مجلة تكريت للعلوم الصرفة، 21 (7) 2016
ISSN: 1813 – 1662 (Print)
E-ISSN: 2415 – 1726 (On Line)

تحضير سماد حيوي من بكتريا *Azospirillum brasilense* واختبار كفاءته في تحسين نمو وحاصل الحنطة *Triticum aestivum* L. النامية في تربة جبسية

عبدالكريم عريبي سبع الكرطاني[1] ، شيماء عبد محمد علي[2] ، أياد احمد حمادة[1]

[1]قسم علوم التربة والموارد المائية ، كلية الزراعة ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

[2]قسم علوم الاغذية ، كلية الزراعة ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

alkurtany@yahoo.com

الملخص

بعد تأكيد العزلة البكتيرية *Azospirillum brasilense* بأنها تعود الى جنس *Azospirillum* وذلك باستخدام الخصائص المزرعية والمورفولوجية والفيزياوية من خلال النمو على الوسط خال النتروجين NFB واعطاءها الغشاء الرقيق وهو الصفة المميزة لها واختبار كفاءتها في تثبيت النتروجين وانتاجها لهرمون Indolic Acetic Acid(IAA) نميت هذه العزلة وحضنت في حاضنة هزازة لمضاعفة اعداد الخلايا البكتيرية ليصل العدد الى 5×10^9 وحدة تكوين مستعمرة . مل$^{-1}$ من العالق البكتيري للحصول على المزرعة الاولية Starter culture , حضر السماد الحيوي من المزرعة الاولية لهذه العزلة بعد تحميله على نوعين من الحوامل (مسحوق نوى التمر ومسحوق نوى الزيتون) بعد معالجة الحوامل ليكون ملائما لتحميل العزلة البكتيرية , نفذت تجربة حقلية في تربة جبسية(Typiccalcigypsids) لأختبار كفاءة هذا السماد في تحسين نمو وحاصل الحنطة صنف شام 6 عند ثلاث مستويات من السماد النتروجيني (0 , 2/1 التوصية السمادية120 كغم N .هكتار$^{-1}$ وكل التوصية السمادية 240 كغم N.هكتار$^{-1}$) وقيست وقدرت عدد من صفات التربة قبل الزراعة وصفات النبات بعد 60 يوم من الانبات وفي مرحلة الحصاد.

اظهرت النتائج بأن السماد الحيوي لوحده سواءً المحمل على مسحوق نوى التمر او مسحوق نوى الزيتون ادى الى زيادة معنوية في ارتفاع النباتات والوزن الجاف للجزء الخضري والجزء الجذري بعد 60 يوم من الانبات وكذلك وزن القش وحاصل الحبوب مقارنة بمعاملة السيطرة (بدون سماد حيوي وسماد نتروجيني) وبلغت الزيادة المئوية على معاملة المقارنة (22.68 , 92.84 , 171.01 , 75.5و 71.2%) لمعاملة السماد الحيوي المحمل على مسحوق نوى التمر و (21.2 , 59.46 , 134.7 , 40.01 و 37.11 %) لمعاملة السماد الحيوي المحمل على مسحوق نوى الزيتون للصفات الثلاثة على التعاقب واشارت النتائج الى عدم وجود فروق معنوية بين المتوسطات الحسابية للصفات المدروسة بتأثير الحامل مع وجود زيادة غير معنوية للسماد الحيوي المحمل على مسحوق نوى التمر , واظهرت النتائج بأن التأثير المفيد للتسميد الحيوي استمر مع زيادة مستوى السماد النتروجيني فقد تفوقت المعاملتان الملقحتان بالسماد الحيوي المحمل على كلا الحاملين مع كل التوصية السمادية معنويا على بقية المعاملات واعطت المعاملة المسمدة بالسماد الحيوي المحمل على مسحوق التمر والمسمدة بكل التوصية للسماد النتروجيني أعلى القيم في ارتفاع النبات والوزن الجاف للجزء الخضري والجذري ووزن القش وحاصل الحبوب اذ اعطت (66.60 سم, 57.29 , 4.01 غم . نباتات$^{-1}$, 5.41و 4.30 طن .هكتار$^{-1}$) مقارنة بالمعاملة المسمدة بنفس السماد الحيوي مع نصف التوصية السمادية التي اعطت (60.60 سم , 37.65 و 2.50غم . نباتات$^{-1}$ 5.33 و 3.86 طن . هكتار$^{-1}$) .

اما تأثير المعاملات المختلفة في اعداد بكتريا *Azospirillum* في التربة فقد اظهرت النتائج تأثيرا معنويا للتسميد الحيوي في اعداد بكتريا *Azospirillum* واستمرت الزيادة في عدد البكتريا بزيادة مستوى السماد النتروجيني وقد بلغت اعداد بكتريا *Azospirillum* في المعاملتين المسمدتين بالسماد الحيوي لوحده المحملين على مسحوق نوى التمر ومسحوق نوى الزيتون (32×10^4 و 30×10^4) CFU. غم$^{-1}$ تربة على التعاقب مقارنة بمعاملة المقارنة التي اعطت 13.33×10^4 CFU . غم$^{-1}$ تربة .

الكلمات المفتاحية: السماد الحيوي, بكتريا *Azospirillum brasilense* ,محصول الحنطة, الترب الجبسية

المقدمة

يتجه العالم نحو تقانات الزراعة النظيفة مع تقليل ما أمكن من التلوث ومن ثم فان استخدام مواد طبيعية مثل الأسمدة العضوية والأسمدة الحيوية يعد بديلا مناسبا عن الأسمدة الكيمياوية [1و2]، شهدت السنوات العشرون الاخيرة اهتماما واسعا من قبل الابحاث العلمية ببكتريا *Azospirillum* لتحسين نمو وحاصل محاصيل الحبوب والعلف [3],وتعد بكتريا *Azospirillum* من أهم الأحياء المشجعة لنمو النبات في منطقة الرايزوسفير [(PGBR)Plant Growth Promoting Rhizobacteria] وذلك من خلال انتاجها للهرمونات وتثبيت النتروجين وتشجيع توسع وانتشار الجذور [4] , وقد بين [5] بان بكتريا *Azospirillum* الاكثر كفاءة في تثبيت النتروجين من بين الاحياء المثبتة للنتروجين لاتعايشيا. وتوصل [6] بأن التلقيح ببكتريا *Azospirillum* يعزز من تطور الجذور وتشجيع اخذ العناصر الغذائية والماء . أوضح [7] إن تلقيح نباتات الحنطة والشعير والشوفان ببكتريا *Azospirillum sp.* أدى إلى زيادة محتوى النبات من النتروجين بمقدار 7.2% و 6 % للحنطة والشعير على الترتيب، ولم تكن النتائج معنوية بالنسبة لنبات الشوفان .وفي العراق

اهتم الباحثون في هذا المجال بدراسة تأثير هذه البكتريا فقد درست [8و9] تأثير التلقيح ببكتريا *Azospirillum* في تثبيت النتروجين وانتاج حامض الاندول ونمو وحاصل الذرة البيضاء وتوصلوا بان التلقيح ادى الى حدوث زيادة معنوية في طول النبات ووزنه الجاف ومحتواه من النتروجين والفسفور والبوتاسيوم وحاصل الحبوب و النسبة المئوية من البروتين وذلك مقارنة بالمعاملات غير الملقحة . استخدم لقاح بكتريا *Azospirillum* تجاريا كلقاح على نطاق واسع نسبيا في الارجنتين والمكسيك واوربا وامريكا الشمالية والهند لتلقيح وبشكل رئيسي محاصيل الحبوب وايضا محاصيل اخرى [10و11و12].بشكل عام وبعد مدة قصيرة من اضافة لقاح *Azospirillum* بشكل عالق بكتيري الى التربة او مع البذور اذا كانت اضافته بدون حامل وكان عدد الخلايا البكتيرية في اللقاح قليل تحت حد العتبة Threshold number المطلوب لإحداث الاستجابة فأن المجتمع البكتيري سينخفض انخفاضا كبيرا وبذلك لا يؤدي اللقاح الدور الفعال في منطقة الرايزوسفير [13]. وقد سبق ان حددت بعض الابحاث العدد المطلوب من الخلايا البكتيرية في لقاح Azospirillum brasilense لإحداث الاستجابة المطلوبة الذي يسمى عدد العتبة هو ($10^6 - 10^7$)خلية / نبات$^{-1}$ [14]. يتضمن انتاج اللقاح خطوتين رئيسيتين الاولى تحضير مزرعة بكتيرية نقية من البكتريا , والخطوة الثانية مزج المزرعة البكتيرية مع حامل مناسب [15], استخدمت مواد عديدة كحامل للقاح مثل : الترب المعدنية [16] , الطين [17] , والبرليت [18], مخلفات نباتية [19] والفحم الحجري [20] لكن يبقى البتموس هو الحامل المفضل الاول فهو الحامل المختار الاول لبكتريا الرايزوبيا والعديد من احياء PGPR ويضمنها Azospirillum spp في امريكا الشمالية والجنوبية واوربا واستراليا [13].هناك مواصفات وخصائص لابد ان تتوافر في المواد التي تستخدم كحوامل للقاحات مثل القابلية العالية على حفظ الماء ,والصفات الكيمياوية والفيزيائية الملائمة والاس الهيدروجيني pH القريب من المتعادل او السهل المعادلة فضلا عن عدم سميتها للسلالة المستخدمة في اللقاح وآمنة بيئيا و رخيصة ومتوفرة محليا [21]. تهدف الدراسة الحالية الى تحضير سماد حيوي من بكتريا Azospirillum brasilense المعزولة من تربة جبسية و تحديد افضل حامل للقاح البكتيري و اختبار كفاءته في تحسين نمو نبات الحنطة وزيادة انتاجيته في تربة جبسية.

المواد وطرائق العمل

تضمنت الدراسة خطوتين رئيسيتين

اولا: تحضير اللقاح ، ثانيا : التجربة الحقلية

اولا : تحضير اللقاح : الذي يتضمن الخطوات الرئيسة الآتية

1- تأكيد عزلة Azosirillum brasilense المستخدمة في التجربة:

تم الحصول على عزلة عائدة للنوع A.brasilense معزولة من تربة جبسية كفؤة في تثبيت النتروجين الجوي وانتاجها العالي لهرمون Indolic Acetic Acid (IAA) وعدم قدرتها على القيام بعملية النترجة والمقاومة العالية للمضاد الحيوي الستربتومايسين [9] اكدت هذه العزلة بأنها تعود الى Azosirillum brasilense حسب ماذكره [3] باستخدام الخصائص الفيزيائية والمظهرية والمزرعية من خلال التنمية على وسط NFB والصفة المميزة للعزلة تكوينها غشاء رقيق (Pellicles) على وسط NFB شبه الصلب وكذلك التأكيد من خلال التصبيغ بصبغة كرام بأنها سالبة لصبغة كرام.

2 – تنمية العزلة البكتيرية للحصول على المزرعة الاولية Starter Culture :

نقلت المزرعة الى 100 مل من وسط NFB الموضوع في دورق سعة 250 سم^3 , تحضن المزرعة في حاضنة هزازة عند درجة حرارة 28 مْ لمدة 4 ايام مع التهوية الملائمة وبعد 4 ايام تمزج مع الحامل [13] .

3- تحضير الحامل :

اختير في هذه الدراسة مسحوق نوى التمر ومسحوق نوى الزيتون كحوامل للمزرعة البكتيرية واجريت المعالجات الاتية لنوى التمر ونوى الزيتون قبل مزجها مع المزرعة البكتيرية :

1- غسل نوى التمر والزيتون وتنظيفها جيدا

2- تنقيعها بالماء لمدة2 يوم .

3- تجفف تجفيفا جيدا في الفرن على درجة اقل من 100 مْ.

4- تسحق وتطحن للحصول على مسحوق مناسب ليكون حاملا للعزلة البكتيرية .

يرطب مسحوق نوى التمر ومسحوق نوى الزيتون للوصول الى رطوبة تتراوح بين 55 – 60 % [13].

4- مزج المزرعة البكتيرية مع الحوامل :

لتحضير 100 غم من لقاح Azospirillum يؤخذ 45 غم من كل من مسحوق التمر ومسحوق

الزيتون المعقم وتمزج مع 5غم من كاربونات الكالسيوم $CaCO_3$ لمعادلة حموضتها و20 مل ماء حنفية (الـ pH النهائي 6.8) يحفظ في حقائب من البولي اثلين المعقمة مسبقا بالمؤصدة , نضيف 30 مل من المزرعة البكتيرية عمرها 24 ساعة. يحتوي المل الواحد منها على 5×10^9 CFU / مل الى الحامل في المحفظة ثم يحضن لمدة 7 ايام اضافية عند درجة حرارة 30 ±2 مْ يمزج بتحريك المحفظات كل 2 يوم, العدد النهائي لبكتريا اللقاح يتراوح من 5×10^7 – 5×10^8 CFU / غرام لقاح , بعدها تحفظ المحفظات لحين استعمالها عند درجة حرارة 4± مْ, تحضن المحفظات قبل يوم من استخدامها في تلقيح البذور عند درجة حرارة 30 ±2 مْ للتأقلم قبل التلقيح [13].

5- اضافة اللقاح مع البذور :

استخدمت بذور حنطة صنف شام 6,وعقمت البذور سطحيا للتخلص من الاحياء المجهرية الموجودة على سطحها و ذلك بنقعها مدة 2دقيقة في محلول 2% كلوريد الزئبق $HgCl_2$ و الكحول الاثيلي 95 % ثم غسلت 5-6 مرات بالماء المقطر المعقم لإزالة محلول كلوريد الزئبق حسب طريقة [22].

ISSN: 1813 – 1662 (Print)
E-ISSN: 2415 – 1726 (On Line)

يضاف اللقاح الى البذور وذلك لتغطية البذور وحسب ما ورد في [23 و24] وذلك باستعمال 50 مل ماء مع 1% سكروز, يغلى لمدة 10 دقائق بعد ذلك يضاف 1% صمغ عربي ثم يترك ليبرد وبذلك نحصل على المحلول اللاصق Sticker solution ثم يضاف 20 غم من السماد الحيوي ويمزج بشكل جيد بعدها يضاف الخليط الى البذور وتخلط جيدا حتى يتكون غلاف متجانس حول كل بذرة , ثم تجفف البذور هوائيا بعيدا عن اشعة الشمس وتزرع مباشرة.

ثانيا :- التجربة الحقلية:

اجريت تجربة حقلية عاملية في حقول كلية الزراعة – جامعة تكريت بتاريخ (5-12-2012م) ، ويوضح المخطط الاتي المعاملات الداخلة في التجربة

الرمز	المعاملة
T1	بدون لقاح + بدون سماد نتروجين
T2	لقاح محمل على مسحوق التمر بدون سماد نتروجين
T3	لقاح محمل على مسحوق التمر + 2/1 التوصية السماديه النيتروجينية
T4	لقاح محمل على مسحوق التمر + كل التوصية السماديه النيتروجينية
T5	لقاح محمل على مسحوق الزيتون بدون نتروجين
T6	لقاح محمل على مسحوق الزيتون + 1 /2 التوصية السماديه النيتروجينية
T7	لقاح محمل على مسحوق الزيتون + كل التوصية السماديه النيتروجينية

*نفذت التجربة وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة (R.C.B.D) اشتملت على سبع معاملات كررت ثلاث مرات.

1- خطوات تنفيذ التجربة الحقلية.

1) حرثت الارض ونعمت وعدلت وقسمت الى ثلاثة قطاعات , كل قطاع قسم الى 7 الواح , مساحة كل لوح (2X2 م^2) وتركت مسافة بين قطاع واخر (1م) وبين لوح واخر (1م) .

2) اخذت عينات تربة من عمق (0-30سم) لإجراء التحاليل الفيزيائية والكيمياوية والحيوية , والجدول (1) يوضح بعض الصفات الفيزيائية والكيمياوية للتربة قبل الزراعة .

3) عقمت الطبقة السطحية بالفورمالين , وذلك برش التربة بمادة الفورمالديهايد تركيز 2% الى حد بلل الطبقة السطحية ثم قلبت التربة وغطيت بالبولي اثيلين الشفاف بإحكام لمدة 48 ساعة , بعد ذلك رفع الغطاء وتركت التربة لمدة سبعة ايام قبل الزراعة.

4) قسمت البذور الى قسمين القسم الاول لقح باللقاح البكتيري الذي تم تحضيره سابقا , والقسم الثاني ترك بدون تلقيح زرعت البذور بتاريخ (2012/12/5) بمعدل 50 كغم للدونم في الالواح المخصصة لها, المسافة بين خط وخط20 سم وعدد الخطوط 10 , وعمق الزراعة 2سم وغطيت الخطوط بالتربة, رويت الالواح بالتنقيط وحسب الحاجة .

5) اضافة الاسمدة الكيمياوية:- اضيف الفسفور بمعدل 200كغم P هكتار$^{-1}$ باستخدام سماد السوبر فوسفات الثلاثي (21% P) مصدرا للفسفور , والبوتاسيوم بمستوى 200كغم K هكتار$^{-1}$ باستخدام سماد كبريتات البوتاسيوم (43% K) مصدرا للبوتاسيوم , والسماد النتروجيني بثلاثة مستويات (0 , 1/2 , 1/2). التوصية السماديه 120 كغم N هكتار$^{-1}$, كل التوصية السماديه240 كغم N . هكتار$^{-1}$) باستخدام سماد اليوريا (46% N) مصدرا للنتروجين , اضيف سماد الفسفور دفعة واحدة قبل الزراعة والنتروجين والبوتاسيوم بثلاث دفعات قبل الزراعة وبعد شهر من الانبات وعند التزهير .

6) اجريت مكافحة الادغال يدويا .

7) الصفات المدروسة.

1. ارتفاع النبات:- قدر باستخدام شريط القياس بتأريخ 20-2-2013 من سطح التربة الى اعلى النبات , ويقاس بـ (سم).
2. الوزن الجاف للمجموعة الخضرية :- اختيرت ثلاثة خطوط من كل لوح وقطع الجزء الخضري مع مستوى سطح التربة ووضعت في اكياس ورقية مثقبه وجففت على درجة حراره 65م^0 لمدة 48 ساعة.
3. الوزن الجاف للمجموع الجذري : قلع المجموع الجذري بمعدل 5 نباتات من كل خط , وغسلت الجذور جيدا ثم جففت على درجة حرارة 65م^0 لمدة 48 ساعة.
4. الزيادة المئوية : و حسب المعادلة الاتية

$$\text{الزيادة المئوية} = \frac{\text{المعاملة الملقحة–معاملة غير ملقحة}}{\text{المعاملة غير الملقحة}} \times 100$$

5. تقدير أعداد بكتريا *Azospirillum* في التربة المحيطة بالجذور الرايزوسفير (Rhizosphere) :- قدرت أعداد بكتريا *Azospirillum* بطريقة التخافيف والعد بالأطباق وذلك بأجراء سلسلة من تخافيف (من 10^{-1}-10^{-6}) ثم استعملت طريقة العد بالأطباق باستعمال الوسط Nfb الصلب الخالي من النتروجين[25]

2- صفات التربة :-

التحاليل الفيزيائية:-

نسجة التربة:- قدرت بطريقة الماصة (Pipette method) وحسب الطريقة المذكورة في [26] .

التحاليل الكيميائية:-

الأس الهيدروجيني (pH):- قدر في مستخلص تربة:ماء (1:1) باستخدام جهاز pH-meter وحسب الطريقة المذكورة في [26].

التوصيل الكهربائي (EC):- قدر في مستخلص تربة:ماء (1:1) باستخدام جهاز التوصيل الكهربائي EC-meter وحسب الطريقة المذكورة[26].

الكاربونات الكلية الصلبة :- قدرت بطريقة المعايرة باستخدام حامض الهيدروكلوريك حسب طريقة[26].

كبريتات الكالسيوم (الجبس):- قدرت بطريقة التخافيف حسب[27] .

المادة العضوية:- قدرت بطريقة تقدير الكاربون العضوي بالهضم الرطب الموصوفة من (Black و Walkley) المذكورة في[28].

النتروجين الجاهز:- قدر باستخلاصه بوساطة كلوريد البوتاسيوم (2MKCL) بجهاز التقطير البخاري (micro -Kjeldahl) بطريقة [29] المذكورة في[25].

ISSN: 1813 – 1662 (Print)
E-ISSN: 2415 – 1726 (On Line)

الفسفور الجاهز:- استخلص بوساطة بيكاربونات الصوديوم NaHCO3 (0.5N) وطور اللون باستعمال مولبيدات الامونيوم وحامض الاسكوربيك بالطريقة الموصوفة في[26].

التحليل الاحصائي : تم استعمال نظام (SPSS) لإجراء التحليلات الإحصائية . وتمت مقارنة المتوسطات الحسابية للمعاملات باستعمال اختبار اقل فرق معنوي (L.S.D) عند مستوى احتمال 0.05.

جدول رقم (1) بعض من الصفات الفيزيائية والكيميائية والخصوبية لتربة الدراسة

الصفة	الوحدة	القيمة
رمل	غم.كغم$^{-1}$	520
غرين	غم.كغم$^{-1}$	280
طين	غم.كغم$^{-1}$	200
نسجة التربة	S.C.L مزيجه طينية رملية	
أس الهيدروجين pH		7.10
الايصالية الكهربائية Ec	ديسي سيمينز.م$^{-1}$	2.65
المادة العضوية	غم.كغم$^{-1}$ تربة	6.8
الجبس	غم.كغم$^{-1}$ تربة	51.6
الكلس	غم.كغم$^{-1}$ تربة	210
الكلس النشط	غم.كغم$^{-1}$ تربة	48.7
النتروجين الجاهز	ملغم. كغم$^{-1}$	18.2
الفسفور الجاهز	ملغم. كغم$^{-1}$	6.04
البوتاسيوم الجاهز	ملغم. كغم$^{-1}$	109.35

النتائج والمناقشة

يظهر الجدول (2) تأثير التسميد الحيوي ببكتريا الـ *Azospirillum* والحامل والتسميد النتروجيني في اعداد بكتريا الـ *Azospirillum* ويظهر من الجدول بأن السماد الحيوي لوحده سواء المحمل على نوى التمر (T2) او المحمل على نوى الزيتون (T5) قد اثر معنويا في اعداد البكتريا بالمقارنة مع معاملة المقارنة (T1) بزيادة مئوية مقدارها 140.06% و 125.05% , كما ويظهر من الجدول بأن تأثير الحامل لم يكن معنويا في اعداد بكتريا الـ*Azospirillum* مع زيادة غير معنوية للسماد الحيوي المحمل على نوى التمر سواء عند اضافة السماد النتروجيني او عند عدم اضافة السماد النتروجيني ويتضح من النتائج بأن التسميد النتروجيني لم يكن له تأثير سلبي على اعداد البكتريا فقد استمرت الزيادة في اعداد البكتريا مع زيادة مستوى النتروجين , وقد تفوقت المعاملتان المسمدتان بالسماد الحيوي وبكل التوصية السمادية (T4 , T7) على المعاملتين المسمدتين بالسماد الحيوي مع نصف التوصية السمادية (T3 , T6) وهذه النتائج تتفق مع ما توصل اليه [9]. ويمكن ان يعزى السبب الى ظروف التجربة التي اجريت في تربة جبسية قليلة النتروجين كما هو مبين في جدول (1) , وان زيادة مستوى النتروجين لم يؤثر سلبا على اعداد البكتريا نتيجة وجود الجبس كما إن زيادة معدل الأعداد بسبب التلقيح ببكتريا *Azospirillum* قد يعزى إلى مقدرة العزلة المستخدمة في اللقاح على التنافس والتكاثر في منطقة جذور نباتات الحنطة ، كما قد يعود السبب إلى أن هذه البكتريا يمكن ان تمتز على سطح الجذر لمدة معينة وقد تمتلك أنزيمات قادرة على إذابة البكتين تساعدها بالدخول داخل أنسجة الجذر [30] .

الجدول (2) تأثير التسميد الحيوي ببكتريا الـ Azospirillum والحامل والتسميد النتروجيني في اعداد بكتريا الـ *Azospirillum* في التربة

المعاملات	اعداد البكتريا 10^4 .CFU غم تربة جافة
T1	13.33
T2	32.00
T3	37.66
T4	46.00
T5	30.00
T6	35.66
T7	45.33
L.S.D. 0.05	5.7

يظهر الجدول (2) تأثير التسميد الحيوي ببكتريا الـ *Azospirillum* والحامل والتسميد النتروجيني في معدل ارتفاع نبات الحنطة ووزن الجزء الخضري الجاف ووزن الجزء الجذري الجاف , ويظهر من الجدول ان السماد الحيوي لوحده سواء المحمل على مسحوق نوى التمر (T2) او على مسحوق نوى الزيتون (T5) قد أثر معنويا في ارتفاع نبات الحنطة و وزن الجزء الخضري الجاف ووزن الجزء الجذري الجاف اذ تفوقت المعاملتان المسمدتان بالسماد الحيوي لوحده (T2) (T5) معنويا على معاملة السيطرة (T1) وبزيادة مئوية مقدارها (22.68% و 21.27%) لارتفاع نبات الحنطة و (92.84% و 89.26 %) لوزن الجزء الخضري الجاف و (206.55% و 165.57 %) لوزن الجزء الجذري الجاف للمعاملتين على التتابع .ويتضح من نتائج الجدول عدم وجود فروق معنوية في صفة ارتفاع النبات ووزن الجزء الخضري الجاف ووزن الجزء الجذري الجاف بتأثير الحامل الذي حملنا عليه السماد الحيوي مع تسجيل زيادة غير معنوية للسماد الحيوي المحمل على مسحوق نوى التمر , ويظهر من الجدول بان التأثير المفيد للسماد الحيوي استمر مع زيادة مستوى السماد النيتروجيني فقد تفوقت المعاملات الملقحة والمسمدة بكل التوصية السمادية معنويا على المعاملات الملقحة والمسمدة بنصف التوصية السمادية وقد اعطت المعاملة الملقحة بالسماد الحيوي والمسمدة بكل التوصية السمادية والمحملة على نوى التمر (T4) اعلى القيم في ارتفاع النبات ووزن الجزء الخضري الجاف ووزن الجزء الجذري الجاف ولم يكن بينها وبين المعاملة (T7) فرقآ معنويا. وقد جاءت هذه النتائج مقاربة لما توصل اليه كل من [31 و32], وقد حصل[33] على نتائج مشابهة في تجاربه حول نبات الحنطة والدخن والذرة البيضاء , كذلك تتفق مع ما توصل اليه[34] في دراستهم على نبات الذرة الصفراء والتلقيح ببكتريا *Azospirillum* عند مستويات مختلفة من السماد النتروجيني.

ان الزيادة المتحققة في صفات النمو لنبات الحنطة عند التلقيح بالـ *Azospirillum* قد يعزى الى قدرة هذه العزلة على تثبيت النتروجين الجوي [8 و9] فضلا عن اهمية هذه البكتريا في تحسين نمو النبات من خلال انتاج المواد المنظمة للنمو التي تؤدي الى زيادة المساحة السطحية وانتشار الجذور فقد اكد [6] بأن التلقيح ببكتريا

Azospirillum يـؤدي الـى زيـادة انتشـار الجـذور وتشـجيع اخـذ العناصر الغذائية والماء كما بين كل من [35و36] بأن التلقيح بهذه البكتريـا ادى الـى زيـادة امتصـاص النتـروجين مـن التربـة فضـلا عـن العناصر المغذية الاخرى كالفسفور والبوتاسيوم الذي ينعكس في زيادة نمو النبات ومن ثم زيادة ارتفاع النبات ووزنه الجاف .

الجدول (3) تأثير التسميد الحيوي ببكتريا الـ Azospirillum والحامل والتسميد النتروجيني في معدل ارتفاع نبات الحنطة ووزن الجزء الخضري الجاف ووزن الجزء الجذري الجاف بعد 60 يوم من الانبات

المعاملات	ارتفاع نبات الحنطة (سم)	وزن الجزء الخضري الجاف (غم)	وزن الجزء الجذري الجاف (غم)
T1	47.00	13.42	0.61
T2	57.66	25.88	1.87
T3	60.60	37.65	2.50
T4	66.60	57.29	4.01
T5	57.00	25.40	1.62
T6	60.30	32.09	2.41
T7	64.00	46.70	3.60
L.S.D. 0.05	6.3	11.8	0.67

يبين الجدول (4) تأثير التسميد الحيوي ببكتريا الـ *Azospirillum* والحامل والتسميد النتروجيني في وزن القش وحاصل الحبوب ويتبين من الجدول بأن السماد الحيوي لوحده سواء المحمل على مسحوق نوى التمر T2 او المحمل على مسحوق نوى الزيتون T5 قد ادى الى زيادة معنوية في وزن القش والحبوب مع زيادة غير معنوية للسماد المحمل على نوى الزيتون فقد كانت الزيادة المئوية لوزن القش والحبوب للمعاملتين T2 و T5 مقارنة بمعاملة المقارنة T1 هي 75.75 , 71.2 % للقش و 40.09 , 37.19 % لوزن الحبوب , ويظهر من الجدول بأن التأثير المفيد للتسميد الحيوي في صفتي حاصل القش والحبوب استمر مع زيادة مستوى السماد النتروجيني فقد تفوقت المعاملات الملقحة والمسمدة بكل التوصية السمادية معنويا على المعاملات الملقحة والمسمدة بنصف التوصية السمادية وقد اعطت المعاملة الملقحة بالسماد الحيوي والمسمدة بكل التوصية السمادية والمحملة على نوى التمر T4 اعلى القيم في حاصل القش والحبوب .

ان زيادة حاصل القش والحبوب بسبب التلقيح ببكتريا *Azospirillum* يعزى الى دور هذه البكتريا في تشجيع نمو النبات وتحسين صفات النمو من خلال تثبيت النتروجين وانتاج منظمات النمو وقد انعكست الزيادة في صفات النمو التي بينتها هذه الدراسة في الجدول (3) في زيادة حاصل القش والحبوب وهذه النتائج تتفق مع ما توصل اليه [33] في دراسته لبيان تأثير التلقيح ببكتريا *Azospirillum* في نمو وحاصل نبات الذرة الصفراء عند مستويات مختلفة من السماد النتروجيني .

الجدول (4) تأثير التسميد الحيوي ببكتريا الـ *Azospirillum* والحامل والتسميد النتروجيني في وزن القش ووزن الحبوب

المعاملات	وزن القش (طن . هكتار$^{-1}$)	وزن الحبوب (طن . هكتار$^{-1}$)
T1	2.64	2.07
T2	4.64	2.90
T3	5.33	3.86
T4	5.41	4.30
T5	4.52	2.84
T6	4.90	3.78
T7	5.19	4.13
L.S.D. 0.05	0.64	0.28

الجدول (4) تأثير التسميد الحيوي ببكتريا الـ *Azospirillum* والحامل والتسميد النتروجيني في ألزيادة وزن القش ووزن الحبوب كنسبة مئوية

المعاملات	وزن القش (طن . هكتار$^{-1}$)	وزن الحبوب (طن . هكتار$^{-1}$)
T1	----	----
T2	75.76	40.10
T3	101.89	86.47
T4	104.92	107.73
T5	71.21	37.20
T6	85.61	82.61
T7	96.59	99.52

المصادر

[1] الزغبي ، محمد منهل، عيد، هيثم وبرهوم ، محمد. 2007. دراسة تاثير السماد العضوي والحيوي في انتاجية نبات البطاطا وفي بعض خواص التربة (محافظة طرطوس). مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية. المجلد (23) عدد (1) .

[2] الوهيبي ، محمد بن حمد .(2008) . بكتريا المحيط الجذري المنشطة لنمو النبات. المجلة السعودية للعلوم المايكروبايولوجية. مجلد (15) عدد (3).

[3] Sagandevan, P; Rajakumanr, R; Suresh S.N and Ranjithkumar .(2014). Isolation and Mass inoculums production of *Azospirillum* from paddy field soil. International J. of Biosciences and Nanosciences. Volume 1(6), PP. 141-145.

[4] Casanovas, E.M.; Fasciglion G. and Barassi C.A. (2015). Azospirillum spp. and Related PGPR Inocula use in intensive Agriculture. In: Hand book for Azospirillum, [FD. Cassan et al. (eds)]-Springer international publishing Switzerland, chapter 25, pp. 447-467.

[5] Foriani, G., Pastorelli, R., Branzoni, M. and Favilli, F. 1995. Root colonization efficiency and potentially related properties in plant associated bacteria. J.Gent. Plant Breeding. 49(4) : 343-431.

[6] Hrtmann, A.; Fuseder, A. and Klingmuiier, W. (1983). Mutants of *Azospirillum* affect in nitrogen fixation and oxin production. In: *Azospirillum* II. Genetics, physiology, ecology (Kling muller, W. (Eds), Brikhases verlag, Basel, PP: 78-87.
Inoculants, AppI. Environ. Microbiol. 47,94-97.

[7] Dalla Santa, O.R., Hernandez, R.F., Michelena Alvarez, G.L., Junior, P.R. and Soccol, C.R. (2008). *Azospirillum SP*. Inoculation in wheat, barley and Oats Seeds greenhouse experiments. J. Praz. Arch. Biol. Technol. Vol.47 No.6: 15

[8] يوسف , هبه محمد .(2012). دراسة التواجد والانتشار لبكتريا *Azospirillium* المصاحبة لجذور المحاصيل المزروعة في تربة جبسية واختبار كفاءتها كسماد حيوي . رسالة ماجستير .كلية الزراعة . جامعة تكريت .

[9] الكرطاني , عبد الكريم عريبي سبع ؛ الدوري , عبد الله عبد الكريم حسن ويوسف , هبه محمد .(2013). عزل وتشخيص بكتريا *Azospirillum spp.* من بعض النباتات النامية في التربة الجبسية وتقييم كفاءتها في تثبيت النتروجين وانتاج IAA . مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية . المجلد 13, العدد 2 .

[10] Diaz-Zorita,M. Fernandez- Canigia M.V.(2009). Field performance of aliquid formulation of *Azospirillum* brasilense on dryland wheat productivity. Eur. J. Soil Biol. 45:3-11.

[11] Fuentes-Ramirez L.E. and Caballero-Mellado, J.(2005). Bacterial biofertilizers. In: Siddiqui, Z.A.(ed) PGPR: biocontrol and biofertilization. Springer, Dordrecht, pp: 143-172.

[12]Hartmann ,A. and Bashan , Y.(2009). Ecology and application of *Azospirillum* and other plant growth - promoting bacteria(PGPR) – special issue. Eur. J. Soil Biol.45: 1-2.

[13]Bashan, Y. and L.E. De-Bashen.(2015). Inoculant preparation and formulations for Azospirillum spp. In: Hand book for Azospirillum[F.D. Cassan et al. (eds)]. Springer international publishing Switzerland. Chapter 26, pp: 469-485.

[14] Bashan. (1986). Alginate beads as synthetic inoculants carriers for the slow release of bacteria that affect plant growth. AppI Environ Microbiol 51: 1089-1098.

[15] Yadav, A.K. and Chandra, K. (2014). Mass Production and Quality Control of Microbial Inoculants. Proc Indian Natn Sci Acad 80 No.2. pp: 483-489.

[16] Chao W.L.; Alexander M.(1984). Mineral Soils as carriers for *Rhizobium*

[17] Graham-Weiss L.; Bennett M.L. and Paau A.S.(1987). Production of bacterial inoculants by direct fermentation on nutrient - supplemented vermiculite, AppI. Environ. Microbiol. 53, 2138 – 2140.

[18] Daza, A.; Santamaria, C.; Rodriguez- Navarro, D.N.; Camacho, M.; Orive, R. and Temprano, F. (2000). Perlite as acarrier for bacterial inoculants. Soil Biol. Biochem. 32, 567-572.

[19] Ferreira, E.M.; Castro,I.V.(2005). Residues of the cork industry as carriers for the production of Iegumes inoculants, Silva Lusitana 13,159-167.

[20] Amutha, R.; Karun Karan, S.; Dhanasekaran, S. Hemalatha, K.; Monika, R.; Shanmugapriya, P. and Sornalatha, T. (2014). Isolation and Mass Production of Biofertilizer (Azotobacter and Phosphobacter). International Jorurnal of Latest Research in Science and Technology.3(1)pp: 79-81.

[21] Stephens, J.H.G. and Rask H.M.(2000). Inoculant production and formulation Field Crop Res. 65: 249-258.

[22] Vincent, J.M. 1970. A manual for the practical study of root-noudules bacteria .IBP .Handbook No.15.Black well Sci. Publication, Oxford and Edinburge. P. 125 - 126.

[23] Gomare, K.S.; Mese, M. and Shetkar, V. (2013). Isolation of Rhizobium and effective production of Biofertilizer. Indian J. Sci. 2(2):49-53.

[24] Rodriguez- Navarro, D.; Margarot oliver; Albareda Contreras, Ruiz- Sainz J. (2011). Soybean interaction with soil microbes , agronomical and molecular aspects Agronomy for sustianble development , springer verlag (German), ,31(1:173-190.

[25] Page, A.L., Miller, R.H. and Keeney, D.R. 1982. Methods of soil Analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties. 2nd .ed. Am. Soc. Agron., Inc., Soil Sci. Soc. Am., Inc .Madison , Wisconsin .USA.

[26] Black, C.A. 1965. Methods of Soil Analysis. Part 2. Amer. Soc. of Agron. Inc. USA.

[27] الزبيدي , احمد حيدر و عبد العزيز البرزنجي و عفاف صالح 1981 :تقييم طرق مختلفة لتقدير الجبس في الترب الجبسية في العراق .مجلة العلوم الزراعية العراقية ,مجلد 16.

[28] Jackson, M.L., 1958. Soil chemical analysis. Prentis-Hall Inc. Englewood, Cliffs, N.J.

[29] Bremner, J.M. 1965. Total nitrogen In: "Methodes 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.

[30] Lin, W., Okon, y. and Hardy, R. W.F. (1983). Enhanced mineral uptake by Zea mays and sorghunm bicolar roots inocylated with *Azospirillum brasilense* .Appl. Environ. Mircrobiol.45: 1775 – 1779 .

[31] Panwar, J.D.S. 1991. Effect of VAM and *Azospirillum brasilense* on photosynthesis, nitrogen metabolism and grain yield in wheat. Indian J. Plant Physio. 4: 357 - 361.

[32] الجواري ، ندى سلوم محمد . 2001 .تأثير النتروجين والفسفور والتداخل بينهما على كفاءة بكتريا الازوسبرللم *Azospirillum* ونمو وحاصل نبات الحنطة. رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة بغداد

[33] Kapulnik, Y; Sarig, S. Nur, I.; Okon, Y.; Kigel, J. and Henis , Y . 1981. Yield increases in summer cereal crops of Israel fiels inoculated with *Azospirillum*. Expl. Agric 17 : 177-178.

[34] Costa, R.R.G.F.; Quirino, G.das. F; Naves, D.C.deF.; Sontos, C.B. and Rocha, A.F.des. (2015). Efficiency of inoculants with Azospirillum brasilense on the growth and yield of second_ harvest maize. Aqropec. Trop., Goiania,V.45,n3,p: 304-311.

[35] Tien, T.m., Gaskins, M.H. and Hubbel, D.H. 1979. Plant growth substances produced. by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum L.*) Appl. Environ. Microbiol., 37: 1016-1024.

IAA of superior stains effect on wheat Roots. World .J. Agri.Sci. 3(4): 523 – 529.

[36] Akbari, Gh.; Arab. S.M.; Alikhani, H.A., Allahdadi ,I. and Arzanesh, M.H. (2007). Isolation and selection of indigeous *Azospirillum SPP*. And the

Preparation of Biofertilizer from *Azospirillum brasilense* Bacteria and test its Impact on Growth and Yield of Wheat *Triticum aestivum* L. in Gypsiferous Soil

Abedul Kareem Erabi Sabaa Alkurtany[1], Shaimaa Abd Mohhamed Ali[2], Ayad Ahmed Hamada[1]
[1] *Soil department , Agriculture College , Tikrit University , Tikrit , Iraq*
[2] *Food science department, Agriculture College , Tikrit University , Tikrit , Iraq*
alkurtany@yahoo.com

Abstract

After confirm the bacterial strain that it is belong to *Azospirillum brasilens* and test the efficiency on nitrogen fixation , Indolic Acetic Acid (IAA) Hormone production , this strain was grown in slants and transferred to liquid broth in the rotary shaker to prepare mother (starter) culture which contain 5 x 10^9 CFU.ml^{-1} and then mixed starter culture with two types of carriers (powder of date palm nucleus and powder of olive nucleus).

After that, field experiment was conducted in gypsifores soil (Typiccalcigypsids) to study the efficiency of this biofertilizer on promoting the wheat growth and yield at three levels of nitrogen (0 , 50% , 100%) of fertilizer recommendation .

Results showed that the biofertilizer which was added alone either with date palm nucleus powder or with olive nucleus caused significant increases in plant high , dry weight of vegetative part , roots dry weight after 60 days from germination and the dry weight of straw and grain yield compare with control treatment with percentage increases of 22.68 , 92.84 , 171.01 , 75.5% for biofertilizer which held on date palm nucleus powder and 21.2 , 59.46 , 134.7 , 40.01 and 37.11% respectively . Also the results refered to not significant differences between two carriers. The result also appear that the beneficial effect of biofertilization continuous with increase of nitrogen levels , the treatment (biofertilize with date palm nucleus powder + 100% nitrogen fertilizers) gave highest values in straw and grain yield where is (5.41 and 4.30) ton. ha^{-1} in compare with the same treatment which take half of fertilizers recommendation which gave (5.33 and 3.86) ton.ha^{-1}. Also the result showed significant effect of bio-fertilization on the number of *Azospirillum* bacteria , (32 x 10^4 and 30 x 10^4)CFU . gm^{-1}soil for bio-fertilizer which was carried on date palm nucleus powder and olive nucleus powder, respectively in compare with control which gave 13.33 x 10^4 CFU. gm^{-1}soil.

Key word: Bio-fertilizer, *Azospirillum brasilense* Bacteria, Wheat, Gypsiferous Soil