مجلة البصرة للعلوم الزراعية 2012، 25(1): 139-148

إستخدام بكتريا *Azospirillum irakense* سمادا حيوي للذرة البيضاء

عبد الزهرة طه ظاهر

قسم علوم التربة والموارد المائية، كلية الزراعة، جامعة البصرة

المستخلص. نفذت تجربة حقلية في محطة البستنة/ قضاء الشطرة بإستخدام تصميم قطاعات كاملة العشوائية لدراسة تأثير إضافة بكتريا *A. irakense* المعزولة من رايزوسفير الذرة البيضاء مع مستويات مختلفة من النتروجين في نمو وإنتاج محصول الذرة البيضاء. سمدت المروز بأربع مستويات من النتروجين هي صفر و78 و117 و156 كغم Nهكتار $^{-1}$. لقحت بذور الذرة البيضاء (صنف انقاذ) المعقمة سطحيا بلقاح بكتريا *A. irakense* السائل مع ترك كمية من البذور بدون تلقيح كمعاملة مقارنة. زرعت البذور في المروز المخصصة لها .وبعد الانبات والنضج تم قياس إرتفاع النباتات ثم حصدت وتم قياس وزنها الجاف وحاصل الحبوب ومحتوى الحبوب من النتروجين. أوضحت النتائج تفوق معاملة التلقيح ببكتريا *A. irakense* +117 كغم N هكتار $^{-1}$على المعاملة بدون تلقيح +156 كغم N هكتار $^{-1}$ في زيادة الوزن الجاف وحاصل الحبوب ومحتواها من النتروجين. إذ أن هذه المعاملة وفرت 39 كغم N هكتار$^{-1}$ مقارنة بعدم التلقيح مما يؤدي الى تخفيض كلفة الانتاج وتقليل التلوث البيئي.

الكلمات المفتاحية: الأسمدة الحيوية، بكتريا الازوسبيرلم، الذرة البيضاء، السماد النتروجيني

المقدمة

الاسمدة الحيوية (Biofertilizers) هي أسمدة طبيعية تشتمل على لقاحات ميكروبية للبكتريا والطحالب والفطريات منفردة او مجتمعة وتعمل على زيادة جاهزية المغذيات للنبات (5). أشار (17) ان اهم الفعاليات التي تقوم بها الاحياء المجهرية المستخدمة كأسمدة حيوية لصالح النبات تتضمن:

1- إنتاج بعض مواد الايض والتي تكون مصدرا للعناصر الغذائية اللازمة لنمو النبات.
2- تعمل على جاهزية العناصر المغذية الموجودة في التربة.
3- انتاج هرمونات النمو النباتية.
4- انتاج الانزيمات.
5- زيادة قدرة النبات على امتصاص الماء.
6- ايقاف نمو بعض المسببات المرضية.

الطريقة الشائعة لإضافة الاسمدة الحيوية هو تلقيح البذور وذلك بخلط حامل اللقاح مع الماء لعمل رداغ الذي يخلط مع البذور . وللوصول الى تغطية جيدة لسطح البذور باللقاح يضاف الصمغ العربي او اي مادة لاصقة محلية شريطة ان لا تكون سامة للبكتريا والبذور (7).

تتميز اغلب الاحياء المجهرية المستخدمة كأسمدة حيوية بعلاقة قوية مع جذور النباتات فهي اما ترتبط معها تكافليا كما في جذور البقوليات والرايزوبيا او تتواجد على سطح الجذر او داخل أنسجة الجذر للنبات المضيف او في منطقة الرايزوسفير، اذ ان البكتريا تحصل على المغذيات الضرورية لتكاثرها وبقائها من النبات ويستفيد النبات منها بسبب انتاجها للهرمونات التي تعمل على زيادة حجم الجذور التي تسمح بتحسين تغذية النباتات (7 و19).

تنتخب الاحياء المجهرية المستخدمة كأسمدة حيوية عن طريق التجارب الحقلية او تجارب السنادين ،ثم تنمى وتعبأ مع مواد الحامل وتجهز تجاريا لتلقيح التربة او البذور او النبات لتحسين صفات التربة المتدهورة وزيادة انتاج المحاصيل

(7). فقد اشار (13) الى ان نجاح التلقيح ببكتريا الازوسبيرلم عبر العالم وتأثيرها الايجابي على انتاج المحاصيل قد تاكد في 65% من التجارب الحقلية في حين بين (16) ان زيادة الانتاج التي تعود للتلقيح ببكتريا الازوسبيرلم قد حصلت في 75%من التجارب التي اجريت على محاصيل الحبوب الصيفية و50% من التجارب التي اجريت على الحنطة الربيعية، بينما اوضح (3) ان التلقيح ببكتريا الازوسبيرلم ادى الى زيادة الانتاج في 70- 75% من تجارب السنادين التي استخدم فيها القطن وعدد من محاصيل الخضار.

وجد (1) ان تلقيح نباتات الذرة البيضاء النامية حقليا ببكتريا *A. brasilense* والمسمدة بـ40 كغم N هكتار$^{-1}$+ 60 كغم P2O5 هكتار$^{-1}$ ادى الى زيادة حاصل الحبوب والقش بنسبة 58 و 37.8% على التوالي مقارنة بمعاملة المقارنة غير الملقحة ، بينما زاد محتوى الحبوب والقش من النتروجين بنسبة 69.5% و40.8% لكل منهما على التوالي مقارنة بمعاملة المقارنة غير الملقحة وغير المسمدة ويعزى ذلك الى ان التلقيح ببكتريا الازوسبيرلم ادى الى زيادة تثبيت النتروجين وزيادة امتصاص ايونات النترات والبوتاسيوم والفسفور وذلك بسبب تطور المجموعة الجذرية للنباتات نتيجة الإفرازات لبكتريا الازوسبيرلم الهرمونية المشجعة لنمو النبات مثل الاوكسينات والجبرلينات والسايتوكاينيتات والاحماض الامينية والفيتامينات (15). أشار (6) إن الذرة البيضاء الملقحة ببكتريا الازوسبيرلم والمجهزة بـ 66 كغم Nهكتار$^{-1}$ أعطت حاصلا مساويا للمعاملة غير الملقحة + 100 كغم Nهكتار$^{-1}$ وهذا يشير الى ان استخدام تقنية التسميد الحيوي تعمل على خفض كمية السماد النتروجيني المضاف ولتقليل من كلفة الانتاج وتقليل التلوث البيئي (8) ونظرا لقلة المعلومات والبحوث حول استخدام بكتريا *A. irakense* كسماد حيوي للمحاصيل على مستوى العالم والوطن العربي بالرغم من اكتشافها عام 1989 (10) جاء هذا البحث.

المواد وطرائق العمل

1- عزل البكتريا *A. irakense*

وتحضير اللقاح البكتيري: تم عزل العزلات التابعة لبكتريا *A. irakense* من رايزوسفير الذرة البيضاء النامية في تربة محطة البستنة في قضاء الشطرة وذلك باستخدام الوسط ألزرعي شبه الصلب الخالي من النتروجين (Nfb) حسب (11) وتم تنقية وتشخيص العزلات حسب (9) و(10) و(11) وتحفظ العزلات على الاكار المغذي المائل لحين الاستخدام. ولتحضير اللقاح البكتيري نميت العزلة التابعة لبكتريا *A. irakense* على الاكار المغذي المائل بحضنها في 30م لمدة 24 ساعة ثم حصدت بواسطة الناقل بإضافة الماء المقطر المعقم واستخدام هذا المعلق لتحضير لقاح البذور وذلك بتلقيح القناني الحاوية على 250 مل من وسط (Nfb) المضاف له 0.1 غم كلوريد الامونيوم بـ 1 مل من المعلق أعلاه وحفظت القناني في 30 م لمدة 72 ساعة حتى يصبح عدد البكتريا 1.5×10^{8} خلية. مل$^{-1}$ من اللقاح (قدرت حسب الكثافة الضوئية المساوية للكثافة الضوئية للعكارة القياسية التي تحتوي على 1.5× 10^{8} خلية مل$^{-1}$ حسب (2).

2- التجربة الحقلية

نفذت تجربة عامليه باستخدام تصميم القطاعات التامة التعشية وبثلاث مكررات في قضاء الشطرة/ محطة البستنة التابعة لمديرية زراعة ذي قار، اذ تم تهيئة تربة الحقل بحراثتها وتسويتها وتقسيمها الى مروز طولها 6 م والمسافة بين مرز واخر 75سم سمدت المروز بأربع مستويات من السماد النتروجيني هي صفر ،78، 117، 156 كغمN هكتار$^{-1}$على هيئة سماد اليوريا (46% N) لتمثيل صفر و15 و75 و100% من التوصية السمادية

البالغة 156 كغم N هكتار$^{-1}$على دفعتين احدهما مع الزراعة والاخرى بعد شهر من الإنبات. وأضيف السماد الفوسفاتي بكمية 100 كغم P هكتار$^{-1}$على هيئة سماد سوبر فوسفات الكالسيوم (P%21) وأضيف السماد البوتاسي بكمية 50 كغم K هكتار$^{-1}$ على هيئة كبريتات البوتاسيوم (K %42).

لقحت بذور الذرة البيضاء (صنف انقاذ) المعقمة سطحيا باستعمال الكحول الاثيلي95 % لمدة 2 دقيقة ثم تغسل 5-6 مرات بالماء المقطر المعقم بلقاح بكتريا *A. irakense* المشار اليه في الفقرة (1) وذلك بنقعها فيه لمدة نصف ساعة واضيف اليها كمية من الصمغ العربي لزيادة التصاق البكتريا على البذور مع ترك كمية من البذور دون تلقيح كمعاملة مقارنة . زرعت البذور في المروز المخصصة لها بمعدل 3 بذرة /جورة وبمسافة 15 سم بين جورة واخرى. رويت المروز حسب الحاجة وبعد اسبوع من الانبات خفت الباذرات الى نبات واحد/ جورة وبعد النضج تم قياس ارتفاع النبات وحصدت 10 نباتات من كل مرز وتم قياس الوزن الجاف للنباتات (طن هكتار$^{-1}$) ومتوسط حاصل الحبوب (طن هكتار$^{-1}$) ومحتوى الحبوب من النتروجين وذلك حسب Bremner كما ورد في (4).

جدول (1): بعض الصفات الكيميائية والفيزيائية والحيوية للتربة

الصفة			القيمة
Sand		غم.كغم$^{-1}$	175
Silt			522
Clay			303
النسجة			SiCL
PH			7.7
EC dSm^{-1}			3.65
O.M $gmkg^{-1}$			9.2
$CaCO_3$ $gmkg^{-1}$			24.9
الفسفور الجاهز $mgkg^{-1}$			10.2
النتروجين الكلي $gmkg^{-1}$			1.3
الايونات الذائبة	Ca^{++}	ملبمول.لتر$^{-1}$	7.9
	Mg^{++}		4.3
	Na^{+}		2.62
	K^{+}		1.82
	Cl^{-}		9.61
	SO_4^{-2}		3.21
	CO_3^{-2}		3.22
CFU gm^{-1}	البكتريا الكلية		9.4×10^7
	الفطريات		12×10^4
	بكتريا الازوسبيرلم		13×10^3

النتائج والمناقشة

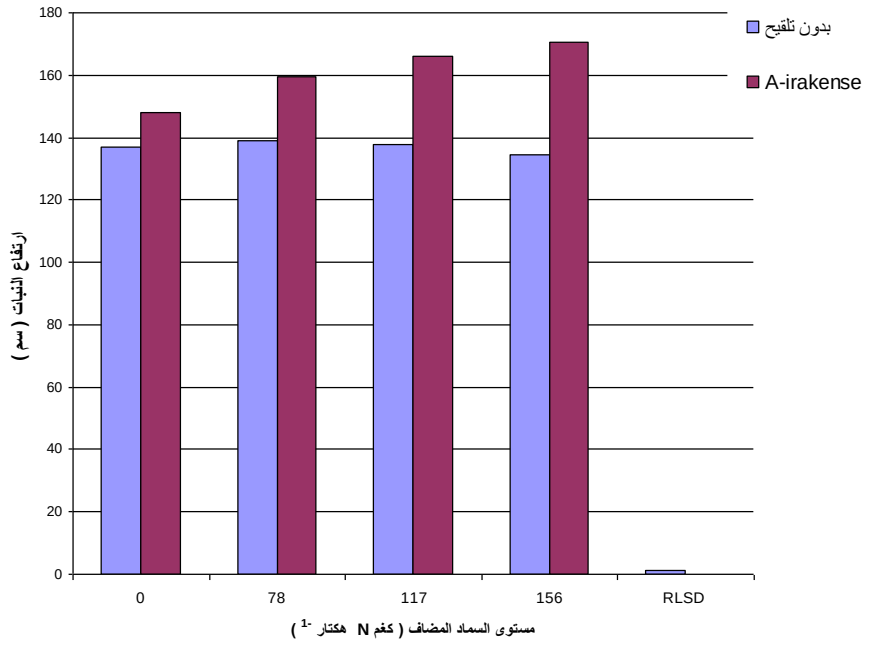
يبين الشكل

(1) ان معاملة التلقيح ببكتريا *A. irakense*+ 156كغم N هكتار$^{-1}$ ادت الى زيادة معنوية في ارتفاع نبات الذرة البيضاء اذ بلغت الزياده 25.56% مقارنة بمعاملة المقارنة غير الملقحة وغير المسمدة 0 في حين بلغت الزيادة بتأثير معاملة التلقيح +117 كغم N هكتار$^{-1}$ 21.13 % ان زيادة ارتفاع النبات نتيجة للإضافة المشتركة لل *A. irakense* والسماد النتروجيني قد يعود للاستجابة العالية لافراز مادة الجبرلين من قبل بكتريا الازوسبيرلم وزيادة كفاءة استغلال موارد التربة بواسطة الجذور إذ تكون مغذيات النمو الابتدائي جاهزة بكميات كافية (20).

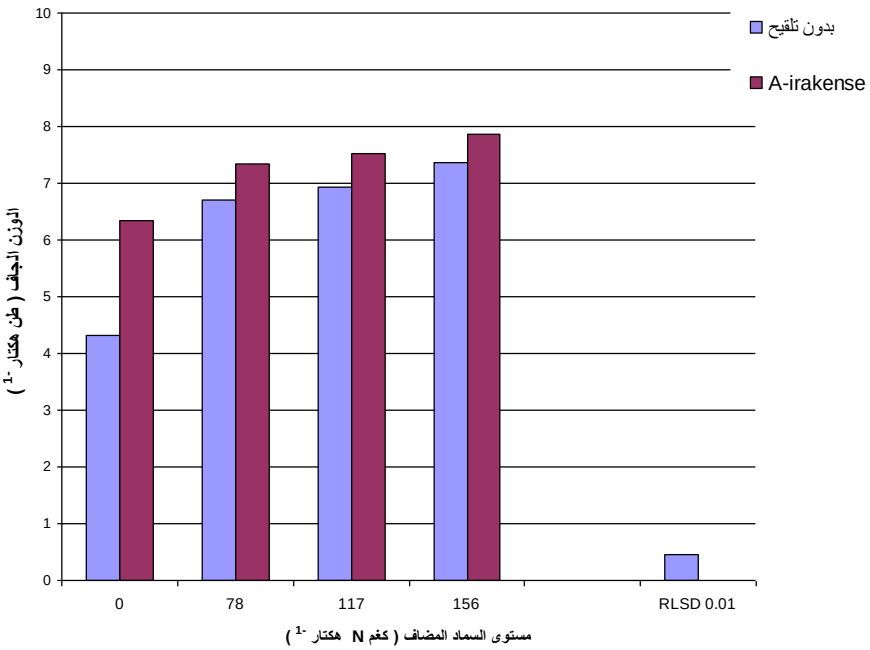
يتضح من الشكل (2) ان معاملة التلقيح ببكتريا *A.irakense* +117كغم N هكتار$^{-1}$ لم تختلف معنويا عن المعاملة بدون تلقيح + 156 كغم N هكتار$^{-1}$ في زيادة الوزن الجاف لنباتات الذرة البيضاء أذكان حاصل المادة الجافة للمعاملتين 7.52 و7.37 طن هكتار$^{-1}$ على التوالي في حين كان الوزن الجاف لمعاملة المقارنة غير الملقحة وغير المسمدة 4.42 طن هكتار$^{-1}$وتعزى تلك الزيادة بالوزن الجاف الى قدرة بكتريا *A. irakense* على أنتاج منظمات النمو مثل الاوكسينات والجبرلينات والسايتوكاينينات والاحماض الامينية والفيتامينات التي تعمل على تحسين المجموع الجذري للنباتات وزيادة امتصاص العناصر الغذائية كالنتروجين والبوتاسيوم والفسفور الذي ينعكس في زيادة الوزن الجاف للنباتات (15).

إن نتائج هذه الدراسة تتوافق مع نتائج العديد من الدراسات الاخرى التي تشير الى اهمية التسميد الحيوي ولاسيما عندما يتكامل مع الاسمدة المعدنية في تحسين انتاج المحاصيل وإنتاجية الترب فيلاحظ من الشكل (3) ان معاملة التلقيح ببكتريا *A. irakense* +117 كغم N هكتار$^{-1}$ لم تختلف معنويا عن المعاملة دون تلقيح +156 كغم Nهكتار$^{-1}$اذا كانت معدل حاصل الحبوب لهما 3.1و 3.20طن هكتار $^{-1}$ على التوالي فيما كان انتاج معاملة المقارنة بدون تلقيح وبدون تسميد 1.63طن هكتار$^{-1}$وهذا يشير الى ان التلقيح ببكتريا *A. irakense* يخفض من كمية السماد النتروجيني المستخدم بنسبة 25% ويوفر 39 كغم. هكتار$^{-1}$ ويعزى سبب زيادة حاصل الحبوب للنباتات عند التلقيح ببكتريا الازوسبيرلم الى تحسين وتطور التزهير الأنثوي والتلقيح فضلا عن زيادة تمثيل العناصر الغذائية كالنتروجين والفسفور والذي ينعكس على حاصل الحبوب وهذه النتائج تتفق مع ما ذكره (6).

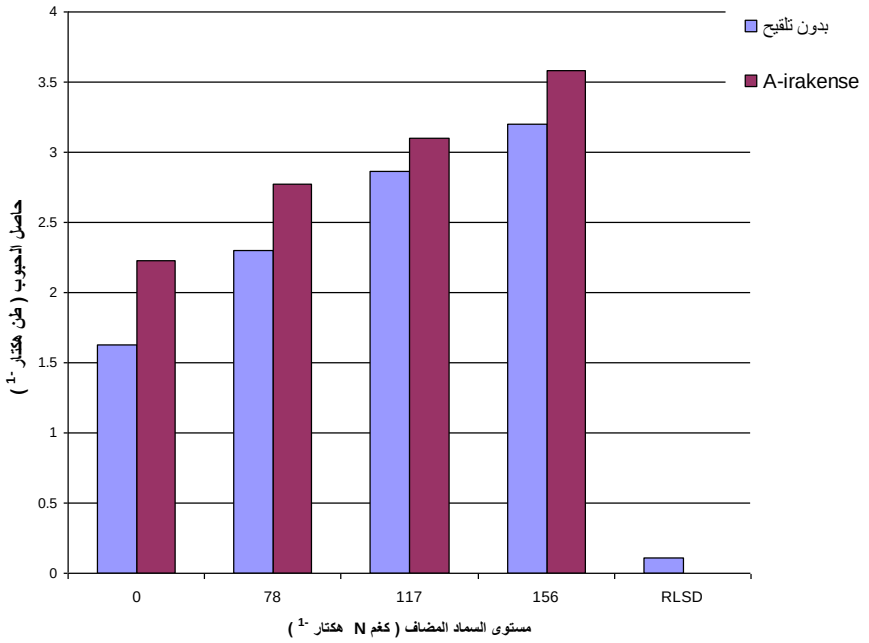
ويلاحظ من الشكل (4) ان الإضافة المشتركة لبكتريا *A. irakense* والسماد النايتروجيني ادت الى زيادة معنوية في محتوى النتروجين الممتص في الحبوب إذ تفوقت المعاملة *A. irakens*e + 117كغم .N هكتار والتي أعطت $^{-1}$(56.95) كغم N هكتار $^{-1}$ على المعاملة بدون تلقيح +156 كغم N هكتار التي اعطت $^{-1}$(43.84) .N هكتار$^{-1}$ويلاحظ نفس الاتجاه بالنسبة للمعاملة تلقيح+78 كغم N هكتار $^{-1}$ والمعاملة بدون تلقيح +117كغم Nهكتار$^{-1}$ويعزى ذلك الى قدرة بكتريا *A. irakense* على تثبيت النتروجين الجوي لصالح النبات فضلا عن ذلك فان استخدام الاسمدة الحيوية يحرر المغذيات ببطئ ويخفض عملية الفقد بالغسل ولاسيما بالنسبة لعنصر النتروجين (12) مما يؤدي الى زيادة كفاءة استعمال المغذيات فضلا عن ذلك فان تلقيح النبات ببكتريا الازوسبيرلم يشجع بدرجة كبيرة امتصاص النترات والبوتاسيوم والفسفور $^{-}$ $(H_2PO_4)^1$ (21). يتضح من النتائج المتحصل عليها من هذه الدراسة، ان تلقيح الذرة البيضاء ببكتريا *A. irakense* أدى الى زيادة نمو النبات والحاصل النهائي للبذور ومحتواها من النتروجين اذ ان استخدام التلقيح ببكتريا الازوسبيرلم قد وفرت 39 كغم N هكتار $^{-1}$ وهذا يقلل من كلفة الإنتاج والتلوث البيئي .



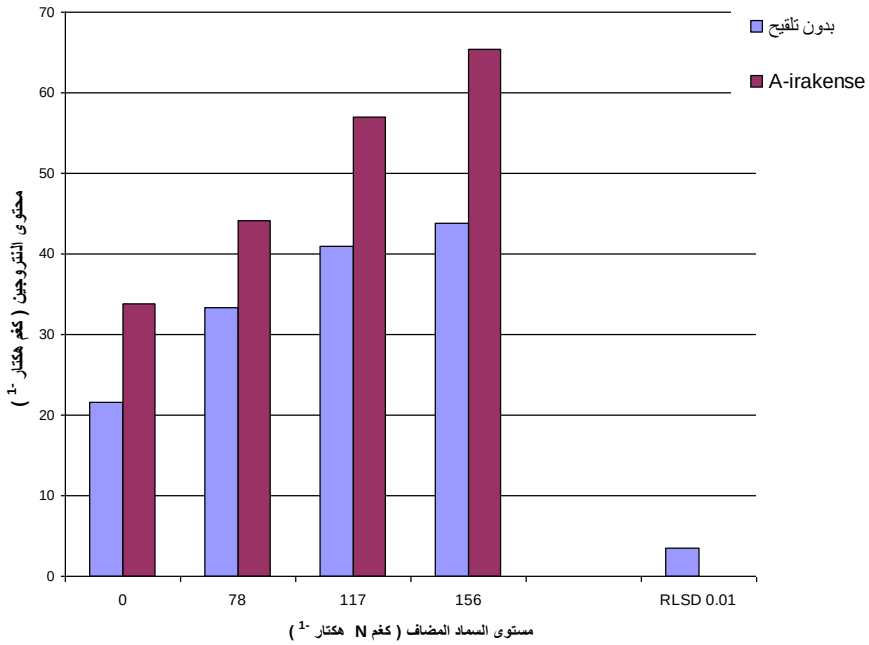
شكل (1): تأثير التلقيح ببكتريا *A. irakense* ومستويات النتروجين المضافة في معدل إرتفاع نبات الذرة البيضاء (سم)



شكل (2): تأثير التلقيح ببكتريا *A. irakense* ومستويات النتروجين المضافة في معدل الوزن الجاف لنبات الذرة البيضاء (طن هكتار $^{-1}$).



شكل (3): تأثير التلقيح ببكتريا *A. irakense* ومستويات النتروجين المضافة في معدل حاصل الحبوب (طن هكتار $^{-1}$)



شكل (4): تأثير التلقيح ببكتريا *A. irakense* ومستويات النتروجين المضافة في معدل محتوى حبوب الذرة البيضاء من النتروجين (كغم هكتار $^{-1}$).

المصادر

1. Alagwadi, A.R. and Gaur. A.C. (1992). Inoculation of *Azospirillum brasilense* and phosphate – solublizing bacteria on yield of sorghum (Sorghum bicolor (L.) Moench) in dry land.

2. Baron , E.J. and Finegold, S.M. (1990). Diagnostic microbiology.8th . Ed. The C.V. mos by company.

3. Bashan, Y.; Ream. Y.; Levanony, H. and Sade, A. (1989b). Nonspecific response in plant growth .yield .and colonization of non-cereal crop plants to inoculation with *Azospirillum brasilense* cd.Can. J. Bot., 67: 1317-1324.

4. Black, C.A. (1965a). Methods of soil analysis .part 2. Chemical and microbiological properties. Am. Soc. Agron. Inc. Madison. Wiscoson. USA.

5. Board. N. (2010). The complete technology book on biofertilizer and organic farming. National institute of industrial research publisher.

6. Dessale .A.G. and Konde.B.K. (1984). Response of sorghum to seed bacterization with nitrogen levels. J. Maharasht Agric. Univ., (9): 169-170.

7. Forum for nuclear cooperation in asia (FNCA) (2006). Biofertilizer manual.

8. Galal, Y.G.; El-Gandaour. J. A. and El. Akel. F.A. (2001). Stimulation of wheat growth and N-fixing through *Azospirillum* and *Rhizobium* inoculation. In. (W. J. Horsts Eds) plant nutrition–Food security and sustainability of Agro ecosystem. A field trust with N-technique pp: 66-67.

9. Holt, .J.; Krieg. N.A.; Sneath, P.H.A.; Staley, J.T. and Williams, S.T. (1994). Bergeys manual of determinative bacteriology. 9th .ed.USA.

10. Khammas, K.M.; Ageron; E.;Grimont, P.A.D. and Kaiser, P. (1989). Azospirillum irakense sp. Nov. Anitrogen –fixing bacterium associate with rice root and rhizosphere soil. Res. Microbial,.140: 679-693.

11. Krieg, N.R. and Dobereiner, J. (1984). Genusazospirillum, In: Krieg, N.R. and Holt, J.G. (eds). Bergeys Manual of systematic bacteriology. vol. l. pp.94-104. Williams and Winkins. Baltimore – London.

12. Muneshwar,.S.; Tripath, A.K.; Reddy, K.S. and Singh, K.N. (2001). Phosphorous .dynamics in avertisol as affected by cattle manure and nitrogen fertilization in soybean-wheat system. Journal of plant nutrition and soil Sci., 164(6): 691-696.

13. Okon, Y. (1985). Azospirillum as apotential inoculant for agriculture. Trends Biotechnology. 3: 223-228.

14. Page, A.L.; Miller, R.H. and Kecney, D.R. (1982). Method of soil analysis .Part 2. chemical and microbiological properties. 2nd .ed. Am. Soc. Agron. Inc. Soil Sci. Soc. Inc. Madison. Wisconsin. USA.

15. Reis,V.M.; Baldani, J.I.; Baladani, V.L.D. and Dobereiner, J. (2000). Biological nitrogen fixation in gramineae and palm trees. Plant Sci., 19: 227-274. (Links).

16. Smith, R.L.; Schank, S.C.; Milam , J.R. and Baltensperger, A.A. (1984b). Response of sorghum and pennisetum species to the N_2 – fixing bacterium Azospirillum brasilense.

Appl. Environ. Microbiol., 47: 1331-1336.

17. Subba – Rao, N.S and Rao, N.S.S. (1993). Bio fertilizers in agriculture and forestry. International. Sci. Pup; New York. USA.

18. USDA. (1954). Diagnosis and improvement of saline and alkaline soils. Agric. Hand book No.60.

19. Vessy, J.K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant soil. 255: 571-586.

20. Yadav, S.; Yadav. J. and Singh, S.G. (2011). Performance of Azospirillum for improving growth. Yield and yield attributing characters of maize (Zea mays L.) in presence of nitrogen. Research Journal of Agricultural Sciences. 2(1): 139-141.

21. Zavalin, A.A.; Kandauroved, T.M and Vingradova , L.V. (1998). Influence of nitrogen fixing microorganisms on the characteristics of productivity of spring wheat and on the characteristics of phytosynthesis of different varities of spring wheat Biological nitrogen fixation for 21th century. Dredecth. The Netherlands. Kluwer academic publishers pp: 413-414.

Use of *Azospirillum irakens*e as bio fertilizer for sorghum (*Sorghum bicolor* L.)

Thaher A. Taha
Department of Soil and Water Resources, College of Agriculture, University of Basrah, Iraq

Abstract. A field experiment was conducted in the horticulture station Shatra Thi-qar province. Using randomized complete block design. To study the effect of application *A. irakense* with various levels of nitrogen fertilizer on growth and yield of sorghum. The forrows were treated by four level of nitrogen which were 0,78,117 and 156 kg N Ha^{-1} .The sterilized seeds of sorghum were inoculated by *A. irakense* bacterium .and some seed were left without inoculation as control. The seeds were sown in the forrows. At the end of growth period. The height of plants. dry weight , yield and its nitrogen content were determined. The results were showed that the treatment *A. irakense* +117kgNHa^{-1} gave better result compared with treatment uninoculation +156 kg N Ha^{-1}. by increasing the dry weight, yield and its nitrogen content .This treatment was saved about 39kg N.Ha^{-1} compared with out inoculation. This were mean reduce the coast product and prevent the environmental pollution.

Key worders: Biofertilizer, Azospirrillum, sorghum, nitrogen fertilizer