
8	المجد (شعير)	الرميثة
9	المجد (حنطة)	الرميثة
10	الخضر(شعير)	الخضر

التجربة الحقلية

صممت تجربة حقلية لدراسة تأثير اضافة العزلتين المنتخبة من بكتريا *P. fluorescens* وبكتريا *B. subtilis* بشكل منفرد ومزدوج و باستخدام تحميل البكتريا بتقنية الـ Immobilized inoculate (اللقاح المثبت) او تقييد اللقاح حيث صممت تجربة عامليه وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة (RCBD) Randomized Completely Block Design وذلك باستخدام عاملين وكما مبين في الاتي :-

العامل الاول

الاسمدة الحيوية وبأربع مستويات تأخذ الرموز: -

B0= بدون إضافة اللقاح البكتيري

B1 = لقاح بكتريا *Pseudomonas fluorescence*

B2 = لقاح بكتريا *Bacillus subtilis*

B3 = لقاح بكتريا *Pseudomonas fluorescence* + *Bacillus subtilis*

العامل الثاني

طريقة تحميل اللقاح البكتيري وبثلاث مستويات تأخذ الرموز: -

C0 = اضافة اللقاح المحمل على البنتونايت Conventional inoculant

C1 = إضافة اللقاح المثبت immobilized inoculant

C2 = اضافة اللقاح المحمل على البنتونايت + إضافة اللقاح المثبت

نفذت التجربة بثلاث مكررات

عدد الوحدات التجريبية = 4×3×3 = 36 وحدة تجريبية

تحضير اللقاح البكتيري المثبت immobilized inoculant

تم تحضير اللقاح المثبت او تقييد اللقاح وفق طريقة [18] اذ وزن 3 غرام من sodium alginate واذيب في 100 مل من الماء المقطر ويرج لمدة 30 دقيقة للحصول على محلول متجانس ثم اضيف 47 غرام من نشأ البطاطا Potato-starch الى محلول sodium alginate.(matrix solution) يرج الخليط لمدة 30 دقيقة للتجانس ثم يؤخذ 30 مل من الزرع البكتيري وينتبذ بجهاز الطرد المركزي لمدة 10 دقائق وعلى 5000 دورة بالدقيقة بعدها يؤخذ الـ Pellet (الراسب) ويحل في 3 مل من 1% ببتون ثم يخلط مع 30 مل من المحلول الخليط (matrix solution)، تستخدم سرنجة حجم 50 مل لتقطير matrix solution على محلول كلوريد الكالسيوم المعقم (15 غم .لتر$^{-1}$) تترك لمدة 30 دقيقة لاكتمال تكون كرات اللقاح ثم تجمع الكرات الرطبة وتحفظ على درجة حرارة 4 مئوي لحين الاستخدام .

تنفيذ التربة

تم اجراء التجربة في محطة الأبحاث والتجارب الزراعية الثانية التابعة لكلية الزراعة جامعة المثنى تمت حراثة الأرض بشكل متعامد واجريت عليها عملية التسوية والتنعيم وبعد ذلك قسمت الأرض إلى وحدات تجريبية بحيث تكون مساحة كل وحدة تجريبية 6م^2 (3م×2م) وقسمت الوحدات إلى خطوط المسافة بين خط وأخر (70 سم) والمسافة بين جوره وأخرى (25) سم، ثم زرعت بذور الذرة الصفراء وبمعدل (2 بذرة \جوره). وأضيف السماد النتروجيني على هيئة يوريا (46% N) وبمعدل 320 كغم N. هكتار$^{-1}$، اما السماد الفوسفاتي أضيف على هيئة سماد السوبر فوسفات الثلاثي (48% P_2O_5) ايضا 50% من التوصية بمقدار 75 كغم P_2O_5 . هكتار$^{-1}$ كدفعة منشطة لعمل البكتريا اما البوتاسيوم فقد أضيف بمقدار 120 كغم K.هـ$^{-1}$ على هيئة كبريتات البوتاسيوم K_2SO_4 (43% K). والجدول التالي يوضح بعض الصفات الكيمائية والفزيائية والحيوية لتربة الدراسة قبل الزراعة.

جدول(2) بعض الصفات الكيمائية والفزيائية والحيوية لتربة الدراسة قبل الزراعة

pH 1:1	ECe ds.m^{-1}	OM%	Nالجاهز ملغم.كغم$^{-1}$	Pالجاهز ملغم.كغم$^{-1}$	Kالجاهز ملغم.كغم$^{-1}$	طين	غرين	رمل	البكتريا الكلية
7.75	2.25	0.15	14.0	6.5	178	380	392	228	2.8x10^7
						Silty clay			

النتائج والمناقشة

ارتفاع النبات

تشير نتائج جدول 3 الى تأثير معنوي لنوع اللقاح البكتيري وطريقة أضافته اذ تشير النتائج الى هناك تأثير لنوع اللقاح البكتيري في ارتفاع النبات اذ تفوقت معاملة اللقاح الثنائي لبكتيريا *P. fluorescence* و *B. subtilis* اذ وسجلت ارتفاع بلغ 204.89 سم وبنسبة زيادة مقدارها 12.92% نسبة لمعاملة المقارنة ويعود سبب ذلك لتأثير اللقاح لبكتريا *P. fluorescence* و *B. subtilis* في زيادة جاهزية الفسفور من المصادر غير الجاهزة في التربة نتيجة لإطلاقه للبكتريا المذيبة للفوسفات طول موسم النمو وهذا يتفق مع ما وجده [18] اذ أشار الى ان اللقاح المثبت لبكتريا *P. fluorescence* قد زاد من كمية الفسفور الممتصة في نبات الحنطة نتيجة زيادة جاهزية الفسفور بسبب انزيم الفوسفاتيز الذي تفرزه البكتريا والذي يقوم بأذبة الفوسفات المترسبة وتكوين مجموع جذري كثيف مما انعكس ايجاباً على ارتفاع النبات.

اوضحت النتائج هناك تأثير لطريقة تحميل اللقاح البكتيري في ارتفاع النبات اذ يشير الى تفوق طريقة اللقاح المثبت على التحميل بالبنتونايت اذ سجلت ارتفاع بلغ 196.25 سم ويعود سبب ذلك لكفاءة اللقاح المثبت في زيادة جاهزية المغذيات مثل الفسفور والنتروجين والمغذيات الصغرى وافرازها لمنظمات النمو مثل الاندول اسيتك اسيد (IAA) والجبرليك اسيد (GAA) وهذا ما اكده [21]، الى إمكانية استخدام تقنية اللقاح المثبت في الترب الفقيرة بالعناصر المغذية اذ استخدم هذه التقنية مع السيانوبكتر التي تقوم بتثبيت النيتروجين الجوي وأوضح ان كرات اللقاح تسلك سلوك السبورات اذ تتحمل الظروف البيئية المتطرفة ومن الممكن ان تبقى نشطة في التربة لثلاث سنوات.

جدول (3) تأثير إضافة القاح الحيوي لبكتريا *Pseudomonas fluorescence* و *Bacillus subtilis* بشكل منفرد ومتداخل وتقنية *تغييد اللقاح* في ارتفاع النبات (سم)

نوع اللقاح البكتيري	طريقة تحميل اللقاح			معدل B
	C0	C1	C2	
B0	181.33	181.33	181.67	181.44
B1	188.00	193.67	194.33	192.00
B2	188.67	198.67	194.00	193.78
B3	192.33	211.33	207.00	204.89
معدل C	187.58	196.25	195.75	
L.S.D	B	C	BC	
	1.90	1.41	2.82	

بينت نتائج جدول 3 تأثير التداخل الثنائي بين نوع اللقاح البكتيري وطريقة تحميله (B×C) إذ بينت النتائج تفوق معاملة اللقاح المزدوج المثبت (B_3C_1) معنوياً على بقية التداخلات الثنائية اذ بلغت 211.33 سم ويعزى سبب ذلك بالدرجة الاساس الى التداخل الايجابي بين البكتريا من جانب ومن جانب اخر يعزى ذلك لكفاءة اللقاح المثبت في زيادة جاهزية الفسفور والمغذيات الأخرى نتيجة إفراز البكتريا للحوامض العضوية التي تعمل على خفض حموضة التربة إذ أن اللقاح المثبت يزيد من الكثافة البكتيرية في وحدة الحجم من التربة نتيجة توفيره البكتريا خلال موسم النمو[11].

وزن 500 حبة

يبين جدول 4 تأثير نوع اللقاح البكتيري اذ تفوقت معاملة اللقاح المزدوج لبكتريا *P. fluorescens* و *B. subtilis* وسجلت 139.30 غم بدون فرق معنوي عن B1و B2 بنسبة زيادة بلغت 6.78% نسبة لمعاملة المقارنة ويعود سبب ذلك الى زيادة كثافة اللقاح بهذه الطريقة مما يؤدي الى زيادة اعداد البكتيريا التي تعمل على زيادة جاهزية العناصر الغذائية في التربة مثل الفسفور والنتروجين والعناصر الصغرى والذي ينعكس إيجابا على الكمية الممتصة في النبات وبالتالي نقل الكربوهيدرات من مناطق صناعتها الى تجميعها في الحبوب اذ ذكر [17] ان اهمية هذه العناصر تأتي من دوره المهم في تحسين نواتج عملية التمثيل الضوئي وسرعة نقل النواتج الى مواقع الخزن كالثمار والحبوب والدرنات اذ انه يسرع عملية تحويل تلك النواتج الى نشأ وبروتينات وزيوت وهذا ما أكده [16]. للأحياء الدقيقة دوراً مهماً في اذابة الصخر الفوسفاتي والمعادن الفوسفاتية غير الذائبة وتجهيز التربة بالفسفور الذائب وذلك من خلال انتاجها للإحماض العضوية [11] او تكوينها للمركبات المخلبية التي لها القدرة على المحافظة على المغذيات الصغرى من الترسيب من خلال خلبها وتكوين معقدات تمنعها من الترسيب [20]

اوضحت النتائج هناك تأثير لطريقة تحميل اللقاح البكتيري في وزن 500 حبة اذ يشير الى تفوق طريقة اللقاح المثبت على باقي المعاملات اذ سجلت 139.11 غم ويعود سبب ذلك لكفاءة اللقاح المثبت في زيادة جاهزية المغذيات مثل الفسفور والنتروجين والمغذيات الصغرى وافرازها لمنظمات النمو مثل الاندول اسيتك اسيد (IAA) والجبرليك اسيد (GAA) وهذا ما اكده [21]، اذ أشار الى إمكانية استخدام تقنية اللقاح المثبت في الترب الفقيرة بالعناصر المغذية اذ استخدم هذه التقنية مع السيانوبكتر التي تقوم بتثبيت النيتروجين الجوي وأوضح ان كرات اللقاح تسلك سلوك السبورات اذ تتحمل الظروف البيئية المتطرفة ومن الممكن ان تبقى نشطة في التربة لثلاث سنوات.

جدول (4) تأثير إضافة القاح الحيوي لبكتريا *Pseudomonas fluorescence* و*Bacillus subtilis* بشكل منفرد ومتداخل وتقنية*تغييد اللقاح* في وزن 500 حبة (غم)

نوع اللقاح البكتيري	**طريقة تحميل اللقاح**			**معدل B**
	C0	**C1**	**C2**	
B0	129.36	131.74	130.26	130.45
B1	135.8	141.43	139.97	138.73
B2	134.18	140.85	139.51	138.18
B3	135.22	142.4	140.29	139.30
معدل C	133.64	139.11	137.13	
L.S.D	B	C	BC	
	1.162	1.007	2.11	

وقد بينت نتائج جدول 4 تأثير التداخل الثنائي بين نوع اللقاح البكتيري وطريقة تحميله (B×C) إذ بينت النتائج تفوق معاملة اللقاح المزدوج المثبت (B_3C_1) معنوياً على بقية التداخلات الثنائية اذ بلغت 142.4 غم ويعزى سبب ذلك بالدرجة الاساس الى التداخل الايجابي بين البكتريا من جانب ومن جانب اخر يعزى ذلك لكفاءة اللقاح المثبت في زيادة كثافة الاحياء البكتيريا المستعملة باللقاح وبالتالي تزداد إفراز البكتريا للحوامض العضوية التي تعمل على خفض حموضة التربة إذ أن اللقاح المثبت يزيد من الكثافة البكتيرية في وحدة الحجم من التربة نتيجة توفيره البكتريا خلال موسم النمو [19] وقد يعزى إلى كفاءة اللقاح المثبت في حماية البكتريا من الظروف البيئية المتطرفة من رطوبة ودرجة الحرارة [21]. وقد يعود سبب ذلك لارتفاع كثافة اللقاح البكتيري الذي سيكون مصدره اللقاح المثبت الذي يحافظ على البكتريا طول موسم النمو نتيجة الاطلاقات المتكررة من البكتريا إلى التربة مما يزيد من فعاليتها في إذابة الفسفور والبوتاسيوم من مصادرهما غير الجاهزة مما ينعكس إيجابا على نمو النبات .

عدد السطور في العرنوص

تبين النتائج الموضحة في جدول 5 الحصول على زيادة معنوية في عدد السطور في العرنوص وبنفس الاتجاه لمعاملة التلقيح المزدوج لبكتريا *P. fluorescens* و *B. subtilis* اذ سجلت 15.22 سطر/ عرنوص وبنسبة زيادة بلغت 13.24% نسبة لمعاملة المقارنة ويعود سبب ذلك لقابلية البكتريا على افراز منظمات النمو مثل الاندول اسيتك اسيد (IAA) والجبريلك اسيد كما لها القدرة على افراز الانزيمات مثل الفوسفاتيز التي لها القدرة على اذابة الفسفور وتحريره من المركبات غير الذائبة والذي ينعكس ايجاباً على نمو النبات [12]. كما لم يلاحظ أي فرق معنوي بين التداخل بين بكتريا *P. fluorescens* و *B. subtilis* مجتمعة وبين بكتريا *P. fluorescens* وهذا يتفق مع ما وجده [5] .

جدول (5) تأثير إضافة القاح الحيوي لبكتريا *Pseudomonas fluorescence* و*Bacillus subtilis* بشكل منفرد ومتداخل وتقنية تقييد اللقاح في عدد سطور العرنوص (سطر/عرنوص)

نوع اللقاح البكتيري	طريقة تحميل اللقاح			معدل B
	C0	C1	C2	
B0	13.33	13.67	13.33	13.44
B1	14.33	15.67	15.00	15.00
B2	14.67	15.00	15.33	15.00
B3	13.33	16.67	15.67	15.22
معدل C	13.75	15.25	15.00	
L.S.D	B	C	BC	
	0.608	0.526	1.053	

تشير نتائج التحليل الاحصائي الى تفوق طريقة اللقاح المثبت والتحميل البنتونايت C1 اذ سجلت 15.25 سطر في حين بلغت معاملة المقارنة 13.75 سطر للعرنوص ويعود سبب ذلك لكفاءة اللقاح المثبت في توفير البكتريا المذيبة للفوسفات على مدار موسم النمو نتيجة تحررها من المركب البوليميري الكالسيوم الجينيت بألية تشابه الية سماد اليوريا المغلفة بالإضافة الى انها تحمي اللقاح البكتيري من الظروف البيئية غير الملائمة [21] ، في حين لم يلاحظ أي فرق معنوي بين طريقة اللقاح المثبت وبين طريقة اللقاح المثبت والتحميل على البنتونايت مجتمعة.

كذلك تبين النتائج الموضحة في جدول 5 الحصول على زيادة معنوية في عدد السطور في العرنوص وبنفس الاتجاه لمعاملة التلقيح المزدوج لبكتريا *P. fluorescens* و *B. subtilis* مع طريقة التحميل على البنتونايت واللقاح المثبت اذ سجلت 16.67 سطر/ عرنوص وبنسبة زيادة بلغت 20.03% نسبة لمعاملة المقارنة.

الوزن الجاف للمجموع الخضري

النتائج الموضحة في جدول 6 تبين تأثير نوع اللقاح البكتيري في الوزن الجاف للنبات إذ أشارت النتائج وبصورة عامة إلى تفوق المعاملات الملقحة (B_1,B_2,B_3) على المعاملة غير الملقحة (B_0) كما تفوق اللقاح الحيوي لبكتريا معاً (B_3) معنوياً وبنسبة زيادة بلغت 7.99% نسبة للمعاملة (B_0) وقد يعود سبب هذه الزيادة إلى عمل الاحياء المجهرية المضافة بآليات وميكانيكيات مختلفة منها إذابة بعض المغذيات من مركباتها غير الذائبة في التربة فضلاً عن إفراز بعض الأحماض العضوية وبعض الهرمونات ومنظمات النمو المؤثرة في انقسام الخلايا وتنشيط نمو النبات و تدعم هذه الإفرازات نمو النبات ومنها زيادة وزنه الجاف وهذا ما

أكده [8] و[22] وما بينه العبيدي(2013) أن تلقيح بذور الذرة الصفراء ببكتريا *Azospirillum SPP* أو *Pseudomonas fluoescence* أدى إلى زيادة تركيز الكلوروفيل والمساحة السطحية الورقية والوزن الخضري الجاف والمحتوى المائي وتحققت افضل النتائج عند استعمال اللقاحين معا.

أشارت نتائج الجدول إلى تأثير طريقة تحميل اللقاح على الوزن الجاف للنبات إذ بينت تفوق طريقة تقييد اللقاح البكتيري (C1)(اللقاح المثبت) على التحميل بالبنتونايت (C0) إذ سجلت 291.48غم.نبات$^{-1}$ ويعزى سبب ذلك لكفاءة اللقاح المثبت في تحرير البكتريا للتربة باستمرار ولمدة اطول وبالتالي زيادة جاهزية المغذيات من خلال إفرازها للأنزيمات ومنظمات النمو وتشجيع نمو النبات من خلال بناء مجموع جذري كثيف إذ أشار [14] إلى أن العديد من انواع الاحياء المجهرية التي تستوطن الرايزوسفير لها المقدرة على تشجيع نمو النبات عندما تضاف إلى البذور والجذور والأوراق وذلك من خلال إفرازها للعديد من المواد المنشطة للنمو [7]. إذ اكد [21] إلى إمكانية استخدام تقنية اللقاح المثبت في الترب الفقيرة بالعناصر المغذية عندما استخدم هذه التقنية مع السيانوبكتريا التي تقوم بتثبيت النيتروجين الجوي وأوضح أن كرات اللقاح تلك تسلك سلوك السبورات إذ تتحمل الظروف البيئية المتطرفة ومن الممكن أن تبقى نشطة في التربة لثلاث سنوات.

جدول (6) تأثير إضافة القاح الحيوي لبكتريا *Pseudomonas fluorescence* و*Bacillus subtilis* بشكل منفرد ومتداخل وتقنية *تقييد اللقاح* في الوزن الجاف للمجموع الخضري (غم.نبات$^{-1}$)

نوع اللقاح البكتيري	طريقة تحميل اللقاح			Mean
	C0	C1	C2	
B0	276.56	276.56	276.90	276.67
B1	283.23	288.90	289.56	287.23
B2	283.90	293.90	289.23	289.01
B3	287.56	306.56	302.23	298.78
Mean	282.81	291.48	289.48	
L.S.D	B	C	BC	
	16.90	14.41	18.82	

بينت نتائج الجدول تأثير التداخل الثنائي لنوع اللقاح البكتيري وطريقة التحميل إذ أشارت لتفوق التداخل بين اللقاح المزدوج للبكتريا طريقة اللقاح المثبت في الوزن الجاف للنبات على بقية المعاملات إذ سجلت 306.56غم.نبات$^{-1}$ وقد يعود سبب ذلك إلى كفاءة اللقاح المثبت في زيادة فعالية الأنزيمات نتيجة حماية اللقاح البكتيري في التربة من الظروف البيئية غير الملائمة وتحرير البكتريا بصورة بطيئة من اللقاح لأطول مدة طول موسم النمو [13] إضافة إلى ذلك زيادة كثافة البكتريا في منطقة الرايزوسفير الى البكتريا المحملة على اللقاح المثبت. وقد يعزى سبب ذلك للتداخل الإيجابي بين جنسي البكتريا إذ نشأت بينهما علاقة تعاون اولي Protocooperation إذ أن البكتريا في التربة تحتاج في نموها إلى واحد أو اكثر من الفيتامينات أو عناصر النمو فتقوم كثير من احياء التربة المجهرية الآخرى بإفراز هذه المواد لكي تستفيد منها البكتريا مما يشجع نموها وازدياد اعدادها الذي يؤثر ايجاباً على فعالية البكتريا وهذا ما أكده [3] إضافة إلى كفاءة اللقاح المثبت في بيئة ملائمة للبكتريا ضد الظروف البيئية المتطرفة من جفاف وارتفاع في درجات الحرارة.

حاصل الحبوب

أشارت النتائج الموضحة في جدول 7 تأثير اللقاح الحيوي في حاصل الحبوب للنبات إذ تفوقت المعاملات الملقحة باللقاح الحيوي على المعاملات غير الملقحة وتفوق اللقاح البكتيري المزدوج لبكتريا *B.subtilis + P.fluorescens* (B_3) وبغض النظر عن طريقة التحميل على معاملة اللقاح المنفرد لنفس البكتريا كلا على حدة (B_1) و (B_2) إذ سجل حاصل حبوب قدره 7.07 (طن . هكتار$^{-1}$) بنسبة زيادة بلغت 13.66% نسبة لمعاملة (B_0) وربما يعود سبب ذلك لفعالية البكتريا معاً في إنتاجها لأنزيم الفوسفاتيز والحوامض العضوية والمعدنية التي تعمل على زيادة جاهزية العناصر الكبرى والصغرى وخاصة البوتاسيوم إذ أشار [3] إلى تحليل المعادن السيلكاتية المحتوية على البوتاسيوم من قبل بكتريا *B.subtilis* و *P.fluorescens* وبالتالي له دور كبير في عملية نقل الكربوهيدرات من مناطق تخليقها إلى منطقة تخزينها في الحبوب [1].

جدول (7) تأثير إضافة القاح الحيوي لبكتريا *Pseudomonas fluorescence* و *Bacillus subtilis* بشكل منفرد ومتداخل وتقنية *تقييد اللقاح* في حاصل الحبوب (ميكاغرام.هكتار$^{-1}$)

نوع اللقاح البكتيري	طريقة تحميل اللقاح			Mean
	C0	C1	C2	
B0	5.92	6.58	6.17	6.22
B1	6.23	6.89	6.48	6.53
B2	6.30	6.96	6.55	6.60
B3	6.77	7.43	7.02	7.07
Mean	6.31	6.97	6.56	
L.S.D	B	C	BC	
	0.35	0.40	0.85	

كما أشارت نتائج الجدول إلى تأثير طريقة تحميل اللقاح في حاصل الحبوب للنبات إذ تفوق التحميل على البنتونايت واللقاح المثبت (C1) وبغض النظر عن نوع البكتريا

من جانب اخر توضح نتائج جدول 7 تأثير نوع اللقاح و طريقة التحميل في حاصل الحبوب إذ تفوقت معاملة تداخل بكتريا *B.subtilis+P.fluorescens* مع طريقة التحميل اللقاح المثبت (B_3 C1) على كافة معاملات التداخل الثنائي الأخرى إذ سجلت حاصل حبوب قدره 7.43 (طن . هكتار$^{-1}$) وبنسبة زيادة بلغت 25.50% وقد يعود سبب ذلك إلى زيادة الفسفور الجاهز في التربة وبالتالي الممتص من النبات لسد حاجة محصول الذرة الصفراء من هذا المغذي لدوره المهم في العمليات الأيضية للنبات وتكوين مركبات الطاقة فضلاً عن تأثيراته المعنوية في عملية الازهار وتكوين الحبوب [15] وآخرون،2010). وقد يعود سبب ذلك إلى تأثير اللقاح المثبت في المحافظة على البكتريا من الظروف البيئية غير الملائمة مثل الجفاف وارتفاع درجة الحرارة مما يوفر اللقاح البكتيري طول موسم النمو وبالتالي ينعكس إيجابياً على النبات[21] .

المصادر

1. **ابو ضاحي، يوسف محمد ومؤيد احمد اليونس. (1988).** دليل تغذية النبات. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جامعة بغداد.
2. **الدليمي، حسن يوسف.1994.** تأثير المادة العضوية (الدبال) والاحياء المذيبة للفوسفات على جاهزية الفسفور من صخر عكاشات الفوسفاتي لنبات الحنطة. مجلة العلوم الزراعية العراقية 25(2):94-100.
3. **الراشدي، راضي كاظم(1988).** احياء التربة المجهرية. وزارة التعليم العالي
4. **الصيفاط، لطيفة الصيفاط 2012.** التسميد الحيوي ودوره في تقليل مشاكل تلوث المياه بالأسمدة الكيميائية. كلية الموارد الطبيعية وعلوم البيئة – جامعة عمر المختار-البيضاء – ليبيا.
5. **الطائي، رند عبد الهادي غزال .2005.** دراسة كفاءة بعض الأجناس البكتيرية والفطرية المعزولة من مناطق الجذور في إذابة الصخر الفوسفاتي. رسالة ماجستير. كلية الزراعة والغابات. جامعة الموصل.

References

6. **Babana, A. H. (2003).** Mise au Point d'un inoculant biologique pour le ble' irrigue du Mail. Facult. Des. Sciences del Agriculture Et. DeL'Alimentation.
7. **Bashan,Y., Holguin,G. and Lifshitz,R. (1993).** Isolation and characterization of plant growth promoting rhizobacteria . In: "Methodes in plant Molecular Biology and Biotechnology. Glick,B.R., and Thompson (eds)CRC Press, Boca Raton . USA:331 .
8. **Bottini, R.; F. Cassan; P. Piccoli. (2004).** Gibberellin production by bacteria and its involvement in plant growth promotion and yield increase.

Soil Science , Soil Solutions for Changing World. 1-6 August , Brisbane , Australia.

16. **Member, U.K.C. 2004**. Key for sick plants. File:\\ UK. Cultivator (internet).
17. **Mengel, K. and E.A. Kirkby. 1987**. Principles of plant Nutrition. 4th Edition. International potash institute, IPI, Berr, Switzerland, and 685 p.
18. **Schoebit Z,M, Simonin,H.,Poncelet,D.(2012).**Stra ch filler and osmoprotectants improve thesurvival of rhizobacteria in dried alginate beads.J.Microencapsul. 29,P 532-538.
19. **Schoebitz, M.; C. Ceballos and L. Ciampi (2013).** Effect of immobilized phosphate solubilizing bacteria on wheat growth and phosphate uptake. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 2013, 13 (1), 1-10.
20. **Sibanda, H. M., and S. D. Young (1986).** Competitive Adsorption of Humus Acids and Phosphate on Goethite, Gibbsite, and Two Tropical Soils. J. Soil Sci. 37: 197-204.
21. **Syiem, Mayashree B.(2005).** Entrapped cyanobacteria: Implications for biotechnology .Indian journal biotechnology.Vol.4(2).P 209-215.
22. **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.

Applied Microbiology and Biotechnology, 65 : 497-503.

9. **Datta, M, S. Banik and K. R. Dhiman (2002).** Efficacy of A Phosphobactrium(Bacillus firmus) in Combination with Phosphates and Organics on Rice Productivity in Acid Soils. 17th WCSS 14-21 August Symposium No. 16 Thailand
10. **Dommergues, Y. and Mangenot, F. 1970**. Ecologie Microbienne du sol.
11. **Illmer, P. and F. Schinner, (1992).** Solubilization of Inorganic Phosphate by Microorganisms Isolated from Forest Soils. Soil Biol. Biochem., **24**:389-395.
12. **Khan,S.M., A. Zaidi and P.A. Wani.2006**. Role of phosphate-solubilizing microorganisms in sustainable agriculture.INRA, EDPSciences, Agron.Sustain. Dev.27,29-43
13. **Kim, K.Y. D. ; D. Jordan and G.A. McDonald . (2012).** Solubilization of hydroxyapatite by Entrobacter agglomerans and cloned Esherichia coli in culture medium , Biol. Fert. Soils, 24 : 347-352.
14. **Klopper,J.W., Schroth,M.N. and Miller,T.D. (1988).** Effect of rhizosphere colonization by plant growth-promoting rhizobacteria on potato plant development and yield phytopathol. 70 : 1078-1082.
15. **Marschner , P. ; Crowley , D. and Z. Rengel . (2010).** Interactions between rhizosphere microorganisms and plants governing iron and phosphours availability . World Congress of