تأثير البكتريا *Bacillus subtilus* و *Bacillus pumilus* و *Pseudomonas fluorescens* في معايير نمو وإنبات نبات الطماطة *(Lycopersicon esculentum Mill)*

علي جبار عبد السادة* حميد علي هدوان** فالح حسن سعيد*
أسامة عبدالله علوان* هادي مهدي عبود*

الملخص

تمت دراسة تأثير أنواع من البكتريا هي : *Bacillus subtilus* و *Bacillus pumilus* و *Pseudomonas fluorescens* في تحفيز إنبات بذور ونمو بادرات الطماطة *Lycopersicon esculentum Mill.* . أظهرت النتائج أن أنواع البكتريا جميعها أحدثت أختزالا معنويا في المدة اللازمة للإنبات وزيادة النسبة المئوية للبذور النامية التي سجلت (7، 8، 9) أيام، (75,80,85) % للبكتريا *Bacillus subtilus* و *Bacillus pumilus* و *Pseudomonas fluorescens* وعلى التوالي، بينما سجلت معاملة المقارنة (12 يوما، 50% انبات. احدثت الانواع البكتيرية الثلاثة زيادة معنوية في معايير النمو المختبرة من حيث:

طول الجذر، عدد الاوراق، طول الساق، الوزن الطري للمجموع الخضري، الوزن الطري للمجموع الجذري، الوزن الجاف للمجموع الخضري، الوزن الجاف للمجموع الجذري ، المساحة الورقية، نسبة الكلوروفيل اذ بلغت (5.00، 3.66، 2.00) سم، (21.00، 18.66، 15.00) ورقة ، (11.00، 9.66 ، 7.00) سم، (31.76، 24.40، 18.50) غم، (7.00 ، 5.66 ، 3.16) غم، (2.08، 1.20 ، 1.05)غم، (0.57 ، 0.45، 0.23) غم، (6.23، 4.75، 3.11) سم^2/نبات، (19.10، 16.33، 11.30) ملغم/غم على معاملة المقارنة التي سجلت (1.00) سم ، (3.33) ورقة، (2.33) سم (1.53 ، 0.88، 0.09 ، 0.06) غم ، (1.10) سم^2/نبات، (4.06) ملغم/غم على التوالي.

أظهرت النتائج كذلك تفوق البكتريا *Bacillus subtilus* على كل من *Bacillus pumilus* و *Pseudomonas fluorescens* ولمعايير النمو المدروسة وجميعها.

المقدمة

تعد الطماطة *Lycopersicon esculentum* Mill. من محاصيل الخضراوات الواسعة الانتشار في القطر لأهميتها الغذائية الكبيرة واستعمالها الواسع اما طازجة أو بشكل عصائر او في الطبخ، وكذلك تعد المحصول الشعبي في مناطق العالم كله المحمدي (2). وتعد التغذية الارضية للمحاصيل الزراعية من اهم اسس الانتاج الزراعي وحفظ حياة النبات ابو ضاحي (1) اذ أن سبب ضعف الحاصل قد يعود الى ضعف العمليات الزراعية او استخدام تراكيب وراثية (اصناف) ذات انتاجية واطئة. ولعل من بين اهم العمليات الزراعية الاهتمام بتسميد المحصول لتحسين النمو الخضري وزيادة الانتاج إثناء مدة زمنية قصيرة، يحتاج محصول الطماطة الى نسبة عالية من الأسمدة الفوسفاتية قد تصل الى 312 كغم/دونم من السماد السوبر فوسفات حسن (3). الأحياء الدقيقة ومنها البكتريا تتبادل المنفعة بينها وبين النبات إذ تجهز النبات بما يحتاج اليه من مغذيات وبالمقابل تحصل على ماتحتاج اليه من النبات وبكميات محدودة هذا بالاضافة الى انها تؤدي عملاً مهماً كعامل مقاومة حيوية ضد احياء التربة الممرضة للنبات اما بشكل مباشر من خلال مهاجمة المسبب المرضي او من خلال زيادة قوة النبات وبالتالي زيادة قدرته على التحمل Whitelaw (22). هناك العديد من الأجناس والأنواع من البكتريا التي تعمل على تحفيز النمو في النبات ومن أهم هذه الأنواع بكتريا *Pseudomonas.* Fluorescens و *Bacillus* subtilus التي تم استخدامها بنجاح كمخصبات حيوية مع العديد من المحاصيل

*وزارة العلوم والتكنولوجيا – بغداد، العراق.
**وزارة الزراعة – بغداد، العراق.

الإستراتيجية المهمة حيث أدت إلى زيادة كبيرة في معايير النمو والانتاجية بشكل واضح عند تلقيح بذور الحمص بها بالاضافة الى زيادة قدرة النبات على مقاومة الامراض التي تنتج عن احياء التربة الضارة المختلفة Zaid (24) . ان اضافة احياء التربة كمخصبات حيوية عند زراعة بذور نبات الباقلاء في الحقل ادى الى زيادة معنوية في معايير نمو النبات والحاصل الكلي وزيادة المركبات الكيميائية المهمة داخل انسجة النبات المختلفة Saad (18) و Abdalla (4) ان اضافة احياء التربة كمخصبات حيوية ومنها *Bacillus* subtilus و *Pseudomonas* fluorescens عند زراعة الخيار في البيوت الزجاجية ادى وبشكل كبير الى تحسين خواص التربة الفيزيائية والكيميائية كخفض الـpH والـEc وكذلك زيادة محتوى التربة من المادة العضوية وزيادة جاهزية العناصر المعدنية المغذية للنباتات النامية Buringh (6)، (13) وRizk (17). وبما ان المساحة المزروعة بهذا المحصول كبيرة ومتباينة من حيث النسجة والخصوبة وقد تفتقر الى بعض العناصر الغذائية التي تعاني من قلة مخزونها من العناصر المغذية Burleigh (7) فقد أعدت هذه الدراسة لدراسة تأثير ثلاثة أنواع من المخصبات البكتيرية وهي *Bacillus subtilus* و *Bacillus pumilus* و *Pseudomonas fluorescens* في نمو بذور وانبات نبات الطماطة تحت ظروف الزراعة المحمية.

المواد وطرائق البحث

أجريت هذه الدراسة تحت ظروف الزراعة المحمية التابعة الى دائرة البحوث الزراعية / وزارة العلوم والتكنولوجيا لمعرفة كفاءة البكتريا *Bacillus* subtilus و*Bacillus* pumilus و *Pseudomonas* fluorescens في تحفيز إنبات بذور ونمو بادرات الطماطة. تم الحصول على المخصبات البكتيرية الثلاثة على شكل مسحوق جاف جاهز من مختبر الدكتور Rajan في الهند عن طريق وزارة الزراعة/مركز الزراعة العضوية وحسب التوصية المرافقة للعبوات الثلاث تتم إضافة اللقاح البكتيري بواقع 1غم/ 1كغم وسط زراعة (تربة مزيجية وبتموس بنسبة 1:1) حيث تم تعقيم وسط الزراعة بجهاز الموصدة Autoclave لمدة 60 دقيقة وليومين متتاليين وبعد ذلك تم توزيعها على أصص بلاستيكة سعة 3 كغم التي لقحت بمسحوق البكتريا الجاف بمقدار 1غم/كغم وبواقع أربع معاملات وكررت كل معاملة ثلاث مكررت بعدها تحت تغطية اللقاح بطبقة خفيفة من التربة ، وتمت عملية الري بعد مرور ثلاثة أيام ثم زرعت 20 بذرة من الطماطة لكل أصيص ووزعت الأصص حسب تصميم القطاعات العشوائية الكاملة (CRBD) داخل الظلة وجرت عملية الري ومتابعة التجربة لحساب المدة اللازمة للانبات والنسبة المئوية للبذور النامية وبعد أربعة أسابيع من الزراعة أخذت قياسات طول الجذر ،عدد الاوراق، طول الساق ، الوزن الطري للمجموع الخضري ، الوزن الطري للمجموع الجذري ، الوزن الجاف للمجموع الخضري ، الوزن الجاف للمجموع الجذري ، المساحة الورقية ونسبة الكلوروفيل.

قدر تركيز الكلوروفيل في الأوراق بإتباع طريقة Agarwal (5) التي تتخلص بما يلي: تم وزن 0.25 غم من النسيج الطري للورقة الثالثة للنباتات وأضيف له 25سم^3 من مزيج الأسيتون والايثانول بنسبة 4: 1(حجم:حجم) على التوالي . وحضن الأنموذج في حاضنة بظروف الظلام على درجة 25 – 30مْ لمدة 24 ساعة بعدها جمع المستخلص وأعيدت عملية الاستخلاص مرتين بإضافة 25سم^3 من مزيج الأسيتون والايثانول في المرة الأولى، 10سم^3 في المزيج نفسه في المرة الثانية. جمع المستخلص الناتج من عمليات الاستخلاص الثلاثة ليصل الحجم إلى 60سم^3. قيست الكثافة الضوئية (Optical density) على قيمتين من الطول الموجي مقدارهما 663، 645نانوميتر باستخدام مطياف الأشعة فوق البنفسجية (Spectrophotometer CE 292 Digital Ultraviolet). وبعد ذلك قدر تركيز الكلوروفيل من جمع التركيزين (أ وب) باستخدام المعادلتين التاليتين التي وضعت من قبل Mac-Kinney (15).

ملغم كلوروفيل أ /غم نسيج = 12.7× ك 663 – 2.29 × ك 645 ×ح/و × 1000

ملغم كلوروفيل ب/غم نسيج = 22.9× ك 645 – 4.68 × ك 663 × ح/و × 1000

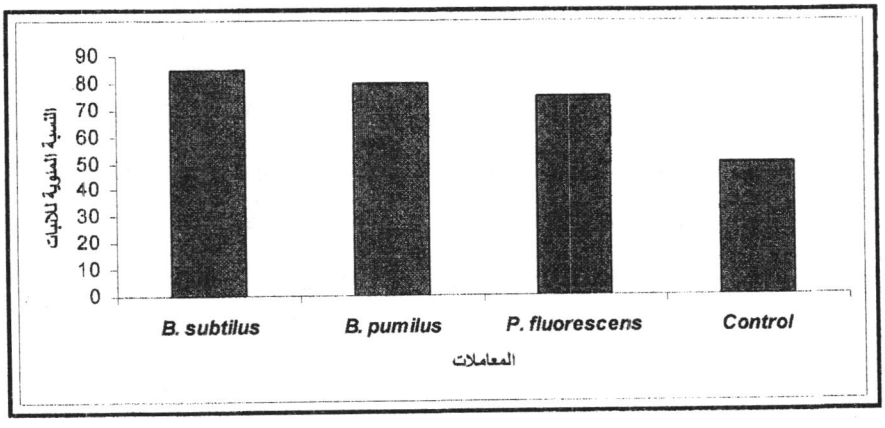
حيث: و = وزن النسيج الطري؛ ح = الحجم النهائي للمحلول المستخلص؛ ك = الكثافة الضوئية

فيما قيست المساحة الورقية الكلية للنبات (سم^2/نبات) بأختيار خمسة نباتات بصورة عشوائية من كل وحدة تجريبية، واخذ قياس خمس أوراق لكل نبات باتجاه واحد وبأوقات متقاربة من النهار باستعمال جهاز قياس المساحة الورقية المتنق **Portable leaf area meter** (16)وبعد حساب معدل قراءات الجهاز لكل معاملة ضرب الناتج في عدد أوراق كل نبات **Tekalign** (20).

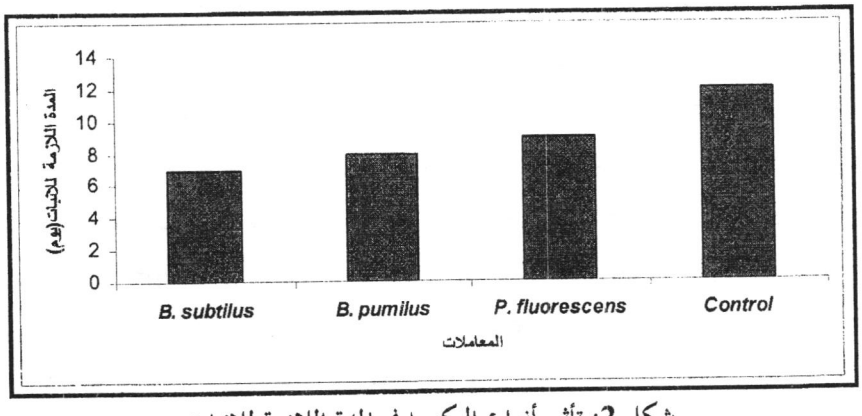
النتائج والمناقشة

أظهرت نتائج دراسة تأثير ثلاث معاملات من المخصبات البكتيرية وهي ***Bacillus*** **subtilus** و ***Bacillus*** **pumilus** و***Pseudomonas*** **fluorescens** عند زراعة وانبات بذور ونمو نبات الطماطة ان هناك تباين في تـأثير البكتريا على نمو النبات حسب نوع البكتريا ومعايير النمو المدروسة.

فقد أظهرت النتائج تفوقا معنويا للانواع الثلاثة من البكتريا المستخدمة في هذه الدراسة عند أضـافة 1غـم لقاح بكتيري/كغم وسط زراعة في أختزال المدة اللازمة للانبات اذ بلغت (7، 8، 9) أيام، وزيادة النسبة المئوية للانبات (85، 80، 75) % بالمقارنة مع معاملة المقارنة التي سجلت مدة الانبات فيها (12) يوماً ونـسبة الإنبـات (50 %) على التوالي (شكلين 1 و2) .



شكل 1: تأثير أنواع البكتريا في النسبة المئوية للإنبات.



شكل 2: تأثير أنواع البكتريا في المدة اللازمة للإنبات.

وبالمقابل لوحظ تفوق معنوي عند استخدام البكتريا ***Bacillus* subtilus** بالمقارنة مع النوعين الاخرين في أختزال المدة اللازمة للانبات وزيادة النسبة المئوية للانبات. وكذلك أظهرت النتائج تفوق ألانواع الثلاثة من البكتريا المدروسة ***Bacillus* subtilus** و***Bacillus* pumilus** و***Pseudomonas* fluorescens** معنوياً في احداث أعلى زيادة في معايير النمو التالية : طول الجذر، عدد الاوراق ، طول الساق، الوزن الطري للمجموع الخضري، الوزن الطري للمجموع الجذري،الوزن الجاف للمجموع الخضري، الوزن الجاف للمجموع الجذري، المساحة الورقية، نسبة الكلوروفيل اذ بلغت (5، 3.66، 2)سم (21، 18.66، 15) ورقة، (11 ،9.66، 7)سم (31.76 , 24.4 ,18.5)غم (7.0, 5.66, 3.16)غم (2.08, 1.20 1.05)غم (0.57, 0.45, 0.23) غم (6.23, 4.75, 3.11) سم^2/نبات (19.10 ، 16.33 ، 11.3) ملغم/غم على معاملة المقارنة التي سجلت (1.00)سم ، (3.33) ورقة (2.33) سم، (1.53, 0.88, 0.09, 0.06) غم (1.10) سم^2/نبات، (4.06) ملغم/غم على التوالي. ومن النتائج المذكورة انفاً فأن ***Bacillus* subtilus** أحدثت هذه الدراسة أعلى زيادة في المدة اللازمة للانبات والنسبة المئوية للانبات ومعايير النمو المدروسة جميعها (جدولين 1 و2).

جدول 1: تأثير ثلاثة أنواع من البكتريا في تحفيز نمو نبات الطماطة

المعاملات	الوزن الطري (غم)		الوزن الجاف (غم)		طول الساق (سم)	طول الجذر (سم)	عدد الأوراق
	الخضري	الجذري	الخضري	الجذري			
B. subtilus	31.76	7.0	2.08	0.57	11.00	5.00	21.00
B. pumilus	24.4	5.66	1.20	0.45	9.66	3.66	18.66
P. fluoresce	18.5	3.16	1.05	0.23	7.00	2.00	15.00
Control	1.53	0.88	0.09	0.06	2.33	1.00	3.33
LSD	1.33	0.48	0.08	0.10	1.26	1.37	0.87

جدول 2: تأثير ثلاثة أنواع من البكتيريا في المساحة الورقية ونسبة الكلوروفيل لنبات الطماطة

المعاملات	المساحة الورقية(سم^2)	نسبة الكلوروفيل(ملغم/غم)
B. subtilus	6.23	19.10
B. pumilus	4.75	16.33
P. fluorescens	3.11	11.30
Control	1.10	4.06
LSD	0.25	0.66

تتفق النتائج التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة مع الكثير من الدراسات السابقة حيث ان البكتريا تؤدي عملاً مهما في تشجيع النبات على النمو من خلال تحفيز الجذور على افراز بعض الهرمونات المحفزة لنمو النبات Erturk (9) وTorres (21). تتفق هذه النتائج بمجملها مع ما أشار اليه العديد من الباحثين الذين استخدموا احياء التربة كمخصبات حيوية حيث وجد Sharma وجماعته (19) ان معاملة بذور الذرة ببكتريا ***Pseudomonas fluorescens***، وبكتريا ***Bacillus megaterium*** اديا الى إحداث زيادة معنوية في ارتفاع النباتات وقد ارجعوا السبب الى ان وجود هذه الأحياء النافعة يؤدي الى اذابة الفسفور الذي من جانبه يؤدي عملاً كبيراً في نمو وتطور النبات. الكائنات المجهرية ومنها البكتريا وخصوصا ***Bacillus* subtilus** مكون مهم في التربة إذ تؤدي هذه الأحياء عملاً مهماً من خلال وجودها في وسط التربة فهي تقوم بتحليل المواد العضوية الى مواد يستطيع النبات الاستفادة منها وكذلك زيادة حركة العناصر المعدنية وخزنها واطلاقها بالاضافة الى نقل الماء وتثبيت النايتروجين وإطلاق الفسفور من المركبات المعقدة وجعله بصيغة قابلة للامتصاص من قبل النبات فضلا عن العديد من العناصر المعدنية الاخرى، اشارت دراسات عدة الى ان بكتريا ***Bacillus subtilius*** لها قدرة كبيرة على تحفيز نمو النباتات

التي تمت إضافة هذه البكتريا الى بذورها عند الزراعة Iucas (13). ان لبكتريا *Bacillus subtilius* تأثير كبير في بيئة الجذور بشكل كبير وذلك من خلال تثبيطها لنمو الكائنات الحية المجهرية الممرضة للنبات وكذلك زيادة جاهزية العناصر المغذية للنباتات الموجودة مع جذورها Charest (8). كما أن بعض بكتريا التربة تؤدي عملاً كبيرا في مختلف الدورات البايوجيوكيميائية وتكون مسؤولة عن تدوير المركبات العضويةKlironomes (14) . كما وتؤثر البكتريا ومن ضمنها *Bacillus* subtilus في تغذية وصحة النبات من خلال تحسين نمو النبات وجعله مقاوماً للكثير من المسببات المرضية Filion (11). وتركيب وخصوبة التربة من خلال أفراز حوامض عضوية تحلل المادة العضوية في التربة (23). وقد وجد ان بعض أنواع البكتريا ومنها *Bacillus* subtilus تنتج عدداً كبيراً من المواد الايضية المحفزة لنمو النبات والمثبطة لنمو العديد من المسببات المرضية Fatima (10) و Harbi (12) ولاحظ Filion(11) ان البكتريا تنتج كمية من اندول استيك اسيد (IAA). الذي يسبب زيادة في تفرعات الجذر وبالتالي زيادة الكتلة الحيوية له.

المصادر

1- ابو ضاحي، يوسف محمد (1989). تغذية النبات العملي. جامعة بغداد. بيت الحكمة. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي.

2- المحمدي، فاضل مصلح وعبد الجبار جاسم (1989). انتاج الخضر ، دار الحكمة ، جامعة بغداد ، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي.

3- حسن، احمد عبد المنعم (1998). الطماطة تكنولوجية الانتاج والفسيلوجية والممارسات الزراعية والحصاد والتخزين. الدار العربية للنشر والتوزيع. القاهرة ، جمهورية مصر العربية.

4- **Abdalla, A. M. (2002). Effect of bio mineral phosphorus fertilizer on the growth, productivity regard and nutritional value of faba bean. Egypt. J. Hort., 29 (2): 187 – 203.**

5- **Agarwal, R. M.; R. R. Das and R. A. S. Chauhan (1986). Growth of Vigna unguiculates L. var GWL. K 3Bin Sub-optimnl moisture condition as influenced by certnin anti transpirants. Plant and Soil, 91:31 - 42.**

6- **Buringh, D. P. (1960).Soils and Soil Condition in Iraq. Printed in Netherlands by Veenman and Zonen. N.V. Wageningen.**

7- **Burleigh, S. H.; T. Cavagnaro and I. Jakobsen (2002). Functional diversity of arbuscular mycorrhizas extends to the expression of plant genes involved in P nutrition.J. EXP. Bot., 53(374):1593-1601.**

8- **Charest, M. H.; C. J. Beauchamp and H. Antoun (2005). FEMS Microbiology Ecology, 52:219-227.**

9- **Erturk, Y. Sezai Ercisli Ayhan Haznedar and C. Ramaza (2010) Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on rooting and root growth of kiwifruit (Actinidia deliciosa) stem cuttings. Bio. Res., 43:91-98.**

10- **Fatima Z.; M. Saleemi ; Z. Muhammad; T. Sultan; M. Aslam, Riaz-Ur-Rehman, M. Fayyaz Chaudhary (2009). Antifungal activity of plant growth-promoting rhizobacterial isolates against Rhizoctonia solani in wheat. African J. of Bio., 8(2):219-225.**

11 **Filion, M.; M. St-Arnand and J. A. Fortin (1999). Irectraction between the arbuseulaer Mycorrhizel Fungus Glumus intrarad and different rhizosphere microorganisms. New phytol., 141:525 – 533.**

12- Harbi, A. R.; A. A. Alsadon and S. O. Khalil (1996). Influence of training system and growing media on growth and yield of cucumber cultivars. Alex. J Agric. Res., 41(3):355 – 365

13- Iucas garcia,J. A.;J.;C.;M.;A.;. and Gutierrez Manero,F. J. (2004). Environmental and Experimental Botany,52(3):239-251.

14- Klironomes , J.N.; H. Lee and J.T.Trevors .(2004). Methods of studying soil microbial diversity .J. Microbio.Methods .,58:169-188.

15- Mac-Kinney, G. (1941). Absorttion of light by chlorophyll solution. Biol.Chem., 140: 315-322.

16- Portable leaf area meter CI-202. (2008). 490/NW Comas meadows drive, Camas, WA 98607. USA.

17- Rizk, F. A. and M. R. Shafeek, (2000). Response of growth and yield of Vicia faba plants to foliar and bio-fertilizers. Egypt. J. Appl. Sci., 15(12): 652 – 670

18- Saad, E. M., (1999). Effect of some organic manures and microelements on greenhouse cucumber. B. Sc. Thesis, Agricultural Fac. Cairo Univ sp.

19- Sharma,K.;I.;Dak,G.1,Agrawal,AM.;,Bhatnagar,2and Sharma,R,(2007).Effect of phosphate solubilizing bacteria on the germination of cicer arietinum seeds and seedling growth . Journal of Herbal Medicine and Toxicology, 1(1) 61-63

20- Tekalign, T and S.P. Hammes. (2005). Growth and biomass production in potato grown in the hot tropics as influenced by paclobut razel. Plant Growth Regulation. Springer Netherland, 45(1): 37-46.

21- Torres- Rubio , M G. ; S.A. Valencia-plata; J.B. Casstillo and Martinez-Nieto (2000). Isolation of enterobacteria, Azotobacter sp. and Pseudomonas sp., Produucers of indole-3-acetic acid and siderophores from Colombian rice rhizosphere. (Abstract). Revista Latin Americana de Microbiologia., 42:171-176.

22- Whitelaw, MA. (2000). Growth promotion of plants inoculated with phosphate solubilizing fungi. In: Advances in Agronomy (Donald L. Sparks, ed.), Academic Press., 69: 99-151.

23- Yao, H.; Z. H. M. J. Wilson and C. D. Campbell (2000). Microbial biomass and communites structure in a sequence of soils with increasing fertility and changing land use. Microb. Ecol., 40:223 – 237.

24- Zaidi A, Khan MS, Amil M (2003) Interactive effect of rhizotrophic microorganisms on yield and nutrient uptake of chickpea (Cicer arietinum L.). Eur J. Agron., 19(21): 15-21

Iraqi J. Agric. Res. (Special Issue) Vol.16 No.3 2011

EFFECT OF *Bacillus subtilus* AND *Bacillus pumilus* AND *Pseudomons fluoresens* IN PROMOTING TOMATO SEEDS GERMINATION AND SEEDLING GROWTH

A. J. Abdulsada* H. A. Hadwan** F. H. Saeed*
U. A. Alwan* H. M. Aboud*

ABSTRACT

Three Bacteria: *Bacillus subtilus*, *Bacillus pumilus* and Pseudomons fluoresens were used as soil treatment throughout this study to determine their effect on tomato seeds germination and seeding growth. This results showed that all tested Bacteria induced significant reduction in the period required for seeds germination and increment of percentage of seeds germination, which recorded (7, 8, 9) days and (85, 80, 75)% for *Bacillus subtilus*, *Bacillus pumilus* and Pseudomons fluoresens respectively, while control treatment recorded (12) day and (50)%. The three tested Bacteria induced significant increment in all tested growth parameters : root length, number of leaves, stem length, fresh weight of shoot, fresh weight of root, leaf area and total chlorphyl which recorded (5.00, 3.66, 2.00) cm, (21.00, 18.66, 15.00) leaf, (11.00, 9.66, 7.00) cm, (31.76, 24.40, 18.50) gm, (700, 5.66, 3.16) gm, (2.08, 1.20, 1.05) gm, (0.57, 0.45, 0.23) gm , (6.23, 4.75, 3.11)cm^2/ plant, (19.10, 16.33, 11.30) mg/gm as compared to control treatment which recorded (1) cm, (3.33) leaf, (2.33)cm, (1.53, 0.88, 0.09, 0.06) gm, (1.10) cm^2/plant, (4.06) mg/gm respectively. The results also showed that *Bacillus Bacillus* subtilus was superior than *Bacillus pumilus* and *Pseudomons fluoresens* for all tested growth parameters.

* Ministry of Sci. and Tech. - Baghdad, Iraq.
** Ministry of Agric. – Baghdad, Iraq.