ISSN: 1991-8941

إنتاج منظم النمو اندول حامض الخليك (IAA) البكتيري باستعمال أوساط محلية واختبار كفاءته على نبات فول الصويا

ادهام علي عبد* حماد نواف فرحان ** جمال صالح حمود *
* جامعة الانبار – كلية الزراعة.
**جامعة الانبار – كلية التربية – القائم

تاريخ الاستلام: 2008/6/17 تاريخ القبول: 2009/2/4

الخلاصة :تضمنت الدراسة عزل وتشخيص عزلات بكتيرية لانتاج منظم النمو Indole acetic acid (IAA) باستعمال اوساط محلية وتقييم كفاءتها ، وعزلت اعداداً من العزلات البكتيرية(30عزلة) واختبرت قدرتها على انتاج الاندول باستعمال اوساط حضرت محلياً من المسحوق الجاف لبذور فول الصويا والحليب المجفف . تم تدعيم هذه الاوساط بالتربتوفان والمرق المغذي والكلوكوز والنتروجين والفسفور في انتاج الاندول ، اختبرت قدرة العزلات المنتخبة على انتاج المركبات الخالبة للحديد واذابة الفوسفات وتثبيت النتروجين حيوياً في الوسط ، كما تضمنت الدراسة اجراء تجربة بايلوجية تطبيقية لتقييم كفاءة الاندول المنتج مقارنة بالاندول الصناعي وكفاءة العزلتين المنتخبتين وراشحيهما واثر ذلك على انبات بعض البذور ونمو نبات فول الصويا الذي يعاني من ضعف تواجد وانتشار الرايزوبيا العقدية الخاصة به في الترب العراقية .

أظهرت النتائج :الحصول على 18 عزلة قادرة على انتاج الاندول (من مجموع العزلات البالغة 30 عزلة) كانت 14 عزلة منها بكتيرية عقدية . اختبرت 8 عزلات ذات كفاءة عالية في انتاج الاندول كان منها 6 عزلات تعود لجنس *Rhizobium* وعزلتين لجنس *Pseudomonas* ، وفي عملية غربلة لاحقة باستعمال اوساط زرعية تحت ظروف بيئية مختلفة انتخبت العزلتين $Pssp_2S$ تعود لجنس*Pseudomonas* و Rsp_8RA تعود لجنس*Rhizobium* وهي الاكفأ في انتاج الاندول اذ بلغ انتاجهما النهائي 42.8 و 41.9 ملغم IAA / لتر على التوالي . كما تبين ان لهذه العزلات القدرة على اذابة مركبات الفوسفات في الوسط وبمعدل قطر اذابة 11.73 mm و 6.25 على التوالي وتمكنت العزلة Rsp_8RA من تثبيت النتروجين في الوسط بمعدل 3.65 غم N / لتر. أظهرت نتائج التجربة البايلوجية التطبيقية على محصول نبات فول الصويا تفوق معاملة خليط العزلتين Rsp_8RA و $Pssp_2S$ مع راشحيهما ،ووجد ان صفات المجموع الخضري اعطت اعلى معدل للافرع 4.37 ولطول النبات 81.2 سم وللمساحة الورقية 78.4 دسم^2 ولنسبة الكلوروفيل 39.6 % وللوزن الجاف للمجموع الخضري 51.2 غم ولحاصلي النتروجين والفسفور في النبات 1020 و 491 ملغم / نبات على التوالي مقارنة بمعاملة السيطرة.اما صفات المجموع الجذري اعطت اعلى معدل لعدد العقد الجذرية للنبات 56.3 عقدة ولمعدل العقد الفعالة 46.4 عقدة وللوزن الجاف للمجموع الجذري 10.4 غم . صفات التربة بعد الزراعة اعطت اعلى معدل للنتروجين والفسفور المتبقيين في التربة بعد الزراعة اذ بلغا 166 و 18.4 ملغم / كغم تربة على التوالي واعلى كثافة ميكروبية في التربة 7.85 Log cfu / ml .

كلمات مفتاحية: انتاج ، اندول حامض الخليك ، أوساط محلية ، فول الصويا

المقدمة

يعاني محصول فول الصويا من مشكلة تكوين العقد الجذرية بسبب ضعف تواجد وانتشار الرايزوبيا الخاصة به في الترب العراقية ، ويؤثرهورمون الاندول في تكوين العقد الجذرية اذ ان عملية الإصابة للشعيرة الجذرية تحدث في منطقة مشبعة بالاندول بفعل هرمونات النمو المنتجة بكتيرياً و منظمات النمو المنتجة من قبل بكتريا *Rhizobium* و *Azotobacter* التي تؤدي الى زيادة نمو المجموع الجذري وتكوين العقد الجذرية وزيادة في نشاط انزيم النيتروجينيز (1). واشار(2) الى قدرة عزلة بكتريا *Azospirillum* الى انتاج ما يقارب من 35 ملغم IAA / لتر وادى استعماله الى زيادة الوزن الجاف لنبات

الرز ونسبة الكلوروفيل والمساحة الورقية وارتفاع النبات .اما(3) لاحظا ان بكتريا *Pseudomonas* المنتجة لمنظمات النمو (IAA) قد عملت على اذابة مركبات الفوسفات بمعدل 206 و 502 ملغم P / لتر من المصدرين هايدروكسي ابتايت و فوسفات الكالسيوم على التوالي ، مما عمل على زيادة في مساحة الجذور بنسبة (43 – 200 %) لنبات الفلفل الأسود وزيادة الحاصل والفسفور المأخوذ من قبل النبات .

حصل(4) على معدل تثبيت للنتروجين تراوح بين (3.2– 16.5) ملغم N / لتر لمجموعة من عزلات من *Azotobacter* التي كانت تنتج الاندول ايضا وبتراكيز تراوحت بين (17.7 – 22.7) ملغم / لتر ، وكان هناك ترابط بين انتاج الاندول وتثبيت النتروجين في الوسط وعند تلقيح نباتات القمح بهذه العزلات زادت كمية النتروجين في النبات والحاصل مقارنة مع النباتات غير الملقحة . ووجد(5) ان استعمال اللقاحات الثنائية من بكتريا *Rhizobium* و *Pseudomonas* كان افضل من استخدامها بصورة مفردة في تحسين النمو وزيادة الإنتاج لنباتات الفاصوليا كما ذكروا ان استعمال رواشح هذه العزلات قد عزز زيادة النمو و الانتاج وزاد الكثافة الميكروبية في منطقة الجذور .وجد(12) ان كثافة الرايزوبيا النشيطة تساعد على تحقيق الاصابة لجذور النبات مبكراً مما تزيد من عدد العقد الجذرية التي تكون متميزة بحجمها وفعاليتها وظهر ذلك واضحاً مع *Rhizobium* فول الصويا الامر الذي يؤدي عند عدم اضافة اللقاح او عدم تواجد اعداد من *Rhizobium* عند الانبات والايام الاولى للزراعة بعدد كافي لتحقيق الإصابة يترتب على ذلك فشل تكوين العقد ، وان تكونت فتكون غير فعالة لتكوينها في اوقات متأخرة خلال شهري مايس وحزيران اذ ترتفع درجة الحرارة فوق 30 ْم وتكون الظروف غير ملائمة لنمو ونشاط بكتريا *Rhizobium* في تحقيق الاصابة وفعالية البكتريا.

لذلك يمكن استعمال اللقاحات البكتيرية المنتجة منظم النمو (IAA) لمعالجة هذه المشكلة إضافة لما لهذه اللقاحات من فوائد اخرى في تحسين خواص التربة وزيادة جاهزية العناصر الغذائية فيها وتطور نمو النبات وتهدف الدراسة الى استعمال عزلات بكتيرية كفوءة في انتاج مركبات الاندول واختبار كفاءة الاندول المنتج بكتيرياً والعزلات ورواشحها في تجربة بايولوجية تطبيقية على نبات فول الصويا.

المواد وطرائق العمل

اتبعت الطريقة المبينة من قبل (7)في عزل البكتريا من العقد الجذرية من بعض النباتات البقولية، ونقيت على وسط (YEMA) للحصول على عزلات بكتيرية عقدية وبكتريا غير عقدية منتجة للاندول وحددت كفاءة العزلات المنتجة للاندول حسب طريقة (8).وانتخبت العزلات الافضل انتاجاً (Rsp_8RA و $Pssp_2S$) ،ونظراً لكون عملية ايض الحامض الاميني التربتوفان (Tryptophan) مايكروبياً تؤدي الى تكوين حامض الاندول ، وكون بذور نبات فول الصويا ذات محتوى جيد الحامض الاميني التربتوفانن ، لذلك حضر مسحوق جاف من البذور ، اذ مرر ت من منخل قطر فتحاته 0.2 ملم . وحضر مستخلص مائي لها بدرجة حرارة (50 ْم) وبتركيز 10 غم / 100 مللتر ماء مقطر ، بعد مدة نقع 24 ساعة رشح بالطرد المركزي (3000 د / د)، ثم عقم بالترشيح من خلال مرشح قطر فتحاته 0.45 ملي مايكرون. وزع الوسط في قناني زجاجية معقمة حجم 250 مل وبمقدار 100 مل / قنينة ، لقح من العزلات المنتخبة النامية في المرق المغذي وبمعدل 2 مل / 100 مل وسط (cfu / 4.2×10^6 ml) ، وحضرت المعاملات بثلاثة مكررات وحضنت في حاضنة هزاز بسرعة 120 دورة / دقيقة وبدرجة 28 ± 2 ْم لمدة 48 ساعة .

التجربة البايلوجية التطبيقية

لدراسة تأثير الاندول الموجود في راشحي العزلتين Rsp_8RA و $Pssp_2S$ المنتخبتين والمنتج كما توصل اليه (9) صممت تجربة سنادين باستعمال التصميم العشوائي الكامل وبثلاثة مكررات لدراسة المعاملات المبينة في الجدول1 ، وضع في كل أصيص 3.5 كغم من التربة الجافة المنخولة بمنخل 2 ملم المبينة بعض صفاتها (جدول 2) ، واستعملت بذور نبات فول الصويا صنف Lee الذي حصل عليه من دائرة البحوث الزراعية . سمدت التربة في الأصص حسب التوصيات السمادية لنبات فول الصويا بالسماد المركب NP بواقع 27 ملغم P , N / كغم تربة. وضعت البذور بمعدل 5 بذرة لكل معاملة ، وتركت لمدة ساعة في الحاضنة على درجة حرارة 28 ± 2 ْم ثم نقلت البذور ومكونات المعاملة إلى التربة في الأصص المرطبة سابقاً بالماء المقطر تم ذلك بتاريخ 13 / 5 / 2007 ، اذ زرعت البذور على عمق 3- 4 سم ثم رويت رية الانبات بايصال التربة الى 65 % من السعة الحقلية على أساس الوزن الجاف واستمر

تعويض النقص في الرطوبة بوزن الأصص على اساس وحفظت الأصص في مكان محمي تحت الظروف الطبيعية ، واجريت عملية المراقبة وخدمة النبات طيلة مدة الدراسة . سجلت نسبة الإنبات وسرعة النمو لغاية 7 ايام بعد الزراعة ، ثم خفت النباتات لحد نبات واحد بعد اليوم العاشر للزراعة أخذت القياسات للصفات المبينة بتاريخ 15 / 7 / 2007 ،حسبت المساحة الورقية للنباتات حسب معادلة Baily (10) ، سجل طول النبات واحتسب عدد الأفرع النباتية على الساق الرئيسي . قيست نسبة الكلوروفيل الكلي بواسطة جهاز قياس نسبة الكلوروفيل و حسب الوزن الجاف للنبات بعد حصاد النبات وعدد العقد الجذرية باستخراج جذور النباتات بعد ازالة المجموع الخضري واخذ نموذج 100 غم من التربة لغرض تقدير بعض الصفات لها . رطبت التربة بالماء لتقليل التاثير الميكانيكي على الجذور وغسلت الجذور بتيار مائي معتدل ثم حسبت العقد الجذرية وصنفت الى عقد فعالة وغير فعالة اعتماداً على لون العقدة الوردي او البيضاء المتجرثمة ، كما ميزت العقد الفعالة الى كبيرة الحجم (قطر 5 – 10 ملم) ،قدرالوزن الجاف للجذور،والنتروجين والفسفور في المجموع الخضري للنبات والترب حسب الطرائق الواردة في(11).

النتائج والمناقشة

أظهرت نتائج جمع العزلات البكتيرية العقدية من جذور النباتات البقولية امكن الحصول على 15 عزلة من بكتريا العقد الجذرية (*Rhizobioum*) اضافة الى 15 عزلة حصل عليها من مختبرات الاحياء المجهرية في الكلي 10 *Rhizobioum* ، وتباين تكوين العقد الجذرية في النباتات البقولية من عائل لاخر ومن موقع لاخر وهذا يؤكد تباين قدرات العزلات المحلية في قابليتها لاحداث الاصابة نظراً لامتلاكها ميكانيكيات مختلفة في مقاومة الظروف المحيطة وقدرتها على المقاومة .

أظهرت نتائج اختبار قدرة العزلات المستعملة في الدراسة على انتاج الاندول في وسط ماء الببتون 1% ان 18 عزلة (بنسبة 30 % من مجموع العزلات) قادرة على انتاج الاندول ، وتبين ان 14 عزلة من مجموع عزلات البكتريا العقدية (25 عزلة) أي بنسبة 56% قادرة على انتاج الاندول .

وأكد الباسط واخرون (1) ان اغلب عزلات الرايزوبيا كانت منتجة للاندول وان قسماً منها غير منتجة وراثياً وكانت اكثر كفاءة من عزلات *Azotobacter* و *Azospirillum* . اظهر الوسط المحضر من بذور فول الصويا قدرة جيدة في انتاج الاندول مع استعمال العزلة Rsp_8RA و ان افضل زيادة من استعمال الوسط المحضر من بذور فول الصويا بتركيز 10 % بمعدل انتاج قدره 26.1 ملغم / لتر. وافضل وسط انتاج لعزلة $Pssp_2S$ 10% حليب مجفف بمعد انتاج 23 غم /لتر وهذا يؤكد اهمية المواد المتوفرة في فول الصويا لعزلة البكتريا العقدية الجذرية وربما يعزى ذلك الى ارتباط تكوين المواد في النبات بفعل التعايش لهذه البكتريا مع جذور هذه النباتات .

قدرة العزلتين المستعملة في انتاج الاندول على اذابة مركبات ثلاثي فوسفات الكالسيوم (T-Ca-P) في الوسط وتباينت قدرتها في الاذابة وبمعدل قطر اذابة بلغ 11.73 ملم للعزلة $Pssp_2S$ تلتها العزلة Rsp_8RA بمعدل قطر اذابة 6.85 ملم. ويعود تباين العزلات الواضح في قطر منطقة الاذابة الى قدرتها على انتاج الاحماض العضوية ، وطبيعة ونوع الحامض العضوي المنتج ، ويعد تواجد مثل هذه الاحياء في التربة وزيادة فعاليتها امراً مهما لقابليتها على اذابة مركبات الفوسفات وجعلها جاهزة للنبات .

قدرة عزلتة البكتريا العقدية في تثبيت النتروجين الحيوي في الوسط الخالي من النيتروجين ، وبلغ اعلى معدل تثبيت 3.65 غم N / لتر من قبل العزلة Rsp_8RA ،كما وجد (12) ان بكتريا *Azospirillum* المنتجة للاندول لها القدرة على تثبيت النتروجين في الوسط.

التجربة البايلوجية التطبيقية

صفات النمو الخضري

أ- نسبة وسرعة الانبات

تبين النتائج الموضحة في الجدول (3) ان اعلى معدل لنسبة انبات لبذور فول الصويا بلغ 100 % خلال اليوم 4 بعد الزراعة عند استعمال معاملة خليط العزلتين Rsp_8RA و $Pssp_2S$ وراشحيهما ومعاملة خليط لقاح العزلتين ، تلتها معاملة لقاح العزلة Rsp_8RA وراشحها بنسبة انبات 95 % في اليوم 4 بعد الزراعة. وقد ادى ذلك الى تحقيق زيادة في نسبة الانبات قدرها 25 % و 20 % وبفارق زمني قدره يومين مقارنة بمعاملة السيطرة . كذلك تحققت زيادة في معدل نسبة الانبات قدرها 14 و 9 % مقارنة باستعمال معاملة الاندول الصناعي . ان هذه النتائج تؤكد تحقيق نسبة انبات قدرها 100 % مع استعمال راشح العزلتين ، وهذا يؤكد اهمية هذه الرواشح ودورها في تحفيز الخلايا على النمو لما تحتويه من الاندول الفعال والمركبات الاخرى. واتفقت هذه النتائج مع الفقد بالوزن في الريات اللاحقة .

ما ذكره (13) من ان استعمال رواشح عزلات البكتريا ادى الى تحسين الانبات والنمو لنبات الخس .

كما اكدت هذه النتائج بلوغ اعلى سرعة انبات خلال اليوم 4 مع استعمال رواشح العزلات ايضاً والاندول الصناعي ، الا انها تاخرت الى اليوم 5 مع استعمال العزلات من غير رواشحها والى اليوم 6 في معاملة السيطرة ، وتعد سرعة الانبات وظهور البادرات في وقت واحد وبأعلى نسبة انبات مهمة في العمليات الزراعية ، اذ يساعد في اجراء عمليات خدمة المحصول باوقات مبكرة كما تكون النباتات ذات معدلات نمو متجانسة في الحقل ، مما يسهل عمليات المكافحة والحصاد وتوفير كمية البذور المستعملة عند ضمان نسب انبات عالية في الحقل . **ب : ارتفاع النبات**

يتضح من النتائج الموضحة في الجدول (3) ان اعلى معدل معنوي لطول النبات بلغ 81.2 سم عند استعمال معاملة خليط العزلتين وراشحيهما ، تلاهما استعمال خليط العزلتين وبمعدل طول بلغ 76.4 سم بينما بلغ معدل طول النبات مع استعمال الاندول الصناعي ومعاملة السيطرة بمعدل 61.1 و 36.5 على التوالي . في حين تراوح معدل طول النبات بين 72 و 62 سم عند استعمال لقاح كل عزلة مع راشحها او اللقاح لوحده ، كما ادى استعمال خليط راشح العزلتين الى حصول معدل لطول النبات 60 سم. بينما بلغ معدل طول النبات 58.2 و 42.9 عند استعمال راشحي العزلتين Rsp_8RA و $Pssp_2S$ كلاً على انفراد وعلى التوالي . وتتفق هذه النتائج مع(14) الذين ذكروا ان استعمال العزلات البكتيرية ورواشحها تؤدي الى زيادة اطوال النباتات المستخدمة في تجاربهم

جـ – المساحة الورقية

تبين من خلال الجدول (3) ان اكبر مساحة ورقية مقدرة في النبات بلغت 78.4 دسم^2 عند استعمال خليط لقاح العزلتين وراشحيهما ، تلتها معاملة خليط لقاح العزلتين بمعدل 73.9 دسم^2 وتوافقت نتائج المساحة الورقية مع الزيادات الحاصلة في قياسات ارتفاع النبات ، الا انها اختلفت مع استعمال معاملتي الاندول الصناعي والسيطرة لتصل الى معدل مساحة ورقية 49 دسم^2 و 29.3 دسم^2 على التوالي . في حين تراوح معدل المساحة الورقية (69.9 – 54) دسم^2 عند استعمال العزلتين كل على انفراد او لقاح كل عزلة مع راشحها. بينما ادى استعمال خليط راشحي العزلتين او الراشحين كل على انفراد الى معدل مساحة ورقية تراوح من 50.8 الى 36.1 دسم^2 . وهذا ما اكده(2) ان الاندول المنتج بواسطة بكتريا *Azospirillum* عمل على زيادة المساحة الورقية لنبات الرز .

د – عدد الافرع

يبين الجدول (3) ان اعلى معدل لعدد الافرع النباتية المتكونة في النبات بلغ 4.33 فرع/ نبات مع المعاملة المضاف اليها خليط لقاح العزلتين وراشحيهما ، تلتها معاملة لقاح العزلتين وبمعدل 4.0 فرع / نبات . في حين تساوى معدل عدد الافرع بمعدل 3.66 فرع عند اضافة لقاح كل عزلة مع راشحها. كذلك انخفض معدل عدد الافرع مع استعمال لقاح كل عزلة على حدة الى معدل 3.33 فرع / نبات. وتساوى معدل عدد الافرع عند استعمال خليط الراشحين مع عدد الافرع عند استعمال الاندول الصناعي فبلغ 3 فرع / نبات وانخفض ايضاً ليصل معدل 2.66 فرع / نبات مع استعمال راشح كل عزلة على حدة. وبلغ ادنى معدل له مع معاملة السيطرة اذ بلغ 2.33 فرع / نبات . وهذا يتفق مع ما وجدان استعمال منظم النمو IAA المنتج طبيعياً بواسطة البكتريا وبتراكيز (10 – 30 ملغم / لتر) زاد النمو الخضري والتفرعات لنبات الرشاد وقد عزى ذلك الى زيادة استطالة وانقسام الخلايا .

هـ – الكلوروفيل

اوضحت النتائج المبينة في الجدول (3) ان اعلى معدل لنسبة الكلوروفيل في اوراق النبات بلغت 39.6 % مع استعمال خليط لقاح العزلتين وراشحيهما ، تلتها معاملة خليط العزلتين ثم عزلة Rsp_8RA مع راشحها اذ بلغ معدل نسبة الكلوروفيل 37.2 % و 36.5 % على التوالي. وانخفضت نسبة الكلوروفيل معنوياً في المعاملات التي استعمل بها لقاح عزلة Rsp_8RA و IAA الصناعي وخليط الراشحين اذ تراوحت النسبة بين 31.1 و29.7 % الا انها ازدادت في الانخفاض المعنوي لتصل بين 26.4 و 24.1 مع استعمال معاملات لقاح بكتريا $Pssp_2S$ لوحدها او مع راشحها ، في حين بلغت نسبة الكلوروفيل ادنى مستوى لها 21.8 % مع معاملة السيطرة وذكر ذلك الباسط واخرون ان لمنظمات النمو دوراً هاماً في زيادة نسبة الكلوروفيل في النبات والذي ينعكس ايجابياً على الحاصل (3).

الوزن الجاف للمجموع الخضري

حصل اعلى معدل للوزن الجاف 51.2 غم / نبات عند استعمال معاملة خليط العزلتين وراشحيهما (جدول 3) تلتها معاملة خليط العزلتين بمعدل 46.4 غم / نبات. بينما كان معدل الوزن الجاف للنبات هو 32.5 و

22.3 غم / نبات عند استعمال الاندول الصناعي ومعاملة السيطرة على التوالي . واقترب الوزن الجاف في معاملتي استعمال كل عزلة مع راشحها ، بمعدل الوزن الجاف تراوح بين 41.35 و 42.10 غم / نبات . في حين انخفض معدل الوزن الجاف عند استعمال لقاح العزلتين كل على حدة وبدون الرواشح فبلغ 36.16 و 34.22 غم / نبات . اظهر استعمال خليط راشحي العزلتين نتائج مماثلة لاستعمال معاملة الاندول الصناعي فبلغ الوزن الجاف 32.7 و 32.5 غم / نبات على التوالي . اما عند استعمال راشح العزلتين كل على انفراد انخفض معدل الوزن الجاف للنبات معنوياً ليصل الى 26.5 و 24.6 غم / نبات .ووجد كل من(2 و15) ان منظمات النمو المنتجة من قبل البكتريا ادت الى زيادة الوزن الجاف لنباتي الشعير والطماطة .

و – صفات النمو الجذري:أ – عدد العقد وحجمها وفعاليتها

يوضح الجدول (4) تأثير المعاملات المستعملة في اعداد العقد الجذرية المتكونة على المجموع الجذري لنبات فول الصويا فقد اظهر التحليل الاحصائي وجود فروقات معنوية بين المعاملات اذ بلغ متوسط اعداد العقد الجذرية 56.3 عقدة / نبات مع استعمال معاملة خليط لقاح العزلتين وراشحيهما بنسبة 82.4 % منها عقد فعالة تميزت بلون وردي محمر وجدار شفاف كما تراوح معدل قطر 18.4 عقدة منها بين (10 – 5 ملم) . كما بلغ معدل عدد العقد الجذرية المتكونة في الجذور 48.4 عقدة / نبات تحت معاملة استعمال لقاح العزلة Rsp_8RA وراشحها نسبة 67 % للعقد الفعالة فيها كما ووصل معدل عدد العقد ذات القطر (10 – 5 ملم) 13.5 عقدة / نبات ، وبلغ معدل عدد العقد الجذرية المتكون في جذور النبات الملقح من خليط لقاح العزلتين 33.2 عقدة / نبات ، كانت نسبة العقد الفعالة فيها 61.74 % ، وقد وصل معدل عدد العقد ذات القطر (10 – 5 ملم) الى 8.4 عقدة ، في حين وصل معدل عدد العقد الجذرية 20.2 عقدة / نبات مع استعمال خليط راشحي العزلتين بنسبة 70 % للعقد الفعالة كان منها 7 عقده / نبات بقطر 10 – 5 ملم . في حين ادى استعمال معاملة الاندول الصناعي الى تكون 18 عقدة على جذور النبات كان 67.2 % منها فعالة وبلغ عدد العقد ذات القطر 10 – 5 ملم 3.1 عقدة / نبات .

من جهة اخرى لم يظهر تكون للعقد الجذرية على جذور النبات في معاملة السيطرة ورغم تكون بعض العقد الجذرية باستعمال لقاح العزلة $Pssp_2S$ الا انها لم تكن فعالة . ان لمنظمات النمو دوراً هاماً في تكوين العقد الجذرية وحجمها وفعاليتها فقد ذكر(5).

ب – الوزن الجاف للمجموع الجذري

يتضح من ملاحظة النتائج المبينة في الجدول (4) تفوق وزن المجموع الجذري الجاف معنوياً للنباتات باستعمال المعاملة المكونة من خليط لقاح العزلتين وراشحهما مقارنة بالمعاملات الاخرى ، اذ بلغ معدل الوزن الجاف لجذورها 10.4 غم / نبات تلتها معاملة العزلة Rsp_8RA مع راشحها بمعدل وزن جاف لجذورها بلغ 8.2 غم / نبات ، ثم معاملة خليط لقاح العزلتين وبمعدل وزن جذري قدره 7.33 غم / نبات. في حين بلغ ادنى معدل لوزن الجذور مع معاملة السيطرة اذ بلغ 2.61 غم / نبات ، كما تماثل معدلي وزن الجذور المتحقق من استعمال خليط راشحي العزلتين مع معاملة استعمال الاندول الصناعي بوزن جذري جاف قدره 5.04 و 5.01 غم/ نبات على التوالي. وهذا ما اكده(1)2006 .

كمية النتروجين والفسفور في النبات

1- حاصل النتروجين

يتضح من الجدول (5) ان لاستعمال اللقاح البكتيري اثرا معنويا في زيادة كمية النتروجين في النبات اذ بلغ اعلى متوسط لكمية النتروجين في الجزء الخضري بمعدل 1020 ملغم N / نبات عند استعمال معاملة خليط لقاح العزلتين وراشحيهما ، بينما انخفضت كمية النتروجين في النبات بنسبة 41.3 % عند استعمال خليط العزلتين بدون راشحي العزلتين لتصل 598 ملغم N / نبات. وادى استعمال لقاح البكتريا العقدية Rsp_8RA مع راشحها الى امتصاص كمية من النتروجين بلغت 768 ملغم N / نبات. اما عند استعمال نفس العزلة بدون راشحها انخفضت الكمية الممتصة بنسبة 31.9 % لتصل 523 ملغم N / نبات. وقد بلغ اقل معدل للكمية ممتصة عند معاملة السيطرة فوصلت 130 ملغم N / نبات ، في حين بلغت كمية النتروجين الممتصة عند استعمال معاملة الاندول الصناعي 387 ملغم N / نبات. كما بلغت 384 ملغم N / نبات عند استعمال خليط راشحي العزلتين.

كما اظهر استعمال العزلة Rsp_8RA تفوقاً معنوياً في كمية النتروجين في النبات مقارنة مع استعمال العزلة $Pssp_2S$. ان استعمال منظمات النمو والبكتريا المثبتة للنتروجين اثراً واضحاً في زيادة حاصل النتروجين في النبات وهذا ياتي من خلال زيادة كمية النتروجين الميسرة للنبات في التربة اذ وجد(4) ان بكتريا *Azotobacter* تثبت النتروجين وتنتج الاندول قد زادت من كمية النتروجين وحاصل نبات الحنطة.

2- حاصل الفسفور

يتضح من النتائج المبينة في الجدول (5) تأثير اللقاح البكتيري في زيادة كمية الفسفور المأخوذ من قبل النبات اذ بلغ اعلى معدل 491 ملغم P / نبات عند استعمال خليط العزلتين وراشحيهما. تلتها معاملة استعمال خليط العزلتين وبمعدل 380 ملغم P / نبات. واعطى لقاح عزلة $Pssp_2S$ وراشحها معدل امتصاص بلغ 334 ملغم P / نبات بينما انخفضت الكمية الماخوذة من الفسفور من قبل النبات مع استعمال لقاح العزلة Rsp_8RA وراشحها بنسبة 40 % لتصل 294 ملغم P / نبات. وأظهرت معاملتي استعمال الاندول الصناعي وراشح العزلتين معدلات امتصاص لعنصر الفسفور بلغت 208 و 192 ملغم P / نبات على التوالي ، كما تفوق استعمال معاملتي العزلة $Pssp_2S$ وراشحها او لقاح العزلة بدون راشحها في التاثير على الكمية الماخوذة من الفسفور في النبات مقارنة بمثيلاتها عند استعمال معاملتي عزلة الرايزوبيا Rsp_8RA (جدول 5) كما بلغت اقل كمية ماخوذة من الفسفور في النبات 90 ملغم P / نبات مع معاملة السيطرة .ان زيادة حاصل الفسفور الماخوذ من قبل النبات نتيجة استعمال اللقاح البكتيري يأتي اولاً من قدرة البكتريا على اذابة مركبات الفوسفات في الوسط وجعله ميسراً للنبات وثانياً نتيجة لانتاج منظمات النمو بواسطة البكتريا والتي تعمل على زيادة وتطور المجموع الجذري والخضري ، وهذا بدوره يزيد من نشاط النبات وقدرته على امتصاص المغذيات من التربة (16).

صفات التربة بعد الزراعة

1- النتروجين الكلي

وجد ان اعلى تركيز لعنصر النتروجين في التربة عند استعمال معاملة خليط لقاح العزلتين وراشحهما اذ بلغ 166 ملغم N / كغم تربة (جدول 5). تلتها كمية N الموجودة في التربة عند استعمال معاملة لقاح بكتريا Rsp_8RA وراشحها ثم معاملة خليط لقاح العزلتين بمعدل قدره 152 و 142 ملغم N / كغم تربة على التوالي. بينما انخفض تركيز النتروجين في التربة عند استعمال معاملة لقاح الرايزوبيا ليصل 102 ملغم N / كغم تربة. وتراوحت كمية النتروجين في التربة في المعاملات الاخرى بين 70 و 88 ملغم N / كغم تربة عدا معاملة السيطرة ، اذ انخفض فيها الى 66 ملغم N / كغم تربة يلاحظ ان استخدام اللقاح البكتيري مع الراشح خاصة بالنسبة لبكتريا الرايزوبيا قد ادى الى زيادة كبيرة في النتروجين الكلي في التربة ، وهذا يعود الى دور بكتريا الرايزوبيا في تثبيت النتروجين الجوي وهذا يتضح من خلال زيادة عدد العقد ونسبتها الفعالة (جدول 5) فضلاً عن ذلك دور البكتريا في انتاج منظمات النمو التي تحسن الكثافة الميكروبية والعلاقات التعايشية في التربة فقد ذكر(17) الى ان اكثر من 75 % من كمية النتروجين التي تضاف الى التربة يتم عن طريق التثبيت الجوي ، اذ يقدر ما يثبت عبر هذا المسار حوالي 112 مليون طن من النتروجين سنوياً.

2- الفسفور الجاهز

يلاحظ من الجدول (15) زيادة في تركيز الفسفور الجاهز في التربة عند استعمال معاملة خليط لقاح العزلتين وراشحيهما اذ وصل معدل تركيز الفسفور الى 18.4 ملغم P / كغم تربة ، تلتها معاملتي خليط العزلتين او خليط كل عزلة على انفراد مع راشحها اذ بلغت تراكيز الفسفور في التربة 16.8 و 14.1 و 14.8 ملغم P / كغم تربة على التوالي. بينما تراوحت تراكيز الفسفور في ترب المعاملات الاخرى بين (12.8 – 10.0) ملغم P / كغم تربة عدا معاملة السيطرة اذ انخفض تركيز الفسفور في تربتها ليصل 8.6 ملغم P / كغم تربة. ان زيادة الفسفور الجاهز في التربة ياتي من خلال قدرة عزلتي البكتريا على اذابة مركبات الفوسفات في الوسط نتيجة انتاج بعض الاحماض العضوية وغير العضوية وبعض الانزيمات بواسطة البكتريا وهذا ما اكده(16).

3- الكثافة الميكروبية

تبين النتائج الموضحة في الجدول (5) زيادة الكثافة الميكروبية بشكل معنوي تحت استعمال خليط لقاح العزلتين وراشحيهما اذ وصل معدل كثافة الميكروبات 7.85 log cfu / ml علاوة على تكون 56.3 عقدة جذرية على جذور النبات بلغ منها 46.4 عقدة فعالة تحتوي الاف الخلايا لعزلة بكتريا الرايزوبيا Rsp_8RA (جدول 5). كذلك تميز محتوى التربة من الميكروبات عند استعمال خليط لقاح العزلتين بمحتوى مكروبي بلغ 7.14 Log cfu / ml علاوة على وجود 33.2 عقدة بكتيرية على جذور النبات منها 20.5 عقدة فعالة ، وظهر في التربة التي عوملت من لقاح العزلة $Pssp_2S$ محتوى مكروبي قدره 6.93 Log cfu / ml. كما ادى استعمال خليط راشح العزلتين او راشح كل عزلة على انفراد الى معدل محتوى للكثافة الميكروبية تراوح بين (6.41 – 6.56) Log cfu / ml وبقيت اعداد الميكروبات اقل من المطلوب (6.0 Log cfu / ml) عند استعمال لقاح عزلة الرايزوبيا Rsp_8RA او معاملة الاندول الصناعي اذ بلغ معدل كثافة الميكروبات 5.15 و 5.68 Log cfu / ml على التوالي الا انه زاد على

محتوى تربة معاملة السيطرة التي بلغ محتواها 4.12 cfu . Log / ml

لقد كان اثر اللقاح لعزلة *Pseudomonas* واضحاً في زيادة الكثافة الميكروبية خاصة عند استخدام لقاح العزلتين وراشحيهما ، ووجد(5) ان استعمال اللقاحات الثنائية لبكتريا *Rhizobium* و *Pseudomonas* افضل من استخدامها بصورة مفردة في تحسين النمو وزيادة الانتاج وزاد الكثافة الميكروبية في منطقة الجذور .

المصادر

1- الباسط ، علي سلامة وسالم، علي سمير و الزامك فاطمة ابراهيم ولبيب ، هويدا محمد (2006). عزل وانتخاب سلالات محلية عالية الكفاءة من بكتريا الرايزوبيوم والازوسبيرلم والازوتوبكتر من اراضي بمحافظات الشرقية،المجلة الزراعية– جامعة الزقازيق مجلد 35 عدد 16: 20– 25 .

2-Rasul , G. (1999) . Production of growth hormones nitrogenase by diazotrophic bacteria and their effect on plant growth. Thesis of Ph. D. Higher Education commission. H – 9 – Islamabad.

3-Diby , P. and Sarma , Y. R. (2006). Plant growth promoting Rhizobacteria mediated root prolife ration in black pepper.

4- Jong,S.J.;Sang,S.L.;Hyoun,Y.K.;Tae,S. A.and Hong,G.S.(2003).Plant growth promotion is Soil by inoculated Micro–organisms. J. Micro.41(4):271–276.

5- Hoflich , G. ; Wiehe , W. and Buchnolz , C. H. (1995) . Rhizosphere colonization of different crops with growth promoting *pseudomonas* and *phizobium bacteria*. Micro. Res. 150 : 139 – 147.

6-Lindeman , W. C. ; Ham , G. E (1979) . Soybeen plant growth , nodulation and nitrogen fixation as affected by root temperatwre. Soil. Sci. Am. J. 43 : 1134 .

7- Beck , D. P. ; Materon , L. A. and Afandi , F. (1993). Practical *Rhizobium legumetechnology* manual. Technical manual No. 19. ICARDA.

8- Patten, C. L. , Glick B. R. 2002. Role of *pseudomonas putida* sindoleeacetic acid in development of the host plant root system A E M. Vol. 68. No. 8 P. 3795 – 3801 .

9- الكبيسي ، جمال صالح2008. انتاج منظم انمو اندول حامض الخليك (**IAA**)اوساط محلية واختبار كفاءته على نبات فول الصويا، اطروحة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة الانبار.

10- Baily. S. M. and wiersma, N. (1975). Calculation of leaves area by equation. Plant. Ag. 54: 103 – 106.

11-Black ,C.A. 1965. Methods of soil analysis. Part(2). Chemicale and microbiological properties.Am. Soc. Arcon. Inc. publisher, Madison, Wisconsin, USA.

12- Martin , P. ; Glatzle , A ; Kolb , W. Omay , H. and Schmidt , W. (1989) . N – fixing bacteria in the rhizosphere : Quantifi – cation and hormonal effect on root development. Ziet. Plant. Boden. 152 (2) 237 – 245 .

13-Almonacid, S.; Quintero, N.; Martinez, and vela, M. (2000). Determination of quality parameters of bacterium inocula based on liquid for mulation elaborated with strains producing IAA. Phytopathology. 97: 462 – 468.

14-Ramazan , C. ; Mesude , F. and Erdoan , u (2007). The effect of plant growth promoting on Barley seedling Growth , nutrient uptake and some Soil properties. Turk. J. Argic : 31 : 189 – 199.

15-Fullick , W. (2000) . The effect of different concentrations of the plant growth suhstace IAA on the growth of roots and shoots. Scl – Journal. Vol. 27. No. 9 P. 212 – 217 .

16- Marcos , A. ; Brito , A. ; Sergy , G. and Hani , A. (1994) . Effect of compost on *Rhizosphere microflora* of the tomato and on the incidence of plant growth – promoting *Rhizobacteria* . A E M. 61 (1) : 194 – 199 .

17-Gerte , J. ; Beissner , L. and Romer , W. (2000). The quantitative effect of chemical phosphate mobilization by carboxylate aniors on uptake by single root . J. plant . Nut. and soil. Sci. 163 : 207 – 212 .

جدول (1) المعاملات المستعملة في التجربة البايلوجية التطبيقية

اسم المعاملة	الرمز	الكمية المستعملة (مل)	تركيز الاندول ملغم/لتر	كثافة البكتريا Log cfu/ml
معاملة السيطرة Control	c	0	0	0
حامض الاندول (IAA)	I	50	45.0	
راشح العزلة Rsp_8RA	SR	50	42.2	
راشح العزلة $Pssp_2S$	SPs	50	43.4	
راشح العزلتين $Pssp_2S$ + Rsp_8RA	SPs + SR	25 + 25	21.1+21.7	
$R.sp_8RA$	R	5		7.62
$Pssp_2S$	Ps	5		7.62
$Pssp_2S$ + Rsp_8RA	R + Ps	5 + 5		7.62+ 7.62
العزلتان + راشحيهما	SPs+SR+Ps+R	25+25+5+5	21.1+21.7	7.62+ 7.62

جدول (2) بعض الصفات الفيزيائية والكيميائية للتربة المستعملة

الصفة	القيمة والقياس	الصفة	القيمة والقياس
الرمل sand	330 غم / كغم	درجة التوصيل الكهربائي	2.9 ديسي سيمنز م
الغرين silt	450 غم / كغم	المادة العضوية	9.5 غم/ كغم تربة
الطين clay	220 غم / كغم	النتروجين الكلي	105 ملغرام / كغم
نسجة التربة	مزيجية	الفسفور الجاهز	12.5 ملغم / كغم
درجة تفاعل التربة (pH)	7.6	البوتاسيوم الجاهز	0.81 ملي مول / لتر

جدول (3) تاثير المعاملات على النمو الخضري وبعض صفاته

المعاملات	نسبة الانبات	سرعة الانبات يوم	عدد الافرع	طول النبات سم	المساحة الورقية دسم 2	الكلوروفيل %	الوزن الجاف غم/ نبات
+Rsp8RA+Pssp2Sالراشحين	100	4	4.33	81.2	78.4	39.6	51.2
Rsp8RA+ Pssp2S	85	4	4.00	76.4	73.9	37.2	46.4
+Rsp8RA الراشح	95	4	3.66	72.6	69.9	36.5	42.1
+ Pssp2Sالراشح	90	4	3.66	66.8	60.4	28.4	41.35
Rsp8RA	80	5	3.33	65.3	68	31	36.16
Pssp2S	80	6	3.33	61.9	54	26.4	34.22
IAA	86	4	3.00	61.1	49	30.1	32.5
خليط الراشحيين	100	4	3.50	60.3	50.8	29.7	32.7
- راشحRsp8RA	90	4	2.66	58.2	48.2	26.2	26.5
- راشحPssp2S	90	4	2.66	42.9	36.1	24.1	24.6
Control	75	6	2.33	36.5	29.3	21.8	24.3
LSDP>0.05	-	0.21	0.77	2.96	2.23	1.45	2.88

جدول (4) تاثير المعاملات على النمو الجذري وبعض صفاته

المعاملات	عدد العقد/نبات	عدد العقد الفعالة	عدد العقد حسب القطر سم		الوزن جذور غم/ نبات
			5 -10	2 - 5	
+ Rsp8RA+ Pssp2Sالراشحين	56.3	46.4	18.4	28	10.4
Rsp8RA+ Pssp2S	33.2	20.5	8.4	12.1	7.33
+Rsp8RA الراشح	48.4	32.4	13.5	13.9	8.2
+ Pssp2Sالراشح	12.3	8.3	5.2	3.1	6.84
Rsp8RA	18.2	11.2	4.2	7	6.9
Pssp2S	6.2	0	0	0	5.61
IAA	18	12.1	3.1	9	5.01
خليط الراشحيين	20.2	14.2	7	7.2	5.01
- راشحRsp8RA	18.6	12.8	7.1	5.7	4.12
- راشحPssp2S	12.5	5.2	2.5	2.7	4.31
Control	0	0	0	0	2.61
LSDP>0.05	3.64	2.05	1.34	2.38	1.65

جدول(5)تاثير المعاملات و حاصل النيتروجين والفوسفور في النبات والمتبقي في التربة والكثافة المكروبية

المعاملات	حاصل النيتروجين ملغم \ نبات	حاصل الفوسفور ملعم \ نبات	ملغم \كغم N متبقي	ملغم \كغم P متبقي	كثافة ميكروبية Log cfu/ml
الراشحين +Rsp_8RA+ $Pssp_2S$	1020	491	166	18.4	7.85
Rsp_8RA+ $Pssp_2S$	598	380	142	16.8	7.14
الراشح+Rsp_8RA	768	294	152	14.1	6.15
الراشح+ $Pssp_2S$	373	334	88	14.8	6.93
Rsp_8RA	523	238	102	11.5	5.15
$Pssp_2S$	272	249	72	12.8	6.16
IAA	387	208	80	10.6	5.68
خليط الراشحيين	384	192	82	10.5	6.56
Rsp_8RA - راشح	397	155	76	10	6.32
$Pssp_2S$- راشح	212	168	70	10.9	6.41
Control	130	90	66	8.6	4.12
LSDP>0.05	12.65	9.85	8.75	2.12	1.02

Bacterial Indole acetic acid (IAA) production by using local media and test its efficiency on soyabean plant

Idham, A.Abed **Hammad F. Nawaf** **Jamal. S. Hommod**

E.mail: scianb@yahoo.com

Abstract

This study was included isolation and identification of bacterial isolates for growth promoter production (Indol Acetic Acid) by application of local culture and evaluate its efficiency. According to this perpoute bacterial isolates were collected and examined for their ability to indol production.The local media used included dry powder of legume, bean ,soyabean , seed and milk powder. Its also was tested the effect of edition of supplements to the culture such as treptophan ,N. broth , glucose , N and P on indol production optimum condition was included to increase production efficincy .The ability of selection isolate for iron chelating natural, phosphate disolveing , Nitrogen fexation were tested.Applied biological expermints has been done in order to evalution the efficincy of indol production in compantion with industrial indol and also the efficincy for the selection isolates and their filteration the effect on the implantation of sow seed and groth of soyabeen which suffering from the prescence and distribution of Rhizopia espelially from lraqi soil .This study have the following results :-18 isolates were obtain cupable for them indol production (30 from total isolates) 14 isolats were nodulan bacteria .8 isolates which have high efficancy in indol production were tested six isolates tended to *Rhizopium* and two isolate to *Pseudomonus* in next screening used culture with special condation , two isolates $Pssp_2S$,Rsp_8RA were selected to be used in the indol production growth on Local culture supplements The results of optimum condition study showded the best indol production acharied 41.9& 42.8 mg IAA / l respecivly This study improved the ability of selection isolates to alchelating compouned CAS from blue to pink colum with 4.5 – 5.8 min. of $Ps.sp_2S$ and Rsp_8RA respectively.Their isolates have ability to phosphate dissolved in the medium with diametr range dissolving 6.25 – 11.75 mm respectively , and the ,Rsp_8RA isolate has ability to nitrogen fixation in the medium with avarge of 3.65 N / L whil the $Ps.sp_2S$ doesn't able to nitrogen fixation .

Result of applied biological experiment showed an increased treatment of two isolates mixture Rsp_8RA , $PssP_2S$ with their filterated achaived inclues in :

A-Characters of vegetative group that achaived high avarge for branching (4.37) height of plant (81.2 cfu/ ml and leaf area 78.4cm) ,persente of chlorophyll (39.6%), dry weight (51.2 g) Nitrogen and Phosphours yield in plant (491, 1020 mg) respectively .

B- Root characters were achaived high avarge the number of noduls (56.3 noduli) . weight of root group (10.4 gm).

c- Soil characters after sowing were achaived high average of nitrogen and phosphorus in soil (166 – 18.4 mg / kg soil) respectively and high microbial population in soil (7.82 Log cfu/ ml).