

**Influence of biological inoculant of *Paenibacillus polymyxa* on available phosphorous from phosphorous rock on growth and yield of *Zea mays* L.**

A. K. Jbar, Agric. College, Al-Muthanna Univ

Article Information.Received Date
24/9/2017
Accepted Date
12/11/2017**Keywords**Inoculation
Bacteria
Paenibacillus
Zea mays
Corn
Growth
Yield**Abstract**

A field experiment was carried out in 2015-2016 Autumn growing season at research station, Agric., College, Al-Muthanna university. Isolation and diagnosis of three isolates from *paenibacillus polymyxa* from three varying regions in south of Iraq, which were used as single bacterial inoculant or interaction with three levels of phosphorous rock on growth and yield of *Zea mays* L. cultivar 2018. According to biochemistry tests, isolated bacteria seem to belong to *P. polymyxa*. Bacterial inoculated treatments showed superiority over control treatment, as well as on interaction treatments. Inoculant with 80 Kg P Hacter⁻¹ treatment was superior on the all other treatments in high plant, dry weight, total yield, %P in vegetative parts, p content in soil and number of bacteria in soil by 203.59cm, 183.84gm, 6355.33kg hacter⁻¹, 0.311%, 16.53mg kg⁻¹, 0.117*10⁶ Cfu gm soil⁻¹, respectively. The percentage of increase recorded were 10.49, 21.59, 60.88, 152.58, 200.44, 180.70, respectively, as compared to treatments no inoculation and phosphorous rock application.

*Corresponding author: Abdallah_kreem74@yahoo.com

Al-Muthanna University All rights reserved

تأثير إضافة اللقاح الحيوي للعزلات المحلية لبكتيريا *Paenibacillus polymyxa* في جاهزية الفسفور المتحرر من الصخر الفوسفاتي في نمو وحاصل الذرة الصفراء.

عبد الله كريم جبار/كلية الزراعة/جامعة المثنى

المستخلص

نفذت تجربة حقلية للموسم الخريفي (2016-2017) في محطة الأبحاث التابعة لكلية الزراعة جامعة المثنى باستعمال تصميم القطاعات الكاملة المعشاة وبواقع ثلاث مكررات إذ شملت الدراسة عزل وتشخيص ثلاث عزلات محلية من بكتيريا *Paenibacillus polymyxa* لمناطق مختلفة من جنوب العراق تم استعمالها كلقاح حيوي بشكل منفرد ومتداخل مع ثلاث مستويات من الصخر الفوسفاتي على نمو وحاصل الذرة الصفراء (*Zea mays* L.) صنف 5018 بحوث والفسفور الجاهز في التربة إذ أظهرت النتائج أن البكتيريا المعزولة تعود لنوع *P. polymyxa* ومن خلال نتائج التحليل الإحصائي وجد أن إضافة اللقاح الحيوي البكتيري بغض النظر عن العزلة المستعملة تفوق على معاملة المقارنة وقد أعطت العزلة المحلية *P. polymyxa*-2 زيادة معنوية في أغلب الصفات المدروسة وكانت أعلى نسبة زيادة في معدل الصفات المدروسة لنبات الذرة الصفراء (ارتفاع النباتات، الوزن الجاف للمجموع الخضري، حاصل البذور، تركيز الفسفور في الجزء الخضري، محتوى الفسفور في التربة، عداد البكتيريا) إذ بلغ معدل الصفات (203.59 سم، 183.84 غم، 6355.33 كغم هكتار⁻¹، 0.311%، 16.53 ملغم كغم⁻¹، 0.117*10⁶ Cfu غم تربة⁻¹) على التوالي وكانت النسبة المئوية في الزيادة (10.49، 21.59، 60.88، 152.58، 200.44، 180.70) % على التوالي مقارنة بمعاملة عدم إضافة السماد الحيوي والصخر الفوسفاتي.

المقدمة

P. polymyxa تؤدي إحياء التربة المجهريّة في منطقة

الرايزوسفير دوراً مهماً في تعزيز نمو النبات. وقد ازداد الاهتمام في المدة الأخيرة بدراسة هذه الأحياء. ومن أهم الأحياء المجهريّة في هذا المجال هي *P. polymyxa* التي كانت تعرف سابقاً باسم *Bacillus polymyxa* إذ تعتبر من الأحياء المجهريّة التي تحفز نمو النبات والتي تتواجد بكثافة عالية في منطقة الرايزوسفير (Ash et al., 1993) وتتميز هذه البكتيريا بمدى واسع من الخصائص الإيجابية التي تعزز نمو النبات منها مقدرتها على تثبيت النتروجين الجوي (Mavingui, and Heulin., 1994) ، كذلك مقدرتها على زيادة ذوبانية الفسفور في التربة وتحويل

تشمل الأسمدة الحيوية جميع اللقاحات البكتيرية والفطرية المضافة إلى التربة أو إلى البذور وبطرقها المتعددة بهدف الاستفادة منها في تجهيز بعض العناصر الغذائية الضرورية للنبات لتحسين نموه. ويعد التسميد الحيوي من الطرائق الحديثة التي تهدف إلى الحد من الاستعمال المفرط للأسمدة الكيماوية والتقليل من مصادر التلوث البيئي ومجابهة ارتفاع أسعار الأسمدة الكيماوية وشحه الطاقة (Deshmukh, 1998).

مائلة، ومن ثم تُميت في الحاضنة لمدة (3-4) أيام وحفظت في الثلجة (4°م) لحين استخدامها، ودرست بعض الخواص المورفولوجية للبكتريا واستجابتها لصبغة كرام، وحركة البكتريا بطريقة القطرة المعلقة والموضحة من قبل Atlas وآخرون (1995).

تحضير لقاح بكتريا *P. polymyxa*

اختيرت ثلاث عزلة للبكتريا والمشخصة من النوع (*P. polymyxa*) لاستعمالها في التجارب الحقلية وذلك لكفاءتها العالية في اذابة الفسفور، اذ نميت هذه البكتريا على الوسط الزراعي المنشط السائل وذلك بوضع (50) مل من هذا الوسط في دورق مخروطي سعة (100) مل ولقح من مزرعة عمرها يوم واحد لهذه البكتريا باستعمال الناقل وحضنت في الحاضنة الهزازة على درجة حرارة (30)°م ولمدة (2-3) ايام. ولغرض تحضير كمية كافية من اللقاح لغرض استعمالها في التجارب الحقلية تم تهيئة دوارق مخروطية سعة (250) مل يحوي كل منها على (100) مل من الوسط الزراعي المنشط اعلاه وبعد تعقيمها لقح كل منها بإضافة (1) مل من المزرعة السائلة المجهزة وذلك باستعمال ماصات معقمة ، ثم حضنت هذه الدوارق في الحاضنة الهزازة على درجة حرارة (30)°م ولمدة (2-3) ايام وقبل استعمالها في التلقيح قدرت كثافة البكتريا فيها وذلك بطريقة محلول ثابت العكرة القياسي (محلول مكفرلانند) McFarland standard solution حضر هذا المحلول على وفق (Baron و Finegold ، 1990) وكانت كثافة اللقاح المستخدم (1.5×10^8) وحدة تكوين مستعمرة. مل⁻¹ .

الصور غير الجاهزة الى صورة اكثر جاهزية ، وانتاج المضادات الحيوية وانتاجها Chitinase والعديد من انزيمات التحلل المائي بالإضافة الى دورها الإيجابي في تحسين خواص التربة الفيزيائية ومنها تحسين المسامية (Porosity (Gouzon et al., 1993).

لذا استهدفت الدراسة الحالية:

1. عزل وتشخيص بكتيريا *P. polymyxa* من تربة الرايزوسفير لمحاصيل مختلفة من ترب جنوب العراق.
2. اختبار كفاءة هذه العزلات البكتيرية *P. polymyxa* ومستويات مختلفة من الصخر الفوسفاتي ومدى مساهمتها في زيادة جاهزية الفسفور وبتالي زيادة نمو النبات والحاصل

مواد وطرائق العمل

عزل البكتيريا وتسميتها

لغرض عزل البكتريا المذيبة للفوسفات، تم استخدام بيئة (Pikovskaya's Medium) الصلبة والموضحة من قبل Motsara وآخرون (1995). أذيبت المكونات في لتر من الماء المقطر. وعقمت البيئة الغذائية باستخدام جهاز المؤصدة على درجة حرارة (121°م) وضغط وضغط 15 باوند / انج² ولمدة (20) دقيقة، إذ تم تحضير تخافيف متسلسلة لغاية التخفيف (10^{-6}) من ترب الرايزوسفير المختلفة وتلقيح الأطباق، وحضنت في درجة حرارة (30°م) لمدة (3-4) أيام، ولوحظ تكوين المناطق الخالية من النمو حول المستعمرات. تم اختيار مستعمرة بكتيرية معزولة من الترب المختلفة والتي تميزت بإذابتها للفسفور والمختلفة في أشكالها المورفولوجية، حيث تم تلقحها في بيئات سائلة وحضنت لمدة (3-4) أيام). خططت البكتريا على بيئة صلبة

جدول (1). بعض الصفات الكيميائية والفيزيائية لتربة التجربة

الصفة	القيمة
الاصلية الكهربائية ECE	2.90 ديسي سيمنز. م ⁻¹
درجة تفاعل التربة	7.4
المادة العضوية	9.85 غم. كغم ⁻¹
السعة التبادلية الكاتيونية	21.00 . سنتيمول. كغم ⁻¹
النتروجين الجاهز	14.30 ملغم. كغم ⁻¹
الفسفور الجاهز	8.36 ملغم. كغم ⁻¹
البوتاسيوم الجاهز	180.50 ملغم. كغم ⁻¹
تحليل حجوم الدقائق	الرمل 362 غم. كغم ⁻¹
	الغرين 401 غم. كغم ⁻¹

مستوى (0.05) في معدل ارتفاع النبات للذرة الصفراء إذ بلغ أعلى ارتفاع عند معاملة التداخل (80 + *P. polymyxa*-2) كغم P هكتار) إذ بلغت 226.22 سم في حين بلغت أقل قيمة عند المعاملة (عدم إضافة اللقاح +0 كغم P هكتار) 167.00 سم أي بزيادة قدرها 35.46%. وقد تُعزى الزيادة في معدل ارتفاع نباتات الذرة الصفراء الى التأثير الإيجابي للتداخل استخدام التلقيح للبكتريا والصخر الفوسفاتي (80 كغم P هكتار) من جهة هنالك تداخل إيجابي بين بكتريا *P. polymyxa* ومن جهة أخرى يوفر الصخر الفوسفاتي المتطلبات الغذائية خاصة عنصر الفسفور مما يعكس بشكل إيجابي على مفردات النمو وارتفاع النبات ويعزى ذلك إلى إن بكتيريا *P. polymyxa* تنتج الكثير من المواد الأيضية مثل Cytokinins و Riboflavin والهرمونات النباتية مثل الجبرلين Gibbrillin التي تؤدي إلى زيادة نمو المجموع الجذري واستطالته مما يعكس في زيادة وزنه الجاف وعدد التفرعات وامتصاص المغذيات والذي يؤدي إلى تشجيع نمو النبات ويزيد الإنتاج Tang وآخرون، (2001) الذي أشار إلى زيادة عدد التفرعات لمحصول الفاصوليا بزيادة مستويات الفوسفات المضافة إلى التربة.

وقد يعود سبب ذلك لقابلية البكتريا على زيادة جاهزية الفسفور إذ وجد بأن الأحياء المجهرية المذيبة للفوسفات تقوم بإنتاج أنواع مختلفة من الأحماض العضوية منها حامض الستريك والأوكزاليك و 2- كيتوكلوكونيك والمؤكدة من قبل Yong وآخرون (2002) والتي تعمل على إذابة مركبات الفوسفات غير الذائبة، فضلاً عن دورها في منافسة الفوسفات على مواقع الامتزاز ذات الطاقة العالية والتي تزيد في جاهزية الفوسفات إضافة إلى فعالية البكتريا في إفرازها لمنظمات النمو اندول حامض الخليك المؤثر في استطالة الخلايا وانقسامها وبهذه الآليات يزداد تكون المواد البروتينية والذي يعكس إيجابياً في معدل ارتفاع النبات وهذا ما أكده بشير (2004)

ويبين النتائج في الجدول 2 دور للصخر الفوسفاتي البكتيري أذ أعطى زيادة معنوية عند مستوى (0.05) في معدل الارتفاع لنبات الذرة الصفراء إذ بلغ أعلى ارتفاع عند استعمال الصخر الفوسفاتي (80 كغم P هكتار) ثم يليه المستوى (40 كغم P هكتار) ومن ثم عدم إضافة الفسفور (0 كغم P هكتار) وبلغت القيم (210.43، 201.65، 174.02) على التوالي. ويُلاحظ أن لتأثير التداخل الثنائي بين التلقيح الحيوي والصخر الفوسفاتي فروق معنوية عند

جدول (2). تأثير اللقاح الحيوي لـ *P. polymyxa* والصخر الفوسفاتي في ارتفاع النبات (سم).

Mean	الصخر الفوسفاتي			التسميد الحيوي بدون تسميد
	P2	P1	P0	
184.26	197.78	188.00	167.00	
195.74	204.78	206.11	176.33	<i>P. polymyxa</i> -1
203.59	226.22	208.33	176.22	<i>P. polymyxa</i> -2
197.86	212.92	204.14	176.51	<i>P. polymyxa</i> -3
	210.43	201.65	174.02	Mean
S*P=6.238	P=3.119		S=3.601	LSD 0.05

الوزن الجاف للمجموع الخُصري للنبات:

أيضاً تفوقت على معاملة المقارنة بدون إضافة اللقاح بمقدار 181.72 غم نبات¹. وقد يُعزى سبب الزيادة في معدل الوزن الجاف للجزء الخُصري للنباتات الذرة الصفراء عند إضافة اللقاح الحيوي لبكتريا *P. polymyxa* له دور إيجابي إذ يمتاز بمدى واسع من الخصائص الإيجابية التي تعزز نمو النبات. وقد حصل حسن، (2011) على نتائج مقارنة مع نبات الذرة الصفراء توصلوا إلى أن إضافة اللقاح الحيوي يؤدي إلى زيادة الوزن الجاف للمجموع الخُصري وهذه النتائج تتوافق مع ما ذكر كل من حسن، (2011) ونوني

أظهرت نتائج الجدول 3 زيادة معنوية عند المستوى (0.05) في معدل الوزن الجاف للجزء الخُصري للنباتات الذرة الصفراء عند إضافة اللقاح الحيوي إذ أعطت معاملات التلقيح *P. polymyxa*-1 و 2 أعلى قيمة بمقدار 183.84 غم نبات¹ أي تفوق بمقدار 21.59% على معاملة المقارنة التي سجلت 151.19 غم نبات¹ ومن ثم معاملة اللقاح الحيوي لبكتريا *P. polymyxa*-3 التي بلغت 182.43 غم نبات¹ ومن ثم معاملات التلقيح *P. polymyxa*-1

(2016) من التلقيح البكتيري أدى إلى زيادة الوزن الجاف للأجزاء الخضرية.

وأوضحت النتائج في الجدول 3 ان لصخر الفوسفات تأثير معنوي إذ أعطى زيادة معنوية في مُعدل الوزن الجاف للجزء الخُصري للنباتات الذرة الصفراء عند استعمال الصخر الفوسفاتي عند المستوى (80 كغم P هكتار) وبلغت القيم 184.01 غم نبات¹ ويمكن ان يُعزى سبب الاختلاف والتباين مُعدل الوزن الجاف للجزء الخُصري للنباتات الذرة الصفراء عند استعمال الصخر الفوسفاتي. وأشارت النتائج الى أن التداخل الثنائي بين التلقيح الحيوي وصخر فوسفاتي اعطى زيادة معنوية عند مستوى احتمالي (0.05) في مُعدل الوزن الجاف للجزء الخُصري لنبات الذرة الصفراء إذ بلغ أعلى ارتفاع عند معاملة التداخل (التلقيح البكتيري + الصخر الفوسفاتي (80 كغم P هكتار)) إذ بلغت 197.17 غم نبات¹ في حين بلغت معاملة المُقارنة (عدم إضافة اللقاح +0 كغم P هكتار) 161.19 غم نبات¹ اي بزيادة قدرها 22.32%. ويمكن ان تُعزى الزيادة في مُعدل الوزن الجاف للجزء الخُصري لنباتات الذرة الصفراء الى التأثير الإيجابي للتداخل استخدام التلقيح والصخر الفوسفاتي (80 كغم P هكتار) إذ ان هناك تداخل إيجابي بين بكتريا *P. polymyxa* مع استخدام الصخر الفوسفاتي إذ يوفر جزء من المتطلبات الغذائية بشكل جيد كذلك فان البكتيريا المستخدمة في اللقاح الحيوي دوراً مهماً في استتالة خلايا النبات نتيجة زيادة انقسام الخلايا النباتية فضلاً عن نشاطها في تثبيت النتروجين الجوي الذي يقوم بتجهيز بعض ما يحتاجه النبات من عنصر النتروجين خلال مراحل النمو المختلفة كما أشار إلى ذلك عدد من الباحثين (Abd El-Gawad وآخرون، 2009).

نشاطها في تثبيت النتروجين الجوي الذي يقوم بتجهيز بعض ما يحتاجه النبات من عنصر النتروجين خلال مراحل النمو المختلفة كما أشار إلى ذلك عدد من الباحثين (Abd El-Gawad وآخرون، 2009). وأشارت النتائج الى أن التداخل الثنائي بين التلقيح الحيوي وصخر فوسفاتي اعطى زيادة معنوية عند مستوى احتمالي (0.05) في مُعدل الوزن الجاف للجزء الخُصري لنبات الذرة الصفراء إذ بلغ أعلى ارتفاع عند معاملة التداخل (التلقيح البكتيري + الصخر الفوسفاتي (80 كغم P هكتار)) إذ بلغت 197.17 غم نبات¹ في حين بلغت معاملة المُقارنة (عدم إضافة اللقاح +0 كغم P هكتار) 161.19 غم نبات¹ اي بزيادة قدرها 22.32%. ويمكن ان تُعزى الزيادة في مُعدل الوزن الجاف للجزء الخُصري لنباتات الذرة الصفراء الى التأثير الإيجابي للتداخل استخدام التلقيح والصخر الفوسفاتي (80 كغم P هكتار) إذ ان هناك تداخل إيجابي بين بكتريا *P. polymyxa* مع استخدام الصخر الفوسفاتي إذ يوفر جزء من المتطلبات الغذائية بشكل جيد كذلك فان البكتيريا المستخدمة في اللقاح الحيوي دوراً مهماً في استتالة خلايا النبات نتيجة زيادة انقسام الخلايا النباتية فضلاً عن نشاطها في تثبيت النتروجين الجوي الذي يقوم بتجهيز بعض ما يحتاجه النبات من عنصر النتروجين خلال مراحل النمو المختلفة كما أشار إلى ذلك عدد من الباحثين (Abd El-Gawad وآخرون، 2009).

جدول (3). تأثير اللقاح الحيوي لـ *P. polymyxa* والصخر فوسفاتي في الوزن الجاف للجزء الخصري (غم نبات¹).

التسميد الحيوي	P0	P1	P2	Mean
بدون تسميد	151.19	151.19	151.19	151.19
<i>P. polymyxa-1</i>	162.84	188.28	194.05	181.72
<i>P. polymyxa-2</i>	62.54	191.81	197.17	183.84
<i>P. polymyxa-3</i>	164.80	188.88	193.62	182.43
Mean	160.34	180.04	184.01	
LSD 0.05	S=0.985	P=0.853		1.706

بغض النظر عن السلالة ، إذ اعطت معاملات التلقيح الثنائي *P. polymyxa-2* أعلى قيمة بمقدار 6355.33 كغم هكتار¹ اي تفوق بمقدار 60.88% على معاملة المُقارنة ومن ثم معاملة اللقاح الحيوي لبكتريا *P. polymyxa-3* إذ بلغت 6210.33 كغم هكتار¹ وبلغت الزيادة 48.90% خلال مرحلة الحصاد

الحاصل الكلي (كغم هكتار¹) أن إضافة السماد الحيوي البكتيري *P. polymyxa-2* حقق زيادة معنوية في حاصل البذور مقارنة بمعاملة عدم إضافة السماد الحيوي. وبينت النتائج في الجدول 4 زيادة معنوية في مُعدل حاصل البذور لنبات الذرة الصفراء عند إضافة اللقاح الحيوي

في مُعدل حاصل البذور لنبات الذرة الصفراء إذ بلغ أعلى وزن عند معاملة التداخل التلقيح البكتري+حامل الصخر الفوسفاتي (80 كغم P هكتار) إذ بلغت 7533.00 كغم هكتار⁻¹ في حين بلغت اقل معاملة (عدم إضافة اللقاح +0 كغم P هكتار) 4463.00 كغم هكتار⁻¹ اي بزيادة قدرها 69.03%. ويمكن أن تُعزى الزيادة في مُعدل حاصل البذور لنباتات الذرة الصفراء الى التأثير الإيجابي للتداخل استخدام التلقيح والصخر الفوسفاتي (80 كغم P هكتار) من عدة جوانب إذ أن هناك تداخل إيجابي بين بكتريا *P.polymyxa* مع استخدام الصخر الفوسفاتي (80 كغم P هكتار) إذ يوفر الصخر الفوسفاتي المتطلبات الغذائية بشكل جيد ويؤدي تأمين المستوى المناسب من الفسفور في انسجة النبات إلى زيادة نشاط ونمو المجموعة الجذرية وزيادة تشعبها وكذلك زيادة نمو المجموع الخضري و يساعد ذلك في زيادة الحاصل والإسراع والتبكير في تكوين وإنضاج المحاصيل لاسيما الحبوب ومن ثم يقلل من مدة النضج (Havlin وآخرون ، 2005). كما وجد العكيلي (2001) ان اضافة اربعة مستويات من الصخر الفوسفاتي (0، 2000، 4000 و 6000) كغم P₂O₅ هـ⁻¹ الى التربة اثرت معنوياً في نمو وحاصل الحنطة وكانت هناك زيادة في الوزن الكلي للمادة الجافة ووزن الحبوب والقش وعدد الحبوب السنبله في الواحدة.

بالمقارنة مع معاملة القياس بدون إضافة اللقاح ومن ثم معاملات التلقيح *P. polymyxa-1* أيضاً تفوقت على معاملة المقارنة بدون إضافة اللقاح بمقدار 10.27% إذ بلغ مُعدل حاصل البذور للنباتات الذرة الصفراء 6203.22 كغم هكتار⁻¹ ثم معاملة المقارنة بلغت 4541.55 كغم هكتار⁻¹. وقد يُعزى سبب الزيادة في حاصل البذور لدور الإيجابي للقاح الحيوي المستعمل كذلك من الآليات الرئيسية التي تشجع نمو النباتات الملقحة بهذه البكتريا هي مقدرتها على تحسين جاهزية المغذيات الصغرى والكبرى فضلاً عن أهميتها في تحرير العديد من الهرمونات والاحماض العضوية التي لها دور كبير في تجوية الصخور الحاوية على الفسفور ومنها صخر الفوسفات (علي، 2008).

واظهرت النتائج في الجدول 4 أيضاً دور لصخر الفوسفاتي الذي أعطى زيادة معنوية عند مستوى (0.05) في مُعدل حاصل البذور لنبات الذرة الصفراء إذ بلغت أعلى قيم عند استعمال الصخر الفوسفاتي (80 كغم P هكتار) وبلغت القيم 7306.33 كغم هكتار⁻¹. وقد يُعزى سبب الاختلاف أو التباين في حاصل البذور الى زيادة جاهزية الفسفور وبالتالي زيادة التفرعات وانتشار الجذور ويسرع من نضج النباتات ويحسن من كمية ونوعية الحاصل (Tisdale وآخرون 1997؛ النعيمي، 1999). ويلاحظ أن للتداخل الثنائي بين التلقيح الحيوي والصخر الفوسفاتي إذ اعطت زيادة معنوية عند مستوى (0.05)

جدول (4). تأثير طريقة إضافة اللقاح الحيوي لـ *P. polymyxa* والصخر الفوسفاتي في حاصل الحبوب (كغم هكتار⁻¹).

Mean	الصخر الفوسفاتي			التسميد الحيوي
	P2	P1	P0	
5044	6022	5647	3463	بدون تسميد
6203	7306	6762	4542	<i>P. polymyxa-1</i>
6355	7533	6898	4635	<i>P. polymyxa-2</i>
6210	7364	6740	4527	<i>P. polymyxa-3</i>
	7056	6512	4292	Mean
	S*P=105	P=52.5	S=60.6	LSD 0.05

الحيوي بغض النظر عن السلالة، إذ اعطت معاملات التلقيح *P. polymyxa-2* أعلى قيمة بمقدار 0.311% اي تفوق بمقدار 152.58% على معاملة المقارنة ومن ثم معاملة اللقاح الحيوي البكتيري *P. polymyxa-3* إذ بلغت 0.300 وبلغت الزيادة 61.39% خلال مرحلة الحصاد بالمقارنة مع معاملة القياس بدون إضافة اللقاح ومن ثم معاملات التلقيح *P. polymyxa-1*

الفسفور في المجموع الخضري كنسبة مئوية (%). أن إضافة السماد الحيوي البكتيري (*P. polymyxa*) حقق زيادة معنوية في النسبة المئوية تركيز الفسفور في المجموع الخضري مقارنة بمعاملة عدم إضافة سماد حيوي. وبينت النتائج في الجدول 5 زيادة معنوية في مُعدل النسبة المئوية تركيز الفسفور في المجموع الخضري لنبات الذرة الصفراء عند إضافة اللقاح

أيضاً تفوقت على معاملة المقارنة بدون إضافة اللقاح بمقدار 56.57% إذ بلغ تركيز الفسفور في المجموع الخُصري للنباتات الذرة الصفراء 0.290 ثم معاملة المقارنة بلغت 0.279. ويمكن ان يُعزى سبب الزيادة في تركيز الفسفور في المجموع الخُصري لآثار الإيجابي للبكتريا المستعملة كلقاح إذ تمتاز بمدى واسع من الخصائص الإيجابية التي تعزز نمو

لنباتاتها منها مقدرتها على تثبيت النتروجين وزيادة ذوبانية الفسفور في التربة وتحويل الصور غير الجاهزة الى صورة أكثر جاهزية وتتفق هذه النتائج مع ما أشار إليه، Siddiqui (2006) بان استخدام العزلات البكتيرية *Bacillus sp.* ومنها العزلة *Bacillus polymyxa* تعد احد الأساليب الناجحة في زيادة جاهزية الفوسفور غير الذائب وامتصاصه من قبل النبات. وأيد ذلك أيضاً Bashan وآخرون، (2004) إذ ذكر أن التلقيح الحيوي قد يشجع على امتصاص الامونيوم المضاف كسماد والفسفور المضاف بهيئة صخر فوسفاتي، وأضاف أن وجود اللقاح يشجع نمو النبات وهذه النتائج تتفق مع ما ذكره (حميد، 2002).

وبيين الجدول 5 تأثيراً لصخر الفوسفات الذي أعطى زيادة معنوية عند مستوى (0.05) في معدل تركيز الفسفور في

المجموع الخُصري لنبات الذرة الصفراء إذ بلغت أعلى قيم عند استعمال الصخر الفوسفاتي (80 كغم P هكتار) وبلغت القيم 0.335%. ويمكن أن يُعزى سبب الاختلاف أو التباين في معدل تركيز الفسفور الى المستوى العالي من إضافة الفسفور وبين المختار وآخرون (2002) ان الفسفور المضاف الى التربة بالمستوى 250 كغم ه⁻¹ P₂O₅ اعطى زيادة معنوية في مستوى الفسفور في النبات والبالغة 2.05 غم. نباتات-1 و 4.62 ملغم P. نباتات⁻¹ على التوالي. ويُلاحظ أن التداخل الثنائي بين التلقيح الحيوي والصخر الفوسفاتي اعطى زيادة معنوية عند مستوى (0.05) في معدل النسبة المئوية تركيز الفسفور في المجموع الخُصري لنبات الذرة الصفراء إذ بلغ أعلى معدل عند معاملة التداخل التلقيح والصخر الفوسفاتي (80 كغم P هكتار) إذ بلغت 0.357 في حين بلغت معاملة المقارنة (عدم إضافة اللقاح +0 كغم P هكتار) 0.1846 اي بزيادة قدرها 93.28%. ويمكن أن تُعزى الزيادة في معدل تركيز الفسفور لنباتات الذرة الصفراء الى التأثير الإيجابي للتداخل استخدام التلقيح البكتيري *P. polymyxa* من جهة والصخر الفوسفاتي (80 كغم P هكتار).

جدول (5). تأثير اللقاح الحيوي لـ *P. polymyxa* والصخر الفوسفاتي في محتوى الفسفور للمجموع الخُصري (%).

Mean	الصخر الفوسفاتي			التسميد الحيوي بدون تسميد
	P2	P1	P0	
0.268	0.311	0.316	0.177	
0.290	0.331	0.329	0.210	<i>P. polymyxa-1</i>
0.322	0.357	0.345	0.264	<i>P. polymyxa-2</i>
0.301	0.342	0.345	0.215	<i>P. polymyxa-3</i>
	0.335	0.334	0.217	Mean
S*P = 0.0165	P= 0.0082		S= 0.0095	LSD 0.05

الفسفور الجاهز في التربة.

أن إضافة السماد الحيوي البكتيري حقق زيادة معنوية في النسبة المئوية تركيز الفسفور الجاهز في التربة مقارنة بمعاملة عدم إضافة سماد حيوي. وبينت النتائج في الجدول 6 زيادة معنوية في معدل النسبة المئوية تركيز الفسفور الجاهز في التربة عند إضافة اللقاح الحيوي بغض النظر عن نوع اللقاح ، إذ اعطت معاملات التلقيح *P. polymyxa-2* أعلى قيمة بمقدار 16.539 ملغم كغم-1 اي تفوق بمقدار 200.44% على معاملة المقارنة ومن ثم

معاملة اللقاح الحيوي لبكتريا *P. polymyxa-3* إذ بلغت 15.438 ملغم كغم-1 وبلغت الزيادة 43.65% خلال مرحلة الحصاد بالمقارنة مع معاملة القياس بدون إضافة اللقاح ومن ثم معاملات التلقيح *P. polymyxa-1* أيضاً تفوقت على معاملة المقارنة بدون إضافة اللقاح بمقدار 41.77% إذ بلغ النسبة المئوية تركيز الفسفور الجاهز في التربة 15.137 ملغم كغم⁻¹ ثم معاملة المقارنة بلغت 8.512 ملغم كغم⁻¹.

أن النتائج المتحصل عليها جاءت متفقة مع ما توصل إليه (Hegde 2004) والذي أكد على أهمية البكتريا المستعملة كلقاح حيوي في إذابتها للصخر الفوسفاتي، كما أشار إلى أن بكتريا *P. polymyxa* تعدّ من الأنواع البكتيرية الكفؤة في إذابة الصخر الفوسفاتي.

كما تبين أن هنالك اختلافاً في كفاءة العزلات البكتيرية تلك في إذابتها لفوسفات وتغير الرقم الهيدروجيني pH للوسط، وقد بلغ أعلى معدل لقيم الفسفور الذائب عند التلقيح بالعزلات P20 و P23 هو 45.19 و 47.07 ملغم P⁻¹ لتر⁻¹ بالتتابع، وأقل القيم مع العزلات P10 و P3 وبمعدل 29.33 و 32.11 ملغم P⁻¹ لتر⁻¹ بالتتابع عند نهاية مدة تحضين البكتريا، أن الانخفاض في قيم pH الوسط قد يعزى إلى إنتاج بعض الأحماض العضوية مثل حامض الستريك والأوكزاليك وهذا ما أكدته (Alam وآخرون، 2004)، أو قد يكون بسبب تنفس الأحياء المجهرية وتحريرها غاز ثنائي أكسيد الكربون والذي يكون حامض الكربونيك عند اتحاده مع الماء، إذ وجد حسن (2012) أن عزلات بكتريا *P. fluorescens* و *B. subtilis* ظهرت قدرات مختلفة في خفضها pH الوسط وعزى سبب ذلك للاختلافات الوراثية بين العزلات البكتيرية فضلاً عن الاختلاف في كمية ونوعية الأحماض التي تفرزها للوسط إذ لاحظ وجود علاقة عكسية بين pH الوسط وكمية الفسفور الذائب. وقد أكد ذلك أيضاً Schinner و Illmer (1992) ووجد بأن الأحياء المجهرية المذيبة للفوسفات تقوم بإنتاج أنواع مختلفة من الأحماض العضوية مثل حامض 2- كيتوكلوكونيك كما أكد ذلك (Yong وآخرون، 2002).

وبين الجدول 6 أيضاً دور مهم للصخر الفوسفاتي الذي أعطى زيادة معنوية عند مستوى (0.05) في معدل الفسفور الجاهز في التربة إذ بلغت أعلى قيم عند استعمال الصخر الفوسفاتي (80 كغم P هكتار) وبلغت القيم 25.593 ملغم كغم⁻¹. ويمكن أن يُعزى سبب الاختلاف في معدل الفسفور الجاهز في التربة إلى كثافة أعداد البكتريا في التربة إذ يُعتبر مصدر الفسفور من العناصر الغذائية التي تحتاجها البكتريا مما يؤدي إلى زيادة نشاطها في التربة أو الرايزوسفير مما يعزز نمو النبات الذي يؤدي إلى زيادة الفسفور الجاهز للفسفور. وفي هذا المجال أشار Igual وآخرون (2001) إلى أن الاختلاف في قيم الفسفور الجاهز بين

العزلات ربما يعود إلى اختلافات وراثية بين العزلات والتي قد تؤثر في قدرة الأحياء المجهرية وكفاءتها في إذابتها للفوسفات غير الذائبة أو قد يعود السبب إلى ظروف بيئة النمو أو اختلاف ميكانيكيات الإذابة من قبل الأحياء وهذا ما أكدته كل من Yong وآخرون (2002). وقد تعزى الزيادة في الفسفور الذائب أيضاً إلى إنتاج بعض الأحماض العضوية والتي تعمل على إذابة جزء من فوسفات الكالسيوم الثلاثية، وخاصةً حامض اللاكتيك الذي ينتج بكميات كبيرة والذي أثبتت فاعليةً في إذابة مركبات الفسفور غير الذائبة وهذا ما أكدته (Didiek et al., 2000) أو إنتاج حامض 2- Ketogluconic والذي يعمل على إذابة الفوسفات كما أشار لذلك Yong وآخرون (2002) عند دراستهم لبكتريا *Enterobacter intermedium*. ويُلاحظ أن التداخل الثنائي بين التلقيح الحيوي والصخر الفوسفاتي أعطى زيادة معنوية عند مستوى (0.05) في معدل الفسفور الجاهز في التربة إذ بلغ أعلى مستوى عند معاملة التداخل التلقيح البكتيري والصخر الفوسفاتي بمعدل (80 كغم P هكتار) إذ بلغت 27.533 ملغم كغم⁻¹ في حين بلغت معاملة المقارنة (عدم إضافة اللقاح +0 كغم P هكتار) 8.296 ملغم كغم⁻¹ أي بزيادة قدرها 230.99%. ويمكن أن تُعزى الزيادة في معدل الفسفور الجاهز في التربة إلى التأثير الإيجابي للتداخل استخدام التلقيح البكتيري والصخر الفوسفاتي من عدة جوانب إذ أن هناك تداخل إيجابي بين بكتريا *P. polymyxa* مع استخدام حامل الصخر الفوسفاتي (80 كغم P هكتار). ووجد Yong وآخرون (2002) أن الأحياء المجهرية المذيبة للفوسفات تقوم بإنتاج أنواع مختلفة من الأحماض العضوية منها حامض الستريك والأوكزاليك و 2- كيتوكلوكونيك والتي تعمل على إذابة مركبات الفوسفات غير الذائبة، فضلاً عن دورها في منافسة الفوسفات على مواقع الامتزاز ذات الطاقة العالية والتي تزيد في جاهزية الفوسفات، كما ينتج عن تحرير الأحماض العضوية انخفاض نسبي في pH التربة والذي قد يؤدي إلى زيادة في جاهزية الفسفور، بسبب الإذابة الحاصلة والمؤكدة من قبل راهي وآخرون (1994). إذ تعمل هذه البكتريا في تمثيل الفسفور الجاهز وإذابة المركبات الفوسفاتية غير الذائبة والحد من عمليات الترسيب للفسفور وهذا ما أكدته (Khan و Joergeseu 2009 والبحراني 2015).

جدول (6). تأثير اللقاح الحيوي لـ *P. polymyxa* والصخر الفوسفاتي في الفسفور الجاهز في التربة. (ملغم كغم⁻¹).

الصخر الفوسفاتي					التسميد الحيوي
Mean	P2	P1	P0		بدون تسميد
12.72	22.16	9.38	6.62		<i>P. polymyxa</i> -1
15.14	25.11	12.01	8.30		<i>P. polymyxa</i> -2
16.54	27.53	13.30	8.79		<i>P. polymyxa</i> -3
15.44	25.57	12.23	8.51		Mean
	25.09	11.73	8.05		LSD 0.05
	S*P = 0.8839	P= 0.442	S= 0.5103		

ويبين الجدول 7 أيضاً دور للصخر الفوسفاتي إذ أعطى زيادة معنوية عند مستوى (0.05) في معدل أعداد بكتريا *P. polymyxa* في التربة إذ بلغت أعلى قيم عند استعمال الصخر الفوسفاتي (80 كغم P هكتار) وبلغت القيم $10^6 * 0.166$ CFU غم⁻¹ تربة. ويمكن أن يُعزى سبب التباين في معدل أعداد بكتريا *P. polymyxa* في التربة الى طبيعة الى توفر العناصر التي تحتاجها البكتيريا ومنها الفسفور وتتفق هذه النتائج جبار (2016). ويُلاحظ أن التداخل الثنائي بين التلقيح الحيوي والصخر الفوسفاتي اعطى زيادة معنوية عند مستوى (0.05) في معدل أعداد بكتريا *P. polymyxa* في التربة إذ بلغ أعلى كثافة للبكتريا عند معاملة التداخل التلقيح ببكتريا *P. polymyxa*-2 والصخر الفوسفاتي (80 كغم P هكتار) إذ بلغت $10^6 * 0.190$ CFU غم⁻¹ تربة في حين بلغت معاملة المقارنة (عدم إضافة اللقاح +0 كغم P هكتار) $10^6 * 0.054$ CFU غم⁻¹ تربة اي بزيادة قدرها 264.81%. ويمكن أن تُعزى الزيادة في معدل أعداد بكتريا *P. polymyxa* في التربة الى التأثير الإيجابي للتدخل استخدام التلقيح ببكتريا *P. polymyxa* والصخر الفوسفاتي (80 كغم P هكتار).

أعداد بكتريا *P. polymyxa* في التربة.

أن إضافة اللقاح الحيوي البكتيري حقق زيادة معنوية في معدل أعداد بكتريا *P. polymyxa* في التربة مقارنة بمعاملة عدم إضافة اللقاح الحيوي. وبينت النتائج في الجدول 7 زيادة معنوية في معدل أعداد بكتريا في التربة عند إضافة اللقاح الحيوي بغض النظر عن السلالة إذ بلغت أعلى قيمة عند معاملة اللقاح الحيوي لبكتريا *P. polymyxa*-2 بمقدار $10^6 * 0.117$ CFU غم⁻¹ تربة وبلغت الزيادة كنسبة مئوية 180.70% خلال مرحلة الحصاد بالمقارنة مع معاملة القياس بدون إضافة ومن ثم معاملات التلقيح *P. polymyxa*-3 إذ بلغ أعداد بكتريا *P. polymyxa* $10^6 * 0.100$ CFU غم⁻¹ تربة اي تفوقت بمقدار 170.17% على معاملة المقارنة ومن ثم معاملات التلقيح *P. polymyxa*-1 أيضاً تفوقت على معاملة المقارنة بدون إضافة اللقاح بمقدار 56.14% إذ بلغ أعداد البكتريا في التربة $10^6 * 0.096$ CFU غم⁻¹ تربة ثم معاملة المقارنة بلغت $10^6 * 0.057$ CFU غم⁻¹ تربة. ويمكن ان يُعزى سبب الزيادة في اعداد البكتريا الى نجاح عملية التلقيح خصوصا العزلة المحلية *P. polymyxa*-2 وتتفق هذه النتائج مع نوني (2016)

جدول (7). تأثير طريقة إضافة اللقاح الحيوي لـ *P. polymyxa* والصخر الفوسفاتي في اعداد بكتريا *P. Polymyxa* (CFU¹⁰*x) غم⁻¹ تربة).

الصخر الفوسفاتي					التسميد الحيوي
Mean	P2	P1	P0		بدون تسميد
0.094	0.164	0.069	0.049		<i>P. polymyxa</i> -1
0.096	0.144	0.090	0.054		<i>P. polymyxa</i> -2
0.117	0.190	0.097	0.063		<i>P. polymyxa</i> -3
0.100	0.154	0.089	0.057		Mean
	0.163	0.086	0.056		LSD 0.05
	S*P=0.014	P=0.0097	S=0.006		

البحراني، ايمان قاسم محمد. 2015. تأثير البكتريا المذيبة للفوسفات وحامض الهيوميك في اتران الفسفور وجاهزية المغذيات

المصادر

الجبوري، عبد الله كريم جبار 2016. عزل بكتريا *Bacillus subtilis* و *Pseudomonas fluorescens* وتشخيصهما باستخدام تقنية PCR ودراسة تأثيرهما بتقنية اللقاح المثبت في نمو وحاصل الذرة الصفراء (*Zea mays L*).

راهي، حمد الله سليمان وظافر فخري الراوي. 1994. مقارنة كفاءة الاسمدة الفوسفاتية في تجهيزها للفسفور لنبات الذرة الصفراء. مجلة العلوم الزراعية العراقية. المجلد 25 (1): ص 57

نوني، غانم بهلول 2016. تأثير نوع اللقاح الحيوي لـ *Glomus mosseae* و *Paenibacillus polymyxa* والـ *Glomus mosseae* وطريقة اضافته ونوع الحامل في جاهزية الفسفور في التربة ونمو وحاصل الذرة الصفراء (*Zea mays L*). اطروحة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة بغداد.

وحاصل الذرة الصفراء (*Zea mays L*). أطروحة دكتوراه كلية الزراعة جامعة بغداد.

بشير، عفراء يونس 2004. التداخل بين المايكورايزا وبكتريا الازوتوبكتر الازوسبيريليم وتأثيره في نمو وحاصل الحنطة. أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة بغداد.

حسن، زينب كاظم 2011. عزل وتشخيص البكتريا *Bacillus Azospirillum lipoferum* و *polymyxa Zea mays* من بعض ترب جنوبي العراق ودورها في التسميد الحيوي لنباتات الذرة الصفراء (*Zea mays L*.. أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة البصرة.

حميد، فاخر رحيم (2002). دراسة كفاءة عزلات من الفطر *Trichoderma spp.* في استحثاث المقاومة ضد الفطر *Rhizoctonia solani* في أربعة أصناف من القطن، رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد.

Abd El-Gawad, A.M., Hendawey M.H. and Farag H. I. A., 2009. Interaction between bio fertilization and canola genotypes in relation to some biochemical constituent under Siwa Oasis conditions. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 5(1), pp.82-96.

Ash, C., Priest, F.G., Collins, M.D., 1993. Molecular identification of rRNA group 3 bacilli (Ash, Farrow, Wallbanks and Collins) using a PCR probe test. *Antonie van Leeuwenhoek* 63, pp253-260.

Atlas, R.M.; Parks, L. C. and Brown, A. E., 1995. Stains in laboratory manual of experimental microbiology. Mosby Inc. Baron, E.J. and S.M., Finegold. 1990. Diagnostic microbiology. 8th .Ed. The C.V. Mosby Company.

Bashan, Y., Holguin, G., and de-Bashan, L.E., 2004. Azospirillum-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003), *Can. J. Microbiol.*, 50, pp.521-577.

Deshmukh, A.M., 1998. Biofertilizers and Biopesticides. India : (ch.1) : 1-3 Didiak, H. G., Siswanto and Sugiarto V., 2000. Bioactivation of Poorly Soluble Phosphate Rocks with a Phosphorus Solubilizing Fungus. *Soil Sci. Soc. of Amer. J.*, 64, pp. 927-932 .

Gouzou, L., Burtin, G., Philippy R., Bartoli, F., Heulin, T., 1993. Effect of inoculation with *Bacillus polymyxa* on soil aggregation in the

Shida, O., Takagi H., Kadowaki K., Nakamura L., and Komagata K., 1997. Transfer of *Bacillus alginolyticus*, *Bacillus*

wheat rhizosphere: preliminary examination. *Geoderma*, 56, pp. 479-491.

Hegde. S.V., 2004. Microbial Biotechnology in Agriculture. *High-Tech. Agri. Services*.

Igual, J.M., Vqlverde A , Eervantes E., Cervartes E. and Velazquez E., 2001. Phosphate solubilizing bacteria as an inoculants for Agriculture: use of updated molecular techniques in their study. *Agronomie*, 21, pp. 561-568.

Illmer, P. and Schinner F., 1992. Solubilization of inorganic phosphates by microorganisms isolated from forest soil. *Soil Biol Biochem*. 24, pp.389- 95.

Khan, K.S. and Joergensen R.G., 2009. changes in microbial biomass and fractions P. in biogenic household waste compost amended with inorganic P. fertilizers. *Bioresour. Technol.* 100, pp.303-309.

Mavingui, P., Heulin, T., 1994. In vitro chitinase and antifungal activity of a soil, rhizosphere and rhizoplane population of *Bacillus polymyxa*. *Soil Biology & Biochemistry*, 26, pp.801-803.

Priest, F.G., 2009. Genus I: Paenibacillus Ash, Priest and Collins 1994, 852VP. In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Volume 3 the Firmicutes. In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, De Vos, P., Garrity, G.M., Jone, D., Krieg, N.R., Ludwig, W., Rainey, F.A., Schleifer, K.H., and Whitman, W.B., ed. (New York: Springer) pp. 269-295.

chondroitinus, *Bacillus curdolanolyticus*, *Bacillus glucanolyticus*, *Bacillus kobensis*, and *Bacillus thiaminolyticus* to the genus

- Paenibacillus and emended description of the genus Paenibacillus. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 47, pp. 289-298
- Siddiqui, Z., 2006. PGPR: Prospective Biocontrol Agents of Plant Pathogens. In: Siddiqui, Z. (ed. PGPR: Biocontrol and Biofertilization Springer Netherlands, pp. 111-142. Available from: http://dx.doi.org/10.1007/1-4020-4152-7_4.
- Tang, C., Hinsinger P., Jaillard B., Rengel Z., and Drevon J., 2001. Effect of Phosphorus deficiency on the growth symbiotic N₂ fixation and Proton release by two bean (*Phaseolus vulgaris*) genotypes. *Agronomie*, 21, pp.683-689.
- Tisdale, S.L., Nelson W.L., Beaton J.D. and Havlin J. L. 1997. Soil fertility and fertilizers. 5th ed. *New Delhi – India*.
- Tong, Y.J., Ji, X.J., Liu, L.G., Shen, M.Q., and Huang, H., 2013. Genome Sequence of *Paenibacillus polymyxa* ATCC 12321, a Promising Strain for Optically Active (R,R)-2,3- Butanediol Production. *Genome Announc.* 1, 10.1128/genomeA. 00572-13.
- Yong, K.K., Hoom H, Dong P. R., Young S. K., Woong K. Y. Ki P. B. and Bhupathi K. H., 2002. 2-Ketogluconic Acid Production and Phosphate Solubilization by *Enterobacter* intermedium. *17th WCSS, August 2002, Thailand, Symposium No.*