قدرة بعض سلالات البكتريا العقدية (*R . Leguminosarum*) في اذابة الصخر الفوسفاتي

موفق يونس سلطان نزار مصطفى النعيمي مازن فيصل سعيد
قسم علوم التربة والمياه/ كلية الزراعة والغابات
جامعة الموصل

الخلاصة

نفذت تجربة عاملية بالتصميم العشوائي الكامل (RCBD) لمعرفة قدرة ثـ ث سـ لات من بكتريا الرايزوبيا Le_{719} وLe_{726} وLe_{735} في اذابتها للصـ ر الفوسفاتي وتأثيرها في درجة التفاعل (pH) ومحتوى البيئة الغذائية من الكالسيوم الذائب . اظهرت النتائج قدرة السـ لات المـ تبرة في اذابتها للصـ ر الفوسفاتي معنوياً والمضاف بمعدل ٢٠٠ و ٤٠٠ مايكروغرام P.مل$^{-1}$ وقد تميزت السـ لة Le_{719} على بقية السـ لات وادى التلقيح البكتيري بهذه السـ لة الى زيادة في اذابة الصـ ر الفوسفاتي بنسبة ٩٩ و٣ ١ و٢% في المعاملتين اعـ ه عن المعاملة غير الملقحة وعلى التوالي. اما التلقيح بالسـ لة **Le_{735}** فقد حققت زيادة اقل في اذابة الصـ ر الفوسفاتي وبنسبة مقدارها ٤١ و٢ ٨ و٦ ٠% من الصـ ر الفوسفاتي المضاف بالنسب اعـ ه على التوالي، في حين لم يعطي التلقيح بالسـ لة Le_{726} زيادة معنوية في قيم الفسفور الذائب وبزيادات طفيفة غير معنوية وبنفس الاتجاه فقد رافق اذابة الصـ ر الفوسفاتي (زيادة الفسفور الذائب) زيادة في محتوى البيئة الغذائية من الكالسيوم الذائب تميزت السـ لة Le_{719} معنوياً عن بقية السـ لات اذ بلغ الكالسيوم الذائب فيها ٩٤ ٨١ مايكروغرام.مل$^{-1}$ تلتها السـ لة Le_{735} ١١ ٦٤ مايكروغرام.مل$^{-1}$، في حين حررت السـ لة Le_{726} ٧١ ٤٩ مايكروغرام.مل$^{-1}$ بزيادة عن المقارنة (٦ ٣٣ مايكروغرام.مل$^{-1}$) بلغت ٣٦ و١٤٣ و٥ ٨٩٠ و٤٧% وعلى الترتيب. كما اظهرت النتائج حدوث انـ فاض في درجة تفاعل البيئة الغذائية (pH) للبيئات الملقحة بالسـ لات البكتيرية Le_{719} و Le_{735} وLe_{726} فكانت قيمها ٦ ٢ و٥ ٦ ٢ و٣ ٦ ٤ للبيئات الملقحة بالسـ لات الثـ ثة اعـ ه وعلى التوالي .

المقدمة

يقتضي التطور الزراعي الاستفادة المثلى لفعالية احياء التربة الدقيقة في تجهيز النبات بعض العناصر الغذائية الضرورية كمصدر بديل ور يص و من بيئياً مقارنةً بالأسمدة الكيميائية . وقد أشار عدد من الباحثين الى دور أحياء التربة الدقيقة في زيادة كمية الفوسفات الذائبة إذ تقوم أنواع من بكتريا التربة بدور فعال في اذابة المعادن الفوسفاتية، واصبح معروفاً دور عدد من كائنات التربة الدقيقة وقابليتها في تحويل المركبات الفوسفاتية غير الذائبة إلى اشكال ميسرة للنبات (Toro،١٩٩٧) ويقع ضمنها بعض البكتريا للنتروجين الجوي *Rhizobium* إضافة إلى قابلية هذه البكتريا في تثبيت النتروجين بمعيشتها التكافلية مع النبات البقولي وسد احتياجاته بحوالي ٨٠% من النتروجين (Saxena ، ١٩٨٨).

وقد وجد Halder رون (١٩٩٠) إن بعض سـ لات هذه البكتريا لها دوراً مهماً في اذابة الصـ ر الفوسفاتي الامر الذي شجع لدراسة قدرة بكتريا (*Rhizobium leguminosarum*) لمعرفة قدرة هذه البكتريا في إذابتها للصـ ور الفوسفاتية القليلة الذوبان وسد جزء من متطلبات النبات من الفسفور الذائب صوصاً في الترب الكلسية التي تقوم بتثبيت الفسفور حتى لو أضيفت كأسمدة فوسفاتية كما جاء في Al-Khateeb رون، (١٩٨٦). واستهدف البحث دراسة إمكانية بكتريا الرايزوبيا في إذابة الصـ ر الفوسفاتي وتجهيز النبات بالفسفور الجاهز وقابليتها في تغيير الوسط الغذائي.

مواد البحث وطرائقه

اجريت تجربة بالتصميم العشوائي الكامل (CRD) لدراسة قدرة ثـ ث سـ لات مـ تلفة Le_{719} ، Le_{726} و Le_{735} من البكتريا العقدية *Rhizobium leguminosarum* والتي تم الحصول عليها من المركز الدولي للبحوث الزراعية سوريا /حلب (ICARDA) في إذابة الصـ ر الفوسفاتي في بيئة المانيتول مستـ لص الـ ميرة البيئة (Yeast Extract Manitol Broth) وذلك باستبدال فوسفات ثنائي البوتاسيوم الذائبة

البحث مستل من أطروحة دكتوراه للباحث الأول ٢٠٠٥
تاريخ تسلم البحث ١٨ / ٢٠٠٨/٢ وقبوله ٢٠٠٨/٤/٣

K_2HPO_4 مسحوق الصـ ر الفوسفاتي المطحون والمكلسن في معمل عكاشات المذكورة صفاته في الجدول (١) والذي يظهر فيه ارتفاع نسبة P_2O_5 عن الصـ ر الفوسفاتي غير المعامل (غير مغسول وغير مطحون). وتم تحضير البيئة الغذائية وتوزيعها في دوارق مـ روطية سعة ٢٥٠ مل وبمعدل ١٥٠ مل/دورق واشتملت المعامـ ت الاتية:

أ- ثة مستويات من التسميد بالصـ ر الفوسفاتي (٠ ، ٢٠٠ و٤٠٠ مايكروغرام P.مل$^{-1}$) .

الجدول (١): التحليل الكيميائي للصـ ر الفوسفاتي

الصفة	القيمة	الصفة	القيمة
pH	٨ ٠٣	Na_2O	٠ ٢٣
Ec	١٨ ٥ديسي سيمنز.م$^{-1}$	K_2O	٠ ٠٥
Oxides	%	P_2O_5	٢٥ ٠٠
SiO_2	٠ ٧١	F	٢ ٤١
Al_2O_3	٠ ٦١	Cl	٠ ١
Fe_2O_3	٠ ٢٤	SO_3	٢ ٠٥
MgO	٠ ٤٤	(loss of ignition)L.O.I	١٥ ٣٣
CaO	٥٢ ٢٢		

ب- أربع معامـ ت من التلقيح البكتيري (Le_{719} ، Le_{726} وLe_{735} ومعاملة بدون تلقيح) وبث ثة مكررات لكل معاملة وبهذا أصبح عدد الدوارق الزجاجية ٣ × ٤ × ٣ = ٣٦ دورقاً والجدول (٢) يوضح تدا ل هذه المعامـ ت .

أضيف مسحوق الصـ ر الفوسفاتي (امراره - ل من ـل قطر ثقوبه ٩٠ ميكرون) وبالمستويات السابقة ثم عقمت بالمؤصدة (Autoclave) على درجة حرارة ١٢١ مْ وضغط ١٥ باوند/انج^2 لمدة ٢٠ دقيقة. ثم أضيف (١ مل) لكل دورق من اللقاح البكتيري للسـ لات السابقة وتركت المعاملة الرابعة بدون تلقيح. ثم حضنت جميع الدوارق في الحاضنة الرجاجة على درجة حرارة ٢٨مْ لمدة ٢٠ يوم وتم ا ذ ١٥ مل من البيئة الغذائية (لكل معاملة) كل (٤) أيام لتقدير كل من الفسفور الجاهز كما ورد في Page رون (١٩٨٢) باستـ دام على مولبيدات الامونيوم ammonium molybdate وحامض الاسكوربيك ascorbic acid مع بوتاسيوم انتيمون ترترات KSbr لتطوير اللون في مستـ لصات التربة وباستـ دام جهاز التحليل الطيفي او اللوني spectrophotometer عند طول موجي 882 nm وتقدير

درجة تفاعل البيئة الغذائية (pH) باستـ دام جهاز الـ pH meter with combined electrode وتقدير الكالسيوم الذائب بطريقة EDTA كما جاء في Richards (١٩٥٤).

حللت النتائج إحصائيا باستـ دام الحاسبة الإلكترونية بأجراء ا تبار دنكن متعدد الحدود وعند درجة احتمالية (٠ ٠) (الراوي ، ٩٧٧) وكذلك القيم الإحصائية الأ ـرى باستـ دام نظام SAS (٢٠٠١).

الجدول (٢) معامـ ت التلقيح البكتيري والتسميد الكيميائي في البيئة السائلة

الفسفور المضاف مايكروغرام.مل$^{-1}$	التلقيح البكتيري	المكررات
بدون اضافة	غير ملقحة	٣ مكررات
	ملقحة بالسـ لة Le_{719}	
	ملقحة بالسـ لة Le_{726}	
	ملقحة بالسـ لة Le_{735}	
٢٠٠	غير ملقحة	
	ملقحة بالسـ لة Le_{719}	
	ملقحة بالسـ لة Le_{726}	
	ملقحة بالسـ لة Le_{735}	
٤٠٠	غير ملقحة	
	ملقحة بالسـ لة Le_{719}	
	ملقحة بالسـ لة le_{726}	
	ملقحة بالسـ لة Le_{735}	

النتائج والمناقشة

اولاً- محتوى البيئة الغذائية من الفسفور الذائب: يلاحظ من الجدول (٣) قدرة السلالات المستخدمة في إذابتها للصخر الفوسفاتي وأظهرت السلالة Le_{719} تفوقاً معنوياً في قيم الفسفور الذائب (٩٠ مايكروغرام P.مل$^{-1}$) عن باقي السلالات اذ حققت زيادة بمقدار ٧٥% عن المعاملة غير الملقحة (١٥ مايكروغرام P.مل$^{-1}$) واستطاعت اذابة ٦٣،٩ ٢% من الصخر الفوسفاتي المضاف بمعدل P_1 وP_2 (٢٠٠ و ٤٠٠ مايكروغرام P.مل$^{-1}$) على التوالي، تلتها السلالة Le_{735} (٩٦ مايكروغرام P.مل$^{-1}$) التي حققت زيادة معنوية عن المقارنة ٢٥ ٣٥% واستطاعت اذابة ٤٢ ٢ ٦٨ ٠% من الصخر الفوسفاتي المضاف بمعدل ٢٠٠ و ٤٠٠ مايكروغرام P.مل$^{-1}$ في حين لم تحقق السلالة Le_{726} (٨٦ مايكروغرام P.مل$^{-1}$) فروقاً معنوية ، وقد يعزى السبب إلى قدرة كل سلالة على تحليل المركبات العضوية وانتاج الأحماض العضوية المختلفة كماً ونوعاً والتي تعمل على إذابة المركبات الفوسفاتية وهذا ماأشار إليه Alexander ، (١٩٧٧) وان بعض ألاحماض العضوية (Stevenson ، ١٩٦٧) لها القابلية على تكوين مركبات معقدة مع الأيونات الموجبة كأيون الكالسيوم الموجود بنسبة كبيرة في الصخر الفوسفاتي مما يؤدي إلى زيادة تحرر (HPO_4^{-2} ، $H_2PO_4^{-1}$) في البيئة الغذائية كما جاء في Duff وآخرون (١٩٦٢) و Stevenson (١٩٦٧) و Leyva و Berthelin (١٩٨٩) و Salih وآخرون (١٩٨٧) .

تشير نتائج الجدول اعلاه إلى ان تدانل السلالة Le_{719} مع مستوى الصخر الفوسفاتي بمعدل ٤٠٠ مايكروغرام P.مل$^{-1}$ بعد ٤ ايام قد حقق اكبر كمية من الفسفور الذائب (١١ ٦٢ مايكروغرام P.مل$^{-1}$) وبزيادة عن المعاملة غير الملقحة بلغت ٦ مايكروغرام.مل$^{-1}$. ولم يلاحظ وجود فروق معنوية للسلالات الاخرى بالرغم من حصول زيادة في قيم الفسفور الذائب عند نفس مستوى الصخر الفوسفاتي المضاف .

أما بالنسبة إلى التدانل بين اضافة الصخر الفوسفاتي وفترات التحضين فلم نلحظ فروقاً معنوية في قيم الفسفور الجاهز لجميع المعاملات التي لم يتم اضافة الصخر الفوسفاتي كذلك لم نلحظ وجود فروق معنوية بين مستويات الصخر المضافة في المرحلة الواحدة .

ومن تدانل فترات التحضين والسلالات نلاحظ ان اكبر كمية من الفسفور الجاهز كانت في فترة التحضين ٤ ايام مع السلالة Le_{719} (١١ مايكروغرام.مل$^{-1}$) وهذه السلالة متفوقة على بقية السلالات في جميع المراحل .

ويلاحظ في المعاملات غير الملقحة إضافة الصخر الفوسفاتي أدت إلى انخفاض معنوي في قيم الفسفور الجاهز وقد يعزى السبب إلى إحتواء الصخر الفوسفاتي على نسبة عالية من الاكاسيد وخاصة الكالسيوم الذي يعمل على ترسيب الفسفور في البيئة الغذائية ،اما بوجود السلالة Le_{719} فيلاحظ وجود فروق معنوية في قيم الفسفور الجاهز بالرغم من وجود عمليات الترسيب وعمليات التمثيل التي تحدث من قبل الاحياء .

ثانياً- درجة تفاعل البيئة الغذائية (pH): يلاحظ من الجدول (٤) أن السلالات المختلفة قد أثرت في خفض حموضة البيئة الغذائية ، وقد كانت السلالة Le_{719} (٦٢ pH ٥) من اكفأ السلالات في خفض حموضة البيئة الغذائية مقارنةً بمعاملة المقارنة (pH 7.03) أعقبتها السلالة Le_{735} (pH 6.20) وجاءت السلالة Le_{726} في المرحلة الأخيرة في خفضها لحموضة البيئة الغذائية حيث بلغت درجة الحموضة فيها إلى درجة ٤٣ ٦، وقد يكون سبب الانخفاض في حموضة البيئة بسبب إنتاج الاحماض العضوية التي تكون مصدراً لتوفير ايونات الهيدروجين الفعّالة في البيئة الغذائية اضافة إلى قدرة ونشاط كل سلالة في انتاجها للأحماض العضوية المختلفة والتي تؤثر في ذوبان الصخر الفوسفاتي وتحرير الفسفور، ويمكن ترتيب السلالات حسب قابليتها في ذوبان الصخر الفوسفاتي كنتيجة لخفضها حموضة البيئة بالترتيب التالي Le_{719} >Le_{735} >Le_{726} حيث حققت انخفاض في حموضة البيئة مقارنةً بمعاملة المقارنة بمقدار ٠٩ ٤٢٢٥ ٣٣١٢ ٩% وعلى التوالي. ويمكن ملاحظة أن هناك علاقة عكسية بين درجة تفاعل البيئة الغذائية والفسفور الذائب الذي حررته هذه السلالات (البلاسي وآخرون ، ٢٠٠٢) .

كما يلاحظ أن لفترات التحضين تأثيراً في حموضة البيئة ، وقد كانت هناك علاقة طردية بين فترات التحضين وانخفاض درجة حموضة البيئة الغذائية وان أعلى انخفاض في حموضة البيئة كان في المرحلة الأخيرة من التحضين حيث انخفض فيها الـ pH إلى (٢٨ ٥

وللتدا ل بين السـ لاتومستويات الفسفور تـأثير في فض حموضـة البيئـة الغذائيـة وبصـورة عامة فأن هناكاذ فاضفي قيم الحموضة للسـ لات مقارنةً مع غير الملقحة .

كمـا أالتـدا ل بـين مسـتويات الصـ ر وفتـرات التحضـين أحـدث فروقـاً معنويـة وان اكبـر اذ فاض في قيم حموضة البيئة كان في المرحلةالأ يرةمع عدم اضافة الصـ ر الفوسفاتي وتتماشى هذه النتائج مع ماتوصلاليليه ي و رون (٢٠٠٢) .

كـذلك فـان التـدا ل بـين السـ لات وفتـرات التحضـين حققـت فروقـاً معنويـة مقارنـةً مـع غيـر الملقحـة لغايـة (١٢)يومـاً مـن التحضـين ، وقـد تفوقـت السـ لة Le_{719} فـي الفتـرة الثانيـة (بعد ٤ ايام) بقيـة السـ لات وقد يعود السبب ربما إلى ا تـ ف السـ لات البكتيرية في إنتاجها للأحماض العضوية كماً ونوعاً .

ثالثاً - الكالسيوم في البيئة الغذائية: حظ من الجدول (٥) السـ لات البكتيريه قد ا تلفت معنويا في إط ق وتحرير الكالسيوم إلى البيئة الغذائية ، وقد تميزت السـ لة Le_{719}معنوياً عن بقية السـ لات في تحريرها للكالسيوم من الصـ ر الفوسفاتي، حيث بلغ الكالسيوم فيها٩٤ ٨١ مايكروغرام.مل-١بزيادة عن المقارنة٣٤ ١٤٣%لتها السـ لة Le_{735}(١٦ ٦٤ مايكروغرام.مل-١) ، وبزيادة عن المقارنة بلغت٥٥ ٩٠% في حين حررتالسـ لة Le_{726}(٩٧ ٤٩ مايكروغرام.مل-١)، وبزيادة عن المقارنة بلغت٨٨ ٤٧% ، وهذه النتائج في تحرير الكالسيوم والمتماشية طردياً مع تحرير الفسفور تأكيد قطعي على إمكانية هذه الرايزوبيا علىتحليل الصـ ر الفوسفاتي في البيئة الغذائية وهذا يدعم ما أشار إليه Halder رين (١٩٩٠) .

كما يـ حظ وجود زيادة معنوية في تركيز الكالسيوم في البيئة الغذائية مع زيادة مستويات الصـ ر الفوسفاتي المضاف حيث بلغ متوسط الكالسيوم (عند اضافة ٤٠٠ مايكروغرام.مل-١) مقداره ٨٥ ٨٠ مايكروغرام.مل-١ وبزيادة عن المقارنة مقدارها٦٨ ٥٢٨%، وكذلك فأن اضافة (٢٠٠ مايكروغرام.مل-١) اعطت متوسط كالسيوم مقداره٤٠ ٦٨ مايكروغرام.مل-١ وبزيادة عن المقارنة مقدارها٨١ ٤٣١% .

وقد تناسبت زيادة تركيز الكالسيوم طردياً مع فترات التحضين حيث تفوقت المرحلةالأ يرة (١٦يوم) معنوياً عن بقية المعام ت وبزيادة معنوية عن المقارنة بلغت٠٢ ٢٣٤% .

كذلك يـ حظ ان تدا ل السـ لة Le_{719} مع المستوى P_2 قد حقق زيادة معنوية مقارنةً بجميع التـدا ت بـين السـ لات واضـافة الصـ ر الفوسـفاتي حيـث حـررت١٣ ١٣٧ مـايكروغرام.مـل-١) بزيـادة بلغـت٢ ١٨١% عـن المقارنـة٣٨ ٤٨ مـايكروغرام.مـل-١) عنـد نفـس مسـتوى الصـ ر الفوسفاتي المضافلما.فيما يـ ص التدا ل بين فترات التحضين والسـ لات البكتيريه على محتوى البيئة الغذائية من الكالسيوم فأن السـ لة Le_{719}في المرحلة الـ امسة٤٣ ١٠٢ مايكروغرام.مل-١) قد حققت زيـادة معنويـة عـن المقارنـة٢١ ٤٠ مـايكروغرام.مـل-١) بمقـدار٠٨ ١٥٥% ولـنفس فتـرة التحضين .

ABILITY OF RHIZOBIAL STRAINS (*R .leguminosarum*) IN SOLUBILIZATION OF ROCK-PHOSPHATE

Mowaffaq Yonis Sultan Nazar Al- Nuaimi Mazen. F. Said
Dept. Of Soil Sci. &Water Colleg of agri. &forestry Univ. of Mosul / Iraq

ABSTRACT

A Factorial experiment was conducted using (RCBD) to determine the ability of three strains of *R. Leguminosarum* Le_{719}, Le_{726} and Le_{735} (which we it get it from ICARDA) on the solubility of rock-phosphate, calcium ,and pH media. The results showed an ability of strains understudy in the solubility rock-phosphate .The data was found significantly different when 200 and 400 $\mu gP.ml^{-1}$ was used (source rock phosphate). Strain Le_{719} had the supererioerty effect in solubilizing rock phosphate with an increase of 3.99% and 2.15% for the treatments mentioned above respectively. However strain Le_{735} showed less

increasing effect and with no significant effect for strain Le_{726}. In the same trend an increase in the solubility of calcium was observed (as a result of in crease in soluble phosphate) in media and in the same manner for the strains . Strain Le_{719} was increased by 143.36% compared to control treatment. Media reaction (pH-media) was decreased in media inoculated by the strains used. pH-media was 5.62, 6.20, and 6.43 for strains Le_{719} , Le_{735} , and Le_{726} respectively.

المصادر

البلـ ي ، مصطفى احمد ومحمد سعيد الشاطر ومحمد منهل الزعبي (٢٠٠٢) . عزل بعض الاحياء الدقيقة المحللة للفوسفات من بعض الأراضي السورية ودراسة فعاليتها في انحـ ل الصـ ر الفوسفاتي . المؤتمر الثاني للتقنيات الحديثة للزراعة / كلية الزراعة / جامعة القاهرة / جمهورية مصر العربية .

الراوي، اشع محمود (١٩٧٧) إلمد ل إلى تحليل الانحدار – كلية الزراعة والغابات – جامعة الموصل .

Alexander, M. (1977) Introduction to Soil Microbiology. John Wiley and Sons, Inc. New York.

Al-Khateeb, I.K. Raihan, M. J. and Asker (1986). Phase equilibria and kinetics of orthophosphate in some Iraqi soils. Soil Science. 141: 31-37.

Duff, R. B.; D. M Webley,. and R. O. Scott (1962). Solubilization of minerals and related materials by 2-Ketogluconic acid – producing bacteria. Soil Sic. 5: 105-114.

Halder, A. K. Mishra, A. K.,P. Bhattacharyya, P.K.Chakabartty (1990). Solubilization of rock phosphate by Rhizobium and Bradyrhizobium. J. oF Gene. and App. Microb. 36: 81-92. on Biological Nitrogen Fixation on Mediterranean Type of Agriculture, ICARDA, Syria, April 1986. Martinus Nijoff Publ., Drodrecht, Boston, Lancaster.

Page, A. L.; M. H. Miller, and D. R. Keeney, (1982). Methods of soil analysis part 2: Chemical and microbiological properties. Agron. Series No.9 Amer. Soc. Agron. Soil Sci. Soc. Am. Inc. Madison U.S.A.

Richards, L. A. (ed.) (1954). Diagnosis and Improvement of soil and alkali soils. U. S. D. A. Hand book No. 60.

Salah, H. M., A. M. Hummadi, F. A. Hussain, and G.S. Toma (1987). Availability of major and some micro-nutrients in the centeral and southern mesopotamin river plain in Iraq. JARWRR (Abs.). 6 :85-100.

SAS. (2001). User‘s Guid : Satistic (version 6-12 Edition) Statistical Analysis System institute Inc., Cary NC.USA.

Saxena, M.C. (1988). Foodlegumes in the Mediterranean Type of Environment and ICARDA‘s efforts in Improving Their Productivity. In: Nitrogen Fixation by Legumes in Mediterranean Agriculture, Procd. Workshop

Stevenson, F. J. (1967). Organic Acid in Soil. In Soil Biochemistry (Malaren, A. D. Peterson, G. H. Eds.) pp.: 119-146. Marcel Dekker, New York.

Toro, M., R.Azcon, and J. M. Barea, (1997). Improvement of arbuscular mycorrhiza development by inoculation of soil with phosphate-solubilizing rhizobacteria to improve rock phosphate bioavailability and nutrient cycling. Appl. Environ. Microbiol. 63: 4408-4412.