



The Ninth International Scientific Academic Conference  
Under the Title "Contemporary trends in social, human, and natural sciences"

المؤتمر العلمي الاكاديمي الدولي التاسع

تحت عنوان "الاتجاهات المعاصرة في العلوم الاجتماعية، الانسانية، والطبيعية"

17 - 18 يوليو - تموز 2018 - اسطنبول - تركيا

<http://kmshare.net/isac2018/>

---

## Effect of inoculation with local isolates of *Pseudomonas* bacteria on some growth traits of corn in gypsiferous soil

A. E. S. Alkurtany\*

K. K. Khalil

\* Department of Soil Science and Water Resources, College of Agriculture, University of Tikrit, Iraq  
[abdulkareemalkurtany@gmail.com](mailto:abdulkareemalkurtany@gmail.com)

**Abstract** : Field experiment in gypsiferous soil was conducted to study the effect of inoculation with local isolates of *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida* and *Pseudomonas cepacia* which are efficient in production of indole acetic acid, phosphate solubilizing and Siderophores on some growth traits of *Zea mays* L., the results showed that the uniea inoculation treatment with *P. fluorescens* gave the high value followed by *P. putida* treatment and then *P. cepacia* with percentage increases of these treatment compared to control treatment were (184.91 , 165.59 , 159.44%) for the weight of the shoot , (129.92 , 120.66 , 110.33%) for the weight of root, (16.24 , 14.14 , 11.10%) for the concentration of chlorophyll in the leaves, and (41.88 , 38.46 , 34.18%) , (45 , 40 , 35%) , (33.19 , 29.78 , 25.53%) for nitrogen, phosphorus and potassium concentration respectively ,and (304 , 267.63 , 248.74%) (316 , 279.42 , 249.45%) , (280 , 245.69 , 226.24%) for the amount of nitrogen phosphorus and potassium uptake respectively, the results showed that the best treatment of dual inoculation was *P. fluorescens* + *P. putida* which excelled on others dual inoculation treatments and all uniea inoculation treatments, the results showed that the treatment of triple inoculation with *P. fluorescens* + *P. putida* + *P. cepacia* had achieved the highest results and excelled at all inoculation treatments with percentage increase in comparison with control treatment were (217.86, 162.54%) for the weight of the total shoot and root sequentially, and (58.76%) for the concentration of chlorophyll in the leaves, and (79.48, 105, 64.2%), and (479.81, 551.3, 430.7%) for the concentration and amount of NPK uptake in vegetative part of corn respectively

Key words : PGPR, Inoculation, *Zea mays*, Gypsiferous soil.



## تأثير التلقيح بثلاث عزلات محلية من بكتريا *Pseudomonas* في بعض صفات النمو للذرة الصفراء في تربة جيبسيه

عبدالكريم عريبي سبع الكرطاني\* خليل خالد خليل

\* قسم علوم التربة والموارد المائية، كلية الزراعة، جامعة تكريت، العراق، البريد الإلكتروني [abdulkareemalkurtany@gmail.com](mailto:abdulkareemalkurtany@gmail.com)

### الملخص

اجريت تجربة حقلية في تربة جيبسيه لدراسة تأثير التلقيح بثلاث عزلات محلية عائدة لبكتريا *Pseudomonas fluorescens* و *Pseudomonas putida* و بكتريا *Pseudomonas cepacia* الكفوة في انتاج الاندول حامض الخليك واذابة الفوسفات و انتاج المركبات الخالبة للحديد في بعض معايير النمو لنبات الذرة الصفراء في تربة جيبسيه. وأظهرت نتائج التجربة تفوق معاملة التلقيح المنفرد ببكتريا *P. fluorescens* معنوياً على معاملة التلقيح ببكتريا *P. putida* والتي تفوقت على معاملة التلقيح ببكتريا *P. cepacia* وكانت الزيادة المئوية بسبب معاملة التلقيح المنفرد بهذه الأنواع الثلاث على المعاملة غير الملقحة في وزن المجموع الخضري والجذري (184.91 , 165.59 , 159.44%) و (120.66 , 129.92 , 110.33%) ، وفي تركيز اليخضور في الأوراق (16.24 , 14.14 , 11.10%) ، وفي تركيز النيتروجين والفسفور والبوتاسيوم في المجموع الخضري (34.18 , 38.46 , 41.88%) ، (35 , 40 , 45%) ، (25.53 , 29.78 , 33.19%) وفي الكمية الممتصة من هذه العناصر (304 , 267.63 , 248.74%) ، (249.45 , 279.42 , 316%) ، (226.24 , 245.69 , 280%) على التتابع. وقد تبين بان أفضل تداخل ثنائي كان بين بكتريا *P. putida* + *P. fluorescens* إذ تفوقت على جميع معاملات التلقيح المنفرد وعلى معاملي التلقيح الثنائي ، وقد أظهرت النتائج بأن معاملة التلقيح الثلاثي *P. fluorescens* + *P. putida* + *P. cepacia* قد حققت أعلى النتائج وتفوقت على جميع معاملات التلقيح المنفرد والثنائي وكانت الزيادة المئوية بسبب التلقيح الثلاثي مقارنة بمعاملة المقارنة (162.54 , 217.86%) في وزن المجموع الخضري والجذري على التتابع ، و(58.76%) في تركيز اليخضور في الأوراق ، و(64.2 , 105 , 79.48%) و (430.7 , 551.3 , 479.81%) في تركيز و الكمية الممتصة من العناصر K P N في الجزء الخضري على التتابع.

الكلمات المفتاحية : البكتيريا المحيطة بالجذور المشجعة لنمو النبات ، التلقيح ، الذرة الصفراء ، التربة الجيبسية

### المقدمة

في العقدين الاخيرين ظهرت التقنية الحيوية البيئية التي تستغل فعاليات البكتريا المحيطة بجذور النباتات المشجعة لنمو النبات (PGPR) *Plant growth-promoting rhizobacteria* والتي لاقت اهتماماً واسعاً للحد من استعمال الجرعات المفرطة من الأسمدة الكيميائية، ويمكن أن تقيم إحدى استراتيجيات الإدارة المتكاملة في الزراعة (Adesemoye وآخرون ، 2009). وتعرف البكتريا المشجعة لنمو النبات (PGPR) بانها مجموعة من البكتريا التي تستطيع استعمار المنطقة الجذرية وتشجع نمو النبات وحاصله عند إضافتها إلى البذور أو الجذور أو الدرنات وتزيد من نمو النبات والحاصل (We وآخرون ، 2005) ، وأن الآليات التي بوساطتها تشجع بكتريا (PGPR) نمو النبات هي انتاج الهرمونات النباتية وتثبيت النيتروجين وإذابة الفوسفات وخلق الحديد (Islam وآخرون ، 2009) . وتعد بكتريا *Pseudomonas* اهم الأجناس البكتيرية المشجعة لنمو النبات التي نالت اهتماماً واسعاً وأثبتت قدرتها على انتاج الهرمونات النباتية وإذابة الفوسفات وخلق الحديد ومقاومة الممرضات النباتية (خليل والكرطاني ، 2018 ، والكرطاني وآخرون



( 2018 ) ، وأثبتت البحوث أنّ التلقيح بكل من بكتريا *P. fluorescens* وبكتريا *P. putida* أدى إلى تحسين نمو نبات الكانولا (Glick وآخرون، 1997) والحنطة والبطاطا (Frommel وآخرون ، 1993) والذرة الصفراء (الدوري و الكرطاني ، 2018 ، الكرطاني وآخرون ، 2018 ) تحسين نمو الذرة الصفراء النامية في تربة جيسية.

### المواد وطرائق العمل

#### اختيار العزلة المستخدمة في التجربة

اختيرت عزلة KH-K12 من مجموع إحدى عشرة عزلة تعود للنوع *P. putida* المعزولة من المحيط الجذري rhizosphere لنبات الذرة الصفراء وعزلة KH-K13 من مجموع ست عزلات تعود للنوع *P. fluorescens* من محيط جذور الذرة الصفراء أيضاً وعزلة KH-K20 تعود للنوع *P. cepacia* من محيط جذور النعناع ، وذلك لكفاءة هذه العزلات في إذابة الفوسفات والإنتاج العالي للأندول حامض الخليك IAA والمركبات الخالبة للحديد (خليل و الكرطاني ، 2018).

#### تحضير اللقاح البكتيري

حضرت مزارع سائلة للأنواع البكتيرية الثلاث التابعة لبكتريا *Pseudomonas* على الوسط الزرع السائل (N.B) من المزارع النقية للبكتريا وحضنت في حاضنة هزازة لمدة 24 ساعة وتأكد بان المليتر الواحد من المزرعة يحوي على عدد خلايا بكتيرية بما لا يقل عن  $10^9 \times 5$  CFU ، استعملت مادة peat (بيتموس ) نوع المائي Florabella-Vegetable حاملا للقاح وعقم بدرجة 121 $^{\circ}$ C وضغط 1.5 بار لمدة 20 دقيقة ، ولتحضير 100 غم من اللقاح يأخذ 45 غم من البيتموس المعقم ، ويمزج مع 5 غم من كربونات الكالسيوم  $\text{CaCO}_3$  لمعادلة الحموضة و 20 مل ماء حنفية ، توضع جميعا في حقائب من البولي اثلين المعقمة ، نضيف 30 مل من المزرعة البكتيرية السائلة اعلاه عمرها 24 ساعة الى محتويات الحافظة ثم تحضن لمدة 7 ايام اضافية عند درجة حرارة  $30 \pm 2$  تمزج المحتويات بتحريك المحفظات كل 2 يوم ، بعد ذلك نتأكد من وجود عدد كاف من الخلايا البكتيرية  $10^7 \times 5$  في غم واحد من اللقاح عن طريق التخفيف والصب في اطباق حاوية وسط ( King B ) بحيث يتراوح عدد الخلايا بين  $10^7 \times 5 - 10^8 \times 5$  CFU / غم لقاح ، بعدها حفظت الحقائب في درجة حرارة  $4 \pm 0^{\circ}$  لحين الاستعمال ، قبل يوم من تلقيح البذور تحضن الحقائب في درجة حرارة  $30 \pm 2$  درجة مئوية لمدة 24 ساعة ( Bashan and de-Bashan , 2015 ) .

حضر المحلول اللاصق من محلول الصمغ العربي بتركيز 40% كمادة لاصقة للقاح على البذور وقد اغلي على درجة حرارة اقل من 100 درجة مئوية لحين الاذابة ، وحضر محلول السكر بتركيز 15% لزيادة حيوية البكتريا ومزج المحلولان ، ثم ترك المحلول الناتج ليبرد وبذلك نحصل على المحلول اللاصق الذي يمزج مع اللقاح بنسبة 1 : 3 اي 1مل من المحلول اللاصق لكل 3



غرام من اللقاح لتحضير العجينة اللاصقة التي تعامل بها البذور، استعملت بذور الذرة الصفراء *Zea mays. L* صنف بحوث 5018، عكمت البذور سطحياً للقضاء على الأحياء المجهرية الموجودة على سطحها، وذلك بنقعها لمدة دقيقتين في محلول 2% هايبوكلورات الصوديوم (القاصر) والكحول الايثيلي 95%، ثم غسلت من 5 إلى 6 مرات بالماء المقطر المعقم لإزالة جميع اثار المادة المعقمة. ثم توضع 100 غم من البذور المعقمة في دورق 500 مل يضاف إليها 4 غرام من العجينة وتمزج جيداً لضمان التصاق اللقاح على البذور، ثم تخفف البذور هوائياً بعيداً عن اشعة الشمس وتزرع مباشرة.

3-3-4- تنفيذ التجربة

أجريت تجربة حقلية لزراعة محصول الذرة الصفراء - صنف بحوث 5018 - في حقول كلية الزراعة - جامعة تكريت الموسم الربيعي بتاريخ (1-4-2016 م)، اخذت عينات من التربة عشوائياً وممثلة لتربة الحقل من عمق 0-30 سم، و جففت العينات هوائياً وطحنت بمطرقة خشبية، و نخلت بمنخل قطر فتحاته 2 ملم ومزجت جيداً لمجانستها واخذت عينة منها لغرض إجراء بعض التحليل الفيزيائية والكيميائية وحسب الطرائق الموصوفة في Black (1965) والمبينه في الجدول (1)

جدول 1: الخصائص الفيزيائية والكيميائية للتربة قبل الزراعة

| الخاصية   | القيمة     |
|---|------------|
| الرمل %   | 540        |
| الغرين %  | 280        |
| الطين %   | 180        |
| النسجة  | Sandy loam |
| المادة العضوية غم . كغم <sup>1-</sup>                   | 12         |
| الايصالية الكهربائية (EC) ديسي سيمينز . م <sup>1-</sup> | 2.32       |
| الأس الهيدروجيني (pH)                                   | 7.12       |
| النروجين الجاهز ملغم / كغم                              | 60         |
| الفسفور الجاهز ملغم / كغم                               | 7          |
| البوتاسيوم الجاهز ملغم / كغم                            | 82         |



هيأت الارض بإجراء عمليات الحرث والتعقيم والتسوية اللازمة ، ومن ثم قسمت الأرض إلى ثلاث قطاعات ، وكل قطاع قسم على ثمانية ألواح ، وابعاد كل لوح 1.3 م x 1.3 م ، وتركت مسافة بين قطاع وآخر متر واحد وبين لوح وآخر متر واحد.

#### تعقيم التربة :

عقمت تربة الحقل بمحلول الفورمالدهايد تركيز (2%) وقد استعمل الضاغط اليدوي الرشاش لإضافة المحلول المعقم إلى التربة إلى حد بلل الطبقة السطحية ، ثم قلبت التربة وغطيت بالبولي أثيلين (النيلون) ثم رفع الغطاء بعد يومين من الإضافة وتركت لمدة اسبوع،

#### تنفيذ التجربة الحقلية :

نفذت التجربة وفقاً لتصميم القطاعات العشوائية الكاملة (RCBD)، واشتملت التجربة على ثمان معاملات كررت كل معاملة 3 مرات فنتج عن المعاملات ومكرراتها 24 وحدة تجريبية. قسمت البذور المعقمة على قسمين ، القسم الأول لثق باللقاح البكتيري الذي تم تهيئته سابقاً ، والقسم الثاني ترك بدون تلقيح ، بعد ذلك زرعت البذور الملقحة وغير الملقحة في الألواح المخصصة لها في جور على خطوط المسافة بين خط وخط آخر 0.50 م وبين جورة وأخرى 0.25 م ، وبمعدل 3 بذرات لكل جورة .

#### إضافة الاسمدة الكيماوية وعمليات خدمة المحصول :

أضيف الفسفور بمعدل 160 كغم P<sup>-1</sup> هكتار<sup>-1</sup> ، باستعمال سماد السوبر فوسفات الثلاثي (21% P) مصدراً للفسفور ، والبوتاسيوم بمعدل 160 كغم K<sup>-1</sup> هكتار<sup>-1</sup> باستخدام سماد كبريتات البوتاسيوم (43% K) مصدراً للبوتاسيوم ، والسماد النتروجيني بمعدل 200 كغم N<sup>-1</sup> هكتار<sup>-1</sup> ، باستعمال سماد اليوريا (46% N) مصدراً للنتروجين ، أضيف سماد الفسفور دفعة واحدة قبل الزراعة ، والنتروجين والبوتاسيوم بدفعتين قبل الزراعة وبعد شهر من الإنبات . كذلك تمت عملية خدمة المحصول عن طريق مكافحة الأدغال يدوياً ، واستعمل مبيد الديازنون Diazinon المحبب 10% لمكافحة حشرة حفار ساق الذرة ، رويت الألواح بالتنقيط بموجب الحاجة ، وجرى خف البادرات بعد أسبوع واحد من الإنبات إلى نبات واحد لكل جورة . و بعد 45 يوماً من الإنبات قدر المحتوى النسبي للنيخضور في الأوراق (SPAD unit) حسب (Netto وآخرون ، 2005) ، والوزن الجاف للمجموع الخضري والجذري (غم/نبات) بعد تجفيفها على درجة حرارة 65<sup>0</sup> م لمدة 48 ساعة . وتركيز العناصر الغذائية K,P,N في الجزء الخضري إذ أخذت الأجزاء النباتية المعدة للتحليل ، وغسلت بالماء الاعتيادي، ثم بالماء المقطر ، لإزالة الغبار العالق على النبات بموجب توصية (Loop و Finck ، 1984)، ومن ثم حففت تلك الأجزاء بدرجة حرارة 65<sup>0</sup> م لمدة 48 ساعة ، ثم طحنت ، وأخذ (0.2) غم من مسحوق العينة النباتية الجافة وهضمت تبعاً لطريقة



(Gresser و Parsons ، 1979) باستعمال حامضي الكبريتيك والبيروكلوريك المركزين ، ونقلت العينات نقلاً كيميائياً إلى قناني حجمية ذات سعة (50) مل ، وأكمل الحجم بالماء المقطر، وقدر النتروجين الكلي للنبات بجهاز التقطير البخاري (Micro-kjeldahl) بالطريقة التي وصفها (Bremner، 1965) المذكورة في (Page وآخرين ،1982). وجرى تقدير الفسفور في الجزء الخضري للنبات بطريقة حامض الأسكوربيك (Olsen و Watanabe ، 1965) والقياس بجهاز الطيف الضوئي Spectrophotometer على طول موجي 885 نانومتر. أما البوتاسيوم في الجزء الخضري فقدر بجهاز اللهب الضوئي (Flame-photometer)، بموجب الطريقة الواردة في (Tandon، 1995)، وحسبت الكمية الممتصة Up take من العناصر الغذائية في الجزء الخضري استناداً إلى المعادلة الآتية  
كمية العنصر الممتص (غم. نبات<sup>-1</sup>) = تركيز العنصر % x الوزن الجاف غم. نبات<sup>-1</sup> / 100

## النتائج والمناقشة

تأثير التلقيح بكتريا *P. fluorescens* و *P. putida* و *P. cepacia* في نسبة اليخضور في الاوراق (SPAD).

تشير النتائج المثبتة في الجدول ( 2 ) إلى تأثير التلقيح المنفرد أو الثنائي أو الثلاثي بالعزلات الثلاث وبتبين بان التلقيح قد اثر معنوياً في محتوى الجزء الخضري من اليخضور SPAD مقارنة بمعامل المقارنة ، وبتبين تفوق معنوي لمعاملة التلقيح المنفرد بالعزلة *P. fluorescens* على معاملة التلقيح بالعزلة *P. putida* وعلى معاملة التلقيح بالعزلة *P. cepacia* في تركيز اليخضور بزيادة مئوية للمعاملات الثلاث على معاملة المقارنة مقدارها 16.24 ، 14.14 ، 11.1 % على التتابع ، أما معاملات التلقيح الثنائي فتفوقت معاملة *P. fluorescens + P. putida* معنوياً على معاملة *P. fluorescens + P. cepacia* وعلى معاملة *P. cepacia + P. putida* في تركيز اليخضور إذ بلغت قيم محتوى الجزء الخضري من اليخضور لهذه المعاملات 58.58 ، 55.56 ، 53.93 SPAD على التتابع ، مقارنة بمعامل المقارنة 38.10 SPAD ، ويظهر من الجدول بأن معاملة التلقيح الثلاثي تفوقت معنوياً على معاملات التلقيح الثنائي والمنفرد ، وأعطت أعلى قيمة لتركيز اليخضور 60.49 SPAD مقارنة بأفضل معاملة تلقيح منفرد *P. fluorescens* التي أعطت 44.29 SPAD وقيمة أفضل معاملة تلقيح ثنائي *P. fluorescens + P. putida* التي أعطت 58.58 SPAD.



الجدول ( 2 ) تأثير التلقيح ببكتريا *P. fluorescens* وبكتريا *P. putida* وبكتريا *P. cepacia* في تركيز اليخضور (SPAD) في الجزء الخضري لنبات الذرة الصفراء بعد خمسة وأربعين يوماً من الإنبات.

| المعاملات  | تركيز الكلوروفيل في الجزء الخضري (SPAD) |
|--|---|
| (control)  | 38.10                                   |
| <i>P. fluorescnes</i>  | 44.29                                   |
| <i>P. putida</i>   | 43.49                                   |
| <i>P. cepacia</i>  | 42.33                                   |
| <i>P. fluorescnes</i> + <i>P. putida</i>                     | 58.58                                   |
| <i>P. fluorescnes</i> + <i>P. cepacia</i>                    | 55.56                                   |
| <i>P. cepacia</i> + <i>P. putida</i>                         | 53.93                                   |
| <i>P. cepacia</i> + <i>P. putida</i> + <i>P. fluorescnes</i> | 60.49                                   |
| L.S.D (0.05)   | 0.5077                                  |

أنَّ الزيادة المعنوية المتحققة في محتوى الجزء الخضري من اليخضور بتأثير التلقيح المنفرد أو الثنائي أو الثلاثي قد يعود الى قدرة العزلات البكتيرية المستعملة على إنتاج الأندول حامض الخليك وإذابة الفوسفات وإنتاج المركبات الخالبة , هذه الفعاليات تحفز نمو النبات وتحسن صفاته ومنها تركيز اليخضور , وذلك من خلال تأثير أندول حامض الخليك (الأوكسين) في تكوين الصبغة الخضراء وعملية الأيض ومقاومة ظروف الاجهاد (Spaepen و Vanderleyden ، 2011) , وإذابة الفوسفات وإنتاج المركبات الخالبة يزيد من جاهزية وامتصاص العديد من المغذيات الصغرى والكبرى مثل النيتروجين والفسفور والبوتاسيوم والحديد , فالنيتروجين يدخل في بناء جزيئة اليخضور عن طريق دخوله في تركيب الأحماض الأمينية والبروتينات المهمة في بناء البلاستيدات الخضراء , وكذلك ويدخل في تركيب وحدة Porphyrin الداخلة في تركيب اليخضور , إذ إنَّ % 51 من نيتروجين الأوراق يدخل في تركيب صبغات اليخضور (Sabo وآخرون، 2013) . أما البوتاسيوم فأنه يسهم في تنشيط الكثير من الأنزيمات التي تساعد في بناء البلاستيدات الخضراء، أما الحديد فأنه يزيد من بناء صبغة اليخضور عن طريق وظيفته في بناء



المركب amino levulinic acid وعملية تحول المركب Mg-Protoporphyrin 1x methyl ester إلى Protochlorophyllid وهي من الخطوات الوسطية في بناء اليخضور (Zeiger و Taiz, 1998) مما سبب زيادة في مؤشرات النمو ومنها طول النبات وتركيز صبغة اليخضور بالأوراق , تتوافق هذه النتائج مع Kumar وآخرين (2012) لنبات الذرة البيضاء.

تأثير التلقيح ببكتريا *P. fluorescens* وبكتريا *P. putida* وبكتريا *P. cepacia* في وزن المادة الجافة للمجموع الخضري والجذري (غم. نبات<sup>-1</sup>).

يتبين من الجدول ( 3 ) بأن التلقيح سواء المنفرد أو الثنائي أو الثلاثي قد أثر معنوياً في وزن المجموع الخضري والجذري , ويظهر من الجدول بأن معاملة التلقيح المنفرد ببكتريا *P. fluorescens* قد أعطت أعلى القيم لمعاملات التلقيح المنفرد وتفوقت معنوياً على معاملة *P. putida* ومعاملة *P. cepacia* وكانت الزيادة المئوية بسبب معاملات التلقيح المنفرد بالأنواع الثلاثة على معاملة المقارنة 184.91 % , 165.59 % , 159.44 % للمجموع الخضري و 129.92 % , 120.66 % , 110.33 % للمجموع الجذري على التتابع , أما معاملات التلقيح الثنائي فيظهر من الجدول بأن أفضل تداخل كان بين بكتريا *P. fluorescens* + *P. putida* التي تفوقت معنوياً على معاملات التلقيح المنفرد وكذلك على معاملة التلقيح الثنائي *P. cepacia* + *P. putida* ووجد أن أعلى القيم تحققت عند معاملة التلقيح الثلاثي والتي تفوقت معنوياً على معاملات التلقيح المنفرد , ولم يكن تفوقها معنوياً على معاملات التلقيح الثنائي إلا على معاملة *P. cepacia* + *P. putida* وكانت قيم الوزن الجاف للمجموع الخضري والجذري لمعاملة التلقيح الثلاثي 43.42 , 24.39 (غم. نبات<sup>-1</sup>) مقارنة بقيمة أفضل معاملة تلقيح منفرد *P. fluorescens* 38.92 , 21.36 (غم. نبات<sup>-1</sup>) وأفضل معاملة تلقيح ثنائي *P. fluorescens* + *P. putida* 42.65 , 23.32 (غم. نبات<sup>-1</sup>) على التتابع .

وقد يُعزى سبب تفوق معاملة التلقيح ببكتريا *P. fluorescens* على معاملة التلقيح ببكتريا *P. putida* وبكتريا *P. cepacia* في وزن المادة الجافة للمجموع الخضري والجذري , إلى تفوقها في إذابة الفوسفات , وإنتاجها للأندول حامض الخليك IAA , وإنتاجها للمركبات الخالبة للحديد والعناصر الصغرى الأخرى , تتفق هذه النتيجة مع نتائج التحليل المختبري لنفس الباحثين خليل و الكرطاني, ( 2018 ) التي بينت بان العزلة *P. fluorescens* سجلت أعلى قيمة في إذابة الفوسفات , وأعلى قيمة في إنتاجها للأوكسين (IAA) ومتوسطة في إنتاج المركبات الخالبة لتلتها العزلة *P. putida* ثم العزلة *P. cepacia* , أما التفوق الذي حققته معاملات التلقيح الثنائي و الثلاثي في وزن المجموع الخضري والجذري فيُعزى إلى محصلة تأثير التداخل الإيجابي النافع بين العزلات المختارة .





الجدول ( 3 ) تأثير التلقيح ببكتريا *P. fluorescens* وبكتريا *P. putida* وبكتريا *P. cepacia* في الوزن الجاف للمجموع الخضري والجذري (غم. نبات<sup>1-</sup>) لنبات الذرة الصفراء بعد خمسة وأربعين يوماً من الإنبات.

| المعاملات                                 | الوزن الجاف للمجموع الخضري | الوزن الجاف للمجموع الجذري |
|---|----------------------------|----------------------------|
| (control)                                 | 13.66                      | 9.29                       |
| <i>P. fluorescens</i>                     | 38.92                      | 21.36                      |
| <i>P. putida</i>                          | 36.28                      | 20.50                      |
| <i>P. cepacia</i>                         | 35.44                      | 19.54                      |
| <i>P. putida</i> + <i>P. fluorescens</i>  | 42.65                      | 23.32                      |
| <i>P. cepacia</i> + <i>P. fluorescens</i> | 42.37                      | 22.15                      |
| <i>P. putida</i> + <i>P. cepacia</i>      | 39.06                      | 21.55                      |
| + <i>P. putida</i> + <i>P. cepacia</i>    | 43.42                      | 24.39                      |
| <i>P. fluorescens</i>                     | 1.06                       | 0.47                       |
| L.S.D (0.05)                              |                            |                            |

أنَّ الزيادة في وزن المجموع الجذري والخضري نتيجة التلقيح ببكتريا *P. fluorescens* و *P. putida* و *P. cepacia* قد يعود إلى الآليات المباشرة وغير المباشرة لتشجيع نمو النبات ( Brown و Rovira ، 1999 ) ، عن طريق إفراز مواد منشطة للنمو في الوسط مثل الأندول حامض الخليك والساييتوكاينين و الجبرلين ، والتي تعمل على تحفيز نمو الشعيرات الجذرية وبناء مجموع جذري كثيف ممَّا ينعكس إيجابياً على عملية امتصاص المغذيات من التربة ، وكذلك عن طريق إذابة الفوسفات غير الذائبة وتحويله إلى الصورة الجاهزة للامتصاص من قبل النبات ، وهذا يعود إلى قابلية السلالات البكتيرية على إفراز الأحماض العضوية منخفضة الوزن الجزيئي في المنطقة المحيطة بالجذور مثل حمض Lactic ، Acetic ، Oxalic ، Formic ، إذ أنَّ أيونات H<sup>+</sup> و OH<sup>-</sup> تعمل على خلب الفسفور من الصورة غير الجاهزة للامتصاص وتحريره للنبات وكذلك من خلال



خفض درجة تفاعل التربة ، ونشاط أنزيم الفوسفاتيز، إذ أنّ هناك علاقة إيجابية بين نشاط أنزيم الفوسفاتيز وإذابة الفوسفات، وأيضاً يمكن أنّ تعزى الزيادة في الوزن الجاف للمجموع الخضري والجذري الجاف الى قدرة البكتريا المشجعة لنمو النبات على اطلاق المركبات الخالبة Siderophore التي تسهم في جذب وحماية العناصر الغذائية مثل P و Fe و Mn و Zn و تجعل هذه العناصر متوافرة في منطقة المحيط الجذري وميسرة للنبات (Hayat و آخرون 2012 ؛ Nehra و Saharan 2011 ؛ Hayat و آخرون 2012 ) وتتفق هذه النتائج مع Pacôme وآخريين (2013) ، الذين بينوا من خلال دراستهم أنّ تلقيح بذور نبات الذرة الصفراء باللقاح المنفرد والثنائي من بكتريا *P. fluorescens* و *P. putida* أدى الى زيادة مؤشرات النمو لنبات الذرة الصفراء، ومع نتائج Kumar و Deshwal (2013) اللذان أكدوا أنّ التلقيح بسلاسل مختلفة من بكتريا *P. fluorescens* و *P. putida* و *P. cepacia* قد حسن نمو نبات الرز مقارنة بمعامل السيطرة، وتتفق أيضاً مع نتائج Mohamed وآخريين (2012)، إذ أوضحوا أنّ كل من بكتريا *P. fluorescens* و *P. putida* منفصلة أو مختلطة قد شجعت نمو نبات الطماطم واعطت زيادة في الوزن الخضري والجذري إلا أنّ الخليط من *P. fluorescens* و *P. putida* قد اعطى زيادة اضافية على التلقيح المنفرد، وتتفق مع نتائج Luigi و آخريين (1998) الذين بينوا أنّ التلقيح المنفرد والخليط الثنائي من بكتريا *P. fluorescens* و *P. cepacia* قد حسنت نمو نبات الذرة البيضاء.

تأثير التلقيح ببكتريا *P. fluorescens* وبكتريا *P. Putida* وبكتريا *P. cepacia* في تركيز %N.P.K في الجزء الخضري.

أظهرت النتائج الموضحة في الجدول ( 4 ) أنّ التلقيح بالأنواع البكتيرية الثلاث قد أثر معنوياً في تركيز النيتروجين والفسفور والبوتاسيوم في الجزء الخضري لنبات الذرة الصفراء مقارنة بمعاملة السيطرة، ويظهر من الجدول أيضاً تفوقاً معنوياً لمعاملة التلقيح ببكتريا *P. fluorescens* على معاملات التلقيح المنفرد ببكتريا *P. putida* وبكتريا *P. cepacia* في تركيز النبات من العناصر الثلاث ، وكذلك يظهر تفوق معاملة *P. putida* معنوياً على معاملة *P. cepacia* في تركيز عنصر النيتروجين والبوتاسيوم ولم يكن تفوقها معنوياً في تركيز عنصر الفسفور وبلغت الزيادة المثوية لمعاملات التلقيح المنفرد مقارنة بمعامل المقارنة (41.88 , 38.46 , 34.18) % نيتروجين و (45 , 40 , 35) % فسفور و (33.19 , 29.78 , 25.35) % بوتاسيوم للمعاملات *P. fluorescens* , *P. putida* , *P. cepacia* على التتابع، ويظهر أيضاً بأنّ معاملات التلقيح الثنائي قد تفوقت معنوياً على معاملات التلقيح المنفرد في محتوى النبات من العناصر N P K ، وأنّ معاملة التلقيح الثنائي *P. fluorescens* + *P. putida* تفوقت معنوياً على معاملة التلقيح الثنائي *P. cepacia* + *P. putida* والتي لم يكن تفوقها معنوياً على معاملة التلقيح الثنائي *P. fluorescens* + *P. cepacia* في تركيز N P K وكانت قيم



تركيز العناصر الثلاث لمعاملات التلقيح الشائي (3.64 , 3.86 , 3.87) % نيتروجين و (0.31 , 0.31 , 0.32) % فسفور و (3.49 , 3.51 , 3.54) % بوتاسيوم على الترتيب مقارنة بأفضل معاملة تلقيح منفرد *P. fluorescnes* 3.32% نيتروجين , 0.29% فسفور , 3.13 % بوتاسيوم, كذلك يظهر من الجدول بأن أعلى القيم تحققت عند معاملة التلقيح الثلاثي *P. cepacia + P. putida + P. fluorescnes* وتفوقت معنوياً على جميع معاملات التلقيح الشائي والمنفرد اذ كان تركيز النيتروجين 4.2% و الفسفور 0.41% والبوتاسيوم 3.86% مقارنة بمعامل المقارنة التي أعطت 2.34% نيتروجين و 0.2% فسفور و 2.35% بوتاسيوم .

الجدول ( 4 ) تأثير التلقيح ببكتريا *P. fluorescens* وبكتريا *P. putida* وبكتريا *P. cepacia* في تركيز N.P.K % في الجزء الخضري لنبات الذرة الصفراء بعد خمسة وأربعين يوماً من الإنبات.

| المعاملات                                      | %N     | %P     | %K     |
|--|--------|--------|--------|
| (control)                                      | 2.34   | 0.20   | 2.35   |
| <i>P. fluorescnes</i>                          | 3.32   | 0.29   | 3.13   |
| <i>P. putida</i>                               | 3.24   | 0.28   | 3.05   |
| <i>P. cepacia</i>                              | 3.14   | 0.27   | 2.95   |
| <i>P. fluorescnes + P. putida</i>              | 3.87   | 0.32   | 3.54   |
| <i>P. fluorescnes + P. cepacia</i>             | 3.86   | 0.31   | 3.51   |
| <i>P. cepacia + P. putida</i>                  | 3.64   | 0.31   | 3.49   |
| <i>P. cepacia + P. putida + P. fluorescnes</i> | 4.2    | 0.41   | 3.86   |
| L.S.D (0.05)                                   | 0.0296 | 0.0126 | 0.0404 |



إنَّ سبب زيادة تركيز العناصر المغذية في المجموع الخضري لنبات الذرة الصفراء لمعاملات التلقيح المنفرد والثنائي والثلاثي ، قد يُعزى الى مقدرة بكتريا *P. Fluorescens* و بكتريا *P. putida* و بكتريا *P. cepacia* على انتاج منظمات النمو التي تشجع نمو النبات وامتصاص العناصر الغذائية ، كذلك قدرتها على اذابة المركبات الفوسفاتية من خلال انتاجها للاحماض العضوية فأَنَّ الإذابة والمعدنة للفسفور بوساطة بكتريا الدراسة هي واحدة من الآليات الأكثر أهمية في دورة التربة الجيوكيميائية والتي تعزز من نمو النبات (Jungwook وآخرون 2009) من خلال تشجيع تفرعات الجذور للشعيرات الجذرية ، ومن ثم زيادة عامة في كثافة الجذور بما يؤدي إلى زيادة سعة امتصاص الجذور للمغذيات النيتروجين مثل والفسفور والبوتاسيوم.

### تأثير التلقيح ببكتريا *P. fluorescens* و بكتريا *P. putida* و بكتريا *P. cepacia* في الكمية الممتصة من N.P.K في الجزء الخضري

يتبين من الجدول بأن التلقيح سواءً المنفرد أو الثنائي أو الثلاثي قد أثر معنوياً في الكمية الممتصة من العناصر الغذائية الكبرى النتروجين والفسفور والبوتاسيوم في المجموع الخضري لنبات الذرة الصفراء ، إذ تفوقت المعاملة الملقحة ببكتريا *P. fluorescens* معنوياً على معاملي التلقيح ببكتريا *P. putida* و بكتريا *P. cepacia* في كمية العناصر الممتصة الثلاث وكانت الزيادة المئوية نسبة إلى معاملة المقارنة 304.04% و 315.95% و 280.53% لمعاملة التلقيح ببكتريا *P. fluorescens* و 267.57% و 265.84% و 273.67% لمعاملة التلقيح ببكتريا *P. putida* ، ثم (248.69 ، 237.92 ، 226.17)% لمعاملة التلقيح ببكتريا *P. cepacia* على التتابع ، ويلاحظ من الجدول أيضاً أنَّ معاملة التلقيح الثنائي *P. fluorescens* + *P. putida* تفوقت معنوياً على معاملات التلقيح المنفرد وعلى معاملة التلقيح الثنائي *P. cepacia* + *P. putida* في كمية النتروجين والفسفور والبوتاسيوم وكان تفوقها غير معنوي على معاملة التلقيح الثنائي *P. fluorescens* + *P. cepacia* وسجلت زيادة مئوية على معاملة المقارنة في كمية امتصاص العناصر الثلاث (370.58 ، 396.76 ، 416.11)% تليها معاملة التلقيح الثنائي *P. fluorescens* + *P. cepacia* التي سجلت (364.38 ، 336.27 ، 411.79)% ، ويتضح من الجدول بأنَّ معاملة التلقيح الثلاثي تفوقت معنوياً على جميع المعاملات وأعطت أعلى قيمة ممتصة من العناصر الغذائية الرئيسة (النتروجين والفسفور والبوتاسيوم) ، إذ سجلت زيادة مئوية على المعاملة غير الملقحة قدرها 479.81% نيتروجين ، 551.17% فسفور ، 430.7% بوتاسيوم.



الجدول (5) تأثير التلقيح ببكتريا *P. fluorescens* وبكتريا *P. putida* وبكتريا *P. cepacia* في كمية العناصر الممتصة N و P و K (ملغم . نبات<sup>-1</sup>) في المجموع الخضري لنبات الذرة الصفراء بعد خمسة وأربعين يوماً من الإنبات.

| K      | P     | N      | المعاملات  |
|--------|-------|--------|--|
| 32.08  | 2.77  | 31.98  | (control)  |
| 122.10 | 11.54 | 129.23 | <i>P. fluorescens</i>  |
| 110.90 | 10.15 | 117.57 | <i>P. putida</i>   |
| 104.66 | 9.68  | 111.53 | <i>P. cepacia</i>  |
| 151.00 | 13.79 | 165.08 | <i>P. fluorescens</i> + <i>P. putida</i>                     |
| 149.01 | 13.27 | 163.70 | <i>P. fluorescens</i> + <i>P. cepacia</i>                    |
| 136.33 | 12.11 | 142.19 | <i>P. putida</i> + <i>P. cepacia</i>                         |
| 170.19 | 18.08 | 185.46 | <i>P. fluorescens</i> + <i>P. putida</i> + <i>P. cepacia</i> |
| 3.046  | 0.474 | 3.977  | L.S.D (0.05)   |

ان الزيادة في كمية العناصر الممتصة بسبب التلقيح بالعزلات البكتيرية الثلاث جاءت من الزيادة في الوزن الجاف للجزء الخضري والزيادة الحاصلة في تركيز هذه العناصر وكما مبين في الجدولين 3 و 4 وهذا يمكن ان يعود الى قابلية هذه العزلات على إذابة المركبات الفوسفاتية غير الذائبة واطلاق الفسفور الجاهز الى محلول التربة المحيط بجذور النبات , ومعروف اثر الفسفور في تشجيع نمو المجموع الجذري وانتشاره فيزداد امتصاص المغذيات الصغرى والكبرى والماء نتيجة زيادة المساحة السطحية لمنطقة امتصاص الجذر في منطقة الرايزوسفير , وكذلك يمكن ان يعزى اثر التلقيح المعنوي بأنواع من بكتريا *Pseudomonas* إلى قدرة هذه الأنواع على انتاج المركبات الخالبة الذي له اثراً كبيراً في جاهزية العناصر الغذائية وامتصاصها , ويمكن ان يعود سبب الزيادة المعنوية أيضاً إلى خفض درجة التفاعل للتربة القاعدية عن طريق آليات مختلفة , وهذا الانخفاض له أثر كبير في جاهزية العناصر الغذائية والتي تكون ميسرة لامتناس للنبات , وقد يعزى أيضاً إلى إنتاجها لمنظمات النمو IAA الذي يعمل على تشجيع نمو الجذور وانتشارها والذي يزيد من المساحة السطحية للجذور, ومن ثم تحسن امتصاص الماء والعناصر الغذائية من التربة ( Naveed وآخرون 2008 ؛ Dursun وآخرون 2008).



## المراجع : References

الدوري، مازن أنيس اديب و الكرطاني، عبدالكريم عريبي سبع . 2018 . تأثير السماد الحيوي المخضر من ثلاث عزلات بكتيرية مذيبة للبتواسيوم والتسميد البوتاسي في بعض صفات نمو الذرة الصفراء. مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية المجلد(18) عدد خاص بوقائع المؤتمر العلمي السابع والدولي الاول للبحوث الزراعية 10-11 نيسان: 71-82.

الكرطاني، عبدالكريم عريبي سبع و حسن ، عبدالله عبدالكريم و يوسف، هبة محمد . 2018 . اختبار كفاءة بكتريا *Pseudomonas fluorescens* في تحفيز نمو نبات الذرة الصفراء *Zea mays* L. واستحثاث مقاومته الجهازية ضد مرض التعفن الفحامي. مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية المجلد ( 18 ) العدد ( 1 ) : 137-149 .

خليل، خليل خالد و الكرطاني، عبدالكريم عريبي سبع . 2018 . عزل وتشخيص بكتريا الزوائف *Pseudomonas* المشجعة لنمو النبات من المنطقة المحيطة بجذور بعض النباتات النامية في ترب جبسية في محافظة صلاح الدين. مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية المجلد ( 18 ) العدد ( 1 ) : 124 - 136.

**Adesemoye, A., Kloepper, J.** 2009. Plant–microbes interactions in enhanced fertilizer-use efficiency. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 85: 1–12.

**Bashan, Y. and de-Bashan L.E.** 2015 .Inoculant preparation and formulation for *Azospirillum* spp. In: *Hand Book for Azospirillum*[ F.D.Cassan et al.(eds) ]. Springer International Publishing Switzerland. Chapter 26, pp: 469-485.

**Black, C.A.** 1965. *Methods of soil analysis. Part 1. Physical properties* Amer. Soc . Agron. Inc. publisher, Madison Wisconsin, USA.

**Bremner, J.M.** 1965. Total nitrogen In : "Methods of soil analysis" , Black, C.A. Evans, D.P., Ensminger, L.E., White, J.L., Clark, F.E., Dinauer, R.C. (Ed) part 2, American Society of Agronomy. Madison Wisconsin, USA.

**Brown GD, Rovira AD** .1999. The rhizosphere and its management to improve plant growth. *AdvAgron*. 66: 1-102



**Burr** T. J., Schroth M. N. and Suslow T. 1978. Increased potato yields by treatment of seed pieces with specific strains of *Pseudomonas fluorescens* and *P. putida*. *Phytopathology* 68: 1377-1383.

**Deshwal** VK, Kumar P .2013. Production of plant growth promoting substance by Pseudomonads. *Journal of Academia and Industrial Research* 2: 221-225.

**Deshwal** VK, Kumar P .2013. Production of plant growth promoting substance by Pseudomonads. *Journal of Academia and Industrial Research* 2: 221-225.

**Dursun** A, Ekinci M, Donmez MF. 2008. Effects of inoculation bacteria on chemical content, yield and growth in rocket (*Eruca vesicaria* subsp. *sativa*). *Asian J Chem* 20: 3197–3202.

**Frommel** M. I., Nowak J. and Lazarovits G. 1993. Treatment of Potato Tubers with a Growth Promoting *Pseudomonas* sp.: Plant Growth Responses and Bacterium Distribution in the Rhizosphere,” *Plant and Soil*, Vol. 150: 51-60.

**Glick** B. R., Changping L., Sibdas G. and Dumbroff E. B. 1997. Early Development of Canola Seedlings in the Presence of the Plant Growth Promoting Rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2. *Soil Biology and Biochemistry*. 29: 1233-1239.

Gomare, K.S., Mese, M., Shetkar Y. 2013. Isolation of *Azotobacter* and cost effective production of biofertilizer. *Indian J. Appl. Res.* 3(5): 54 56.

**Gresser** ,M.S. and J.W.Parsons.1979.Sulphuric-perchloric digestion of plant material for the determination of nitrogen, phosphorus, potassium, calcium and magnesium. *Analytical. Chimica .Acta.* 109 : 431 – 436.

**Hayat** R, Ahmed I, Sheirdil RA . 2012. An overview of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) for sustainable agriculture. In: Ashraf M, Oztürk M, Ahmad MSA, Aksoy A (eds) *Crop production for agricultural improvement*. Springer, Berlin, pp 557–579

**Islam** MR, Madhaiyan M, DekaBoruah HP, Yim W, Lee G, Saravanan VS, Fu Q, Hu H. and Sa T. 2009. Characterization of plant growth-promoting traits of three-living



diazotrophic bacteria and their inoculation effects on growth and nitrogen uptake of crop plants.

**Jungwook** Yang, Joseph W. Klopper and Choong-Min Ryu. 2009. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. Trends in Plant Science Vol.14 No.1

**Kumar Praveen** G, S, Desai E, Leo Daniel Amalraj SK, Mir Hassan Ahmed Reddy G. 2012. Plant Growth Promoting *Pseudomonas* spp. from Diverse Agro-Ecosystems of India for *Sorghum bicolor* L. J BiofertBiopest.

**Loop**, A. and A. Finck. 1984. Total Iron as a useful Index of Fe state of Crops. J. of Plant Nutrition. 7 :69-79.

**Luigi** C, Annamaria B, Silvia T, Claudia D.1998. Inoculation of *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas fluorescens* and *Enterobacter* sp. on *Sorghum bicolor*: Root colonization and plant growth promotion of dual strain inocula. Soil Biol. Biochem. 30: 81-87.

**Mohamed**, E.A. DawoudZienat K. Mahmoud Hanaa E. Ahmed Mohamed G. Farahat. 2012. Growth promotion and biocontrol of leaf spot and leaf speck diseases in tomato by *Pseudomonas spp* Egypt. J. Exp. Biol. (Bot.): 8(1): 67-76.

**Naveed** M, Khalid M, Jones DL, Ahmad R, Zahir ZA . 2008. Relative efficacy of *Pseudomonas* spp., containing ACC-Deaminase for improving growth and yield of maize (*Zea mays* L.) in the presence of organic fertilizer. Pak J. Bot. 40: 1243–125.

**Netto**, A.T., E. Campostrini, J. G. DE-Oliveira, and R. E. Bressan-Smith . 2005. Photosynthetic pigments, nitrogen, chlorophyll a fluorescence and SPAD-502 readings in coffee leaves. ScientiaHorticulturae, Issue. 2 (104): 199-209.

**Pacôme** AN, E, Kochoni, OD, Yédéou, A, Adjanohoun Allagbé M, Rachidatou S, Emma WG, Simeon OK, Lamine BM . 2013. Effect of different plant growth promoting rhizobacteria on maize seed germination and seedling development. American Journal of Plant Sciences. 4: 1013-1021.





**Page** , A.L. R.H, Miller ,. and D.R, Keeney. 1982. Methods of soil Analysis . Part 2. Chemical and microbiological properties . 2<sup>nd</sup> .ed. am.soc.agron., Inc., Soil Sci. Soc. Am. , Inc. Madison , Wisconsin .USA.

**Sabo** M. U., M.A. Wailare ., S. Jari. and Y.M. Shuaibu . 2013. Effect of NPK fertilizer and spacing on growth and yield of watermelon (*Citrillus lanatus L.* ) in Kaltungo Local Government Area of Gombe State, Nigeria, Scholarly Journal of Agricultural Science. Vol. 3(8): 325-330.

**Saharan**, B.S and Nehra V . 2011. Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. Life. Sci. Med. Res. 21:1–30.

**Singh** RK, Malik N, Singh S. 2013. Impact of rhizobial inoculation and nitrogen utilization in plant growth promotion of maize (*Zea mays L.*). Nusantara Bioscience. 5: 8-14.

**Spaepen** ,S. and Vanderleyden J .2011. Auxin and plant-microbe interactions. Cold Spring HarbPerspect Biol. 3.

**Taiz**, L, and E, Zeiger.1998. Plant Physiology, 2nd ed., Sinauer Associates, Inc., Publishers, Sunderland, Massachusetts. USA. PP. 103-124

**Tandon**. L .S.1995. Methods of analysis of soils , plants ,waters and fertilizers . India . New Delhi.

**Watanabe** ,F.S. and S.O. Olsen .1965. Test of an ascorbic acid method for determining phosphorus in water and NaHCO<sub>3</sub> extracts from soil. Soil Sci. Soc.Amer.Proc.29: 677 - 678.

**We** SC, Cao ZH, Li ZG, Cheung KC. and Wong MH. 2005. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. Geoderma. 125: 155-166.